

Université des Frères Mentouri Constantine1
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Animale

N° d'ordre :87/D3C/2022

N° de série :07/BA/2022



Thèse de Doctorat
Présentée pour obtenir le diplôme de Doctorat 3^{ème} cycle
Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie
Filière : Sciences Biologiques
Spécialité : Physio-Toxicologie Cellulaire

Présentée et soutenue par : LARABA Meriem

Intitulé :

**Les activités biologiques de l'extrait *n*-butanol de
la plante médicinale endémique *Moricandia*
arvensis vis-à-vis de la toxicité induite par
Doxorubicine : étude *in vivo* et *in vitro*.**

Le 08/11/2022

Membres du jury

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

Année universitaire : 2022 - 2023

Remerciements

« Il y a deux points critiques dans chaque vol : son début et sa fin, et ce qui semble être une fin peut-être c'est l'opportunité d'un nouveau départ »

Avant tout, nous remercions "Allah" le tout puissant de nous avoir donné la santé, la force, le courage, la patience, la persistance et nous a permis d'exploiter les moyens disponibles à fin d'accomplir ce modeste travail. Merci de nous avoir éclairé le chemin de la réussite.

En premier lieu, j'exprime mes profonds remerciements à ma directrice de cette thèse madame **ZAMA Djamila**, professeur à l'université Frères Mentouri Constantine 1, à qui je tiens à exprimer ma profonde reconnaissance et mes vifs remerciements pour m'avoir accueillie au sein de son équipe de recherche et particulièrement pour ses conseils précieux, ses efforts, ses critiques constructifs, sa compétence scientifique

Je témoigne également ma gratitude au professeur **LALAOUI Korichi** de l'université Frères Mentouri Constantine 1 d'avoir accepté de juger ce travail.

J'adresse de chaleureux remerciements à Madame **BOUBEKRI Nessima**, Maitre de conférences A à l'université Frères Mentouri Constantine 1 pour son soutien, sa patience, ses conseils et pour son encouragement tout au long de ce travail.

Je formule mes sincères et profonds remerciements également au professeur **DAHAMNA Saliha** de l'université Ferhat Abbas Sétif 1 et **BENCHIKH Fatima** Maitre de conférences A à l'université Ferhat Abbas Sétif 1 d'avoir accepté de juger ce travail, merci pour votre disponibilité.

Mes sincères et profonds remerciements vont également à l'endroit du docteur **TACHOUR Sana** médecin en anatomie et cytologie pathologique à l'hôpital universitaire Abdelhamid Ben Badis de Constantine pour l'interprétation convenable des coupes histologiques.

J'adresse mes remerciements aussi à Monsieur **BENSOUICI Chawki**, Maitre de recherche au Centre de Recherche en Biotechnologie (CRBt) de Constantine pour son aide, et m'a permis d'effectuer plusieurs tests.

Mes vifs remerciements au professeur **BUFO Sabino Aurelio** de m'avoir reçu au laboratoire de biologie appliquée et de sauvegarde de l'environnement, département de science, université degli Studi della Basilicata, Italie.

Mes remerciements vont aussi à madame **SACRANO Laura** , professeur à l' université degli Studi della Basilicata, Italie, de m'avoir accueilli dans leurs laboratoires, de la confiance qu'elles m'ont accordé et aussi pour leurs sympathies, leurs rigueurs scientifiques, leurs conseils et leurs encouragements.

Je tiens à exprimer mes sincères remerciements au professeur **INFANTINO Vittoria** pour m'avoir reçu au sein de son laboratoire « Laboratoire de biochimie structurale et immunologie », pour m'avoir fait confiance et m'avoir permis de réaliser ce travail dans les meilleures conditions. Pour son aide et pour les discussions enrichissantes et fructueuses entretenues durant ma présence dans son laboratoire, qu'il soit assuré de ma profonde gratitude. Et ainsi qu'à toute l'équipe du laboratoire.

À **SANTARSIERO Anna, PAPPALARDO Ilaria**, Maryana, Nicola, Loca, Rosa

Je témoigne également ma gratitude au professeur **BENAYACHE Fadila** et au professeur **BENAYACHE Samir** de m'avoir accueillie au sein de l'unité de recherche de valorisation des ressources naturelles, molécules bioactives et analyses physicochimiques et biologiques (VARENBIOMOL).

Je voudrais autant remercier les ingénieurs de l'Unité de Recherche : Monsieur **HAZMOUNE Hichem** et Madame **TEBBOUB Naouel** pour leur aide et leur disponibilité.

J'exprime mes sincères et profonds remerciements à tous ceux qui m'ont aidée, assistée, encouragée et orientée : Madame **AMRANI Amel**, Monsieur **BOULDJADJ Redouane**,
KHELEF Yahia et **BAHRI Laid** .

Je témoigne toute ma gratitude à tous mes amies et collègues : **Sana, Housna, Amira** ,
Lamia et **Donia** , ainsi que à l'ingénieur de laboratoire de physiologie animal **Zahra**

Dédicaces

Dédicaces À l'aide de dieu "Allah" tout puissant Qui m'a tracé le chemin de ma vie, J'ai pu réaliser ce travail. Je dédie ce travail à ma famille spécialement aux personnes les plus chères au monde. Mes chers parents qui sont la lumière de mes yeux, l'ombre de mes pas et le bonheur de ma vie. Qui m'ont apportés leurs appuis durant toutes mes années d'études, pour ses sacrifices et soutien et qui m'ont donné la tendresse, la confiance, le courage et la sécurité.

À mes frères pour leur tendresse et leur permanente présence à mes côtés

sans oublier mes grandes parents, ma famille paternelle et ma famille maternelle pour leur soutien continuels de proche et de loin qui m'a encouragé le long de mes études. Grâce à vos prières, je suis arrivée là.

Mariam

Les activités biologiques de l'extrait *n*-butanol de la plante médicinale endémique *Moricandia arvensis* vis-à-vis de la toxicité induite par Doxorubicine : étude *in vivo* et *in vitro*

Résumé

La doxorubicine est une des molécules les plus efficaces utilisée en chimiothérapie dans de nombreux types de cancers. Son utilisation clinique est limitée en raison de sa toxicité grave sur divers organes.

Ce travail de recherche a porté sur l'investigation de l'effet protecteur de l'extrait *n*-butanol obtenus de la partie aérienne de la plante *Moricandia arvensis* sur l'hépatotoxicité, néphrotoxicité et la cardiotoxicité induite par l'administration de la doxorubicine à la dose (15mg/kg). Des tests *in vitro* ont également réalisés dans cette étude: l'activité antioxydante (DPPH, ABTS, Glavinoxyle, O-phénotroline, activité de réduction du complexe cuivre-neocuproéne (CUPRAC), pouvoir réducteur (FRAP), et l'inhibition de blanchissement du β -carotène), l'activité photoprotectrice et l'activité anti-inflammatoire sur la lignée cellulaire (U937).

Les résultats obtenus dans la présente étude ont montré clairement des modifications significatives des paramètres biochimiques (ALAT, ASAT, cholestérol total, triglycérides, HDL, LDL, glucose, urée, créatinine et CPK) et de stress oxydatif (malondialdéhyde (MDA), glutathion (GSH) et glutathion peroxydase (GPx) dans le groupe traité par la doxorubicine (15mg/kg), ce dysfonctionnement a été accompagné par des altérations et des changements de l'architecture hépatique, rénale et cardiaque. En revanche, le prétraitement des rats par l'extrait *n*-butanol de *Moricandia arvensis* (50 et 100 mg/kg) et la vitamine E (100 mg/kg) a permis de rétablir les paramètres biochimiques et améliorer le statut antioxydant. Ces effets bénéfiques ont été évidents au niveau des coupes histologiques. En plus, les études *in vitro* ont montré que *M. arvensis* est dotée de propriétés antioxydantes et photoprotectrice ainsi que anti-inflammatoire qui se traduit par la diminution des niveaux de ROS, NO PGE₂ et NF- κ B.

En conclusion, les résultats obtenus dans cette étude révèlent que l'extrait *n*-butanol de *Moricandia arvensis* peut être considéré comme une source naturelle pour prévenir l'hépatotoxicité, néphrotoxicité et la cardiotoxicité induite par la doxorubicine, ces propriétés s'expliquent probablement par sa richesse en polyphénols et flavonoïdes.

Mots clés: Doxorubicine, *Moricandia arvensis*, Hépatotoxicité, Néphrotoxicité, Cardiotoxicité, Activité antioxydante, Activité photoprotectrice, Activité anti-inflammatoire.

النشاط البيولوجي للمستخلص البيتانولي للنبات الطبي *Moricandia arvensis* المستوطنة ضد السمية المحرّضة بواسطة دواء دوكسوريبيسين : دراسة داخل و خارج الكائن الحي

الملخص

يعتبر دوكسوريبيسين أحد أكثر الجزيئات فعالية في العلاج الكيميائي في العديد من أنواع السرطان، لكن أصبح استخدامه السريري محدودا بسبب سميته الشديدة لمختلف الأعضاء.

تهدف هذه الدراسة إلى تقييم الفعل الوقائي للمستخلص بيتانولي للجزء الهوائي لنبات *Moricandia arvensis* على السمية الكبدية، الكلوية والقلبية المحرّضة بواسطة دواء دوكسوريبيسين بجرعة (15 مغ / كغ) لمدة 10 أيام. كما تم أيضا إجراء إختبارات خارج العضوية تتمثل في: النشاط المضاد للأكسدة (ABTS، DPPH)، تثبيط O-phenotroline، Glavinoxyl، نشاط اختزال مركب النحاس النيوكوبرويني (CUPRAC)، (FRAP)، تثبيط تبيض β -كاروتين)، النشاط الوقائي من الضوء و النشاط المضاد للالتهابات على خلايا من نوع (U937).

أظهرت النتائج المتحصل عليها في هذه الدراسة تغيرات معنوية في مستوى المؤشرات البيوكيميائية (ALAT، ASAT، الكوليسترول الكلي، الدهون الثلاثية، HDL، LDL، الجلوكوز، اليوريا، والكرياتينين وCPK) وكذلك مؤشرات الإجهاد التأكسدي (malondialdehyde (MDA)، الجلوتاثيون (GSH) والجلوتاثيون بيروكسيداز (GPx) عند المجموعة المعاملة بالدوكسوريبيسين (15 مغ / كغ)، إضافة الى حدوث تغييرات في البنية النسيجية للكبد، الكلى و القلب. كما بينت النتائج المتحصل عليها أن المعاملة المسبقة بالمستخلص البيتانولي لنبات *Moricandia arvensis* (50 و 100 مغ / كغ) وفيتامين E (100 مغ / كغ) أدت الى تصليح المؤشرات البيوكيميائية وكذلك مؤشرات الجهد التأكسدي، وهذا ما أثبتته الدراسة النسيجية. كما أظهرت الدراسات المجرات خارج العضوية أن المستخلص بيتانولي يملك خصائص مضادة للأكسدة وواقية من الضوء، إضافة الى نشاط مضاد للإلتهاب الذي يمكن تفسيره بنقصان ROS، NO، PGE2، و NF- κ B.

أثبتت النتائج المتحصل عليها في هذه الدراسة أن المستخلص البيتانولي للجزء الهوائي لنبات *Moricandia arvensis* يحتوي على مركبات ذات نشاط مضاد للأكسدة و الإلتهاب و بالتالي يمكن اعتباره مصدرا طبيعيا للوقاية من السمية الكبدية، الكلوية والقلبية التي يسببها دواء دوكسوريبيسين، و قد يرجع ذلك إلى غناء المستخلص بيتانولي لهذا النبات بمركبات فينولية وفلافونويدات.

الكلمات المفتاحية: دوكسوريبيسين، *Moricandia arvensis*، السمية الكبدية، السمية كلوية، السمية القلبية، النشاط المضاد للأكسدة، النشاط الوقائي من الضوء، النشاط المضاد للإلتهاب.

The biological activities of the *n*-butanol extract of endemic medicinal plants *Moricandia arvensis* against the toxicity induced by a Doxorubicin : *in vivo* and *in vitro* studies

Abstract

Doxorubicin is one of the most effective molecules used in chemotherapy for many types of cancer. Its clinical use is limited due to its severe toxicity to various organs.

This research work focused on the investigation of the protective effect of the *n*-butanol extract obtained from the aerial part of the *Moricandia arvensis* plant on hepatotoxicity, nephrotoxicity and cardiotoxicity induced by the administration of doxorubicin at the dose (15mg/ kg). *In vitro* tests were also performed in this study: antioxidant activity (DPPH, ABTS, Glavinoxyl, O-phenotroline, copper-neocuproene complex reduction activity (CUPRAC), reducing power (FRAP), and β -carotene bleaching inhibition), photoprotective activity and the anti-inflammatory activity on the cell line (U937).

The results obtained in the present study clearly showed significant changes in biochemical parameters (ALAT, ASAT, total cholesterol, triglycerides, HDL, LDL, glucose, urea, creatinine and CPK) and oxidative stress (malondialdehyde (MDA), glutathione (GSH), and glutathione peroxidase (GPx) in the group treated with doxorubicin (15mg/kg), this dysfunction was accompanied by alterations and changes in hepatic, renal and cardiac architecture. *n*-butanol extract from *Moricandia arvensis* (50 and 100 mg/kg) and vitamin E (100 mg/kg) restore biochemical parameters and improve antioxidant status. These beneficial effects were evident in histological sections. In addition, *in vitro* studies have shown that *M. arvensis* has endowed with antioxidant and photoprotective properties as well as an anti-inflammatory which results in decreased levels of ROS, NO PGE2, and NF- κ B.

In conclusion, the results obtained in this study reveal that the *n*-butanol extract of *Moricandia arvensis* can be considered a natural source to prevent hepatotoxicity, nephrotoxicity and cardiotoxicity induced by doxorubicin, these properties are probably explained by its high in polyphenols and flavonoids.

Keywords: Doxorubicin, *Moricandia arvensis*, Hepatotoxicity, Nephrotoxicity, Cardiotoxicity, Antioxidant activity, Photoprotective activity, Anti-inflammatory activity.

Liste des abréviations

Acot1 : Acyl-Coenzyme A Thioesterase 1

Apaf-1 : Apoptotic protease activating factor 1

ANT : Adenine nucleotide translocator

ARE : Antioxidant response elements

ATG : Autophagy-related genes

BAX : Bcl-2 Associated X protein

Bcl-2 : B-cell lymphoma 2

CaMKII : Calcium/calmodulin-dependent protein kinase II

Cdc2 : Cell division cycle 2

Cdk : Cyclin-dependent protein kinase

DOX : Doxorubicin

DOXol : Doxorubicinol

FADD : Fas-associated death domain

FLIP : FLICE inhibitory protein

FIP200 : Focal adhesion kinase family interacting protein of 200

GSDMD : Gasdermin D

HFE : Human homeostatic iron regulator protein

IGF2BP: Insulin-like growth factor 2 mRNA-binding proteins

IRE : Iron Responsive Element

IRP : Iron-regulating proteins

JNK : c-Jun N-terminal kinases

LC3-I : Microtubule-Associated Protein 1 Light Chain 3

MAPK : Mitogen activated protein kinases

MLKL : Mixed lineage kinase domain-like

MPTP : Mitochondrial permeability transition pore

NFATc4 : Nuclear factor of activated T cells 4

NLRP3 : NOD-, LRR- and pyrin domain-containing protein 3

Nrf2 : Nuclear factor-erythroid 2 related factor 2

mTOR : Mammalian target of rapamycin

PARP : Poly (ADP-ribose) polymerases

PARP-1 : Poly (ADP-ribose) Polymerase-1

RIPK1 : Receptor-interacting protein kinase 1

RIPK3 : Receptor-interacting protein kinase 3 protein kinase 3

PMA : Phorbol 12-myristate 13-acetate

RYR : Ryanodine receptors

SR : Sarcoplasmic reticulum

TfR : Transferrin receptor

TOP2 : Topoisomerase 2

TNFR1 : TNF receptor-1

TRAIL : TNF-related apoptosis-inducing ligand

TINCR : differentiation-induced non-coding RNA

TLR4 : Toll type receiver 4

Ulk1 : Unc-like-51 kinase 1

Vps34 : Vacuolar proteins

Liste des figures

Figure 1: Classification des chimiothérapies couramment utilisées en fonction de leur mécanisme d'action.....	5
Figure 2: Structure chimiques des anthracyclines actuellement utilisées en clinique.....	7
Figure 3: La biotransformation de la doxorubicine.....	9
Figure 4: Les mécanismes moléculaires de la toxicité de la doxorubicine	10
Figure 5: Stress oxydatif induit par la doxorubicine	11
Figure 6: L'inhibition de la topoisomérase II par la doxorubicine.....	12
Figure 7: Structure du complexe doxorubicine ADN.....	13
Figure 8: Effet de la doxorubicine et de ses dérivés sur le système de transport d'électrons et la production d'énergie mitochondriale.....	14
Figure 9: Schematic illustration of anthracycline-induced changes in iron metabolism.....	17
Figure 10: Représentation schématique de l'apoptose induite par DOX et l'implication de ROS.....	19
Figure 11: L'induction schématique de l'autophagie pendant le traitement à la doxorubicine....	22
Figure 12: Représentation schématique de la nécrose induit par la doxorubicine	23
Figure 13: Représentation schématique de la sénescence induit par la doxorubicine	24
Figure 14: Représentation schématique de la nécroptose induite par la doxorubicine	25
Figure 15: Représentation schématique de la pyroptose induite par la doxorubicine dans le cœur	26
Figure 16: Représentation schématique de la ferroptose induite par la doxorubicine	28
Figure 17: Le mécanisme sous-jacent à l'hépatotoxicité induite par la doxorubicine.....	29
Figure 18: Le mécanisme de la néphrotoxicité induite par la doxorubicine	31
Figure 19: Structure de l'acide benzoïque.....	36
Figure 20: Structure de l'acide cinnamique.....	37
Figure 21: Structure de base des flavonoïdes	37
Figure 22 : Structure des flavones	38
Figure 23: Structure de flavonols	38
Figure 24: Structure de flavonone	39
Figure 25: Structure des isoflavones	39
Figure 26: Structure chimique des anthocyanes.....	40
Figure 27: Structure de tanins hydrolysable.....	41
Figure 28: Structure de tanins condensés	42
Figure 29: Structure des Stilbénes.....	42
Figure 30: Structure des Lignanes.....	43
Figure 31: Structure d'une Lignines.....	43
Figure 32: Structure des coumarines	44
Figure 33: Les caractéristiques structurelles des flavonoïdes avec une activité de piégeage des radicaux	45
Figure 34: Piégeage des espèces réactives de l'oxygène (R•) par les flavonoïdes.. ..	46
Figure 35: Sites impliqués dans la chélation des ions métalliques (M) dans les flavonoïdes	47

Figure 36: Feuilles de <i>Moricandia arvensis</i>	51
Figure 37: <i>Moricandia arvensis</i>	51
Figure 38: la réduction du réactif Folin – Ciocalteu causée par l'oxydation des composés phénoliques dans un échantillon.....	55
Figure 39: flavonoïdes avec AlCl ₃	56
Figure 40: Réactions chimiques impliquées dans le dosage spectrophotométrique de DPPH.....	57
Figure 41: Génération d'ABTS • + et sa réaction avec un antioxydant.....	58
Figure 42: la réduction d'un complexe de néocuproïne par des antioxydants.....	60
Figure 43: Réaction de l'ion ferreux avec la phénanthroline.....	62
Figure44: Réduction de 3-(4,5-diméthylthiazol-2-yl)-2,5 diphényltétrazolium (MTT) en formazan	64
Figure 45: Mécanisme de détection du ROS par le diacétate DCF-DA.....	65
Figure 46: Mécanisme de détection du NO par le diacétate DAF-FM.....	66
Figure 47: Réaction du malondialdéhyde (MDA) avec 2 molécules d'acide 2-thiobarbiturique (TBA)	73
Figure 48 : Réaction entre le glutathion réduit et le DTNB (réactif d'Ellman)	74
Figure 49: Activité de piégeage du radical DPPH par l'extrait de <i>Moricandia arvensis</i> et du BHA et BHT.	79
Figure 50: Activité de piégeage du radical ABTS par l'extrait de <i>Moricandia arvensis</i> et du BHA et BHT.	81
Figure 51 : Activité de piégeage du radical GORpar l'extrait de <i>Moricandia arvensis</i> et du BHA et BHT	82
Figure 52: Test de la réduction du cuivre (CUPRAC) par l'extrait de <i>Moricandia arvensis</i> et des standards (BHA , BHT).....	83
Figure53: Test de la réduction du Fer par l'extrait de <i>Moricandia arvensis</i> et des standards (α-Tocophérol, acide ascorbique)	84
Figure 54 : Test de la réduction du Fer phénanthroline par l'extrait de <i>Moricandia arvensis</i> et des standards (BHA,BHT).....	85
Figure 55 : Test de blanchissement de β-carotène par l'extrait de <i>Moricandia arvensis</i> et des standards (BHA , BHT).....	86
Figure 56: Effet de l'extrait butanolique de <i>Moricandia arvensis</i> sur la viabilité cellulaire des macrophages humains U937 par l'essai du MTT.....	88
Figure 57: Activité anti-inflammatoire de l'extrait de butanolique de <i>M. arvensis</i> sur la production de ROS (A), NO(B), PGE2 (C) et le niveau d'expression NF-κB (D) induit par LPS.....	89
Figure 58 : L'effet protecteur de l'extrait butanolique de <i>M. arvensis</i> (50,100 mg/kg)et la vitamine E (100mg/kg)) sur l'activitédes transaminases (AST et ALT) chez les rats traités par DOX (15 mg/kg).....	90
Figure 59: L'effet protecteur de l'extrait butanolique de <i>M. arvensis</i> (50,100 mg/kg)et la vitamine E (100mg/kg)) sur le taux de cholestérol total et triglycérides concentration de créatinine et urée chez les rats traités par DOX (15 mg/kg).	91
Figure 60: L'effet protecteur de l'extrait butanolique de <i>M. arvensis</i> (50,100 mg/kg)et la vitamine E (100mg/kg)) sur le taux de LDL et HDL chez les rats traités par DOX (15 mg/kg).	92
Figure 61: L'effet protecteur de l'extrait butanolique de <i>M. arvensis</i> (50,100 mg/kg)et la vitamine E (100mg/kg)) sur le taux de glucose chez les rats traités par DOX (15 mg/kg).....	93

Figure 62: L'effet protecteur de l'extrait butanolique de <i>M. arvensis</i> (50,100 mg/kg)et la vitamine E (100 mg/kg)) sur la concentration de créatinine et urée chez les rats traités par DOX (15 mg/kg).	94
Figure 63: L'effet protecteur de l'extrait butanolique de <i>M. arvensis</i> (50,100 mg/kg)et la vitamine E (100 mg/kg)) sur le taux de CPK chez les rats traités par DOX (15 mg/kg).	95
Figure 64 : L'effet protecteur de l'extrait butanolique de <i>M. arvensis</i> (50,100 mg/kg)et la vitamine E (100mg/kg)) sur le taux de MDA dans le foie, les reins et le cœur chez des rats traités par DOX (15 mg/kg).	96
Figure 65: L'effet protecteur de l'extrait butanolique de <i>M. arvensis</i> (50,100 mg/kg)et la vitamine E (100mg/kg)) sur l'activité de GSH dans le foie, les reins et le cœur chez des rats traités par DOX (15 mg/kg).....	97
Figure 66: L'effet protecteur de l'extrait butanolique de <i>M. arvensis</i> (50,100 mg/kg)et la vitamine E (100mg/kg)) sur l'activité de GPX dans foie, les reins et le cœur chez des rats traités par DOX (15 mg/kg)	98
Figure 67: Résultats histopathologiques du foie de rat	99
Figure 68: Résultats histopathologiques du rein de rat	101
Figure 69: Résultats histopathologiques du cœur de rat.....	103

Liste des tableaux

Tableau 1: Classification botanique de <i>Moricandia arvensis</i>	52
Tableau 2 : Teneur en polyphénols totaux et des flavonoïdes.	78
Tableau 3: Le pouvoir antioxydant (exprimé par IC ₅₀ et A _{0,5} (en µg /mL)) des antioxydants de références et de l'extrait testés.....	80
Tableau 4: Calcul du facteur de protection solaire (SPF) pour l'extrait butanolique obtenu à partir de <i>Moricandia arvensis</i>	87

Table des matières

Remerciements	
Résumé.....	I
الملخص	II
Abstract.....	III
Liste des abréviations.....	IV
Liste des figures	VI
Liste des tableaux.....	IX
Introduction	1

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUES

I. LE CANCER.....	4
I. 1. La chimiothérapie	4
I. 1 .1. Types de chimiothérapies	4
➤ Agents alkylants	4
➤ Antimétabolites.....	5
➤ Inhibiteurs de topoisomérase.....	5
➤ Inhibiteurs du fuseau mitotique.....	5
II. DOXORUBICINE	6
II.1. Historique	6
II.2. Structure moléculaire	6
II.3. Pharmacocinétique	7
II.4. Les mécanismes d'action de la doxorubicine	9
II.4.1. La formation des radicaux libres	10
II.4.2. L'inhibition de la topoisomérase II.....	12
II.4.3. L'interaction avec les bases azotées de l'ADN	13
II.4.4 Le dysfonctionnement mitochondrial	13
II.4.5. Altération de l'homéostasie calcique par la doxorubicine.....	14
II.4.6. Perturbation de l'homéostasie du fer	15
II.5. Les mécanismes de la mort cellulaire induit par la doxorubicine.....	17
II.5.1. L'apoptose	17
➤ Voie intrinsèque	18
➤ Voie extrinsèque	18

II.5.2. L'autophagie	20
II.5.3. La Nécrose	22
II.5.4. La sénescence	23
II.6. Autres formes de mort cellulaire régulée : Nécroptose, Pryoptose, et Ferroptose	24
II.6.1. Nécroptose	24
II.6.2. Pyroptose	25
II.6.3. Ferroptose	27
II.7. L'hépatotoxicité induit par la doxorubicine	28
II.8. La néphrotoxicité induit par la doxorubicine.....	30
III. LA PHYTOTHERAPIE.....	32
III.1. Définition de La phytothérapie.....	32
III. 2. Les différents types de la phytothérapie	32
➤ L'aromathérapie	32
➤ La gemmothérapie	32
➤ L'herboristerie.....	32
III. 3. Mode d'emploi des plantes médicinales.....	33
➤ Les tisanes	33
➤ L'infusion	33
➤ Décoction	33
➤ Macération.....	33
IV. LES POLYPHENOLS.....	34
➤ Les Terpènes.....	34
➤ Les alcaloïdes	34
➤ Les polyphénols.....	35
IV .1. Classification des composés phénoliques	35
IV .1.1. Les acides phénoliques.....	35
IV .1.1.1. Les acides hydroxybenzoïques	35
IV.1.1.2. Les acides hydroxycinnamique	36
IV.1.2. Composés polyphénoliques flavonoïdiques	37
IV.1.2.1. Les flavonoïdes	37
IV.1.2.2. Les flavones	38
IV.1.2.3. Les flavonols.....	38
IV.1.2.4. Les flavanones.....	39
IV.1.2.5. Les isoflavones.....	39
IV.1.2.6. Les anthocyanes.....	40

IV.1.3. Les tanins.....	40
IV.1.3.1. Les tanins hydrolysables	41
IV.1.3.2 Les tanins condensés	41
IV.1.4. Les stilbénes	42
IV.1.5. Les lignanes.....	42
IV.1.6.Les lignines	43
IV .1.7. Les coumarines.....	43
IV. 2 .Propriétés biologique et intérêt des polyphénols.....	44
IV. 2.1 .Rôles physiologiques des composés phénoliques chez l'être humain	44
❖ L'activité antioxydante	44
➤ Piégeage des radicaux libres.....	45
➤ Chélation des ions métalliques	46
➤ Inhibition enzymatique.....	47
❖ Anticancéreux.....	47
❖ Anti-inflammatoires	48
❖ L'activité anti-diabétique.....	48
❖ Activité antithrombes	49
V. <i>Moricandia arvensis</i>	50
V.1. Généralité sur la famille des Brassicacées.....	50
V.2. Le genre <i>Moricandia</i>	50
V.3. Description botanique du genre <i>Moricandia</i>	51
V.4. L'espèce <i>Moricandia arvensis</i>	51
V.5. Classification botanique de la plante <i>Moricandia arvensis</i>	52
V.6. Constitution chimique du <i>Moricandia arvensis</i>	52
V.7. Activité biologique du genre <i>Moricandia arvensis</i>	53

MATERIELS ET METHODES

MATERIELS ET METHODES.....	54
I. Matériel végétal et l'étude phyto-chimique.....	54
I.1. Préparation des extraits.....	54
➤ Récolte de la plante	54
➤ Extraction	54
I.2. L'étude phyto-chimique	55
I.2.1. Dosage des polyphénols totaux.....	55
I.2.2. Dosage des flavonoïdes totaux.....	56

I.3. Méthodes de dosage des activités antioxydantes <i>in vitro</i>	57
I.3.1. Le test de piégeage du radical DPPH	57
I.3.2. Le test de piégeage du radical ABTS	58
I.3.3. Le test de piégeage du radical <i>Galvinoxyl</i>	59
I.3.4. Dosage du pouvoir réducteur	59
I.3.5. Capacité antioxydante par réduction de cuivre (CUPRAC)	60
I.3.6. Test de blanchissement de β -carotène	61
I. 3.7. Activité de phénanthroline.....	61
I.4. Évaluation de l'activité photoprotectrice ou dermatoprotectrice (SPF).....	62
I.5. Évaluation de l'activité anti-inflammatoire sur la lignée cellulaire (U937).....	63
I.5.1. Culture cellulaire et préparation de la suspension cellulaire	63
I .5.2. Test de viabilité cellulaire	63
I.5.3. Détection des ROS, NO et PGE2	64
➤ Espèces réactives de l'oxygène (ROS).....	64
➤ Oxyde nitrique (NO).....	65
➤ Prostaglandine E2 (PGE ₂)	67
I. 5. 4. Analyse par immuno-empreinte (Western Blot)	67
II. Matériel animal	68
II.1. Animaux et conditions d'hébergement	68
II.2. Les groupes des animaux	68
II.3. Dissection des rats, prélèvement du sang et des organes	69
II.4. Préparation de la fraction cytosolique	69
II. 5. Méthodes d'évaluation des paramètres biochimiques	69
II.5.1. Évaluation de l'aspartate aminotransférase (ASAT)	69
II.5.2. Évaluation de l'alanine aminotransférase (ALAT).....	70
II.5.3. Évaluation des triglycérides.....	70
II.5.4. Évaluation du cholestérol total	71
II.5.5. Évaluation de cholestérol HDL.....	71
II.5.6. Évaluation de cholestérol LDL	71
II.5.7. Évaluation du glucose.....	72
II.5.8. Évaluation de l'urée	72
II.5.9. Évaluation de créatinine.....	72

II.5.10. Évaluation de créatine phosphokinase (CPK)	72
II.6. Évaluation des paramètres de stress oxydant.....	73
II.6.1. Évaluation du malondialdhyde (MDA)	73
II.6.2. Évaluation du glutathion réduit (GSH)	74
II.6.3. Évaluation du glutathion peroxydase (GPx).....	75
III. Examens d'anatomie-pathologiques	75
IV. Analyses statistiques	76

RESULTATS

RESULTATS	78
I. Caractérisation quantitative de <i>Moricandia arvensis</i>	78
I.1. Teneur de l'extrait en polyphénols et flavonoïdes	78
II. Évaluation de l'activité antioxydante	78
II.1. Effet scavenger du radical DPPH	79
II.2. Activité du piégeage du cation radical ABTS ⁺	80
II.3. Activité du piégeage du radical Galvinoxyl (GOR)	81
II.4. Activité de réduction du complexe cuivre-néocuproïne (CUPRAC)	82
II.5. Activité du pouvoir réducteur	83
II.6. Activité phenanthroline.....	84
II.7. Activité de blanchissement de β-carotène.....	85
III. Évaluation de l'activité photoprotectrice ou dermatoprotectrice (SPF).....	86
IV. Évaluation de l'activité anti-inflammatoire sur la lignée cellulaire (U937).....	87
IV.1. Viabilité cellulaire	87
IV.2. Effet de l'extrait butanolique de <i>Moricandia arvensis</i> sur la production des espèces réactives de l'oxygène (ROS), l'oxyde nitrique (NO), Prostaglandine E2 PGE ₂ et le niveau d'expression NF-κB induit par le LPS.....	88
V. Résultats de l'étude expérimentale <i>in vivo</i>	90
V.1. L'effet des différents traitements sur les marqueurs biochimiques	90
V.1.1. Les enzymes transaminase AST et ALT	90
V.1.2. L'effet sur les taux de cholestérol total et des triglycérides.....	91
V.1.3. L'effet sur les taux HDL et LDL.....	92
V.1.4. L'effet sur le taux de glucose	92
V.1.5. L'effet sur la concentration plasmatique de la créatinine et l'urée.....	93
V.1.6. L'effet sur le taux de créatine phosphokinase (CPK).....	94
V.2. L'effet des différents traitements sur statut oxydant cytosolique.....	95
V.2.1. L'effet sur la peroxydation lipidique (MDA) du foie et des reins	95

V.2.2. L'effet sur le GSH du foie et des reins	96
V.2.3. L'effet sur le GPX du foie et des reins	97
VI. Étude histopathologique	98
VI.1. Au niveau du foie	98
VI.2. Au niveau des reins	100
VI.3. Au niveau du cœur	102

DISCUSSION

Discussion	104
Conclusion Générale et perspectives	121
Références bibliographiques	123

Annexes

Introduction

Introduction

Le cancer est considéré comme étant une maladie très importante dont les cellules anormales se développent anarchiquement et forment un sous-ensemble de néoplasmes, avec un potentiel à envahir d'autres parties du corps en causant le plus souvent la mort des cellules. Cette maladie reste un problème majeur de santé publique dans les pays en voie de développement comme dans les pays développés et constitue la deuxième cause de décès dans le monde (Tshibangu *et al.*, 2016).

Les médicaments anticancéreux sont un groupe spécifique de composés pharmaceutiques utilisés pour traiter les maladies cancéreuses, il a été démontré qu'ils ont de puissants effets cytotoxiques, génotoxiques, mutagènes, cancérigènes, perturbateurs endocriniens et/ou tératogènes dans plusieurs organismes, car ils ont été principalement conçus pour perturber ou empêcher la prolifération cellulaire, généralement en interférant avec synthèse d'ADN (Ilies *et al.*, 2021).

La doxorubicine (DOX) est un antibiotique anthracycline structurellement similaire à la daunorubicine en tant qu'antibiotique anticancéreux naturel utilisé dans le traitement du cancer, son effet anticancéreux produit par une intercalation avec l'ADN inhibera la transcription et la réplication de cette dernière ainsi que l'activité enzymatique de la topoisomérase II ce qui conduit à l'arrêt de la prolifération des cellules cancéreuses chez l'hôte. En outre, la présence de la fraction quinone qui contribue à la capacité cytolytique en générant des radicaux intermédiaires qui réagissent ensuite avec l'oxygène et forment des ions superoxyde, est à la base de la cytotoxicité médiée par la DOX sur différents organes notamment le système à savoir : hépatique, rénales et cardiaque (Mansouri *et al.*, 2017; Omobowale *et al.*, 2018; Aksu *et al.*, 2019; Ajaykumar, 2020). Par conséquent, la recherche de nouveaux composés ayant une bioactivité efficace est nécessaire car le traitement du cancer avec les médicaments anticancéreux disponibles est souvent pas satisfaisant en raison du problème de cytotoxicité vis-à-vis des cellules normales (Tshibangu *et al.*, 2016).

La phytothérapie est une discipline nouvellement émergente, considérée aujourd'hui comme une référence pour le processus d'élaboration de nouveaux médicaments, en partie en raison de son accessibilité, de son prix abordable et de son efficacité, surtout dans les pays en voie de développement (Dassamiour *et al.*, 2022).

L'Algérie est reconnue par sa diversité variétale en plantes médicinales et aromatiques dont la plupart existent à l'état spontané, ainsi que par l'utilisation populaire dans l'ensemble des terroirs du pays. Cependant, la flore algérienne avec ses 3000 espèces appartenant à plusieurs familles botaniques, dont 15% d'endémiques, reste très peu explorée sur le plan phytochimique comme sur le plan pharmacologique. Cette richesse et cette originalité font que l'étude de la flore d'Algérie présente un intérêt scientifique fondamental dans le domaine de l'ethnobotanique, de la pharmacopée traditionnelle mais également un intérêt scientifique appliqué dans le domaine de la valorisation des substances naturelles (Bouزيد *et al.*, 2017).

Moricandia arvensis appartenant à la famille des Brassicaceae est une des espèces natives de la région méditerranéenne. Dans l'ethnopharmacopée traditionnelle du Sahara Algérien, *M. arvensis*, connue sous le nom commun de "Krom Jmal", est utilisée pour le traitement de diverses maladies comme les rhumatismes, la syphilis, et le scorbut (Berreghioua & Cheriti, 2018).

De ce fait, une question fondamentale est de savoir s'il existe, ou si nous pouvons développer ou identifier une molécule potentielle capable de réduire ou même inhiber les répercussions délétères de la DOX sur les cellules saines, tout en maintenant son efficacité antitumorale.

Afin de réduire les dommages de la DOX sur différents organes, plusieurs molécules naturelles et synthétiques ont été associées à la DOX dans le cadre de stratégies thérapeutiques combinées (Patil *et al.*, 2022; Rocha *et al.*, 2022).

A la lumière de ces données, nous nous sommes intéressés à étudier une plante Algérienne, qui est utilisée en médecine traditionnelle dans certaines régions. Ce travail vise à évaluer l'effet hépatoprotecteur, néphroprotecteur, cardioprotecteur et antioxydant de l'extrait butanolique de *Moricandia arvensis* vis-à-vis la toxicité induite par doxorubicine, tests *in vivo* et *in vitro*.

Pour atteindre les objectifs et répondre à la problématique posée dans la présente étude, on a présenté en premier temps une étude bibliographique, la deuxième partie concerne la méthodologie suivie, la troisième et la quatrième partie de cette thèse exposent l'ensemble des résultats obtenus et la discussion. Ils sont subdivisés en cinq volets:

- Evaluation quantitatifs des polyphénols et flavonoïdes.
- Evaluation du pouvoir antioxydant de la plante on utilisant plusieurs tests *in vitro* (DPPH, ABTS, GOR, O-phénoltriline, activité de réduction du complexe cuivre-neocuproène (CUPRAC), pouvoir réducteur (FRAP), et la β -carotène).
- Evaluation de l'activité anti-inflammatoire *in vitro* sur les lignées cellulaires U937.

- Evaluation de l'activité photoprotectrice en déterminant le facteur de protection solaire (SPF).
- Evaluation de l'activité hépatoprotectrice, néphroprotectrice et cardioprotectrice de l'extrait butanolique de *Moricandia arvensis* sur un modèle de rat traité par DOX.

Synthèse

Bibliographiques

I. LE CANCER

Le cancer est un défi majeur dans le monde entier, contribuant à près de 9,6 millions de décès en 2018. Malgré les améliorations considérables apportées aux modalités de traitement au cours des dernières décennies, des millions de décès liés au cancer continuent de s'aggraver et constituent un problème de santé publique (Tan & Norhaizan, 2019).

Les approches thérapeutiques les plus courantes pour le traitement du cancer comprennent la radiothérapie, la chirurgie, l'immunothérapie, la thérapie endocrinienne et la thérapie génique tandis que, la chimiothérapie reste toujours la méthode la plus courante (Bukowski *et al.*, 2020).

Cependant, l'efficacité et l'application des médicaments chimio-thérapeutiques anticancéreux disponibles ne permettent souvent pas d'obtenir une rémission complète du cancer en raison de l'hétérogénéité des cellules cancéreuses, présentent une efficacité limitée en raison d'une toxicité limitant la dose pour les patients et du développement d'une multi résistance (Tan & Norhaizan, 2019).

I. 1. La chimiothérapie

La chimiothérapie repose sur l'utilisation systémique de médicaments à activité cytotoxique contre des cellules présentant des taux de prolifération élevés, dans l'espoir de ralentir ou d'arrêter la progression de la tumeur primaire ou distale (métastase) (Granados-Principal *et al.*, 2010).

I. 1.1. Types de chimiothérapies

Les chimiothérapies peuvent être divisées en deux classes en fonction de leur origine. Ils peuvent être soit d'origine végétale (extraits de plantes), soit d'origine synthétique. Selon leur mécanisme d'action, ils peuvent être divisés en agents alkyles, anti-métabolites, inhibiteurs de topo-isomérase, inhibiteurs du fuseau mitotique et autres (Bukowski *et al.*, 2020) (Figure 1).

➤ Agents alkylants

Les agents alkylants qui sont des composé électrophiles, interagissant avec les bases azotiques (Adénine, thymine, guanine et cytosine) par le transfert d'un radical alkyle en un ou deux sites (Vuillet-A-Ciles *et al.*, 2014), la liaison obtenue est le plus souvent une double liaison covalente cette dernière bloquer la réplication de l'ADN et la transcription en ARN en causent la mort cellulaire (Lanore & Delprat, 2002).

➤ **Antimétabolites**

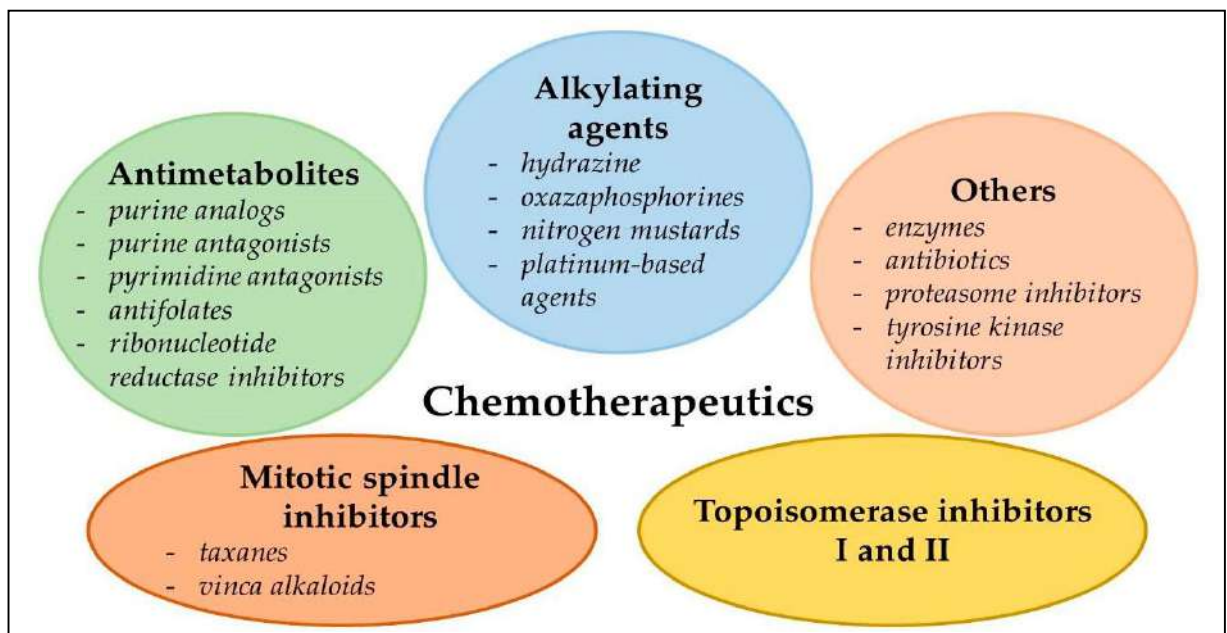
Les antimétabolites sont une des classes les plus importantes des chimiothérapies cytotoxique. Ces médicaments ont une structure analogues, d'une part, des bases puriques et pyrimidiques (ou des nucléosides correspondants) et , d'autre part, des coenzymes foliniques, car ces derniers interviennent à des nombreuse étapes de la biosynthèse purique et pyrimidique (Lansiaux, 2011; Soria *et al.*, 2013).

➤ **Inhibiteurs de topoisomérase**

Les inhibiteurs de la topoisomérase I (irinotécan et topotécan) et les inhibiteurs de la topoisomérase II (étoposide, téniposide et anthracyclines, par exemple idarubicine, daunorubicine et doxorubicine (DOX)) inhibent les activités des topoisomérases impliquées dans la réplication de l'ADN et provoquent des ruptures de brins d'ADN (Bukowski *et al.*, 2020).

➤ **Inhibiteurs du fuseau mitotique**

Les poisons du fuseau constituent un groupe de médicaments anticancéreux d'origine naturelle (Robert, 2007). Ces composés entravent la formation ou la destruction des microtubules constituant le fuseau mitotique nécessaire à la migration des chromosomes vers les deux cellules filles en cours de séparation. Ces médicaments sont phase dépendants, n'agissant que sur les cellules en mitose (Lacave *et al.*, 2005).



*Figure 1 : Classification des chimiothérapies couramment utilisées en fonction de leur mécanisme d'action (Bukowski *et al.*, 2020)*

II. DOXORUBICINE

II. 1. Historique

La recherche de composés anticancéreux à partir de micro-organismes du sol a commencé dans les années 1950. Une nouvelle souche de *Streptomyces peucetius*, qui produisait un pigment rouge vif, a été isolée, est un antibiotique a été produit à partir de cette bactérie qui s'est avéré avoir une bonne activité contre les tumeurs de souris. Le nouveau composé a été nommé daunorubicine et a été utilisé avec succès dans le traitement de la leucémie aiguë et du lymphome.

Cependant, en 1967, il a été reconnu que la daunorubicine pouvait produire une toxicité cardiaque fatale. Des chercheurs ont apporté des modifications génétiques aux *Streptomyces spp* pour produire un composé l'adriamycine, qui a ensuite été appelé doxorubicine. Bien que la doxorubicine ait un indice thérapeutique plus élevé, la cardiotoxicité continue d'être un problème majeur (Rivankar, 2014).

À ce jour, la doxorubicine est la molécule de référence la plus utilisée en chimiothérapie malgré sa cardiotoxicité élevée. Elle possède un large spectre anticancéreux y compris le cancer du sein, du poumon, de l'estomac, de l'ovaire, de la thyroïde, les lymphomes non hodgkiniens et hodgkiniens, le myélome multiple, le sarcome et les cancers pédiatriques (Thorn *et al.*, 2011; Tacar *et al.*, 2013).

II.2. Structure moléculaire

La structure chimique des anthracyclines (doxorubicine, daunorubicine ou épirubicine) est complexe (Figure 2) (Montaigne *et al.*, 2012). Elle est composée d'une structure tétra cyclique avec des groupements quinone et hydroquinone adjacents, une courte chaîne latérale avec un groupe carbonyle en C-13 et une daunosamine (aminosucrose) attachée par une liaison glycosidique au C-7 de l'anneau tétracyclique. Doxorubicine ne diffère de daunorubicine que par la présence d'un groupement hydroxyle en C-14 (Štěřba *et al.*, 2013).

L'épirubicine est un épimère de la doxorubicine qui ne diffère que par l'orientation du groupement hydroxyle en position 4' du cycle daunosamine (Khasraw *et al.*, 2012).

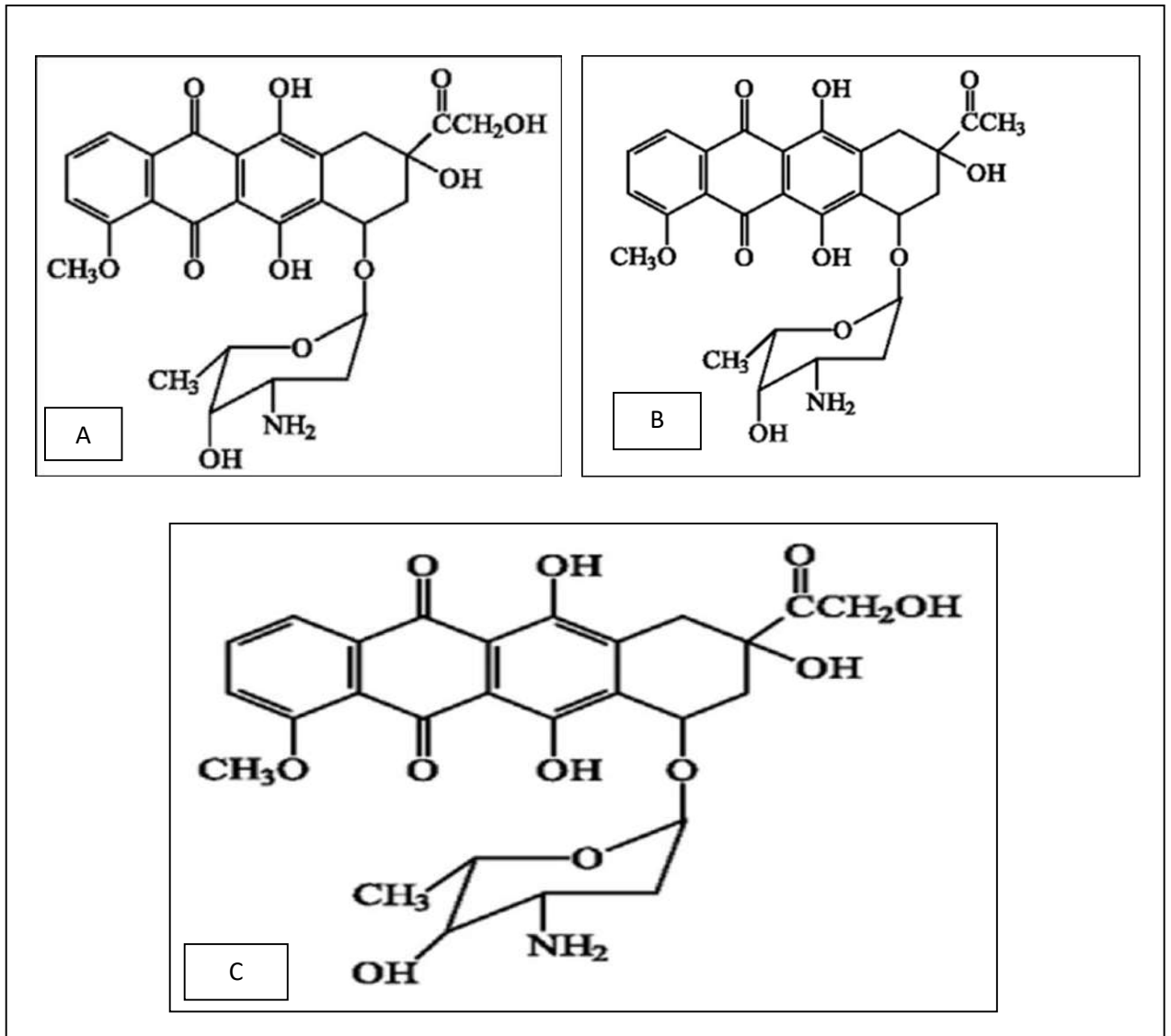


Figure 2 : Structure chimique des anthracyclines actuellement utilisées en clinique :doxorubicine (A), daunorubicine (B),et épirubicine (C) (Cutts et al., 2007; Laurent et al., 2011)

II.3. Pharmacocinétique

De nombreuses études sur la pharmacocinétique de la doxorubicine ont été menées pour évaluer l'éventail des traitements allant d'une thérapie unique ou multi-agents à une gamme de types de tumeurs. La plupart de ces études ont montré que la disposition de la doxorubicine était multiphasique après injection intraveineuse. Lorsqu'elle est perfusée par voie intraveineuse, elle est souvent suivie d'une clairance plasmatique triphasique, cela donne une demi-vie de distribution de la doxorubicine de 3 à 5 minutes, indiquant l'absorption rapide du médicament par les

cellules. La demi-vie terminale de la doxorubicine de 24 à 36 h suggère que la doxorubicine prend beaucoup plus de temps à être éliminée des tissus que son absorption (Tacar *et al.*, 2013).

La doxorubicine est largement distribuée dans le plasma et les tissus avec un volume de distribution (Vd) supérieur à 500 L/m² (Danesi *et al.*, 2002). La doxorubicine et son principal métabolite, le doxorubicinol, se lient aux protéines plasmatiques. Comme la plupart des médicaments, La doxorubicine pénètre dans la cellule par diffusion passive, s'accumulant généralement à des concentrations intracellulaires qui dépassent de 10 à 500 fois les compartiments extracellulaires. La doxorubicine dans les compartiments nucléaires est 50 fois plus élevée que dans le cytoplasme cellulaire. Plus précisément, la quantité de doxorubicine dans le noyau peut atteindre un niveau de saturation de 340 µ M , ce qui peut être représenté comme une molécule de doxorubicine étant intercalés à chaque cinquième paires de bases sur le brin d'ADN (Tacar *et al.*, 2013).

La doxorubicine est largement métabolisée dans le foie (Danesi *et al.*, 2002), dans lequel subit une réduction au niveau du C-13 pour former du doxorubicinol. La doxorubicine et le doxorubicinol subissent ensuite une hydrolyse catalysée par l'acide au niveau de leurs groupes de sucre daunosamine pour former respectivement la doxorubicinone et la doxorubicinolone. La protonation en C-7 élimine ensuite le sucre, produisant la 7-désoxydoxorubicinone et la 7-désoxydoxorubicinolone. La doxorubicine, maintenant réduite deux fois, devient une C7-désoxyglycone (Figure 3) (Meredith & Dass, 2016).

La clairance rénale de la doxorubicine est faible et environ 12% de la dose totale est récupérée dans l'urine pendant 6 jours après le traitement. Cependant, la clairance hépatique est élevée, avec plus de 50% du médicament excrété dans la bile dans les 7 jours suivant le traitement. Par conséquent, l'élimination biliaire et l'excrétion fécale du composé d'origine et de ses métabolites sont d'une importance clinique majeure. Environ 10 à 20% et 40 à 50% de la dose sont excrétés dans les fèces en 24 et 150 heures, respectivement. Environ 50% de la dose biliaire éliminée est un médicament inchangé, 23% est du doxorubicinol et le reste se compose d'autres métabolites (Danesi *et al.*, 2002).

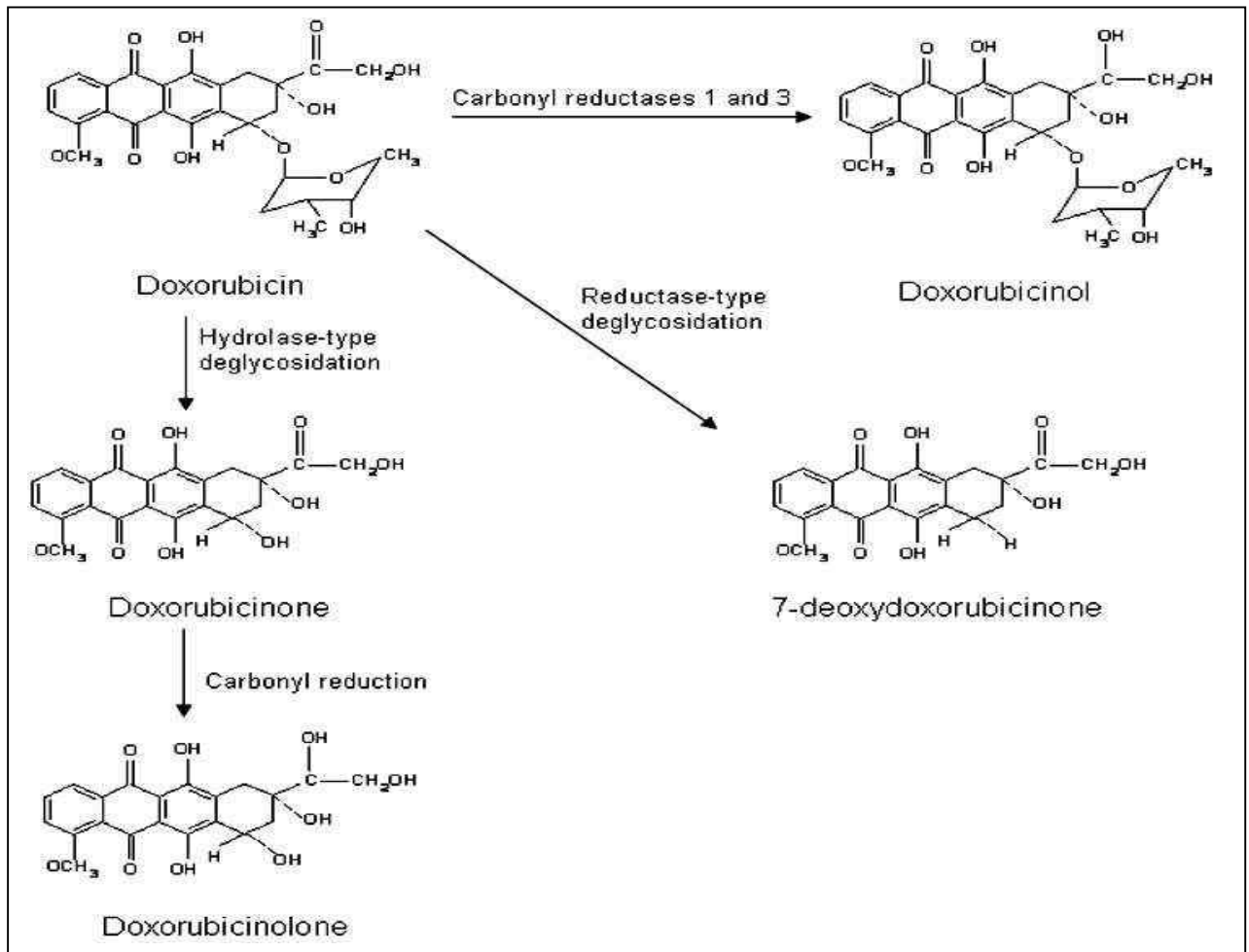


Figure 3 : La biotransformation de la doxorubicine (Lal *et al.*, 2010)

II.4. Les mécanismes de la toxicité induit par la doxorubicine

La doxorubicine utilise différents mécanismes moléculaires tels que l'inhibition de l'enzyme topoisomérase II, l'interaction avec l'ADN, perturbation de l'homéostasie du calcium, production des radicaux (Aniogo *et al.*, 2017), perturbation de l'homéostasie du fer (Xi, 2016), dysfonctionnement de l'autophagie ou l'altération du flux autophagique (Xiao *et al.*, 2019), ainsi que la production de pro-inflammatoires (Potočnik *et al.*, 2017) (Figure 4).

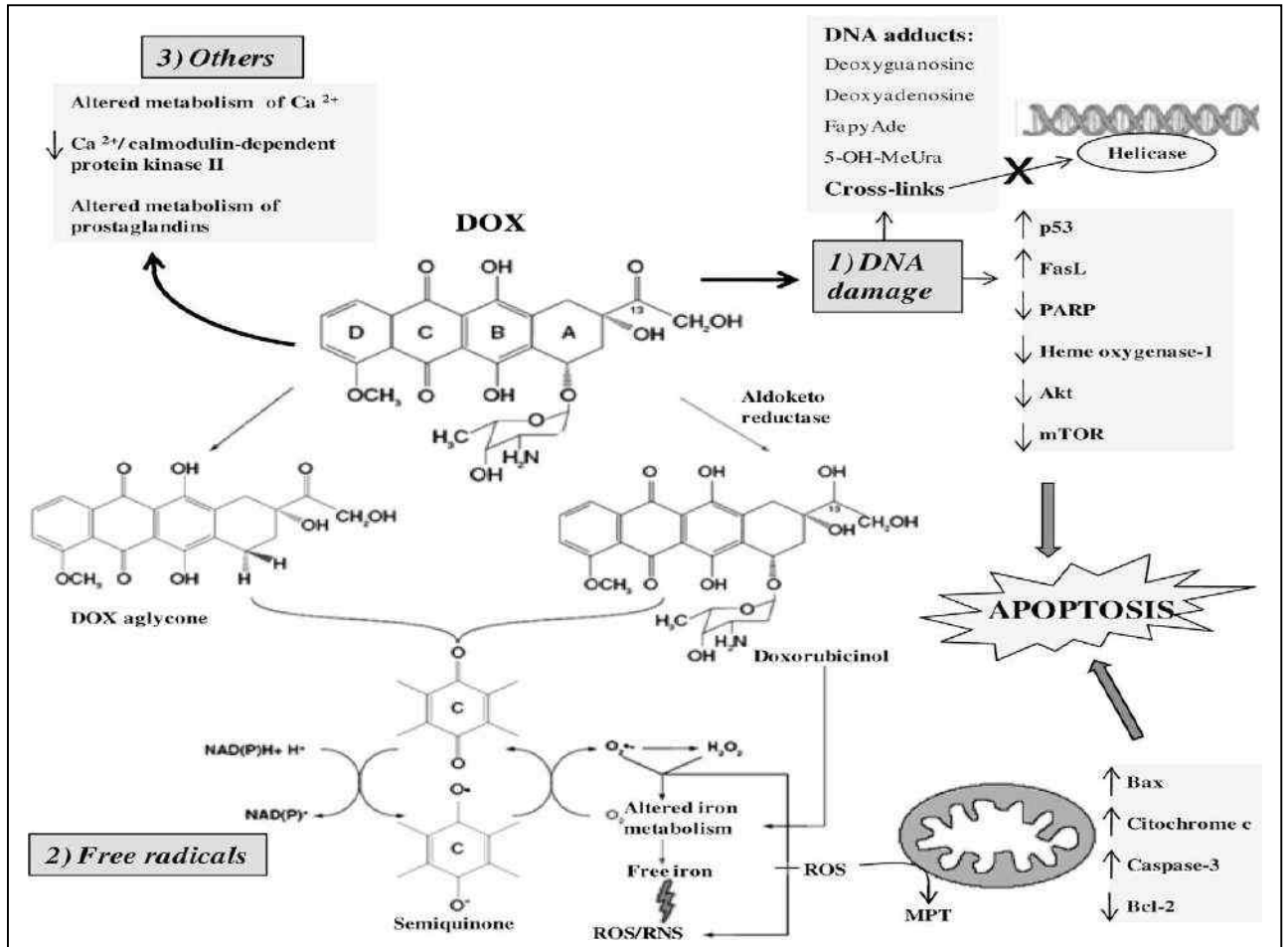


Figure 4 : Les mécanismes moléculaires de la toxicité de la doxorubicine. Les principaux événements sont : (1) les lésions de l'ADN, (2) la production de radicaux libres et (3) d'autres mécanismes (Granados-Principal et al., 2010)

II.4.1. La formation des radicaux libres

Le stress oxydatif induit par les anthracyclines est actuellement le mécanisme d'action retenu, ils sont capables d'induire une production accrue de radicaux libres oxygénés, du fait de leur structure de type quinone. Pouvant subir une réduction, catalysée par les flavines réductases (NADPH-cytochrome P-450 réductase, NADH déshydrogénase), pour aboutir à la formation d'un dérivé semi-quinone radicalaire ce dernier peut lui-même subir une réduction en hydroquinone, ou retourner à la forme quinone en cédant son électron célibataire à l'oxygène moléculaire, produisant ainsi des radicaux superoxydes (O_2^-).

Une deuxième voie de génération de radicaux libres par les anthracyclines fait intervenir la formation d'un complexe organométallique entre les anthracyclines et le fer. Au sein de la cellule, les anthracyclines stimulent la libération de l'ion ferrique Fe^{3+} (à partir de la transferrine et de la ferritine) pour former un complexe très stable : Fe^{3+} -(anthracycline)³ ce dernier peut subir un cycle

interne d'oxydoréduction, donnant naissance à un complexe radicalaire Fe^{2+} -(anthracycline)³ qui peut céder son électron supplémentaire à l'oxygène moléculaire et aboutir ainsi à la formation de radicaux O_2^- (Delemasure *et al.*, 2006; Castel *et al.*, 2013) (Figure 5). Cependant la dismutation (O_2^-) conduit à la formation de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) est catalysée par le superoxyde dismutase (SOD) ou peut se produire de façon spontanée. Le peroxyde d'hydrogène est une molécule relativement stable et peu toxique, dans des conditions physiologiques est éliminé par la catalase ou la glutathion peroxydase (Štěřba *et al.*, 2013). Par contre en présence de l'anion superoxyde peut être converti en radical hydroxyle (OH^-) qui représente le radical le plus réactif des ROS et peut endommager les protéines, les lipides, les glucides et l'ADN. Il peut également déclencher la peroxydation des lipides en prélevant un électron sur les acides gras polyinsaturés (Birben *et al.*, 2012) (Figure 5).

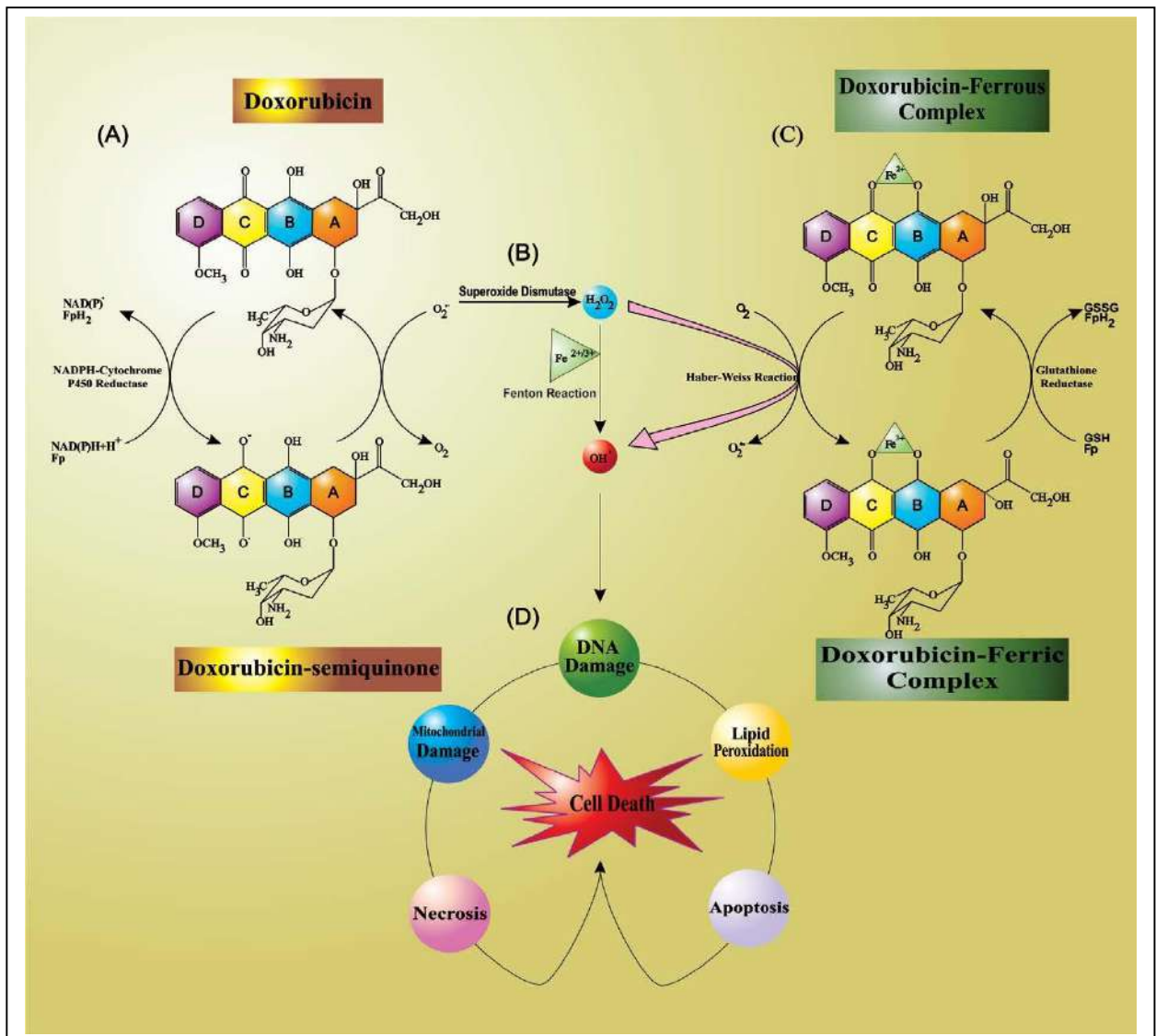


Figure 5 : Stress oxydatif induit par la doxorubicine (Mobaraki *et al.*, 2017)

II.4.2. L'inhibition de la topoisomérase II

La toxicité induite par la doxorubicine ne résulte pas uniquement du cycle redox de la DOX, mais également de l'inhibition de la synthèse de l'ADN polymérase et des acides nucléiques par intercalation avec l'ADN (Nebigil & Désaubry, 2018).

Les ADN topoisomérases sont des enzymes essentielles présentes dans tous les organismes cellulaires avec des rôles critiques dans le métabolisme de l'ADN. Ces enzymes suppriment les contraintes de torsion générée dans l'ADN au cours de la réplication, la transcription, l'organisation du génome 3D et la ségrégation des chromosomes. Selon leur mécanisme d'action, les ADN topoisomérases sont classées en deux types selon qu'elles coupent un seul brin (type I) ou deux brins (type II) de la double hélice d'ADN (Gómez-Herreros, 2019).

L'inhibition de la topoisomérase II est un autre des mécanismes cytotoxiques de la doxorubicine. En effet, la DOX est capable de se lier à cette enzyme et crée un complexe covalent DOX-DNA-TOP2 ceci stabilise la réaction intermédiaire dans laquelle les brins d'ADN sont clivés et liés aux résidus tyrosine de TOP2, le ciblage de cette dénaire entraînant le clivage de l'ADN et la mort cellulaire (Granados-Principal *et al.*, 2010; Meredith & Dass, 2016) (Figure 6).

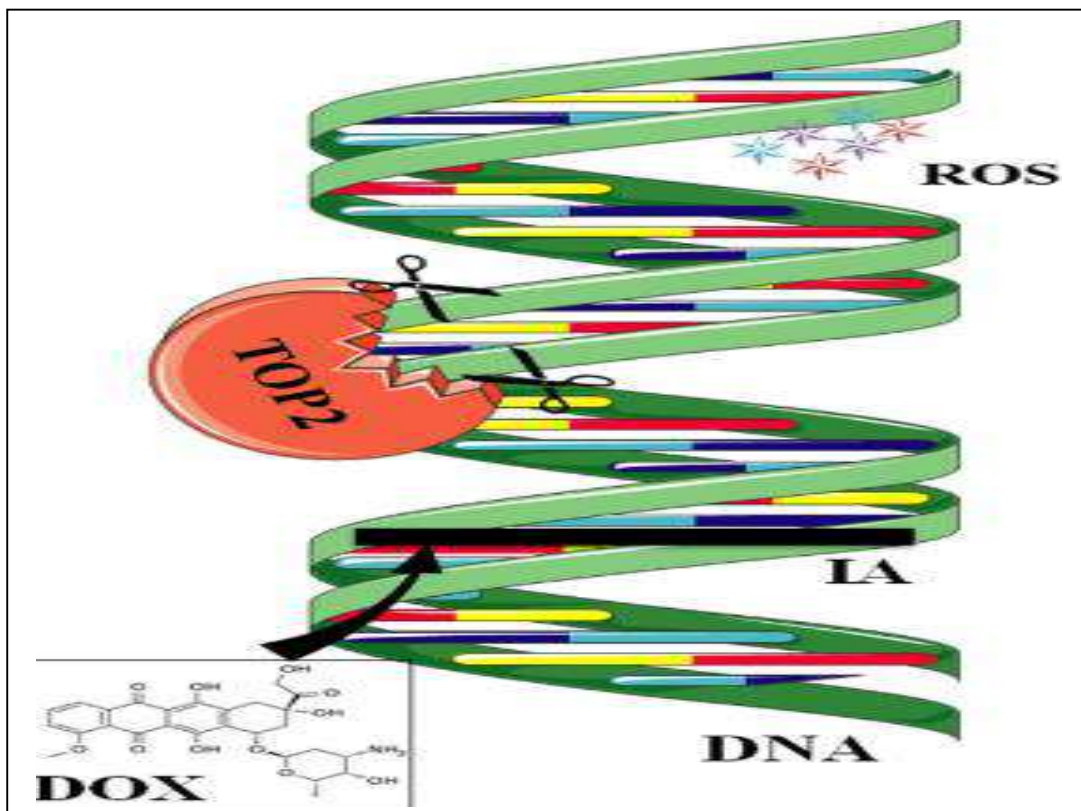


Figure 6 : L'inhibition de la topoisomérase II par la doxorubicin (Corremans *et al.*, 2019)

II.4.3. L'interaction avec les bases azotées de l'ADN

Les anthracyclines comme la doxorubicine sont la plupart des molécules intercalées préférentiellement dans les sites adjacents aux paires de bases guanine-cytosine en raison de la formation d'une liaison d'hydrogène spécifique entre la DOX et la guanine. Des adduits peuvent également se former entre doxorubicine et l'ADN par des liaisons covalente médiée par le formaldéhyde cellulaire qui est généré par des réactions de radicaux libres à partir de sources de carbone telles que les lipides et la spermine (Yang *et al.*, 2014).

L'intercalation dans l'ADN peut déformer la structure polynucléotidique et entraîner une inhibition des enzymes liées à la réplication et la transcription de l'ADN. En raison de l'insertion de la région tétracyclique dans les paires de bases de l'ADN (Pérez-Arnaiz *et al.*, 2014) (Figure 7).

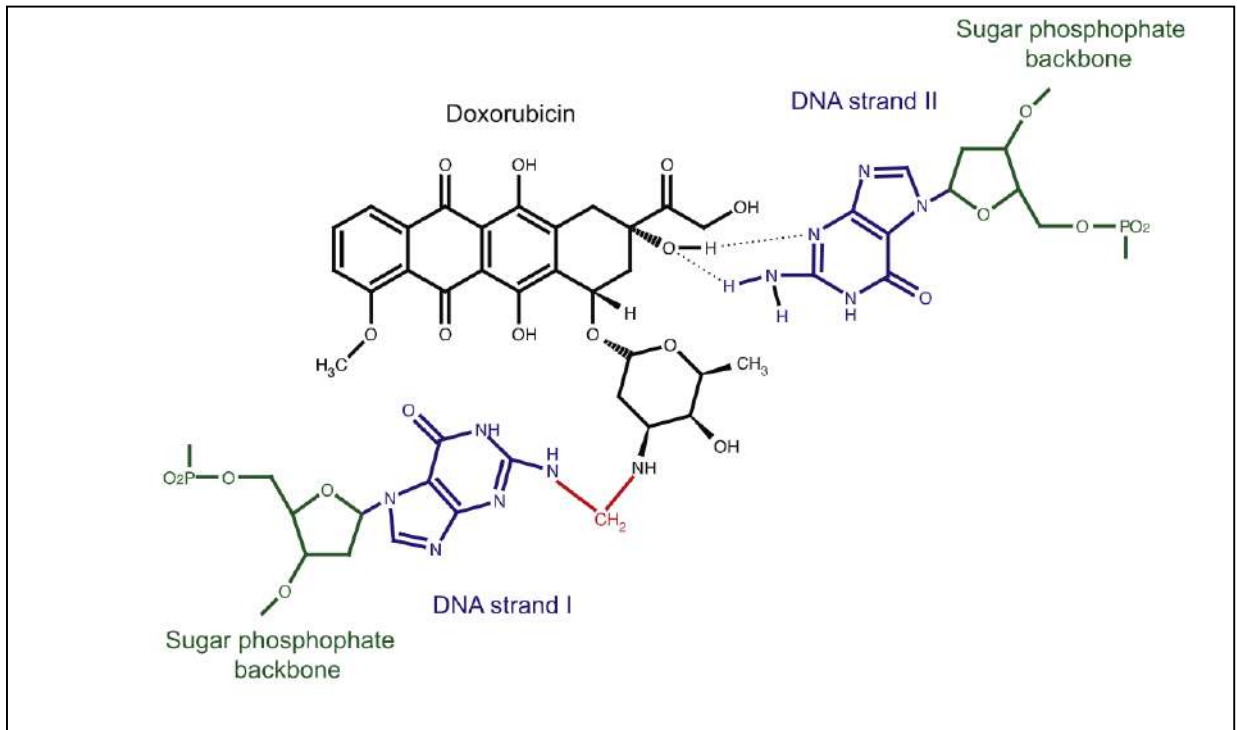
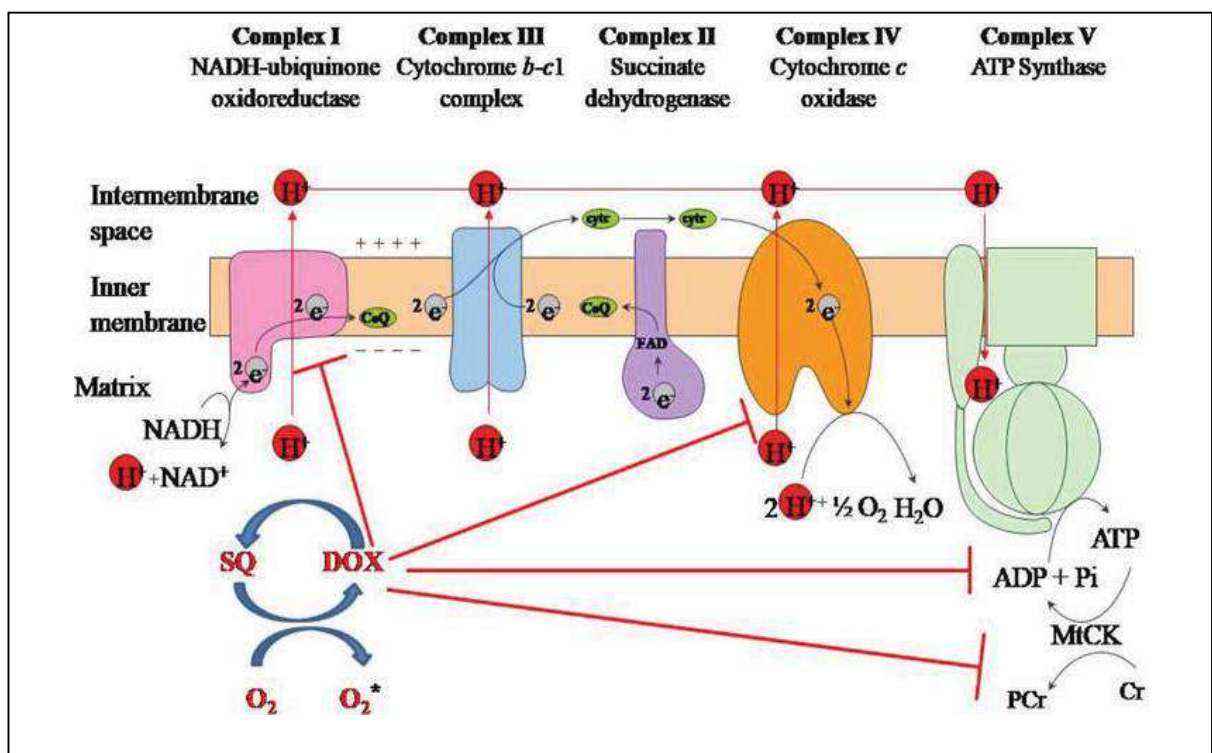


Figure 7 : Structure du complexe doxorubicine-ADN. La doxorubicine forme une liaison covalente (représentée en rouge) avec la guanine sur un brin de l'ADN par l'intermédiaire du formaldéhyde et des liaisons hydrogène avec la guanine sur le brin opposé (Yang *et al.*, 2014)

II.4.4. Le dysfonctionnement mitochondrial

Les mitochondries, organites présents dans toutes les cellules du corps humain à l'exception les érythrocytes, jouent un rôle central dans la production d'énergies. Le dysfonctionnement mitochondrial a récemment été reconnu comme un élément central du développement de la cardiotoxicité induite par le DOX.

Il a été démontré que le DOX cible spécifiquement les mitochondries et s'accumule dans ces organites à des concentrations 100 fois supérieures à celles du plasma. Cette accumulation est due à la nature cationique du doxorubicine et anionique du cardiolipine (un composant phospholipidique majeur qui se trouve à la membrane mitochondriale interne). La liaison du DOX à la cardiolipine entraîne la formation d'un complexe irréversible, qui inhibe la phosphorylation oxydative car il rend la cardiolipine incapable d'agir comme cofacteur pour les enzymes respiratoires mitochondriales présentes dans la chaîne de transport d'électrons telle que la cytochrome C oxydase, la NADH cytochrome C oxydoréductase ce qui entraîne une cardiotoxicité (Govender *et al.*, 2014; Renu *et al.*, 2018) (Figure 8).



*Figure 8 :Effet de la doxorubicine et de ses dérivés sur le système de transport d'électrons et la production d'énergie mitochondriale (Guyen *et al.*, 2018)*

II.4.5. Altération de l'homéostasie calcique par la doxorubicine

La perte d'homéostasie calcique est un autre effet de la doxorubicine, il a été démontré que la DOX peut se lier aux récepteurs de la ryanodine (RYR2) et l'ouvrir, ce qui contribue à la libération de Ca^{2+} du réticulum sarcoplasmique (SR) et augmente les niveaux de Ca^{2+} dans le cytoplasme, entraînant l'activation des protéines contractiles et le déclenchement de la contraction musculaire. Il a été suggéré que l'absorption du Ca^{2+} dans le SR et la restauration des niveaux de

Ca²⁺ du SR sont inhibées par la modification redox de SERCA2A par le doxorubicinol (métabolite de la DOX), ce qui entraîne une surcharge calcique (Todorova *et al.*, 2020).

De plus, l'homéostasie normale du calcium est altérée par les ROS et le peroxyde d'hydrogène via la perturbation de la fonction normale du réticulum sarcoplasmique. Ceci est accompli par l'inhibition des pompes Ca²⁺ATPase, causée par la réduction de l'expression des niveaux d'ARNm de SERCA2a et/ou l'activation directe des canaux de libération de calcium ryanodine eux-mêmes (Dos Santos & Dos Santos Goldenberg, 2018). Une étude réalisée sur les cardiomyocytes des rats adultes a montré que l'augmentation de la concentration de Ca²⁺ est inhibée par le prétraitement avec des chélateurs Ca²⁺ ou des inhibiteurs de RYR (Kim *et al.*, 2006).

En outre, une autre voie est impliquée dans l'augmentation du calcium intracellulaire par l'inhibition de l'enzyme conductrice du calcium l'adénosine nucléotide translocase (ANT), cela endommage la capacité des mitochondries à obtenir du calcium à partir du cytoplasme et augmente également la sensibilité à la dépolarisation mitochondriale induite par le calcium et la perméabilité accrue au MPTP (Micallef & Baron, 2020). En conséquence, une augmentation des concentrations cytoplasmiques de calcium se produit, entraînant un dysfonctionnement mitochondrial et l'apoptose. Par conséquent, la préservation de l'homéostasie du calcium est essentielle pour prévenir la cardiomyopathie induite par la DOX (Dos Santos & Dos Santos Goldenberg, 2018).

II.4.6. Perturbation de l'homéostasie du fer

Le fer est l'un des oligo-éléments essentiels de l'organisme, il est non seulement la principale matière première pour la synthèse de l'hémoglobine et de la myoglobine, mais aussi un cofacteur de nombreuses enzymes importantes dans une série de réactions redox. Il est impliqué dans d'importants processus physiologiques tels que le transport d'électrons, la respiration cellulaire et la synthèse d'ADN (Fang *et al.*, 2019).

Il est rapporté que DOX est un médicament chargé positivement et la membrane plasmique est chargée négativement ; ils peuvent donc facilement interagir l'un avec l'autre. La charge positive du DOX facilite une bonne affinité avec le fer et forme le complexe DOX-Fe, ce qui modifie le métabolisme du fer. Ce complexe interagit ensuite avec l'oxygène libre et augmente la production de ROS, responsable de l'induction de la cardiotoxicité (Rawat *et al.*, 2021).

L'homéostasie cellulaire du fer est équilibrée par les fonctions des éléments sensibles au fer (IRE) et des protéines régulatrices du fer (IRP). Les IRP se lient aux IRE situés dans les régions non traduites des ARNm codant pour les protéines impliquées dans l'absorption, le stockage,

l'utilisation et l'exportation du fer. Cependant, un niveau cellulaire élevé de fer favorise l'assemblage d'un cluster [4Fe-4S] qui induit l'activité aconitase (ACO) des IRP et abolit leur liaison aux IRE (Nebigil & Désaubry, 2018).

Il a été démontré que la doxorubicinol (DOXol), élimine le fer du groupe catalytique Fe-S de l'aconitase cytoplasmique (également connu sous le nom de protéine 1 régulatrice de fer IRP-1) et convertit cette enzyme en protéine non fonctionnelle (Rawat *et al.*, 2021). La formation de complexe fer-doxorubicine peut réduire davantage de réserve le fer libre disponible qui peut lier l'IRP. De plus, les ROS induits par la doxorubicine convertissent de manière irréversible l'IRP-1 sans fer en une protéine inactive, ainsi qu'inactivent l'IRP-2, qui n'est pas influencé par le DOXol en raison de l'absence de cluster Fe-S. Les IRP inactives se lient à leur tour aux éléments sensibles au fer (IRE) et diminuent ainsi la synthèse de ferritine, tout en augmentant celle du récepteur de la transferrine (TfR), cela améliore finalement l'absorption du fer et inhibe sa séquestration. Une étude récente rapporte que la doxorubicine peut également interagir directement avec les IREs d'ARNm des chaînes lourdes et légères de ferritine. Étant donné que la ferritine sert un porteur de fer ce qui réduit le fer libre dans la cellule, la perturbation de cette protéine entraîner une augmentation du fer libre, ce qui provoque des dommages cellulaires (Ghigo *et al.*, 2016).

D'autre part une autre étude montre que l'augmentation de la sensibilité à la cardiotoxicité induite par le DOX chez les souris conduit à une diminution du gène régulateur du fer HFE (Protéine humaine régulatrice homéostatique du fer), Ce qui aboutit à une accumulation accrue de fer dans le myocarde et provoque une cardiotoxicité (Rawat *et al.*, 2021) (Figure 9).

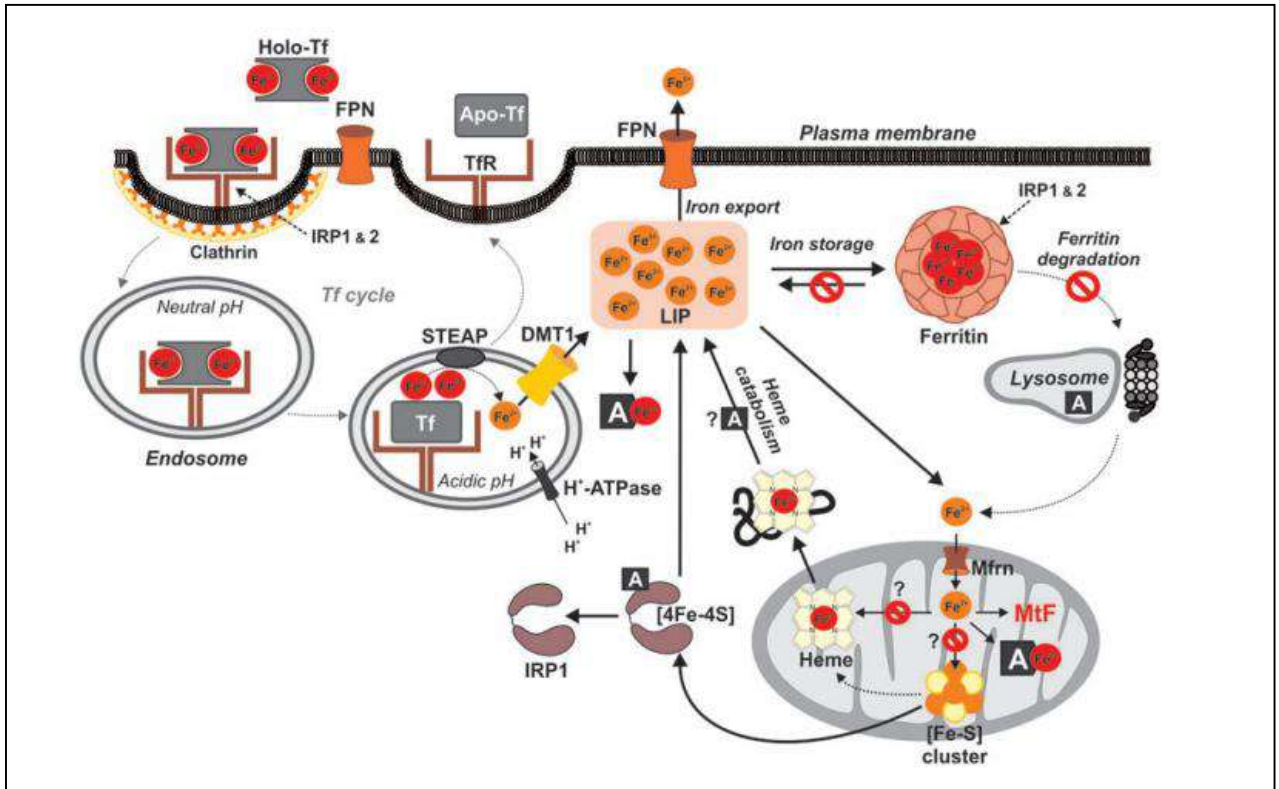


Figure 9 : Illustration schématique des changements induits par l'anthracycline dans le métabolisme du fer (Štěrba et al., 2013). DMT1, transporteur de métaux divalents 1 ; FPN, ferroportine 1 ; Mfrn, mitoferrine ; MtF, ferritine mitochondriale ; STEAP, six antigène épithélial transmembranaire de la prostate 3 ; Tf, transferrine ; TfR, récepteur de la transferrine.

II.5. Les mécanismes de la mort cellulaire induit par la doxorubicine

Tout dommage ou fragmentation de l'ADN induite par la DOX qui résulte de l'un des mécanismes mentionnés précédemment ou de tout autre mécanisme qui reste à comprendre, peut induire un certain nombre d'événements cellulaires, qui conduisent à l'arrêt de la croissance ou à la mort cellulaire. Les recherches montrent que l'apoptose, l'autophagie, la nécrose et la sénescence sont les événements cellulaires déclenchés pendant le traitement par DOX. Cependant, il a été récemment démontré que d'autres formes de mort cellulaire régulée sont également déclenchées par la DOX, en particulier la nécroptose, la pyroptose et la ferroptose sont trois types de la morts cellulaires non apoptotiques largement étudiées, qui présentent toutes des caractéristiques moléculaires uniques (Micallef & Baron, 2020; Tang *et al.*, 2020).

II.5.1. L'apoptose

L'apoptose est une forme de mort cellulaire programmée, qui joue physiologiquement un rôle dans l'embryogenèse, la métamorphose, la différenciation, la prolifération, comme mécanisme de défense pour éliminer les cellules infectées, mutées ou endommagées. Dans des conditions

normales, l'équilibre entre l'apoptose et la survie cellulaire est important dans le développement des organismes multicellulaires et dans la régulation et le maintien des populations cellulaires dans les tissus. En fait, le dysfonctionnement du programme apoptotique est impliqué dans une variété de conditions pathologiques. Ainsi, des défauts dans l'apoptose peuvent entraîner des cancers, des maladies auto-immunes et la propagation d'infections virales, tandis que les troubles neuro-dégénératifs et les maladies ischémiques sont causés ou renforcés par une apoptose excessive (Ivanova *et al.*, 2016) .

Il a été généralement admis que le stress oxydatif évoqué par la doxorubicine active la signalisation apoptotique conduisant à l'apoptose des cardiomyocytes et que les voies apoptotiques extrinsèques et intrinsèques sont impliquées (Octavia *et al.*, 2012).

➤ **Voie intrinsèque**

La voie apoptotique intrinsèque classique, également appelée voie mitochondriale (Yuan *et al.*, 2012). Elle repose sur les modifications du potentiel transmembranaire mitochondrial, qui est un indicateur clé de la perméabilité de la membrane mitochondriale. Il a été signalé que les ROS dérivés du DOX activent p53 ainsi que les voies de signalisation MAPK, p38, JNK, et NF- κ B, entraînant un déséquilibre entre les protéines pro- et anti-apoptotiques de la famille Bcl-2, par exemple, une augmentation du rapport entre Bax et Bcl-2. Un tel déséquilibre perturbe le potentiel de la membrane mitochondriale, provoquant la libération de cytochrome C dans le cytosol ce qui entraîne l'activation de la caspase-9 par la formation du complexe apoptosome entre la molécule adaptatrice de caspase Apaf-1, le cytochrome C et la pro-caspase-9 (Kalyanaraman *et al.*, 2002; Angsutararux *et al.*, 2015; Sarosiek *et al.*, 2017). Ce complexe entraîne l'activation de la caspase-3 qui induit le clivage de substrats supplémentaires, tels que la PARP la gelsoline et la protéine kinase C-delta (Yuan *et al.*, 2012).

➤ **Voie extrinsèque**

La voie extrinsèque est initiée par des ligands extracellulaires tels que le ligand Fas (FasL), le facteur de nécrose tumorale alpha (TNF- α) et le ligand induisant l'apoptose lié au TNF (TRAIL) se lient aux récepteurs de mort pro-apoptotiques sur la membrane cellulaire et déclenchent le recrutement des protéines cytosoliques associées au Fas via le domaine de la mort (FADD) et protéine du domaine de la mort associée au TNFR (TRADD). FADD et TRADD recrutent la caspase 8 et la caspase 8 activée peut activer la caspase 3, ce qui entraîne l'apoptose.

Il a été démontré que la doxorubicine induit la voie apoptotique extrinsèque par la régulation de Fas. Cela peut être dû au fait que la doxorubicine régule négativement l'expression du Fas soluble, un inhibiteur de FasL. Il a également été suggéré qu'elle pourrait être due à l'activation de la voie de signalisation calcium/calciéurine, qui active la cellule T4 activée par le facteur nucléaire (NFATc4) et NF-κB et entraîne une régulation positive de Fas/FasL et p53; et la régulation négative de FLIP, une protéine inhibitrice de FLICE/caspase-8, qui induit la mort cellulaire médiée par Fas (Meredith & Dass, 2016; Christidi & Brunham, 2021).

Les voies extrinsèque et intrinsèque conduisent à l'activation de caspases effectrices (caspase 3,6 et 7), conduisant à la mort cellulaire apoptotique qui se caractérise par la condensation et la fragmentation des noyaux et le clivage de l'ADN chromosomique en fragments qui sont ensuite emballés dans des corps apoptotiques (Meredith & Dass, 2016) (Figure 10).

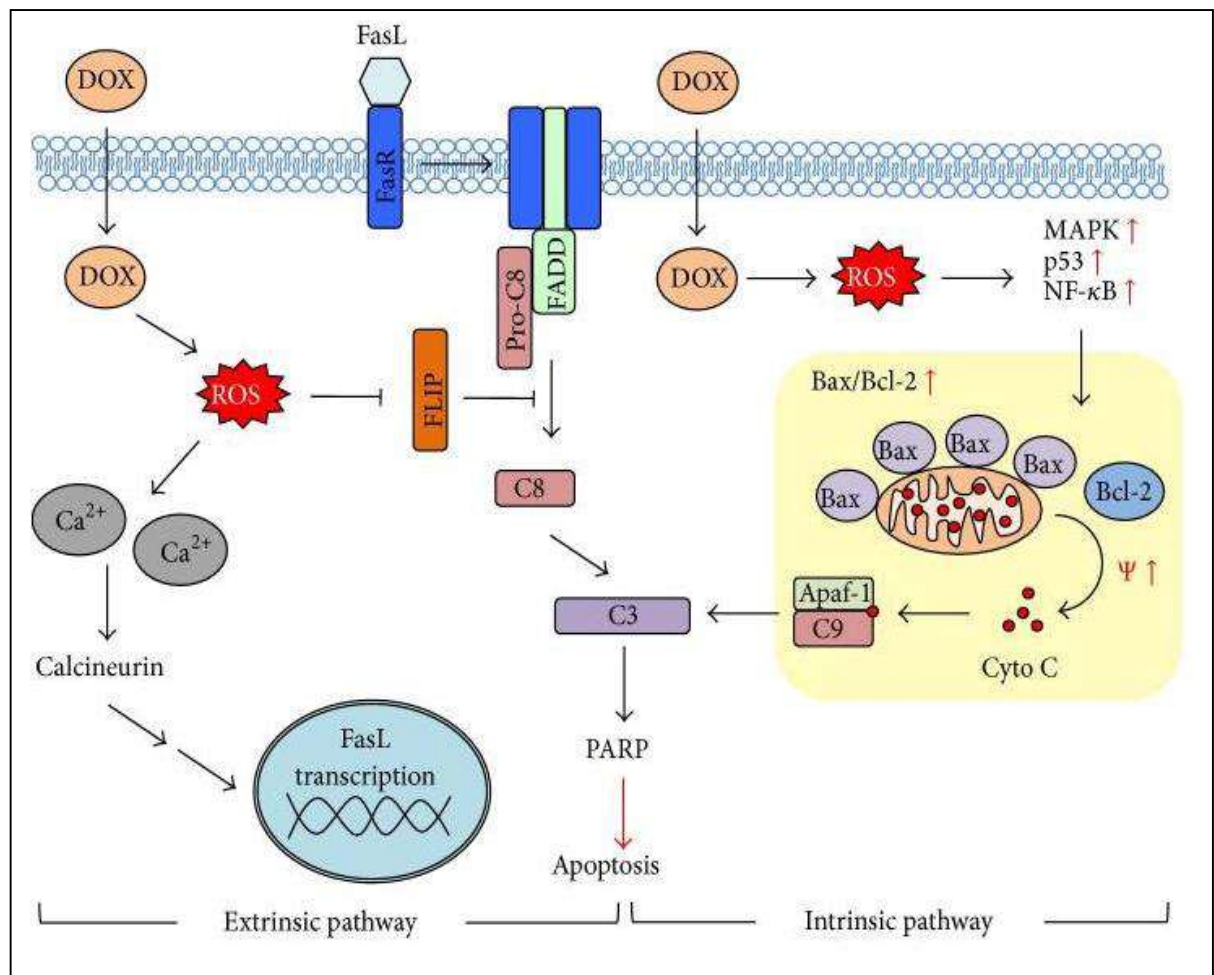


Figure 10: Représentation schématique de l'apoptose induite par DOX et l'implication de ROS
(Angsutararux et al., 2015)

II.5.2. L'autophagie

L'autophagie est un processus cellulaire naturel qui se produit pour le maintien de l'homéostasie cellulaire. Pendant l'autophagie, la dégradation catabolique se produit pour recycler les composants cellulaires inutiles et dysfonctionnels, les organites endommagés et les agrégats de protéines. Il élimine également les agents pathogènes intrusifs pour protéger notre corps contre diverses maladies infectieuses et autres troubles, y compris le cancer (Kondapuram *et al.*, 2019).

Un dysfonctionnement autophagique peut entraîner l'accumulation des protéines mal repliées ou endommagées, perturbant par inadvertance l'homéostasie cardiaque. Des altérations de l'homéostasie autophagique ont été observées dans diverses pathologies cardiaques, telles que le stress oxydatif ou la reperfusion d'ischémie (Cao *et al.*, 2017).

L'autophagie est régulée par un ensemble des gènes appelés gènes liés à l'autophagy (ATG) conservés au cours de l'évolution. En plus des protéines ATG, plusieurs autres protéines ont été impliquées dans la régulation de l'autophagie (Gozuacik *et al.*, 2017).

L'activation ou l'inhibition de l'autophagie dépend la cible de la rapamycine chez les mammifères (mTOR), car la voie est initiée lorsqu'il y a une augmentation du rapport adénosine monophosphate/adénosine triphosphate (AMP / ATP) due à un état de faible énergie dans la cellule, cela active ensuite l'AMPK ce qui conduisant à l'inhibition de mTOR, qui est responsable de la phosphorylation de Atg13 et Unc-like-51 kinase 1 (Ulk1) (Meredith & Dass, 2016). Pendant la famine, la dissociation de mTOR du complexe Atg13-FIP200-Ulk1 entraîne la déphosphorylation de Atg13 et Ulk1. Ceci active Ulk1, qui ensuite phosphoryle Atg13 et la protéine d'interaction de la de la famille des kinases à adhésion focale (FIP200), ce qui entraîne la formation de la membrane pré-autophagosomale (Czarny *et al.*, 2015).

La nucléation et le recrutement de nombreuses protéines d'ancrage ont alors lieu, tels que Beclin 1, qui est ensuite phosphorylée par ULK1, qui active à son tour le tri des protéines vacuolaires 34 (Vps34) et Vps15. Les Vps 34-15 recrutent ensuite plusieurs protéines Atg et conduit à la formation de l'autophagosome. Par la suite, l'autophagosome mûrit et s'allonge. À ce stade, la protéine LC3-I (protéine associée aux microtubules 1A/1B-light chain 3), une protéine clé dans la biosynthèse de l'autophagosome, devient lipidée pour former la LC3-II mature et la protéine p62, un récepteur de cargaison se liant à l'ubiquitine, qui trie les protéines, les organites et autres agrégats au sein de l'autophagosome. Enfin, lors de la dernière étape de l'autophagie, l'autophagosome fusionne avec le lysosome, où des protéases dégradent l'autophagosome et ses

compartiments, entraînant la dégradation ou le recyclage des composants endommagés (Christidi & Brunham, 2021).

Plusieurs études ont montré que le traitement DOX affecte l'autophagie, cependant, il n'est pas encore clairement élucidé comment DOX modifie ce processus. Des études antérieures sur ce sujet ont montré de nombreux résultats controversés. Des études récentes ont démontré que la DOX peut entraîner une dérégulation de la plupart des processus du métabolisme énergétique du myocarde, comme la voie de signalisation de la protéine kinase activée par l'AMP (AMPK). L'AMPK est un capteur majeur de l'homéostasie énergétique cellulaire. De faibles niveaux d'énergie cellulaire et une augmentation des espèces réactives de l'oxygène (ROS) entraînent la phosphorylation et l'activation de l'AMPK, qui est capable d'induire des processus autophagiques (Zilinyi *et al.*, 2018).

Cependant, d'autres études ont montré que l'administration de DOX inhibe l'acidification des lysosomes, ce qui entraîne une perturbation du flux d'autophagie (Li *et al.*, 2016).

Une étude a ainsi montré que la doxorubicine supprime la protéolyse lysosomale, ce qui entraîne une accumulation d'autophagosomes et d'autolysosomes favorisant la production de ROS et la mort cellulaire (Christidi & Brunham, 2021). De plus, elle peut augmenter le niveau d'expression de la protéine LC3, ce qui entraîne la mort des cardiomyocytes. En outre, des essais *in vitro* ont démontré que la DOX peut réguler positivement la protéine pro-autophagie Beclin-1 et induire l'apoptose des cardiomyocytes (Xiao *et al.*, 2019) (Figure 11).

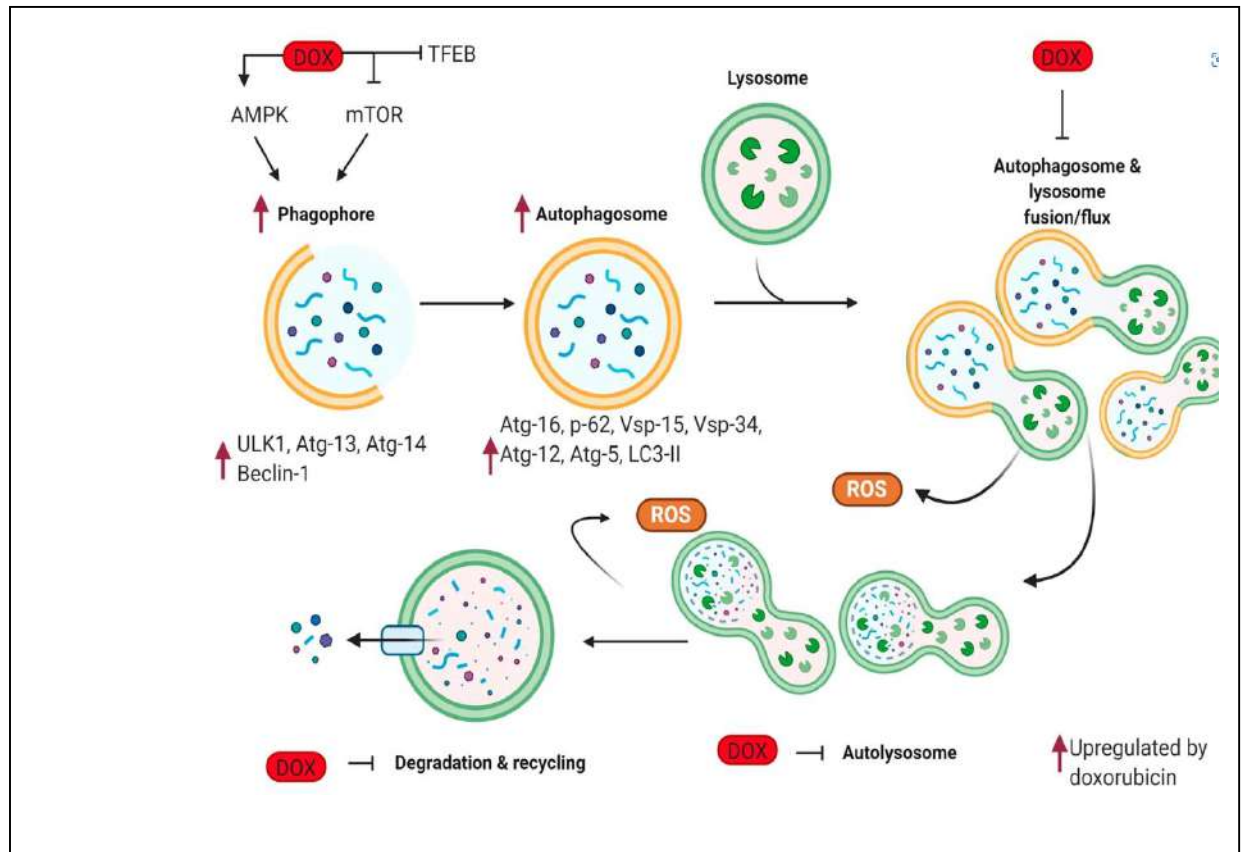


Figure 11 : L'induction schématisée de l'autophagie pendant le traitement à la doxorubicine (Christidi & Brunham, 2021)

II.5.3. La Nécrose

La nécrose est généralement décrite comme une rupture précoce de la membrane plasmique et un gonflement des organites cytoplasmiques, en particulier des mitochondries, et est souvent décrite comme un processus incontrôlé et indépendant de l'énergie. Cependant, des études récentes ont montré que la mort cellulaire nécrotique peut être bien contrôlée et programmée. De nombreuses études ont montré une augmentation l'expression cardiaque de cytokines pro-inflammatoires, de l'infiltration des cellules inflammatoires et une nécrose dans les cœurs des souris traités à la doxorubicine (Zhang *et al.*, 2009).

La nécrose est généralement stimulée lorsque les niveaux d'ATP sont épuisés, ce qui réduit la probabilité de survie de la cellule. Les actions cytotoxiques causées par la DOX, les dommages à l'ADN et le stress oxydatif, peuvent stimuler cette voie de mort cellulaire. En effet, les ROS générés par la DOX entraînent une augmentation des concentrations de calcium mitochondrial, ce qui entraîne une diminution de l'ATP en raison de l'ouverture du MPTP dépendant de la

cyclophiline D et du gonflement mitochondrial. De plus, le doxorubicine active PARP-1 et le membre X de la famille des histones H2A (H2AX), entraînant la nécrose programmée de la cellule.

D'autre part, une autre voie de nécrose programmée est également déclenchée par les protéines du récepteur de mort TNF et le ligand induisant l'apoptose lié au TNF (TRAIL), qui stimulent la protéine interagissant avec le récepteur (RIP) en inhibant la caspase 8. L'activation de RIPK1 active à son tour RIPK3, ce qui entraîne une régulation positive de MLKL et la nécroptose (Meredith & Dass, 2016; Micallef & Baron, 2020).

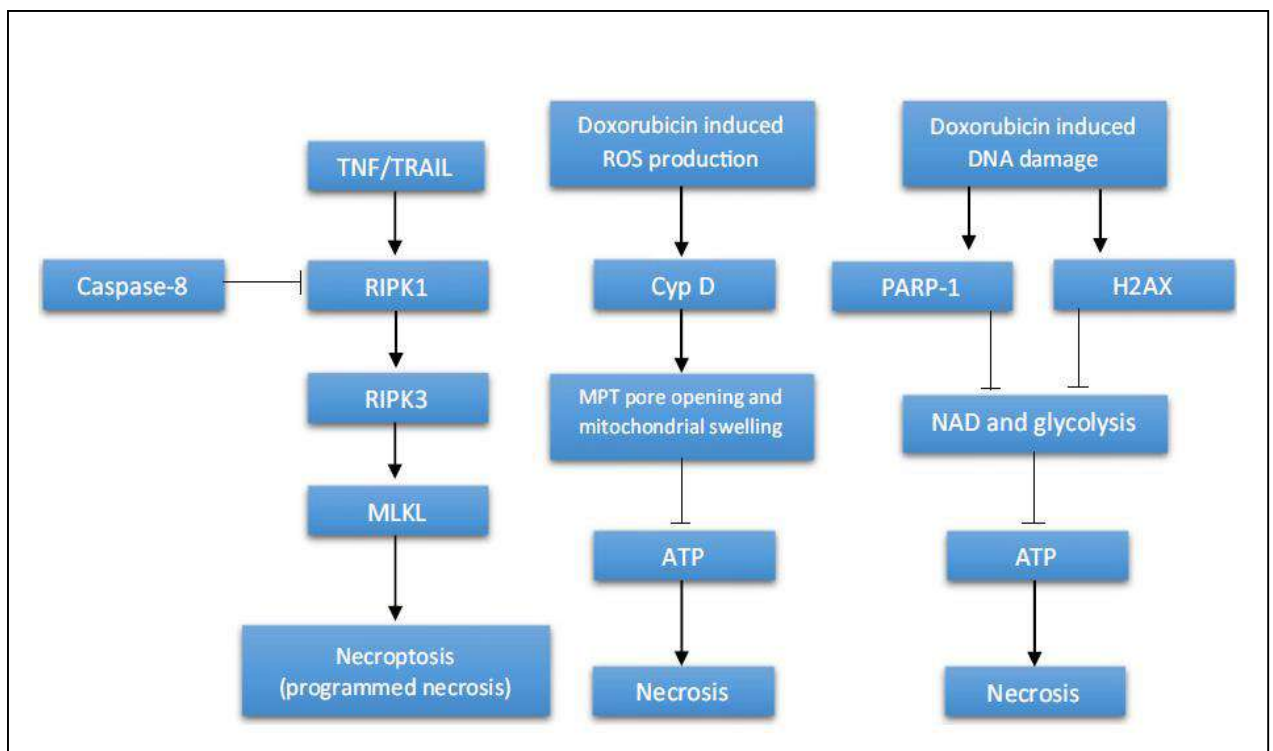


Figure 12 : Représentation schématique de la nécrose induit par la doxorubicine (Meredith & Dass, 2016)

II.5.4. La sénescence

La sénescence cellulaire est caractérisée par une série de changements morphologiques et physiologiques incluant un blocage irréversible de la prolifération (Bielak-Zmijewska *et al.*, 2014).

La DOX peut également déclencher l'arrêt de la division et de la prolifération des cellules tout en restant actives, ce qui donne lieu au phénomène de sénescence. Les voies impliquées dans l'inhibition de la croissance cellulaire sont similaires à celles impliquées dans le déclenchement d'autres voies de mort cellulaire. La DOX stimule la protéine p53, ce qui entraîne la régulation positive de la protéine kinase cycline-dépendante (cdk) p21 et la régulation négative de cdc2/cdk.

D'autre part, il a été démontré que cette voie se produit même sans la protéine p53, indiquant que p21 et le cycle de division cellulaire 2 (cdc2) ont des rôles vitaux dans l'induction de la sénescence, et que p53 n'est pas un élément critique. La sénescence s'est avérée être une voie alternative utilisée par les cellules lorsque l'apoptose est inhibée. Cependant, d'autres ont montré que l'autophagie est déclenchée lorsque les cellules ne peuvent pas subir d'apoptose, la sénescence étant une réponse secondaire en aval lorsque les deux sont inhibées (Meredith & Dass, 2016; Micallef & Baron, 2020) (Figure 13).

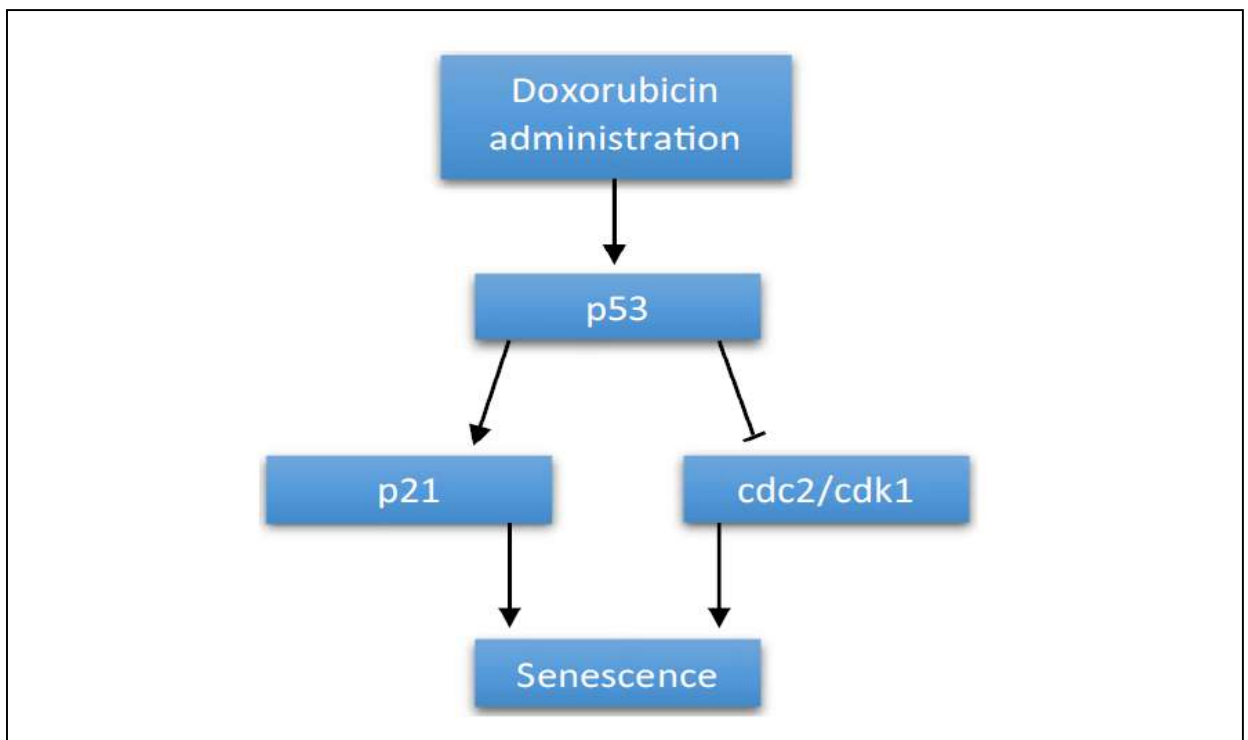


Figure13 : Représentation schématique de la sénescence induit par la doxorubicine (Meredith & Dass, 2016)

II.6. Autres formes de mort cellulaire régulée : Nécroptose, Pryoptose et Ferroptose

II.6.1. Nécroptose

La nécroptose est une nouvelle forme de mort cellulaire programmée, qui est différente de l'apoptose et de la nécrose traditionnelles (Yu *et al.*, 2020). Contrairement à la nécrose, la nécroptose est régulée par un mécanisme de transduction spécifique dans lequel le récepteur de mort TNFR1 joue un rôle clé dans le développement de la nécroptose.

L'activation de TNFR1 peut stimuler RIPK1 qui recrute ensuite RIPK3, ce qui entraîne la formation de nécrosomes. En outre, l'activation séquentielle de RIPK3/MLKL est également essentiel dans la signalisation de la nécroptose, la MLKL phosphorylée peut détruire la membrane

plasmique et les organites pour libérer des facteurs inflammatoires, et déclencher une réponse immunitaire, ce qui indique l'apparition de la nécroptose. D'autre part, il a été démontré que RIPK3 est activé par DOX pour se lier à la CaMKII phosphorylée, provoquant l'ouverture des pores de transition de perméabilité mitochondriale (MPTP) et entraînant une nécroptose (Ma *et al.*, 2020) (Figure 14).

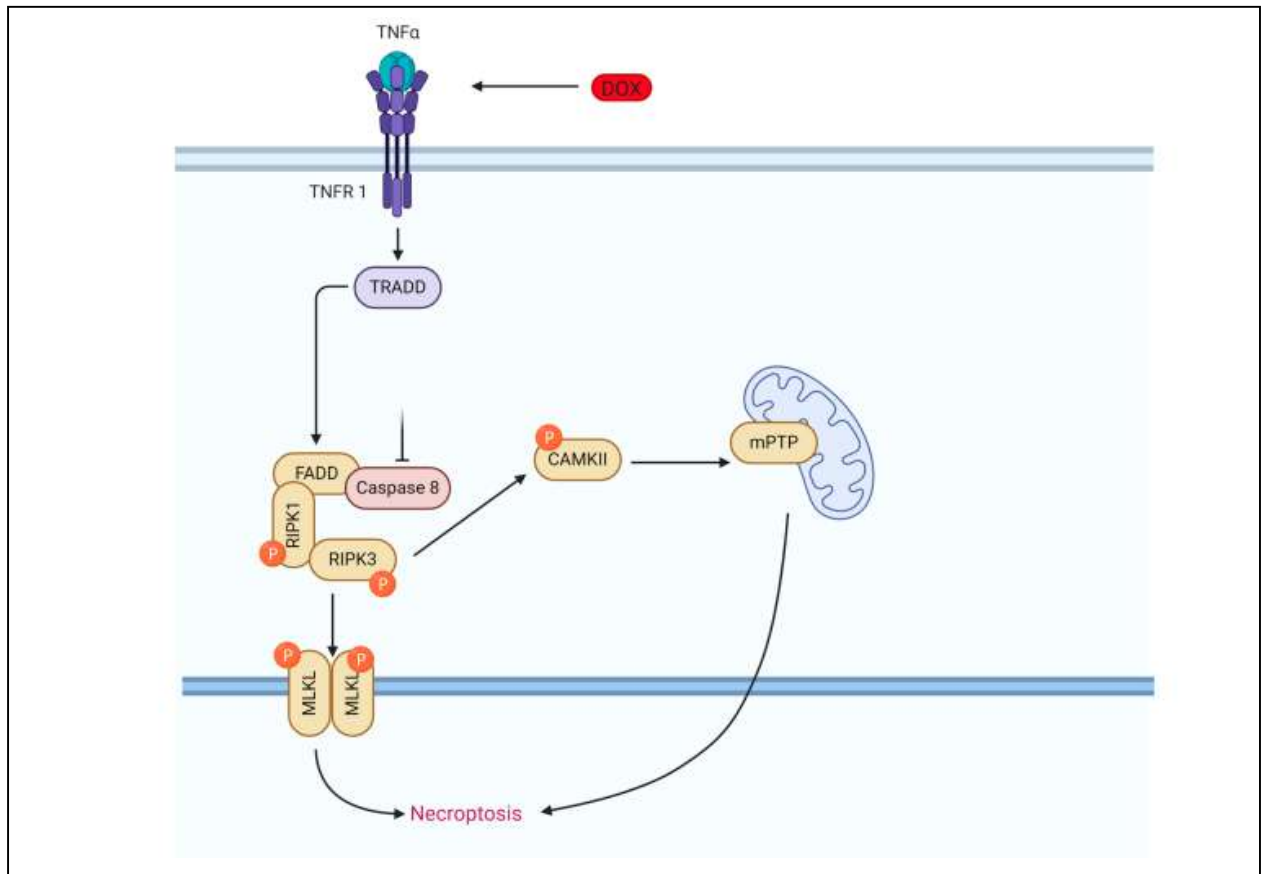


Figure 14 : Représentation schématique de la nécroptose induite par la doxorubicine (Christidi & Brunham, 2021)

II.6.2. Pyroptose

La pyroptose est un processus de mort cellulaire induit par l'immunité naturelle (Zhang *et al.*, 2022), ce qui caractérise par l'expansion continue des cellules jusqu'à la rupture des membranes cellulaires, ce qui entraîne la libération du contenu cellulaire et l'activation d'une forte réponse inflammatoire (Yu *et al.*, 2019).

La pyroptose peut être déclenchée par des caspases pyroptotiques, telles que la caspase-1, -4, -5 et -11, et est étroitement associée à l'activation de l'inflammasome. La caspase-1 est activée par des capteurs et des récepteurs de l'immunité innée, tels que le domaine pyrine de la famille NLR 3 (NLRP3) l'activation de ce dernier conduisant au clivage de la gasdermine D (GSDMD) et

à la rupture de la membrane plasmique qui permet la libération d'interleukine-1 β (IL-1 β) et d'IL-18.

Il a été démontré que la pyroptose induite par la doxorubicine se produit via la régulation positive de l'ARN non codant induit par la différenciation terminale (TINCR), qui recrute l'IGF2BP et augmente l'expression de NLRP3, ce qui entraîne l'activation de la caspase-1, le clivage de GSDME-N et la libération de IL-1 β , IL-18. L'inhibition de NLRP3 par le MCC950 a protégé les cellules de la mort cellulaire induite par la doxorubicine.

Par ailleurs, une autre voie par laquelle la doxorubicine déclenche la pyroptose qui agit par l'activation de Bnip3 dans les mitochondries a également été démontrée. La doxorubicine augmente l'expression de la protéine Bcl-2/adénovirus E1B 19-kDa interagissant avec la BH3 uniquement (Bnip3) qui à son tour active la caspase 3 et provoque une pyroptose dépendante du GSDME (Christidi & Brunham, 2021 ; Zhang *et al.*, 2022) (Figure 15).

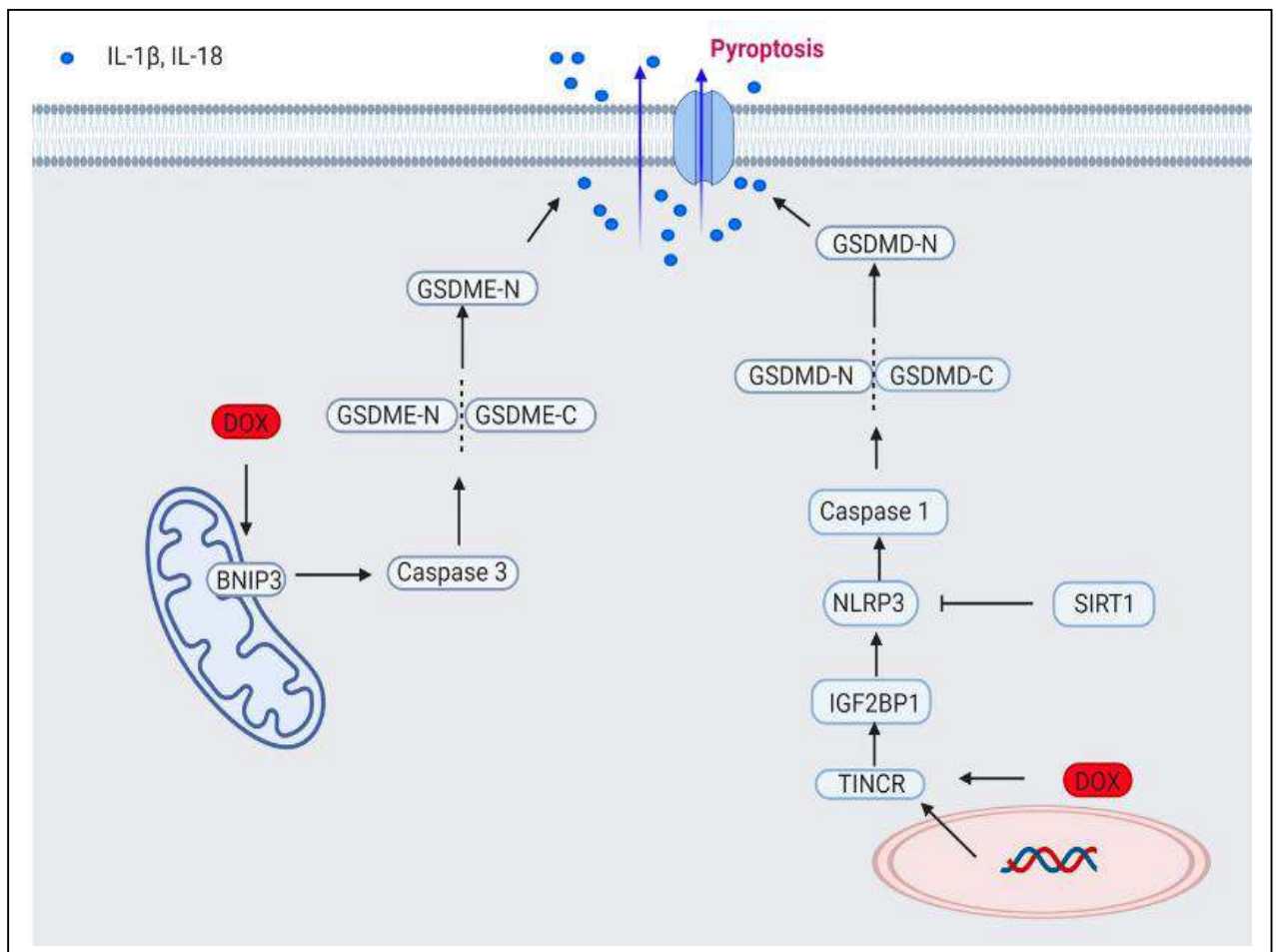


Figure 15 : Représentation schématique de la pyroptose induite par la doxorubicine dans le cœur (Christidi & Brunham, 2021)

II.6.3. Ferroptose

La ferroptose, une nouvelle forme de mort cellulaire régulée, se caractérise par une augmentation de la peroxydation lipidique dépendante du fer et des dommages aux structures membranaires biologiques (Liu *et al.*, 2020).

Il a été démontré que le traitement par DOX facilite la libération de Fe^{2+} et forme un complexe DOX- Fe^{2+} dans les mitochondries, ce qui a conduit à l'accumulation de ROS et a entraîné une ferroptose dépendant de la peroxydation lipidique. L'acyl-CoA thioestérase 1 (Acot1) est une enzyme importante dans le métabolisme des lipides et est inhibée par le traitement DOX. Des études réalisées sur des souris montrent que la surexpression d'Acot1 augmente les antioxydants GSH et inhibe la peroxydation lipidique dans les cardiomyocytes, ce qui permet de rétablir les niveaux de ferroptose induits par la DOX. Tandis que l'inactivation d'Acot1 rendait le cœur plus vulnérable à la ferroptose induite par DOX (Kong *et al.*, 2022).

De plus, les souris traitées par DOX ont présenté une fonction systolique cardiaque réduite et un taux de mortalité accru, tandis que le co-traitement par Fer-1 a réduit la cardiotoxicité et la mortalité par DOX. Fer-1 est un inhibiteur moléculaire de la ferroptose, et son activité anti-ferroptotique est liée au piégeage des hydroperoxydes lipidiques initiés par le fer ferreux. L'effet protecteur de Fer-1 sur la cardiotoxicité induite par la doxorubicine suggère également que la ferroptose pourrait être l'un des mécanismes fondamentaux de ce processus (Liu *et al.*, 2020; Miotto *et al.*, 2020) .

D'autre part, le glutathione peroxidase 4 (GPx4) est un piègeur endogène de la peroxydation lipidique (PL), est un régulateur clé de la ferroptose (Angeli *et al.*, 2014), de plus, Tadokoro et ses collaborateurs ont montré que la régulation négative de GPx4 et la production excessive de la peroxydation lipidique induisent de manière synergique la ferroptose sous traitement par DOX (Tadokoro *et al.*, 2020) (Figure 16).

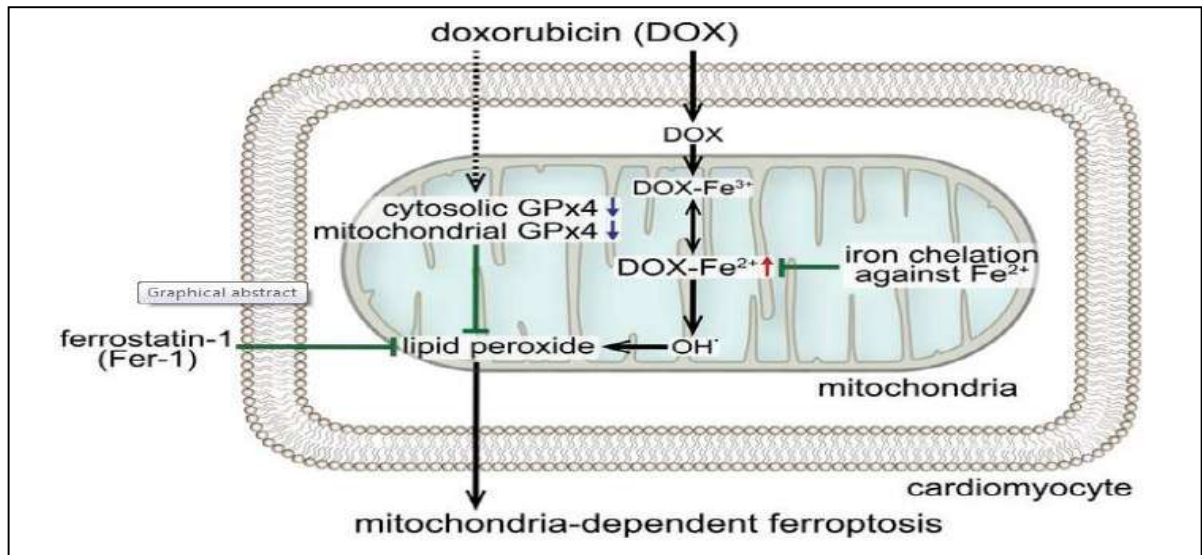


Figure 16 : Représentation schématique de la ferroptose induite par la doxorubicine (Tadokoro *et al.*, 2020)

II.7. L'hépatotoxicité induit par la doxorubicine

Le foie, en tant qu'organe vital, est principalement responsable du métabolisme des agents endogènes et exogènes. Il joue un rôle important dans l'élimination et la détoxification des médicaments. Malgré la substantialité du foie et sa capacité unique d'auto-régénération, les infections parasitaires, les infections virales, les maladies auto-immunes, l'hépatotoxicité médicamenteuse, la stéatose hépatique et l'abus d'alcool contribuent tous à la prévalence croissante de l'insuffisance hépatique (Ahmed *et al.*, 2019).

Le stress oxydatif induit par la doxorubicine est principalement dû à la production de radicaux libres, qui induisent un déséquilibre du potentiel d'oxydoréduction dans la cellule, ce qui conduisant à l'hépatotoxicité à travers une série d'événements (Renu *et al.*, 2021).

Il a été démontré que la surproduction de ROS peut provoquer l'activation de la kinase IκB (IkK) qui phosphoryle les inhibiteurs IkK pour activer le facteur nucléaire kappaB (NF-κB), ce dernier active ensuite des cytokines pro-inflammatoires pour provoquer l'apoptose. Egalement doxorubicine est responsable de la diminution des taux de phosphate inorganiques, à la fois ADP et ATP ainsi que l'AMP qui provoque des conditions pathologiques dans les hépatocytes (Tacar *et al.*, 2013).

De plus, le gène Nrf2 joue un rôle crucial dans le stress oxydatif induit par la doxorubicine. Le gène Nrf2 est régulé négativement, ce qui empêche l'expression des enzymes antioxydantes telles que le NAD(P)H, le GST et le HO-1, ce qui entraîne un niveau élevé de ROS. Des rapports

scientifiques sur l'hépatotoxicité induite par la doxorubicine ont présenté que l'expression du gène Nrf2 est considérablement réduite et que l'expression de Keap1 est considérablement augmentée, l'augmentation de cette dernière a entraîné une inactivation de gène Nrf2.

Par ailleurs, il a été démontré que, lorsqu'il y a un déséquilibre dans le potentiel redox de la cellule, les résidus de cystéine dans le Keap1 subissent un changement de conformation et libèrent Nrf2, qui est alors activé et transloqué vers le noyau. Le Nrf2 transloqué se lie aux éléments de réponse antioxydants (ARE), ce qui entraîne l'expression des gènes antioxydants. Il a donc été suggéré que l'induction de l'expression de Nrf2 par la dégradation de Keap1 peut être un moyen potentiel de traiter l'hépatotoxicité induite par le stress oxydatif (Renu *et al.*, 2021) (Figure 17).

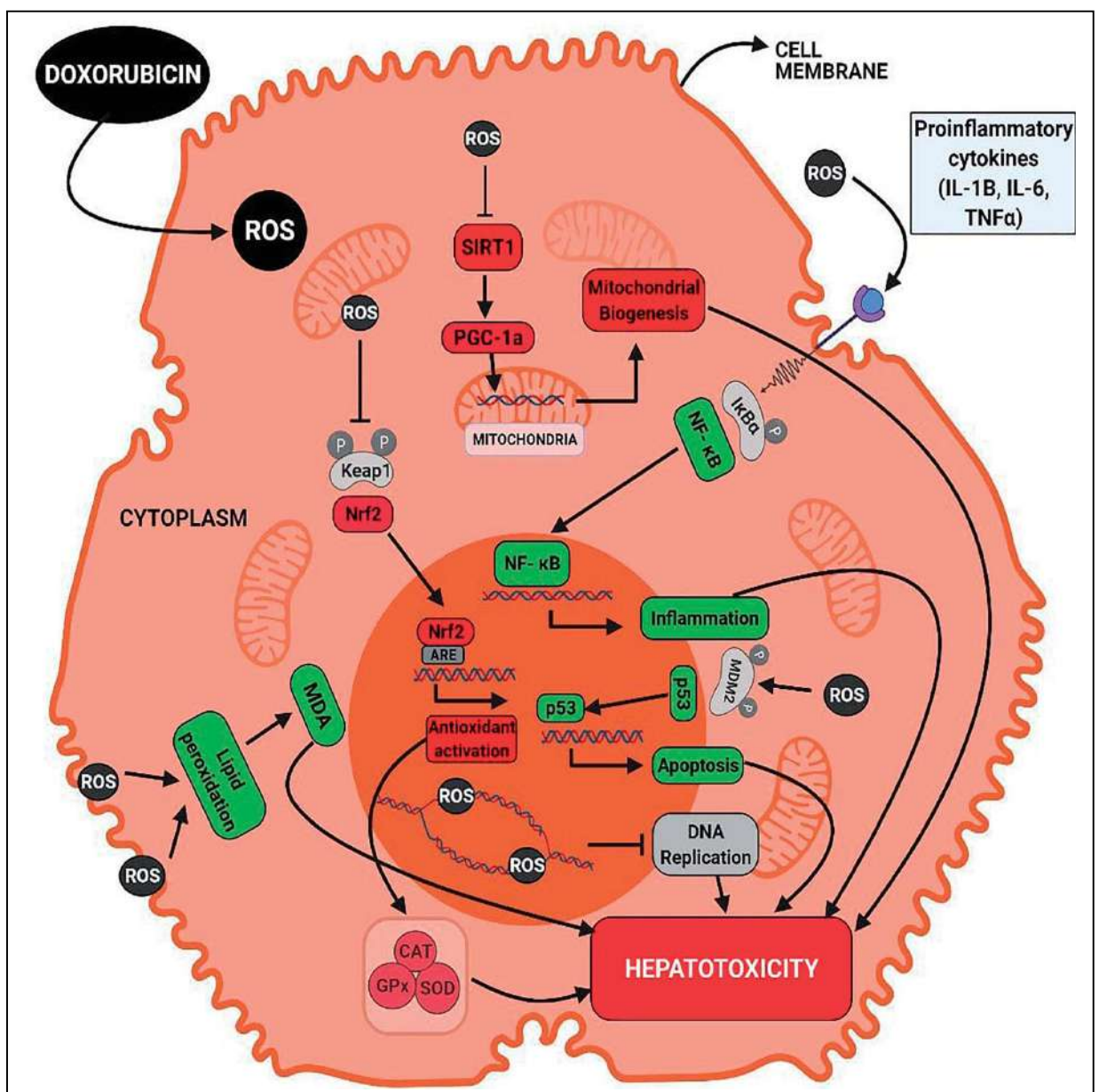


Figure 17 : Le mécanisme sous-jacent à l'hépatotoxicité induite par la doxorubicine (Renu *et al.*, 2021)

II.8. La néphrotoxicité induit par la doxorubicine

Les reins sont des organes qui jouent un rôle important dans la vie humaine. Les fonctions de base de la physiologie rénale consistent à réguler la tension artérielle, l'équilibre électrolytique, l'équilibre acido-basique et volume de liquide extracellulaire. Ils éliminent également de l'organisme les produits métaboliques et les agents thérapeutiques tels que les médicaments anti-cancéreux, les antibiotiques et les analgésiques non stéroïdiens. Pour cette raison, les caractéristiques physiologiques, biochimiques et anatomiques du rein le rendent particulièrement sensible à de nombreux médicaments et toxines (Benzer *et al.*, 2018).

Les intermédiaires réactifs toxiques peuvent provoquer une néphrotoxicité via la génération d'espèces réactives de l'oxygène, ce qui peut entraîner des lésions des structures cellulaires rénales. La néphrotoxicité est définie comme l'insuffisance rénale néphrotoxique, la néphrite glomérulaire aiguë, la néphrite interstitielle, le syndrome néphrotique et la néphrose néphronique. Les reins sont des organes qui peuvent être exposés aux effets des médicaments et des toxines en raison d'une perfusion sanguine élevée, l'activité des voies métaboliques et les fonctions d'expression (Altinkaynak *et al.*, 2018).

La doxorubicine provoque une néphropathie et une protéinurie en altérant les podocytes glomérulaires. La néphropathie induite par la doxorubicine se produit lorsque le médicament interfère avec le fonctionnement normal des mitochondries, en réduisant l'activité des complexes I et IV de la mitochondrie, cela entraîne une augmentation des niveaux de triglycérides, de superoxydes et de citrate synthase, tandis que les niveaux de vitamine E et de composés antioxydants sont réduits et qu'une peroxydation lipidique se produit. La structure du néphron est altérée lorsque des protéines fuyant des passages locaux entrent en contact avec le tissu rénal exposé, ce qui conduit finalement à la glomérulosclérose. Cette maladie affectant les glomérules est connue pour provoquer une hypertension, une résistance aux stéroïdes et une protéinurie, conduisant finalement à une insuffisance rénale (Carvalho *et al.*, 2009; Tacar *et al.*, 2013).

Egalement, il a été établi que la néphrotoxicité induite par la doxorubicine est principalement due au stress oxydatif. Les ROS générés se lient au TLR4 et induisent l'inflammation en activant MAPK, qui à son tour active le facteur de transcription NF- κ B. De plus, le récepteur farnésioïde X (FXR) régule négativement la signalisation du NF- κ B. Ainsi, la régulation négative du FXR peut activer la signalisation du NF- κ B. Le NF- κ B activé peut stimuler l'expression de cytokines pro-inflammatoires telles que le TNF- α et l'IL-1b. Les cytokines pro-inflammatoires activées induisent une inflammation dans le tissu rénal et conduisent également à l'apoptose. D'autre part,

l'apoptose est activée par la signalisation p38 MAPK en régulant la protéine suppresseur de tumeur p53, les facteurs pro-apoptotiques tels que Bax, et les facteurs anti-apoptotiques tels que Bcl-2. Finalement, toutes ces modifications du tissu rénal entraînent une néphropathie (Renu *et al.*, 2021) (Figure 18).

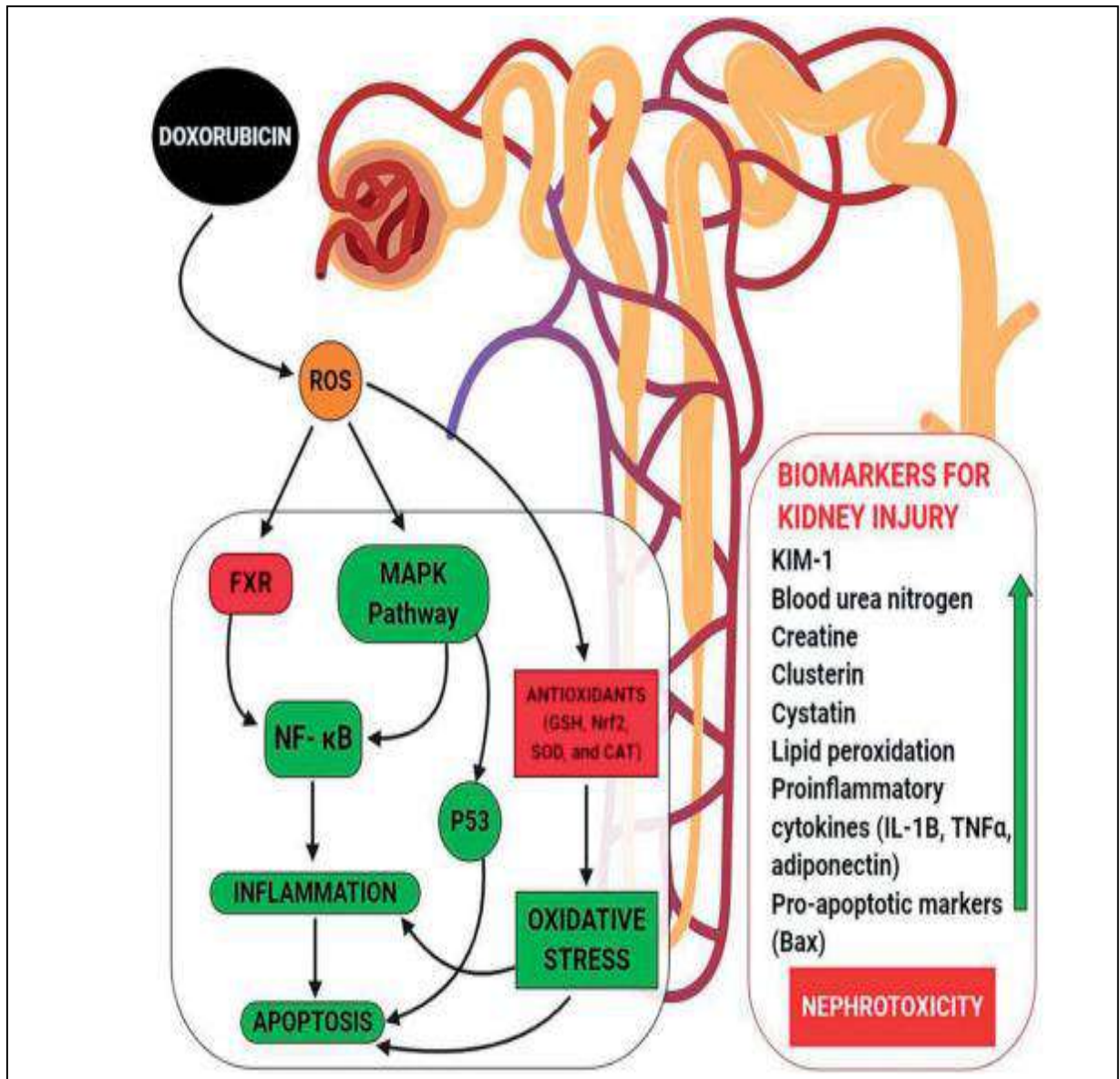


Figure 18: Le mécanisme de la néphrotoxicité induite par la doxorubicine (Renu et al., 2021)

III. LA PHYTOTHERAPIE

III.1. Définition de la phytothérapie

La phytothérapie du grec phyton, «plante», et therapeuein, "soigner", la phytothérapie, c'est l'utilisation des plantes dans le but de traiter ou prévenir les maladies. Sont utilisées les feuilles, fleurs et sommités fleuries, racines ou plantes entières. Peuvent être utilisées des plantes spontanées ou cultivées mais les conditions réglementaires de culture propre doivent être exigées (Létard *et al.*, 2015). Elle est considérée aujourd'hui comme une référence pour le processus d'élaboration de nouveaux médicaments, en partie en raison de son accessibilité, de son prix abordable et de son efficacité, surtout dans les pays en voie de développement (Dassamiour *et al.*, 2022).

III. 2. Les différents types de la phytothérapie

❖ L'aromathérapie

L'aromathérapie est une médecine bien spécifique, utilisant des matières premières très concentrées, les huiles essentielles et les essences. Elles sont composées de substances odorantes et volatiles contenues dans de nombreux organes de la plante aromatique. Les essences sont obtenues directement par expression mécanique à froid, alors que les huiles essentielles sont par distillation à la vapeur d'eau. Les huiles essentielles et les essences sont des produits très actifs qui nécessitent des précautions d'emploi particulières. La forte teneur en molécules aromatiques lipophiles leur confère des propriétés physiques à prendre en compte lors de tout usage en médecine (aromathérapie), en parfumerie ou dans l'alimentation (Millet, 2010).

❖ La gemmothérapie

Le mot gemmothérapie provient du latin gemmæ signifiant autant pierre précieuse que bourgeon. Cette thérapie, qui utilise principalement les bourgeons frais (elle peut utiliser aussi les radicelles ou les jeunes pousses), a comme principe fondamental de proposer des remèdes sans toxicité et non agressifs, car faits à partir de tissus indifférenciés (De Pairon, 2017).

❖ L'herboristerie

L'herboristerie correspond à la méthode de phytothérapie la plus classique et la plus ancienne. L'herboriste se sert de la plante fraîche ou séchée, soit entière, soit une partie de celle-ci (écorce, fruits, fleurs). La préparation repose sur des méthodes simples, le plus souvent à base

d'eau : décoction, infusion, macération. Ces préparations existent aussi sous forme plus moderne de gélules de poudre de plante sèche que le sujet avale (Besançon, 2012).

III. 3. Mode d'emploi des plantes médicinales

Les plantes médicinales peuvent être mises en œuvre soit en nature, soit après traitement pharmaceutique sous forme de préparations galéniques variées (Tétou, 2005).

❖ Les tisanes

Le mot tisane vient du grec ptisanê « brouet d'avoine », une préparation d'abord à base d'orge, puis plus tard d'herbes médicinales (Goetz, 2012). Les tisanes sont des préparations aqueuses que l'on peut édulcorer légèrement et qui sont destinées à servir soit de véhicule pour diverses substances médicamenteuses, soit le plus souvent de boisson pour le malade (Duraffourd & Lapraz, 2002), elles sont préparées à partir des différentes parties actives de la plante, feuilles, fleurs ou sommités fleuries, racines, plante entière (Tétou, 2005).

Il existe trois formes des tisanes : l'infusion, la décoction, la macération (Jacquemard, 2019).

❖ L'infusion

Une infusion est préparée en versant de l'eau bouillante sur une quantité spécifique de matière végétale, en laissant reposer la mixture pendant 10-15 minutes (Sofowora, 2010). Elle est utilisée pour les parties tendres ou fragiles des plantes : fleurs, sommités, fleuries, feuilles tendres, plantes aromatique, certains fruits (Jacquemard, 2019).

❖ Décoction

Les plantes sont versées dans l'eau froide et portées à ébullition un temps plus au moins long. Deux ou trois minutes pour tiges, les feuilles, les fruits, cinq minutes ou plus pour les écorces et les racines (Pierre & Lys, 2007).

❖ Macération

Pour préparer une tisane par macération en versant les plantes dans l'eau froide et laissez les macérer pendant un temps donné, variant de quelques heures à une journée (Nardo & Leblanc, 2012). Elle est utilisée lorsque la chaleur risque de détruire les principes actifs (Jacquemard, 2019).

IV. LES POLYPHENOLS

Les métabolites secondaires sont un groupe hétérogène de composés organiques produits par les plantes, qui ne sont pas directement impliqués dans la croissance, le développement ou la reproduction. Ils ne participent même pas directement à la respiration, à la translocation, à la synthèse des protéines, à l'assimilation des nutriments, à la photosynthèse ou à la différenciation. Cependant, l'absence de métabolites secondaires peut entraîner non seulement une altération à long terme de la capacité de survie de la plante, mais également une mort immédiate (Bartwal *et al.*, 2013; Murthy *et al.*, 2014). Car, ils ont un rôle important dans les interactions de la plante avec son environnement tel que la protection contre les pathogènes, herbivores, la concurrence entre les plantes et le stress abiotique comme dessiccation et radiation UV (Greathead, 2003).

Il existe trois grands groupes de métabolites secondaires (Bartwal *et al.*, 2013) :

- Les terpènes (terpénoïdes ou isoprénoïdes)
- Les alcaloïdes
- Les polyphénols

❖ Les Terpènes

Les terpènes sont un groupe diversifié de plus de 30 000 composés liposolubles, leur structure comprend 1 ou plusieurs unités d'isoprène à 5 carbones, qui sont synthétisées de manière omniprésente par tous les organismes à travers 2 voies potentielles, le mévalonate et plus récemment identifiées, les voies désoxy-*d*- xylulose (Kennedy & Wightman, 2011).

Les terpènes sont classés en fonction du nombre de les carbones qu'ils contiennent: hémiterpène (C₅, c'est-à-dire isoprène), monoterpènes (C₁₀; intérêt majeur de nombreuses études), sesquiterpènes (C₁₅), diterpènes (C₂₀), triterpènes (C₃₀), etc... (Wu & Maravelias, 2018).

❖ Les alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des composés de faible poids moléculaire contenant des atomes d'azote hétérocycliques (vrais alcaloïdes) ou exocycliques (protoalcaloïdes, amines et polyamines). On connaît environ 20 000 alcaloïdes naturels, dont beaucoup présentent des analgésiques (morphine), stimulants (caféine et éphédrine), psychotropes (mescaline et cocaïne), antibactériens (sanguinarine), anticancéreux (vinblastine et vincristine), antitussifs (codéine), anti-inflammatoires (berbérine), antispasmodique (papavérine) ou antipaludique (quinine) (Yazaki, 2006; Pyne *et al.*, 2019).

❖ Les polyphénols

Les composés phénoliques, communément appelés polyphénols, constituent l'un des groupes de métabolites secondaires les plus étendus et omniprésents du règne végétal. Ces composés sont caractérisés structurellement par la présence d'au moins une fonction hydroxyle (-HO) liée à un cycle aromatique. Les polyphénols représentent un groupe extrêmement différencié non seulement en termes de structure chimique mais également en termes d'activité biologique (Figueira *et al.*, 2017). Ils se présentent sous forme conjuguée avec des sucres, des acides carboxyliques et organiques, des amines, des lipides et d'autres phénols. Les différents groupes sont classés en fonction du nombre de cycles phénoliques qu'ils englobent et des éléments structurels qui lient ces cycles (Pandey & Rizvi, 2009).

IV .1. Classification des composés phénoliques

Les polyphénols peuvent être regroupés en classes selon les caractéristiques structurelles communes de leurs squelettes de carbone. Les principales classes comprennent les acides phénoliques et dérivés (hydroxybenzoïques et hydroxycinnamiques), les flavonoïdes (flavonols, flavones, flavanones, isoflavones, anthocyanes), les tanins (condensés ou hydrolysables), les stilbènes, les lignanes, les coumarines, les lignines (Freyssin *et al.*, 2018).

IV .1.1. Les acides phénoliques

Les acides phénoliques sont une classe de substances qui représentent environ un tiers des composés phénoliques de l'alimentation humaine (Giada, 2013), sont produits dans les plantes via l'acide shikimique par la voie phénylpropanoïde, comme sous-produits de la voie du monolignol et comme produits de dégradation de la lignine et des polymères de la paroi cellulaire des plantes vasculaires (Mandal *et al.*, 2010). Les acides phénoliques contenant une ou plusieurs fonctions hydroxyles et une fonction acide carboxylique au niveau du cycle benzénique (Shen *et al.*, 2012).

Les acides phénoliques peuvent être classés en acide hydroxybenzoïque et acide hydroxycinnamique, qui dérivent respectivement des molécules phénoliques benzène et acide cinnamique (Chen *et al.*, 2015).

IV .1.1.1. Les acides hydroxybenzoïques

Les acides hydroxybenzoïques (HBC) présentent une structure en C6-C1, composée d'un noyau benzénique sur lequel vient s'attacher une chaîne aliphatique à un carbone (Chira *et al.*, 2008). Il existe généralement quatre types différents d'acides phénoliques de cette catégorie: les

acides gallique, p-hydroxybenzoïque, protocatéchique, syringique et vanillique, qui peuvent être présents sous forme soluble combinée avec des sucres ou des acides organiques, ainsi que des fractions liées des parois cellulaires, comme dans la lignine (Oliveira *et al.*, 2014) (Figure 19).

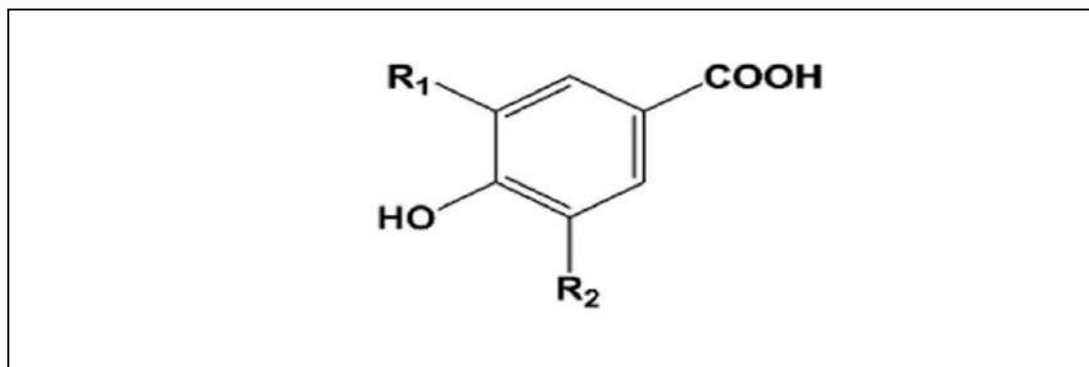


Figure 19 : Structure de l'acide benzoïque (Amini & Akbari, 2019)

IV .1.1.2 . Les acides hydroxycinnamique

Les acides hydroxycinnamiques (HCA) possèdent un squelette chimique simple composé d'une structure phénylpropanoïde C6-C3 et constituent le sous-groupe principal des acides phénoliques avec une distribution omniprésente dans le règne végétal. On les trouve en abondance dans les feuilles de thé, le café, le vin rouge, divers fruits (en particulier les rouges), les légumes et les grains entiers (Teixeira *et al.*, 2013).

Les acides hydroxycinnamiques communs sont les acides caféique, *p*-coumarique, férulique et sinapique (Chira *et al.*, 2008). Les acides synaptique, férulique et *p*-coumarique sont des antioxydants plus actifs que ceux dérivés de l'acide benzoïque, tels que l'acide protocatéchique, syringique et vanillique. Ceci est dû à la double liaison présente dans la molécule des dérivés de l'acide cinnamique, qui participe à la stabilité du radical par résonance de déplacement de l'électron non apparié, alors que les dérivés de l'acide benzoïque ne présentent pas cette caractéristique (Angelo & Jorge, 2007) (Figure 20).

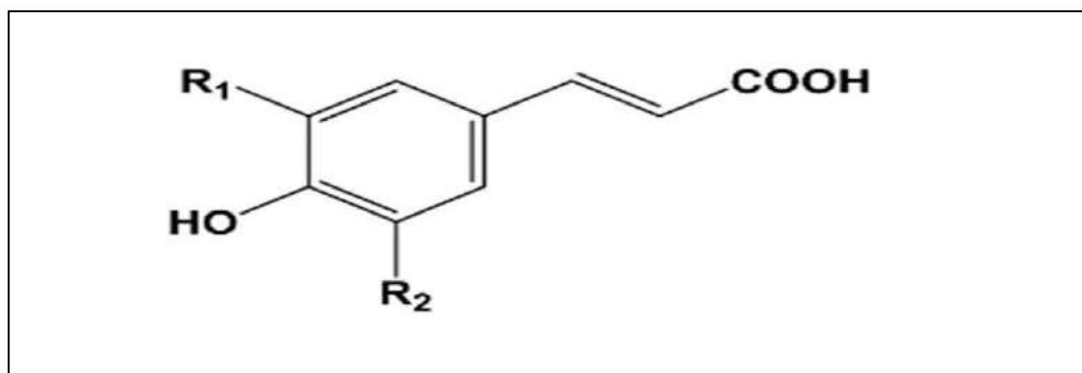


Figure 20: Structure de l'acide cinnamique (Amini & Akbari, 2019)

IV .1.2. Composés polyphénoliques flavonoïdiques

IV .1.2.1. Les flavonoïdes

Le nom «flavonoïde» est dérivé du mot latin *flavus* signifiant jaune (Dwivedi *et al.*, 2017). Ils constituent une classe importante de polyphénols végétaux et sont présents en abondance dans les fruits, les légumes et les feuilles, où ils remplissent diverses fonctions biologiques, de la pigmentation à la défense contre les dommages chimiques et radiologiques (Bertleff-Zieschang *et al.*, 2017).

La structure chimique générale des flavonoïdes est C₆ – C₃ – C₆, un cycle hétérocyclique rejoint les deux unités C₆ (cycle A et cycle B) formant un noyau phénylpropanoïde à 15 carbone (Chouhan *et al.*, 2017). La présence d'une double liaison entre C₂ et C₃ dans le cycle C dans une structure flavonoïde influence les propriétés antioxydantes des flavonoïdes. Un groupe carbonyle en position C₄ permet aux composés de piéger les radicaux hydroxyles. La présence d'un groupe OH en position C₃ dans le cycle C permet aux composés d'inhiber la peroxydation des lipides (Rzepecka-Stojko *et al.*, 2015) (Figure 21).

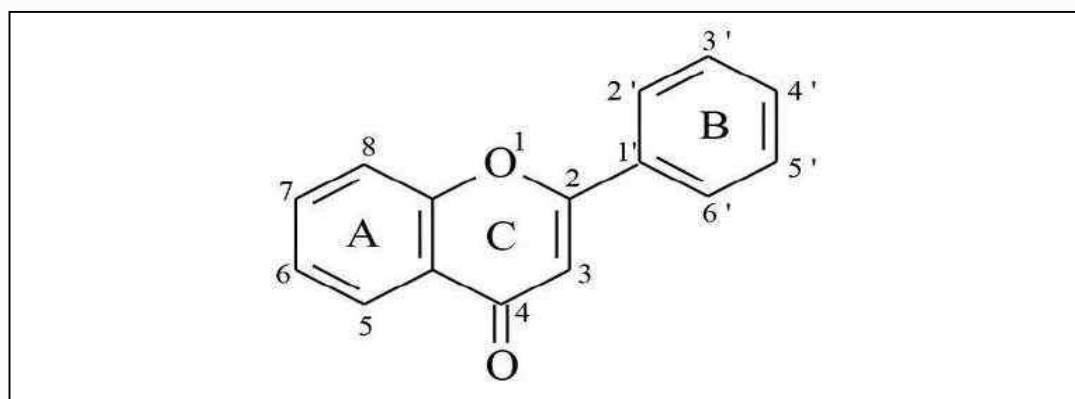


Figure 21 : Structure de base des flavonoïdes (Kaurinovic & Vastag, 2019)

Les flavonoïdes sont classés en différentes catégories d'une part en fonction du nombre et de la structure chimique des carbones constitutifs et d'autre part sur base de la nature des substituants, dont les plus importantes sont les flavanones, les flavonols, les flavones, les isoflavones et les anthocyanes (Massaux, 2012; Khajuria *et al.*, 2019).

IV .1.2.2. Les flavones

Les flavones (du latin flavus, jaune et (cét) one) appartiennent à la famille de flavonoides obtenus par cyclisation de la chalcone qui forme un O-hétérocycle à 6 atomes, présents dans les vacuoles de nombreuses plantes, notamment les fabacées et les Astéracées, auxquelles ils confèrent leur couleur jaune (Forêt, 2012) (Figure 22) .

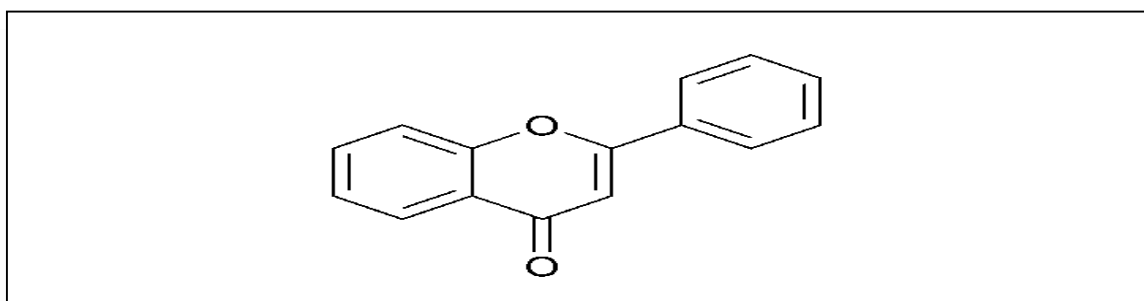


Figure 22 : Structure des flavones (Verma & Pratap, 2010)

IV .1.2.3. Les flavonols

Les flavonols, également connu sous le nom de flavan-3-ols, qui sont les flavonoïdes les plus répandus, sont dispersés dans tout le règne végétal à l'exception des champignons et des algues (Crozier *et al.*, 2006; Hu *et al.*, 2017). Ils sont composés de flavone, comprenant une double liaison entre C2 et C3, conjuguée avec des groupes hydroxyles (Karabin *et al.*, 2015) (Figure 23).

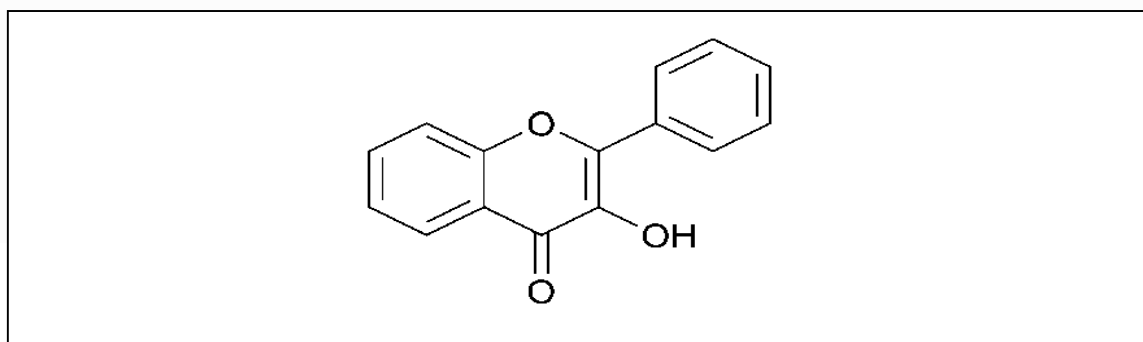


Figure 23: Structure de flavonols (Verma & Pratap, 2010)

IV .1.2.4. Les flavanones

Les flavanones sont les premiers produits de la voie de synthèse des flavonoïdes. Elles sont caractérisées par l'absence de la double liaison entre C2 et C3 et par la présence d'un centre de chiralité en C2. La plupart des flavanones rencontrées dans la nature ont le cycle B rattaché au cycle C en C2 dans la configuration α . La structure des flavanones est très réactive et donne lieu à des réactions d'hydroxylations, d'O-méthylations et de glycosylations (Chira *et al.*, 2008) (Figure 24).

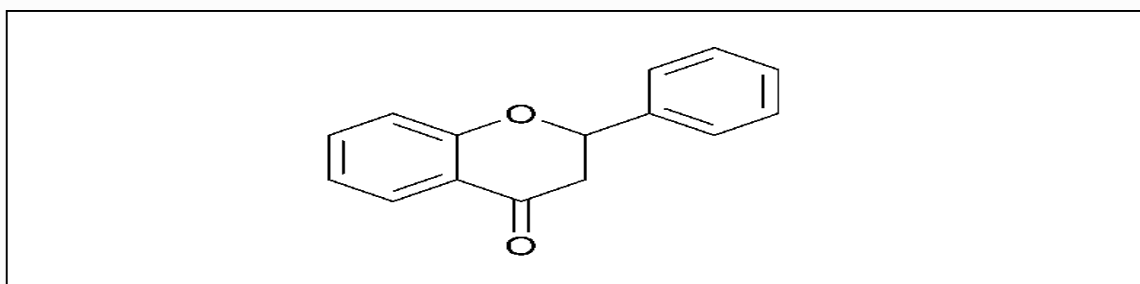


Figure 24: Structure de flavanones (Verma & Pratap, 2010)

IV .1.2.5. Les isoflavones

Les isoflavones sont des composés phénoliques appartenant à la classe des flavonoïdes et sont largement distribués dans le règne végétal, principalement dans la famille des leguminosae (Nemitz *et al.*, 2015). Ils se caractérisent par un cycle aromatique B attaché en position C₃ contrairement à la majorité des flavonoïdes qui ont ce cycle en C₂. Les isoflavones, qui se présentent sous forme d'aglycones ou de glycosides, sont les composés les plus courants de cette classe sont spécifiques par rapport aux autres flavonoïdes en raison de leurs légers effets œstrogéniques ((Karlíčková *et al.*, 2015) (Figure 25).

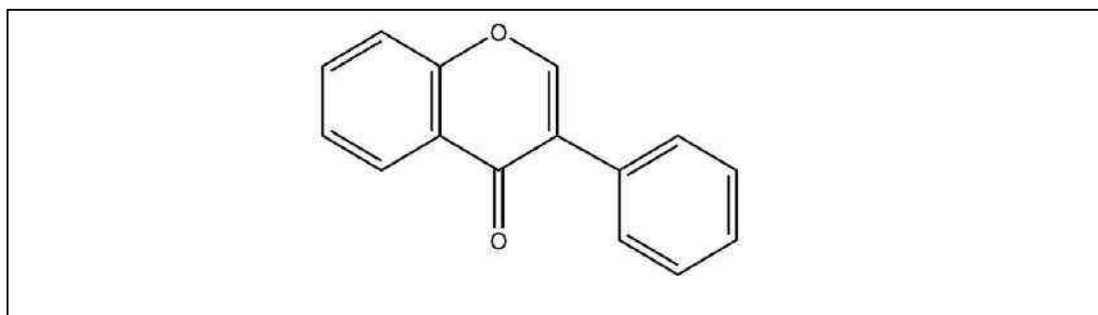


Figure 25 : Structure des isoflavones (Palma-Tenango *et al.*, 2017)

IV.1.2.6. Les anthocyanes

Les anthocyanes (en grec anthos fleur et cyan bleu) (Valls *et al.*, 2009) sont des métabolites secondaires de la famille des flavonoïdes, produits par les angiospermes, possèdent une structure de base, le 2-phényl-1benzopyrilium (cation flavylium) constituée de trois cycles aromatiques, responsable du pouvoir absorbant (chromophore) (Samouelian *et al.*, 2009) (Figure 26).

Les anthocyanes se produisent naturellement dans les fruits et légumes sous forme de glycosides, ayant du glucose, du galactose, du rhamnose, du xylose ou de l'arabinose attachés à un noyau aglycon. Contrairement aux autres flavonoïdes, les anthocyanes portent une charge positive en solution acide. Ils sont solubles dans l'eau et, en fonction du pH et de la présence d'ions métalliques chélateurs, sont intensément colorés en bleu, violet ou rouge. Les formes anthocyanes dé-glycosylées ou aglycones sont appelées anthocyanidines (Wang & Stoner, 2008).

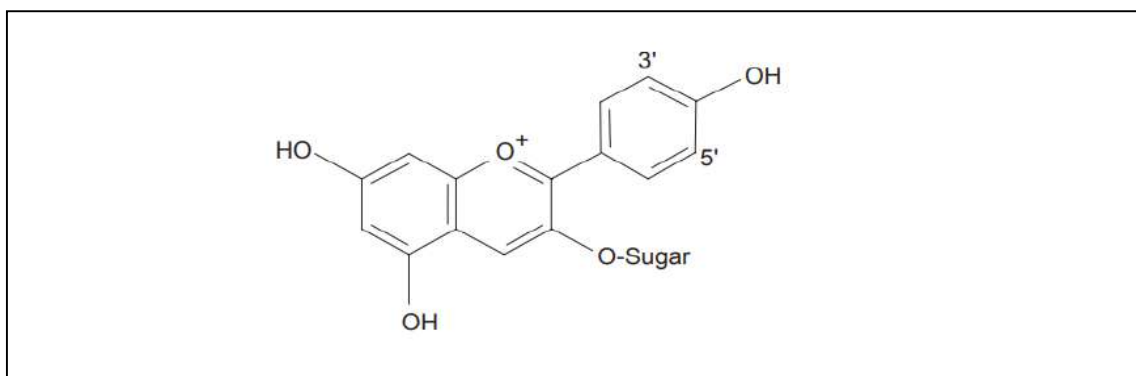


Figure 26 : Structure chimique des anthocyanes (Paliyath *et al.*, 2009)

IV.1.3. Les tanins

Le terme "tanins" est apparu en 1796, quand il a été utilisé par Seguin pour désigner des substances présentes dans les extraits des plantes qui se combinent avec des protéines de peaux d'animaux, transformant ce complexe en cuir et empêchant la putréfaction de la peau (Demarque *et al.*, 2018). Actuellement, ils sont définis comme des composés phénolique de poids moléculaire (500-3000 D) (Giada, 2013), se retrouvant fréquemment dans une variété d'aliments tels que les légumes, les fruits, les graines et les boissons d'origine végétale (Obreque-Slíer *et al.*, 2009). Ils ont la capacité de se lier aux protéines en solution aqueuse. Leurs multiples groupes hydroxyles phénoliques entraînent la formation des complexes principalement avec des protéines et dans une moindre mesure avec des ions métalliques, des acides aminés et des polysaccharides (Goel & Makkar, 2012).

Les tanins peuvent être divisés en deux groupes en fonction de leurs structures chimiques : les tanins hydrolysables (HT) et condensés (CT) (Smith *et al.*, 2005) .

IV .1.3.1. Les tanins hydrolysables

Les tanins hydrolysables sont des esters de polyols (généralement du glucose) avec des acides phénoliques simples, tels que l'acide gallique ou l'acide hexahydroxydiphénique, et sont facilement hydrolysés par des conditions acides ou basiques ainsi que par des enzymes estérases (Shimada, 2006). Ces tanins a plusieurs effets remarquables comme antioxydant, anti-radicalaire, antimicrobien et chélation des métaux (Miele *et al.*, 2019), ainsi que des activité anti-inflammatoires, antidiabétiques et anticancéreuses (Li *et al.*, 2020) (Figure 27).

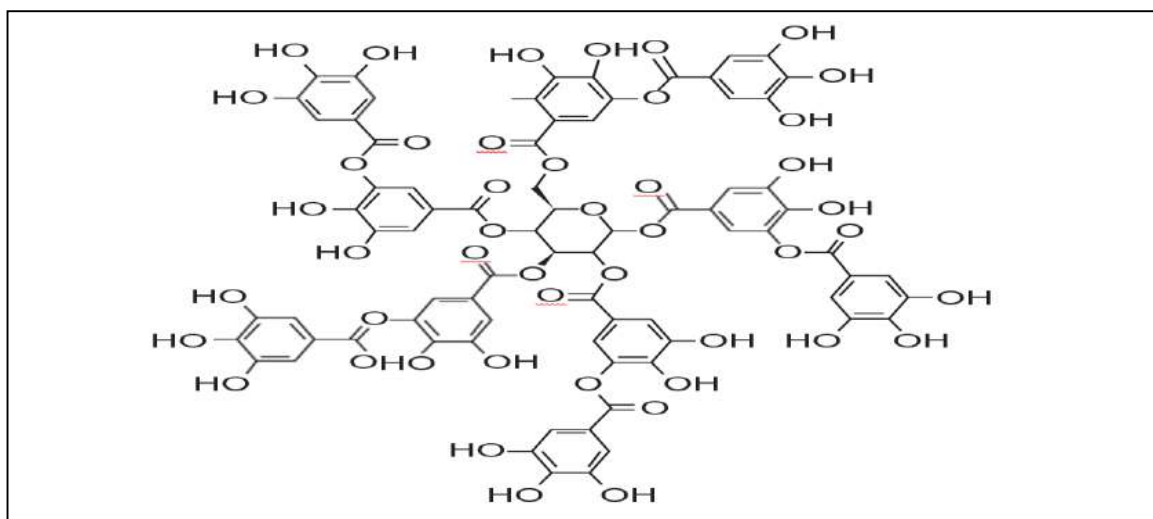


Figure 27 : Structure de tanins hydrolysable (Daglia, 2012).

IV .1.3.2 Les tanins condensés

Les tanins condensés (CT), également appelés proanthocyanidines, sont le métabolite secondaire le plus abondant des plantes terrestres. Ils peuvent être trouvés dans de nombreuses espèces, mais sont plus répandus dans les plantes ligneuses, où ils s'accumulent dans la plupart des principaux tissus, notamment les feuilles, l'écorce et les racines (Shay *et al.*, 2017). Les tanins condensés sont des oligomères et des polymères de flavan-3-ols qui sont liés par des liaisons C – C et donc difficiles à hydrolyse (Shimada, 2006) (Figure 28).

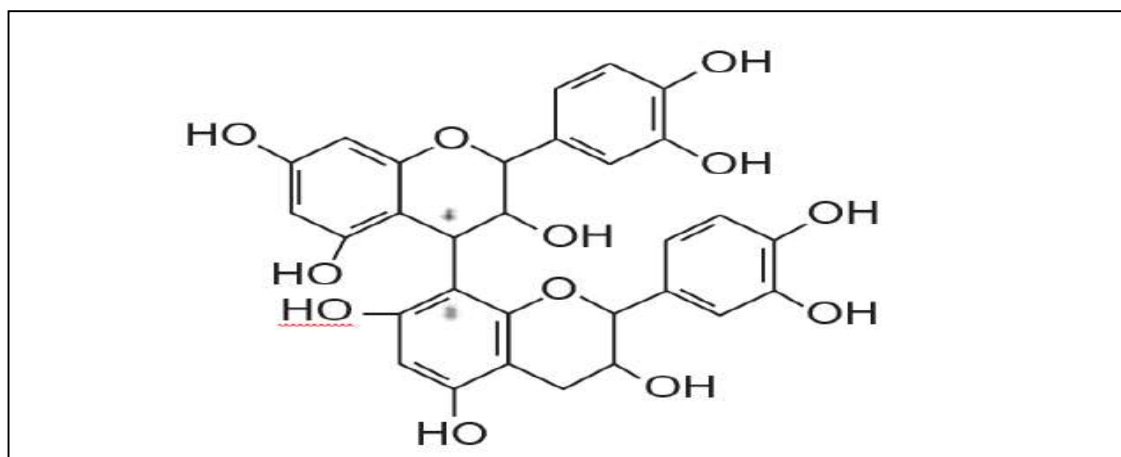


Figure 28 : Structure de tanins condensés (Daglia, 2012)

IV .1.4. Les stilbènes

Les stilbènes sont structurellement caractérisés par la présence d'un noyau 1,2-diphényléthylène avec des hydroxyles substitués sur les cycles aromatiques et existent sous forme de monomères ou d'oligomères. Le composé le plus connu est le trans-resvératrol, possédant un squelette de trihydroxystilbène (Han *et al.*, 2007) (Figure 29).

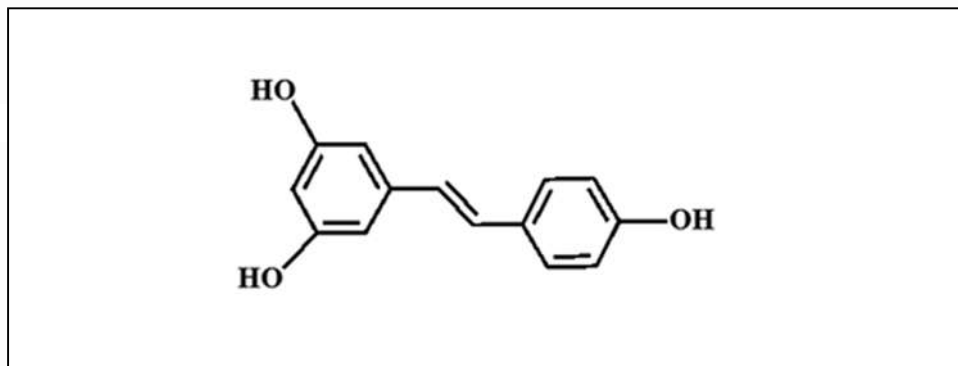


Figure 29 : Structure des Stilbènes (Pandey & Rizvi, 2009)

IV .1.5. Les lignanes

Les lignanes sont des composés diphenoliques qui contiennent une structure de 2,3-dibenzylbutane formée par la dimérisation de deux résidus d'acide cinnamique (Figure 30). Plusieurs lignanes, comme le sécoisolaricirésinol, sont considérés comme des phytoestrogènes (Pandey & Rizvi, 2009).

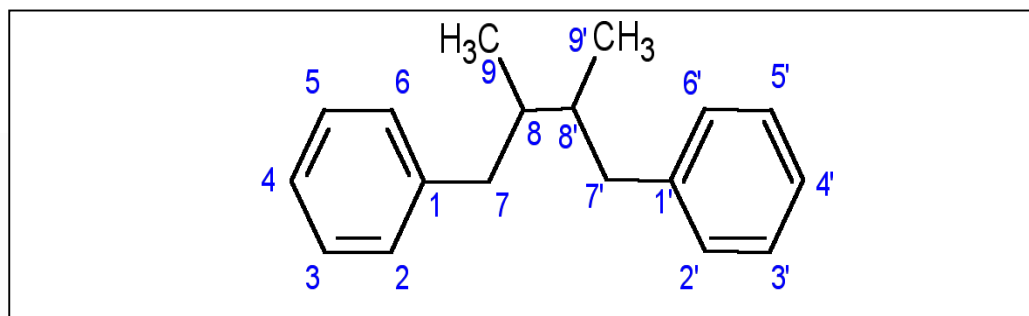


Figure 30: Structure des lignanes (Sainvitu et al., 2012).

IV .1.6. Les lignines

La lignine est le deuxième polymère terrestre le plus abondant après la cellulose. La lignine est un polymère amorphe complexe synthétisé principalement à partir de trois alcools aromatiques (monolignols), différant par leur degré de méthylation: *p*-coumaryl, coniféryl et alcools sinapyliques (Domínguez-Robles et al., 2018) (Figure 31).

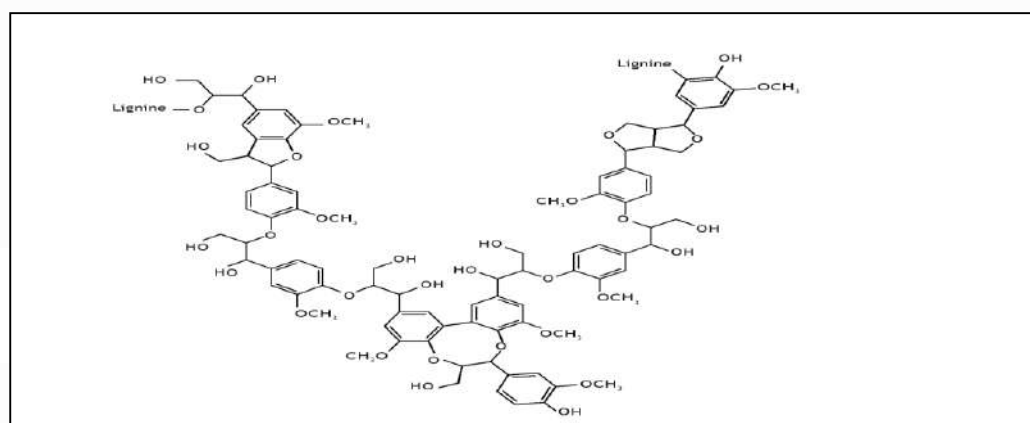


Figure 31: Structure d'une lignines (Laurent et al., 2011).

IV .1.7. Les coumarines

Les coumarines (1,2-benzopyrone ou 2 *H* -1-benzopyran-2-one, ou phénylpropanoïdes, 1) comprennent un groupe de composés phénoliques naturels et se trouvent dans de nombreuses plantes et produits alimentaires naturels, tels que les agrumes, les tomates, les légumes et le thé vert (Figure 32).

Les dérivés de la coumarine se sont révélés avoir de nombreuses applications thérapeutiques, notamment la photochimiothérapie, les traitements antitumoraux et anti-VIH, et comme stimulants du système nerveux central (SNC), antibactériens anti-inflammatoires, anti-coagulants et

colorants. De plus, les coumarines sont connues pour être des agents hypolipémiants avec une activité modérée d'abaissement des triglycérides (Musa *et al.*, 2008; Atmaca *et al.*, 2011).

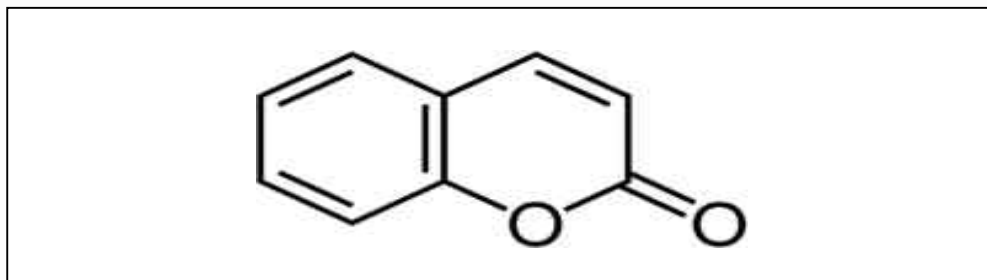


Figure 32 : Structure des coumarines (Shtukenberg et al., 2017)

IV. 2 .Propriétés biologique et intérêt des polyphénols

IV. 2.1 .Rôles physiologiques des composés phénoliques chez l'être humain

L'utilisation des herbes médicinales dans le système de médecine traditionnelle est une pratique courante dans de nombreuses cultures à travers le monde, en particulier dans les sociétés africaines. Cette pratique a été largement acceptée dans les pays en développement comme dans les pays développés. Les chercheurs commencent également à apprécier le rôle des plantes médicinales dans la prestation des soins de santé (Konaté *et al.*, 2012).

Plusieurs activités biologiques et propriétés bénéfiques ont été documentées pour les polyphénols alimentaires, et certains des plus connus incluent les antioxydants, anti-allergiques, anti-inflammatoires, antiviraux antibactérienne, anti-prolifératifs, anti-mutagènes, anti-cancérigène, antithrombotique, vasodilatatrice, piégeage des radicaux libres, régulation de l'arrêt du cycle cellulaire, apoptose, induction des enzymes antioxydantes et hépatoprotective (Bahadoran *et al.*, 2013; Borges *et al.*, 2013; Jovanović *et al.*, 2017).

❖ L'activité antioxydante

Les plantes riches en polyphénols peuvent être une source importante d'antioxydants naturels (Coșarcă *et al.*, 2019). De nombreuses études ont montré que les flavonoïdes sont des antioxydants efficaces dans une large gamme de systèmes d'oxydation chimique, notamment (Karabin *et al.*, 2015).

- Piégeage des radicaux libres
- Chélation des ions métalliques
- Inhibition enzymatique
- **Piégeage des radicaux libres**

La capacité d'élimination des radicaux libres des (poly) phénols est généralement attribuée à la labilité des atomes d'hydrogène des groupes OH attachés aux cycles aromatiques (Ar); cependant, dans certains autres antioxydants, les groupes NH et SH peuvent fournir de l'hydrogène labile (Anouar *et al.*, 2013).

Les activités anti-oxydantes des flavonoïdes sont déterminées par leur structure chimique, en particulier l'état d'hydroxylation aromatique de leurs anneaux. Il a été démontré que l'activité antioxydant est en relation avec les flavonoïdes contenant un cycle phénol B. Les groupes hydroxyle en C3 'et C4' positions sur le squelette flavane sont les principaux déterminants structurels des activités antioxydants des flavonoïdes puis les groupes hydroxyle en positions C3 et C5, ainsi que le groupe carbonyle en C4 (Karabin *et al.*, 2015) (Figure 33).

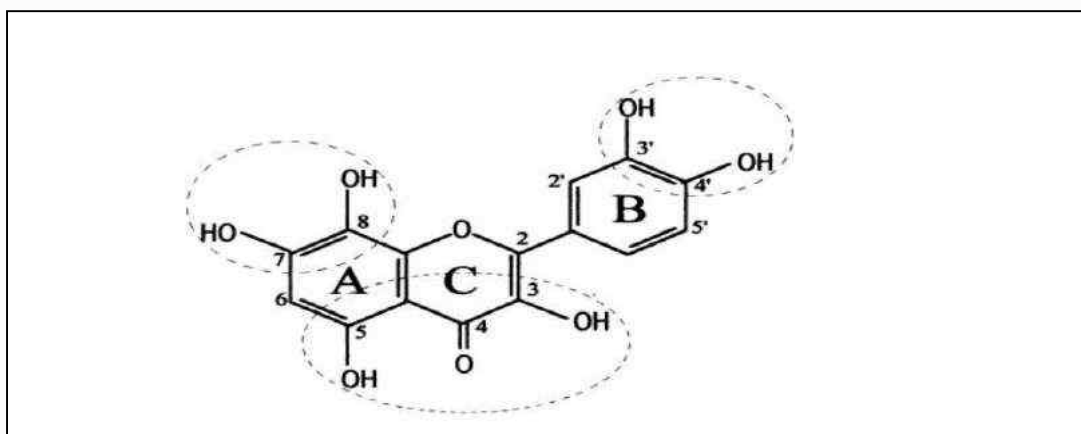


Figure 33: Les caractéristiques structurelles des flavonoïdes avec une activité de piégeage des radicaux (Amic *et al.*, 2003)

Les flavonoïdes peuvent prévenir les dommages causés par les radicaux libres par différentes manières. L'un des moyens est l'élimination directe des radicaux libres par donneur d'atomes d'hydrogène. Les flavonoïdes sont oxydés par les radicaux, ce qui donne un radical plus stable et moins réactif. En d'autres termes, les flavonoïdes stabilisent les espèces réactives de l'oxygène en réagissant avec le composé réactif du radical. En raison de la forte réactivité du groupe hydroxyle des flavonoïdes, les radicaux sont rendus inactifs, selon l'équation suivante, où

R^\bullet est un radical libre et $Fl-O^\bullet$ est un radical phénoxy flavonoïde (Nijveldt *et al.*, 2001; Procházková *et al.*, 2011) (Figure 34).

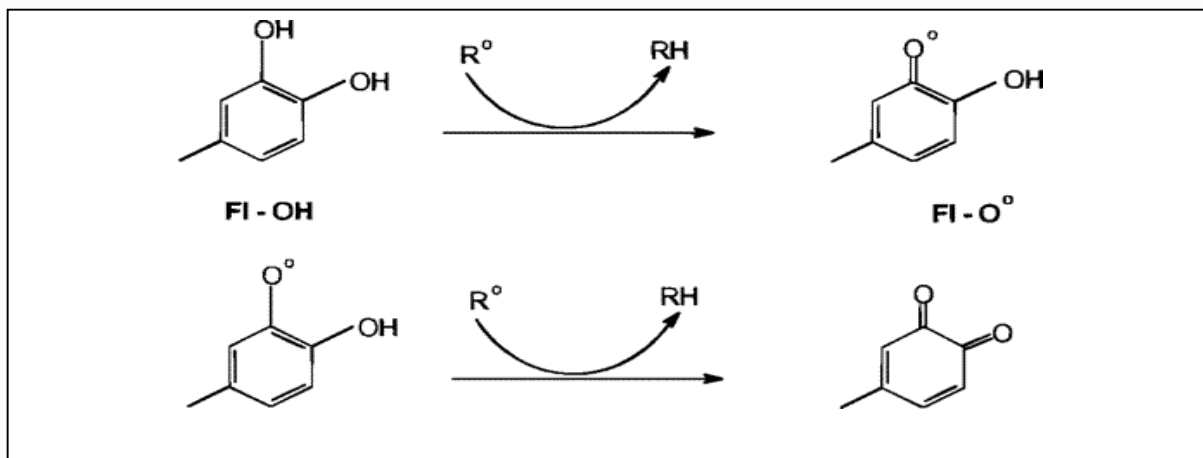


Figure 34: Piégeage des espèces réactives de l'oxygène (R^\bullet) par les flavonoïdes. Le radical libre $Fl-O^\bullet$ peut réagir avec un second radical, acquérant une structure quinone stable (Procházková *et al.*, 2011)

➤ Chélation des ions métalliques

L'activité antioxydante des polyphénols, consiste non seulement à neutraliser les radicaux libres mais aussi à inhiber le processus d'oxydation. Ce processus nocif est responsable de la dégradation des produits alimentaires et du vieillissement des organismes vivants. Le processus d'oxydation se déroule plus rapidement en présence de métaux ioniques tels que le cuivre et le fer.

Plusieurs études ont signalé la capacité des flavonoïdes de chélater les ions fer et cuivre, ce qui est lié à leur structure et à leur pH (Olszowy, 2019).

Les flavonoïdes contenant des groupes hydroxyle aux positions 3, 5, 3' et 4' et le carbonyle à la position 4, possèdent 3 sites où des complexes métalliques peuvent se former (Papuc *et al.*, 2017). Ces sites se trouvent entre les groupes 3-hydroxyle et 4-carbonyl du cycle C (désigné comme site 3-4), les groupes 4-carbonyl-5-hydroxyle des cycles A et C (site 4-5) ou via le catéchol fragment du cycle B (site 3'-4') (Kasprzak *et al.*, 2015) (Figure 35).

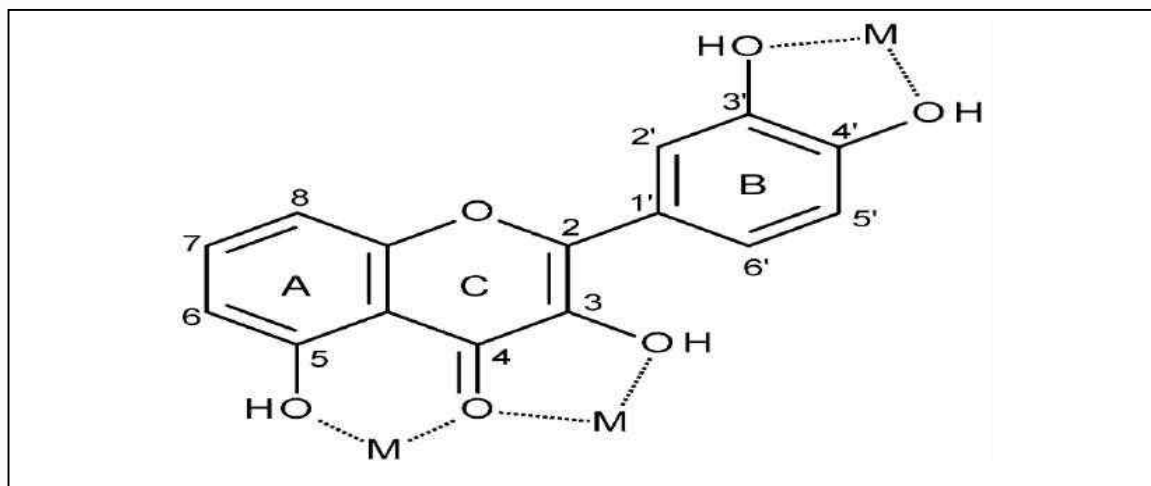


Figure 35: Sites impliqués dans la chélation des ions métalliques (M) dans les flavonoïdes (Jomová et al., 2019).

➤ Inhibition enzymatique

L'affinité pour une grande variété de protéines est une propriété générale des polyphénols, en raison de leur capacité à développer des interactions de van der Waals par le biais de leurs cycles aromatiques et des liaisons hydrogène par leurs groupes phénoliques (Dangles, 2012).

Diverses enzymes (en particulier la NADPH oxydase, la xanthine oxydase et les lipoxygénases) sont impliquées dans la production de ROS. Il a été démontré que les catéchines et la quercétine inhibent l'activité de la xanthine oxydase et donc captent le peroxyde et les radicaux d'oxygène qui sont générés par cette enzyme, également il a été démontré que les flavonoïdes inhibent la NADPH oxydase, alors que les flavonoïdes saturés (sans double liaison entre C2 et C3) sont plus efficaces par rapport aux composés insaturés (Karabin *et al.*, 2015). Une autre étude a montré que les flavonoïdes contenant un anneau B de catéchol non substitué (épicatéchine, catéchine, quercétine, lutéoline, fisétine) n'inhibent pas la NADPH oxydase, mais éliminent l'O₂⁻ (Steffen *et al.*, 2008).

❖ Anticancéreux

Le cancer est une cause majeure de décès dans le monde. Les polyphénols pourraient jouer un rôle important anticancéreux (Li *et al.*, 2014).

Les mécanismes de protection qui bloquent l'initiation de la cancérogenèse peuvent être définis comme la chimioprévention, un concept qui a été introduit par Wattenberg. Il est intéressant de

noter que les polyphénols naturels pourraient induire la mort apoptotique des cellules préneoplasiques ou néoplasiques par divers mécanismes d'inhibition de la croissance tels que l'activation du cytochrome c et des caspases, l'arrêt du cycle cellulaire, modulation des voies de signalisation (NF- κ B, JAK/STAT), également, les polyphénols inhibent la protéine kinase C, la cyclooxygénase, l'hydroperoxydase, l'Akt, la kinase d'adhésion focale, la NF κ B et la phosphorylation de la Bcl-2 qui entraînent l'inhibition de la progression de la tumeur (Mileo & Miccadei, 2016 ; Elansary *et al.*, 2020).

❖ **Anti-inflammatoires**

Les polyphénols peuvent exercer des effets anti-inflammatoires notamment par des activités de piégeage radicalaire, la régulation des activités cellulaires dans les cellules inflammatoires et la modulation des activités des enzymes impliquées dans le métabolisme de l'acide arachidonique (phospholipase A2, COX) et le métabolisme de l'arginine (NOS), ainsi que la modulation de la production d'autres molécules pro-inflammatoires (Hussain *et al.*, 2016).

Il a été démontré que les cibles moléculaires des polyphénols végétaux agissant comme des composés anti-inflammatoires comprennent les voies dépendantes de l'acide arachidonique (AA) et les voies indépendantes AA. Dans la voie dépendante des AA, l'effet anti-inflammatoire des polyphénols végétaux est lié à leur capacité à inhiber la COX (l'isoforme Cox-2, également régulée par NF- κ B), qui convertit les AA en prostaglandines. Les voies indépendantes des AA impliquent la signalisation des AA par le biais du facteur nucléaire-kappa B (NF- κ B). Egalement, les polyphénols interfèrent sur deux sites spécifiques de la voie leader des récepteurs à la NF- κ B. Certains polyphénols inhibent les kinases en inhibant leur phosphorylation ou leur ubiquitination et empêchent donc la dégradation ultérieure de l'I κ B. Cela empêche la translocation de NF- κ B dans le noyau et la transcription des cytokines pro-inflammatoires. De plus, l'inhibition de l'interaction des sous-unités NF- κ B avec l'ADN cible a également été proposée comme mode d'action des polyphénols anti-inflammatoires. Les deux modes d'action conduisent finalement à l'inhibition de l'expression de diverses protéines pro-inflammatoires régulées par NF- κ B (cytokines, chimiokines) et enzymes (iNOS, COX-2) (Karunaweera *et al.*, 2015).

❖ **L'activité anti-diabétique**

les polyphénols végétaux alimentaires et les produits riches en polyphénols modulent le métabolisme des glucides et des lipides, atténuent l'hyperglycémie, la dyslipidémie et la résistance

à l'insuline, améliorent le métabolisme du tissu adipeux et atténuent le stress oxydatif et les voies de signalisation sensibles au stress et les processus inflammatoires (Bahadoran *et al.*, 2013).

Les effets hypoglycémiques des composés polyphénoliques alimentaires peuvent être liés à l'inhibition de digestion des glucides en inhibant l' α -amylase salivaire et pancréatique et l' α -glucosidase dans petite bordure de brosse intestinale, inhibition de l'absorption du glucose et stimulation de la sécrétion d'insuline et la protection des cellules β pancréatiques contre la glucotoxicité. Les polyphénols peuvent supprimer la libération de glucose par le foie et améliorer l'absorption du glucose dans les tissus périphériques en modulant l'intracellulaire signalisation (Kim *et al.*, 2016).

❖ **Activité antithrombes**

Il a été démontré que les polyphénols sont capables de moduler le processus de thrombose dans plusieurs systèmes. Il a été démontré qu'une réduction du taux de développement de l'athérosclérose et de la maladie coronarienne causée par l'apport quotidien de flavonoïdes était principalement basée sur la possibilité que les flavonoïdes inhibent la formation aiguë de thrombus.

Dans les plaquettes et les leucocytes, une interférence avec le métabolisme de l'acide arachidonique a été démontrée, entraînant une inhibition de l'agrégation plaquettaire et une réduction de la synthèse des médiateurs prothrombiques et pro-inflammatoires chez l'homme (Zenebe *et al.*, 2001).

V. *Moricandia arvensis*

La phytothérapie est très populaire, en Algérie. Elle gagne, de plus en plus, d'adeptes grâce à ses vertus de guérison. En réalité la phytothérapie, ou plus exactement, l'herboristerie a toujours, existé en Algérie (Mohammedi, 2013).

Pour cela, nous espérons d'une part apporter de nouvelles données pour la phytothérapie en Algérie et d'autre part susciter la valorisation des composés bioactifs issus des plantes parmi ces derniers : *Moricandia arvensis*.

V.1. Généralité sur la famille des Brassicacées

D'emblée, les Brassicacées, souvent appelées Crucifères ou famille de la moutarde, comprennent de nombreuses espèces économiquement importantes qui sont cultivées dans le monde entier. Elles ont été traditionnellement consommées dans l'alimentation humaine sous forme de légumes frais et en conserve, d'huiles végétales et de condiments, de l'Antiquité à nos jours. Elles représentent un groupe monophylétique distribué partout dans le monde sauf l'Antarctique et contiennent environ 338 genres et 3709 espèces (Šamec & Salopek-Sondi, 2019).

En effet, les plantes des Brassicacées sont des herbes annuelles, bisannuelles ou vivaces. Elles sont parfois ligneuses à la base mais deviennent rarement des arbustes ou des vignes. Leur sève aqueuse contient les glucosides d'huile de moutarde (glucosinolates), un groupe de composés qui sont hydrolysés enzymatiquement lors du broyage de la plante pour produire les huiles de moutarde piquantes (isothiocyanates) (Al-Shehbaz, 2001).

V.2. Le genre *Moricandia*

Le genre *Moricandia* DC appartenant à cette famille, représente un groupe diversifié des plantes herbacées rustiques trouvées en Afrique du Nord, dans le bassin méditerranéen, en Asie occidentale, en Asie du Sud-Est (Tahir & Watts, 2011; Marrelli *et al.*, 2018), ainsi que dans la région irano-turanian et saharo-sindian (Vesperinas, 1997).

En fait, le genre *Moricandia* comprend huit espèces (*M. arvensis*, *M. foetida*, *M. foleyi*, *M. moricandioides*, *M. nitens*, *M. sinaica*, *M. spinosa*, *M. suffruticosa*) (Schlüter *et al.*, 2017). Ces dernières sont différenciées les unes des autres en fonction des caractéristiques morphologiques, des habitudes de croissance et des habitats (Tahir & Watts, 2011).

V.3. Description botanique du genre *Moricandia*

Le genre *Moricandia* présente principalement des tiges dressées et ramifiées avec des feuilles simples et exstipulées, généralement à lobes entiers ou pennés. Leurs fleurs sont actinomorphes-dissymétriques et principalement de couleur lilas, bien qu'elles varient du blanc presque au violet foncé selon les espèces et les conditions météorologiques. Leurs fruits sont des siliques déhiscentes à deux valves avec une ou deux séries de graines par valve (Perfectti *et al.*, 2017).

V.4. L'espèce *Moricandia arvensis*

Moricandia arvensis est une plante herbacée annuelle à vivace largement distribuée dans le nord-ouest de l'Afrique, la péninsule ibérique et le sud de l'Italie (Perfectti *et al.*, 2017). Elle se trouve également sur les rochers et dans les montagnes du Sahara central comme dans tout le Sahara septentrional (Longuo *et al.*, 1989).

En outre, *Moricandia arvensis* est une plante pérenne, ligneuse, à feuilles charnues, cordiformes et amplexicaules (qui embrassent la tige) à la base (Figure 36). Les fleurs sont composées de grandes pétales violettes, de 15 à 20 mm de longueur. Les fleurs lilas et pâles (Figure 37) fournissent des graines unisériées. Ordinairement, *Moricandia arvensis* est une plante sous-frutescente à frutescente au fruit silique (Hasnaoui *et al.*, 2006).

Par ailleurs, dans les ethnopharmacopées traditionnelles du Sahara algérien, *Moricandia arvensis*, connu sous le nom commun de "Krom Jmal", est utilisé pour traiter diverses maladies comme les rhumatismes, la syphilis, le scorbut (Berreghioua & Cheriti, 2018).



Figure 36. Feuilles de *Moricandia arvensis* (Hasnaoui *et al.*, 2006)



Figure 37 : *Moricandia arvensis* (Tatsuzawa *et al.*, 2015)

V.5. Classification botanique de la plante *Moricandia arvensis*

Tableau 1 : Classification botanique de *Moricandia arvensis* (Tahir & Watts, 2011)

Régne	Plantae
Sous-régne	Tracheobionta
Embranchement	Spermatophyta
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Dilleniidae
Ordre	Capparales
Famille	Brassicaceae
Genre	<i>Moricandia</i>
Espèce	<i>Moricandia arvensis</i>

V.6. Constitution chimique du *Moricandia arvensis*

Plusieurs métabolites secondaires, isolés à partir des feuilles et des racines de *Moricandia arvensis*, comprennent les flavonoïdes, les tanins, les coumarines, les terpènes, les stérols et les iridoïdes (Skandrani *et al.*, 2017).

D'après une étude phytochimique, l'extrait eau-acétone obtenu à partir des feuilles de *Moricandia arvensis* collecté à Oued Zouzfana (Sahara Algérie) a conduit à l'isolement de cinq dérivés de flavonoïdes, à savoir : 5,7-dihydroxy-3,6,4'-triméthoxyflavone; 5,7,4'-trihydroxy-3,6,8,3'-tétraméthoxyflavone; 3,3',4', 5,7-pentahydroxy flavanone; 3-glucosyl 3',4',5,7-tetrahydroxy flavonol; et le kaempférol-3-digalactopyranoside (Berregioua & Cheriti, 2018).

De plus, une autre étude de Braham et ces collaborateurs, montre que l'extrait méthanolique obtenu à partir des fleurs de cette espèce collecté de Monastir (Tunisie), permet d'isoler huit glycosides phénoliques telles que quercétine 3,4'-di-O- β -D-glucopyranoside-7-O- α -L-rhamnopyranoside (moricanin), β -D-glucopyranosyl 4-O- β -D-glucopyranosylcaffeate, et methyl 3-O- β -D-glucopyranosyl-5-hydroxycinnamate (Braham *et al.*, 2005).

V.7. Activité biologique du genre *Moricandia arvensis*

Les espèces de la famille Brassicacées, pour leur part ont servi l'humanité et son bétail depuis longtemps. Ces espèces ont été utilisées sous diverses formes telles que : légumes, plantes fourragères, plantes médicinales, plantes tinctoriales, condiments, oléagineux et plantes ornementales (Anjum *et al.*, 2012).

Il a été démontré que la *Moricandia* présente des avantages potentiels pour la santé propre à cette espèce (Tahir & Watts, 2011). *Moricandia arvensis* est une espèce diététique ; il présente une importante activité antioxydante et sert également de source à divers produits, dont les polyphénols. En plus de ses vertus chimiques, les feuilles de *Moricandia arvensis* sont aussi utilisées dans la médecine traditionnelle et la cuisine traditionnelle. La décoction des feuilles et des tiges ont été utilisée dans le traitement de la syphilis et du scorbut (Marrelli *et al.*, 2018). En effet, l'étude de Skandrani et ses collaborateurs a démontré que l'extrait des feuilles de *Moricandia arvensis* contient des composés aux propriétés antioxydants, antiprolifératives et apoptotiques (Skandrani *et al.*, 2010). Pareillement, *Moricandia arvensis* pourrait avoir un potentiel en tant qu'agent d'activité chimiothérapeutique et cytostatique dans le lymphome de la leucémie humaine. Les propriétés d'élimination des radicaux libres ainsi que l'effet antigénotoxiques propre aux différents extraits de la plante *Moricandia arvensis* sont sans doute été démontrées par l'étude (Skandrani *et al.*, 2007).

Dans la même dynamique Berreghioua et ses collaborateurs ont montré que la partie aérienne de la plante médicinale Algérienne *Moricandia arvensis* possède une activité antibactérien (Berreghioua *et al.*, 2016).

Matériels et

Méthodes

MATERIELS ET METHODES

I. Matériel végétal et l'étude phyto-chimique

I.1. Préparation des extraits

Les différentes étapes de la préparation des extraits sont réalisées au niveau de l'unité de recherche : Valorisation des Ressources Naturelles, Molécules Bioactives et Analyses Physicochimiques et Biologiques, Département de Chimie, Université Frères Mentouri Constantine 1, 25000 Constantine, Algérie. L'extraction est réalisée par madame **Belbache Hanene**.

➤ Récolte de la plante

Moricandia arvensis est récoltée pendant la floraison en mai 2015 dans la région de Mougheul wilaya de Béchar au sud-ouest de l'Algérie, latitude : N 32°1' 23.69", longitude W 2°13'3.06". L'identification a été faite par professeur Benabdelhakem Mohamed (directeur de l'agence de préservation de la nature, Bechar) selon la méthode de Quezel et Santa (1962). Un spécimen de référence (MAB0515-MOG-ALG-70) a été déposé dans l'Herbarium de l'unité de recherche VARENBIOMOL, Université Frères Mentouri Constantine 1.

➤ Extraction

Les parties aériennes (2100 g) de *Moricandia arvensis* (L.) DC. On été macérées, trois fois pendant 48 h avec du méthanol-eau (MeOH/H₂O) avec les proportions (70 : 30), le macérât obtenu est filtré puis concentré à sec sous pression (jusqu'à 35 °C). La solution restante (1000 mL) a été dissoute dans de l'eau distillée H₂O (840 mL) sous agitation magnétique et maintenue à 4 °C pendant une nuit pour précipiter le maximum de chlorophylles. Après filtration, la solution résultante a été successivement extraite avec du éther de pétrole, chloroforme (CHCl₃), de l'acétate d'éthyle (EtOAc) et du *n*-butanol (*n*-BuOH). Les phases organiques ont été séchées avec du sulfate de sodium (Na₂SO₄), filtrées en utilisant du papier filtre commun et concentrées sous vide jusqu'à 35°C pour obtenir les extraits suivants : éther de pétrole (0,19 g), CHCl₃ (5,7 g), EtOAc (1,5 g) et *n*-BuOH (23,36 g).

I.2. L'étude phyto-chimique

I.2.1. Dosage des polyphénols totaux

Le réactif de Folin-Ciocalteu est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$). Il est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_{23}) (Boizot & Charpentier, 2006). La coloration produite peut être suivie par spectrophotométrie à 750-765 nm (Stanković *et al.*, 2019) (Figure 38).

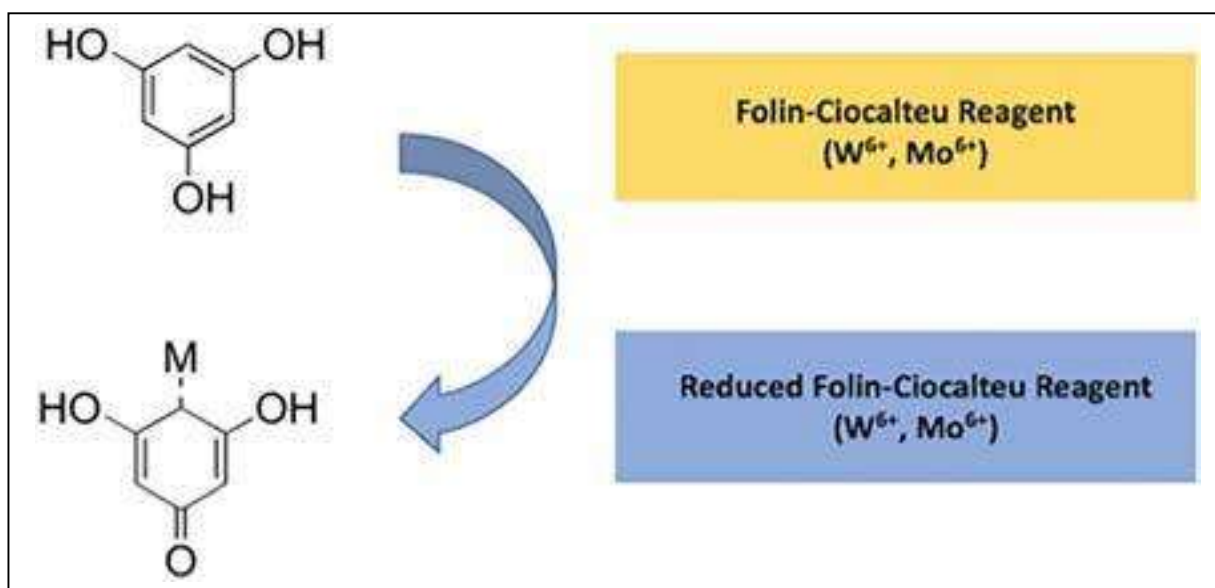


Figure 38 : La réduction du réactif Folin – Ciocalteu causée par l'oxydation des composés phénoliques dans un échantillon (Ford *et al.*, 2019)

La teneur en composés phénoliques totaux dans l'échantillon a été déterminée en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu selon la méthode de Singleton *et al.*, (1999). 20 μ L d'extrait végétal (1mg/mL) a été mélangé avec 1580 μ L d'eau distillée et 100 μ L de réactif de Folin-Ciocalteu (FCR), après 8 minutes 300 μ L de 20% décarbonate de sodium (Na_2CO_3) a été ajouté au mixture. Après 2 h d'incubation à température ambiante et à l'obscurité, l'absorbance est mesurée à 760 nm. La courbe d'étalonnage est effectuée par l'acide gallique à différentes concentrations (0-500 mg/L), dans les mêmes conditions et les mêmes étapes du dosage. La concentration des composés phénoliques totaux dans l'extrait a été déterminée en μ g d'équivalents d'acide gallique (GAE) par 1 mg de l'extrait à l'aide d'une équation obtenue à partir d'une courbe standard d'acide gallique.

I.2.2 Dosage des flavonoïdes totaux

La teneur en flavonoïdes totaux dans cette étude a été déterminée en utilisant la méthode calorimétrique. Ce test est basé sur la formation de complexes stables en milieu acide avec le groupe cétone en C-4 et le groupe hydroxyle en C-3 ou en C-5 des flavonoïdes. Le chlorure d'aluminium forme également des complexes acides stables avec les groupes ortho-dihydroxyle du cycle A ou B des flavonoïdes (Figure 39).

La mesure spectrophotométrique est basée sur la quantification du changement de couleur dans cette réaction, à 400-420 nm (Stanković *et al.*, 2019; Makuasa & Ningsih, 2020).

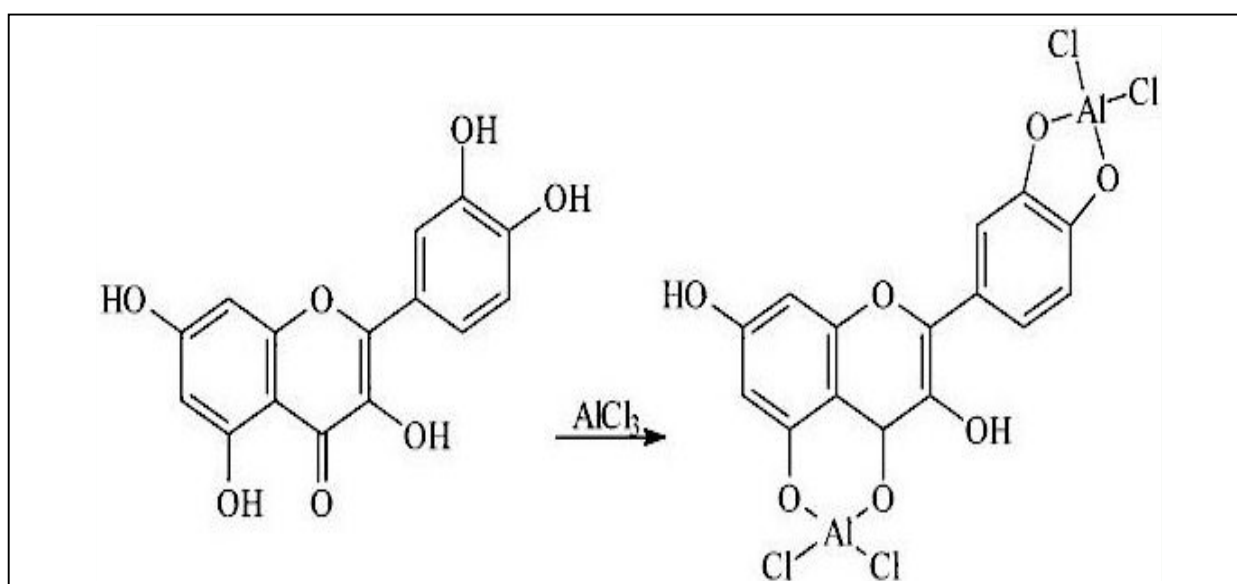


Figure 39 : Flavonoïdes avec AlCl₃ (Manarim & De Aguilar, 2016)

Les flavonoïdes totaux ont été déterminés par spectrophotométrie, suivant le protocole appliqué par Wang *et al.*, (2008). En bref, à 0,5 mL d'échantillon, on a ajouté 0,5 mL de solution à 2% d'AlCl₃. Après 1 h d'incubation à température ambiante, l'absorbance a été mesurée à 420 nm. La teneur totale en flavonoïdes a été calculée en µg d'équivalents de quercétine (QE) pour 1 mg de l'extrait à l'aide d'une équation obtenue à partir d'un graphique de la quercétine (standard).

I. 3. Méthodes de dosage des activités antioxydantes *in vitro*

I. 3. 1. Le test de piégeage du radical DPPH

Le DPPH (2,2 diphenyl-1-picryl hydrazyl) est un radical instable qui possède un électron célibataire sur l'atome d'azote (Popovici *et al.*, 2010), caractérisé par une couleur violette et un pic d'absorbance spectral maximal à 517 nm. En présence d'antioxydants, l'électron célibataire devient apparié, ce qui conduit à la décoloration de DPPH du violet foncé (forme radicalaire DPPH) en jaune (forme réduite DPPH-H). Cette décoloration est dû à la capacité d'échantillon de piéger ce radical (Ramadan, 2010) (Figure 40).

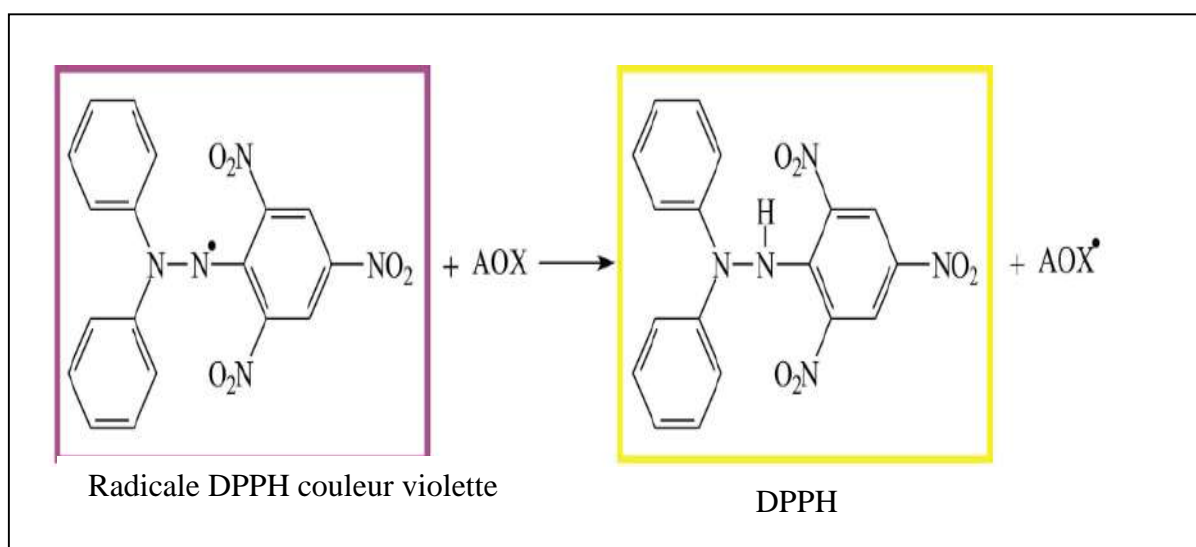


Figure 40: Réactions chimiques impliquées dans le dosage spectrophotométrique de DPPH (Becker *et al.*, 2019)

Le test 2,2-diphényl-2-picryl-hydrazyle (DPPH•) est réalisé par la méthode décrite par Blois, 1958. Brièvement, 160 µL de solution de DPPH• (0.006%) a été mélangé avec 40 µL de différentes dilutions d'extrait de plante. Après 30 minutes d'incubation à l'obscurité et à température ambiante, l'absorbance est lue à 517 nm.

Le BHA, BHT et α-Tocophérol sont utilisés comme standards antioxydants. Le pourcentage de réduction du radical DPPH est calculé selon la formule ci-dessous :

$$\% \text{ inhibition} = \frac{[(\text{Abs}_{\text{Contrôle}} - \text{Abs}_{\text{extrait}})]}{\text{Abs}_{\text{Contrôle}}} \times 100$$

Nous avons déterminé le paramètre IC₅₀ (valeur de concentration inhibitrice), c'est la concentration de l'extrait qui provoque une inhibition de 50% de l'activité du DPPH

(changement de la couleur). Elle est calculée graphiquement par la régression linéaire des graphes tracés, pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des fractions utilisées. Donc IC₅₀ de chaque extrait est calculé :

$$IC_{50} = (Y - b)/a$$

I. 3. 2. Le test de piégeage du radical ABTS

Le radical (acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) est une molécule cible utilisée pour évaluer la réactivité d'échantillons d'antioxydants en présence de peroxydes. L'ABTS est initialement soumis à une réaction d'oxydation avec du permanganate de potassium, du persulfate de potassium ou du 2,2'-azo-bis (2-amidinopropane), produisant le cation radicalaire de l'ABTS (ABTS^{•+}) avec une couleur bleu verdâtre qui absorbe à longueurs d'onde de 415, 645, 734 et 815 nm. En présence d'un agent antioxydant, le radical ABTS^{•+} est réduit ce qui entraîne une décoloration de la solution (Santos-Sánchez *et al.*, 2019) (Figure 41).

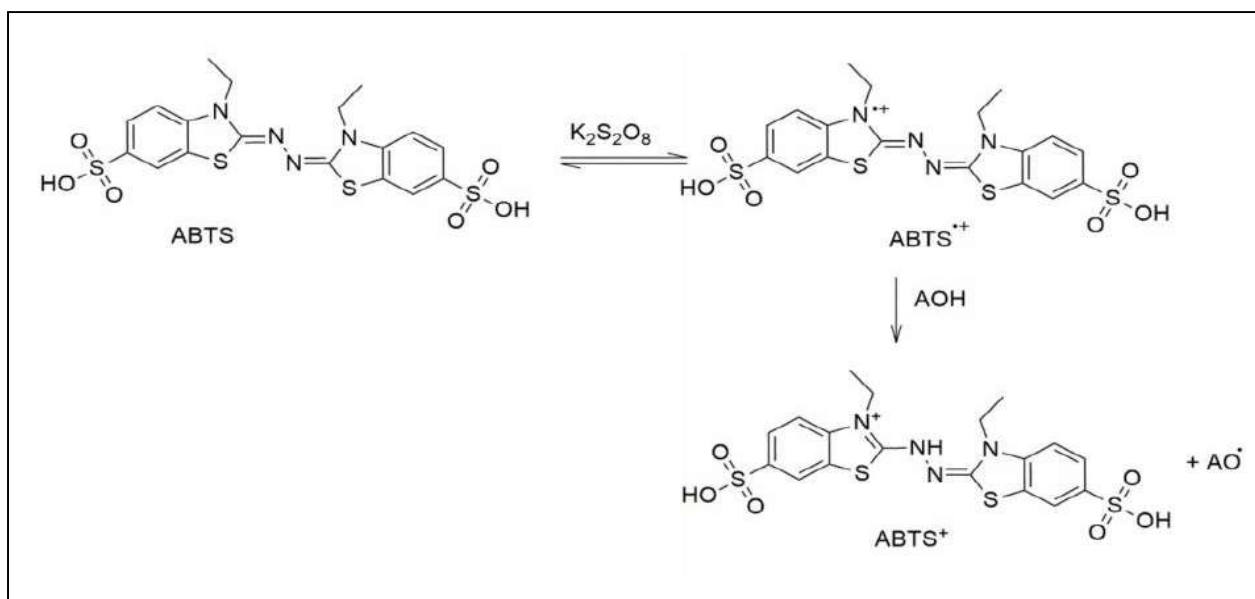


Figure 41 : Génération d'ABTS^{•+} et sa réaction avec un antioxydant (Bedlovičová *et al.*, 2020)

Le protocole de détermination de la capacité antioxydante à piéger le radical cationique ABTS^{•+} a été évalué selon la méthode de Re *et al.*, (1999) est le suivant :

La solution stock d'ABTS (ABTS à 2 mM et persulfate de potassium à 2,45 mM ($K_2S_2O_8$)) est incubée à l'abri de la lumière pendant 12 à 16 heures avant utilisation. solution stock est

ensuite diluée avec l'éthanol ou l'eau distillée pour obtenir une absorbance finale de $0,700 \pm 0,02$ à 734nm.

Les échantillons, à des différentes concentrations (40 μ L) sont mélangés avec 160 μ L de la solution diluée et laissées réagir pendant 10 minutes à température ambiante, puis l'absorbance a été mesurée à 734 nm. Le BHT et le BHA sont utilisés comme standards antioxydants. Le pourcentage de réduction du radical ABTS⁺ est calculé selon l'équation suivante

$$\% \text{ inhibition} = [(\text{Abs}_{\text{Contrôle}} - \text{Abs}_{\text{extrait}})] \times 100$$

I. 3. 3. Le test de piégeage du radical Galvinoxyl

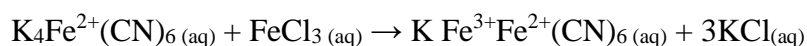
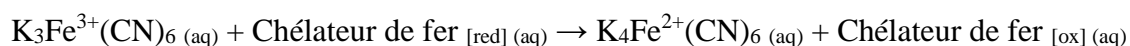
Ce test est basé sur la réduction du radical galvinoxyle stable (Gox^{*}) en GoxH lorsqu'il réagit avec un donneur d'hydrogène (Barzegar & Moosavi-Movahedi, 2011).

L'activité Galvinoxyl radical (GOR) scavenging assay est déterminée par la méthode décrite par Shih *et al.*, (2018). Brièvement, 160 μ L d'une solution méthanolique de Galvinoxyl (0,1 mM) a été mélangé avec 40 μ L de différentes dilutions d'extrait de plante, le mélange obtenu est ensuite gardé à l'abri de la lumière à la température ambiante pendant 120 minutes.

Le BHA et BHT a été utilisé comme contrôle positif à différentes concentrations. L'absorbance contre le blanc de chaque solution a été lue à 428 nm en utilisant un lecteur de microplaques à 96 puits.

I. 3.4. Dosage du pouvoir réducteur

Le dosage du pouvoir réducteur est basé sur le principe que les substances qui ont un potentiel de réduction réagissent avec le ferricyanure de potassium ($\text{K}_3\text{Fe}^{3+}(\text{CN})_6$) pour former du ferrocyanure de potassium ($\text{K}_4\text{Fe}^{2+}(\text{CN})_6$), qui réagit ensuite avec le chlorure ferrique pour former un complexe ferrique-ferreux de couleur bleue intense ayant une absorbance maximale à 700 nm (Adjimani & Asare, 2015; Gupta, 2015) selon la réaction suivante :



Dans notre étude, ce test a été évalué suivant le protocole décrit par Oyaizu, 1986. 10 μL de solution d'échantillon à différentes concentrations ont été ajoutés 40 μL de tampon phosphate pH (6,6) et 50 μL ferricyanure de potassium (1%) $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$. Le mélange a été incubé à 50°C pendant 20 minutes. 50 μL tri-chloroacétique (TCA) (10%), 40 μL H_2O et 10 μL ferricchloride FeCl_3 (0,1%) a été ajouté au mélange, l'absorbance a été mesurée à 700 nm à l'aide d'un lecteur de microplaques à 96 puits. Le acide ascorbique et α -Tocopherol ont été utilisés comme standards.

I. 3. 5. Capacité antioxydante par réduction de cuivre (CUPRAC)

La méthode CUPRAC est basée sur la réduction d'un complexe de néocuproïne cuivrique (Cu (II)-Nc) par des antioxydants à la forme cuivreuse (Cu (I) -Nc) (Karasakal, 2015), ayant une absorbance maximale à 450 nm (Gulcin, 2020) (Figure 42).

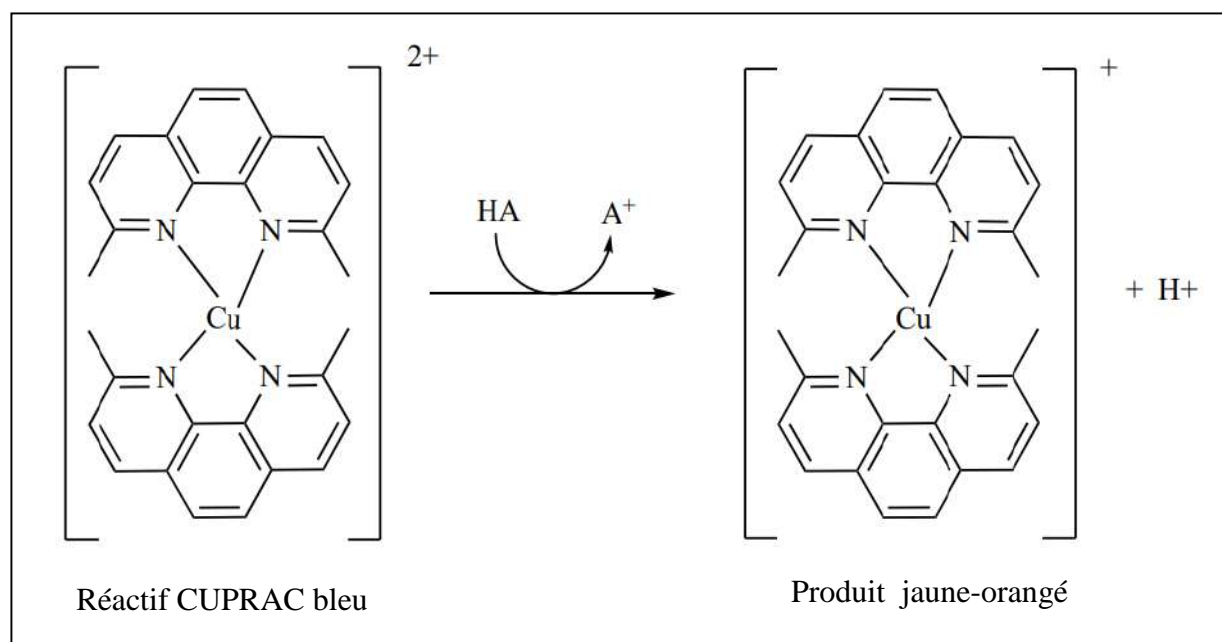


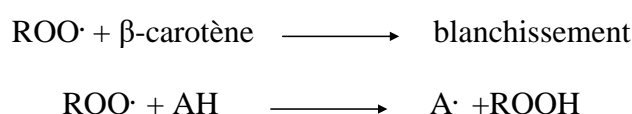
Figure 42 : La réduction d'un complexe de néocuproïne par des antioxydants (Gulcin, 2020)

La réduction de Cu^{2+} a été évaluée selon la méthode de Apak *et al.*, (2008). Le mélange réactionnel contient les réactifs suivants : 40 μL de solution d'échantillon à différentes concentrations, 60 μL de tampon d'acétate d'ammonium (NH_4Ac) (1 M, pH 7.0), 50 μL de solution néocuproïne [(Cu(II)-Nc)] (7.5 mM) et 50 μL CuCl_2 (10 mM), après 1 h d'incubation,

l'absorbance a été mesurée à 450 nm. Le BHA et le BHT sont utilisés comme standards antioxydants.

I. 3. 6. Test de blanchissement de β -carotène

La méthode de blanchissement du β -carotène est établie sur l'oxydation (décoloration) du β -carotène induite par les produits de la dégradation oxydative de l'acide linoléique (radicaux peroxy; ROO \cdot). La présence d'un antioxydant (AH) qui donne un atome d'hydrogène pour neutraliser le radical libre, ce qui empêche l'action réductrice du β -carotène qui reste de couleur jaune-orange (Gupta, 2015; Malki *et al.*, 2017). Selon la réaction suivante :



Le blanchissement de β -carotène est déterminé par la méthode décrite par Marco, 1968. Une quantité de 0,5 mg de β -carotène dissous dans 1 mL de chloroforme, 200 μ L de tween et 20 μ L d'acide linoléique ont été ajoutés. Le chloroforme est éliminé ensuite par évaporation et 50 mL de l'eau oxygénée sont ajoutés et l'absorbance a été réglée à 0,8-0,9 à 470 nm. Un volume de 40 μ L d'échantillon est ajouté à un volume de 160 μ L de l'émulsion du β -carotène /acide linoléique. L'absorbance de l'extrait est mesurée à 470 nm après une incubation à 45°C pendant 120 min. Le contrôle positif est préparé de la même manière sauf que l'extrait est remplacé par le BHA et BHT, les pourcentages d'inhibition ont été calculés selon la formule suivante :

$$\% \text{ inhibition} = 1 - \left[\frac{(\text{At}_0 - \text{At}_{120})}{(\text{A}_{0t_0} - \text{A}_{0t_{120}})} \right] \times 100$$

Où At_0 et At_{120} est l'absorbance de l'échantillon mesurée à 0 min et 120 min respectivement. A_{0t_0} et $\text{A}_{0t_{120}}$ est l'absorbance du contrôle à 0 min et 120 min respectivement.

I. 3.7. Activité de phénanthroline

Ce test est basé sur la réaction de l'ion ferreux (Fe^{+2}) avec la 1,10-phénanthroline. L'ion ferreux forme spécifiquement un complexe tri-phénanthroline rouge-orange qui absorbe au maximum à 508-510 nm (Mukhopadhyay *et al.*, 2016) (Figure 43).

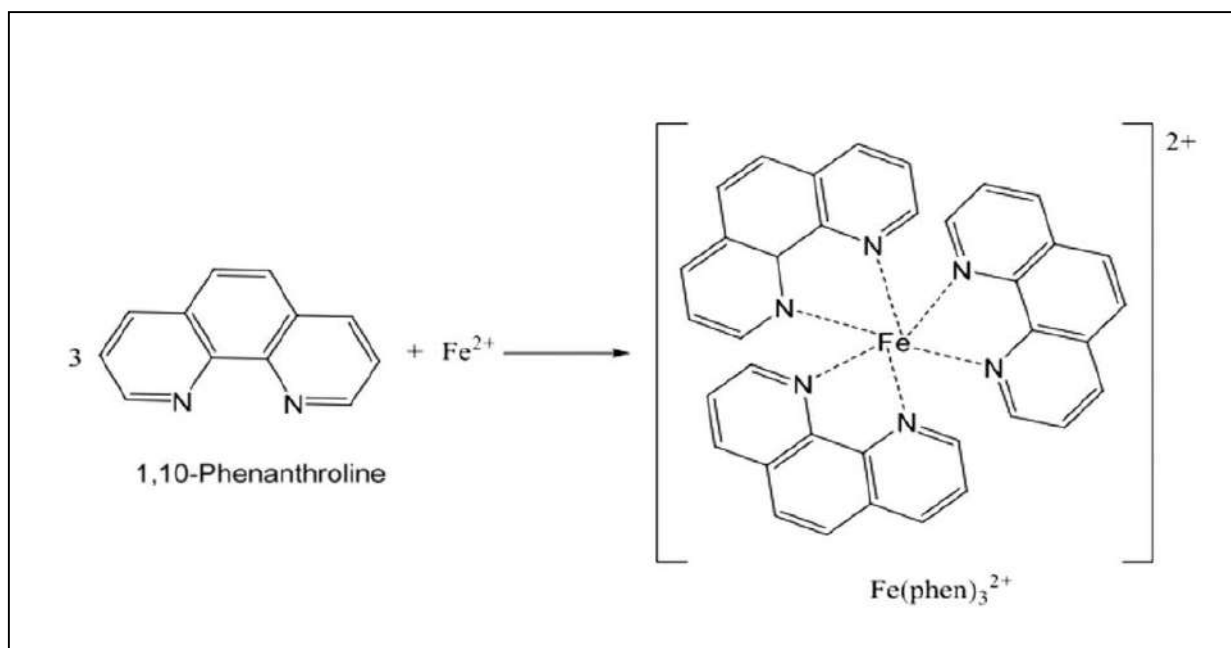


Figure 43 : Réaction de l'ion ferreux avec la phénanthroline (Giri, 2017)

Le test phénanthroline a été évaluée selon la méthode de Szydlowska-Czerniak *et al.*, (2008). 10 μL d'échantillon à différentes concentrations ont été mélangés avec 20 μL de FeCl_3 (0,2%), 30 μL de phénanthroline (0,5%) et 110 μL de méthanol. Le mélange a été incubé dans obscurité à 30 °C pendant 20 minutes, l'absorbance a été mesurée à 510 nm. Le contrôle positif est préparé de la même manière sauf que l'extrait est remplacé par le BHA et BHT.

I. 4. Évaluation de l'activité photoprotectrice ou dermatoprotectrice (SPF)

La détermination *in vitro* du SPF est un test précieux qui est utilisé pour identifier les ingrédients au cours des étapes de développement de la production de cosméceutiques. La valeur SPF représente l'efficacité d'un écran solaire (Lohani *et al.*, 2019).

Le test SPF a été évalué selon la méthode de Mansur *et al.*, (1986). L'extrait butanolique de la plante *M. arvensis* a été dilué avec du méthanol afin d'obtenir une concentration de 2 mg /mL. 200 μL des différents échantillons ont été mis dans une microplaque à 96 puits et ont été mesurés par spectrophotomètre entre 290 à 320 nm, à des intervalles de 5 nm, en prenant le méthanol comme blanc. Les valeurs SPF ont été déterminées à l'aide de l'équation suivante :

$$SPF_{\text{spectrophotometric}} = CF \times 290 \sum_{290}^{320} EE(\lambda) \times I(\lambda) \times Abs(\lambda)$$

Où CF : est le facteur de correction (10), $EE(\lambda)$ est le spectre d'effet érythémal, $Abs(\lambda)$ est l'absorbance des échantillons The $EE(\lambda) \times I(\lambda)$ Les valeurs de $EE(\lambda) \times I(\lambda)$ sont des constantes, et elles ont été déterminées par Sayre *et al.*, (1979).

I. 5. Évaluation de l'activité anti-inflammatoire sur la lignée cellulaire (U937)

I. 5. 1. Culture cellulaire et préparation de la suspension cellulaire

La lignée cellulaire utilisée pour les tests anti-inflammatoires est la lignée cellulaire de leucémie monoblastique humaine U937 (ICLC HTL94002-Interlab Cell Line Collection) ont été cultivées dans du milieu Roswell Park Memorial Institute 1640 (RPMI 1640) supplémenté avec 10 % de sérum bovin fœtal, 2 mM de L-glutamine, 100 U/mL de pénicilline et 100 µg/mL de streptomycine et en présence de 5% de CO₂. Les cellules ont été traitées avec de l'extrait de *n*-butanol de *Moricandia arvensis* à différentes concentrations (25, 50, 100 et 200 µg/mL). Les cellules U937 ont été différenciées en macrophages en utilisant 10 ng/mL de phorbol-12-7myristate-13-acétate (PMA, Sigma – Aldrich, St Louis, MO, USA) et/ou avec 400 ng/mL de lipopolysaccharide de *Salmonella enterica* sérotype *typhimurium* (LPS, Sigma – Aldrich) (Pappalardo *et al.*, 2021).

I. 5. 2. Test de viabilité cellulaire

La méthode la plus largement utilisée pour évaluer la viabilité des cellules est le test colorimétrique de cytotoxicité au bromure de 3-(4,5-diméthylthiazol-2-yl)-2,5 diphényltétrazolium (MTT). L'activité totale des cellules est déterminée en quantifiant la quantité de MTT réduite par des enzymes mitochondriales spécifiques dans les cellules vivantes, ce qui est mis en évidence par le changement du colorant jaune du MTT en cristaux de formazan violet (Mao *et al.*, 2018) (Figure 44).

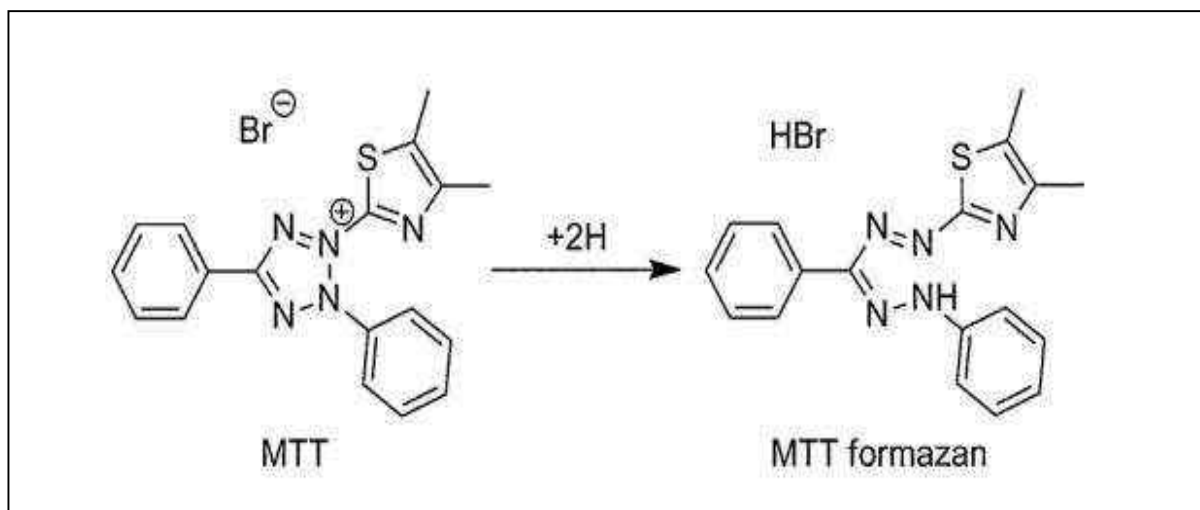


Figure 44 : Réduction de 3-(4,5-diméthylthiazol-2-yl)-2,5 diphényltétrazolium (MTT) en formazan (Grela *et al.*, 2018)

La viabilité cellulaire est déterminée par la méthode décrite par Pappalardo *et al.*, (2021). L'effet de l'extrait de *n*-butanol de *Moricandia arvensis* sur la viabilité des cellules U937 a été évalué à l'aide du compteur de cellules automatisés portatifs Millipore Scepter™ (Merck Millipore, Darmstadt, Allemagne), conformément aux instructions du fabricant. En bref, des cellules U937 ont étéensemencées avec une densité de 4×10^4 cellules/puits dans une plaque à 96 puits ensuite traitées avec l'extrait de *n*-butanol de *Moricandia arvensis* à différentes concentrations (25, 50, 100 et 200 $\mu\text{g/mL}$) pendant 72 h. L'absorbance du produit formazan a été quantifiée à 560 nm en utilisant un lecteur de microplaques (*GloMax, Promega*).

I. 5. 3. Détection des ROS, NO et PGE2

➤ Espèces réactives de l'oxygène (ROS)

Dichlorodihydrofluorescein diacétate (DCF-DA) est une forme diacétate non fluorescente perméable aux cellules. Après avoir pénétré dans le cytoplasme, les estérases intercellulaires cliveront les deux liaisons ester du DCF-DA pour former le DCF, qui à son tour réagit avec des nombreux types de ROS, plus spécifiquement les radicaux hydroxyles ($\cdot\text{OH}$). La molécule résultante est le dérivé fluorescent de la dichlorofluoresceine (DCF) ce dernier émet un fort signal fluorescent vert qui absorbe au maximum à 485-530 nm (Gardiner *et al.*, 2020) (Figure 45).

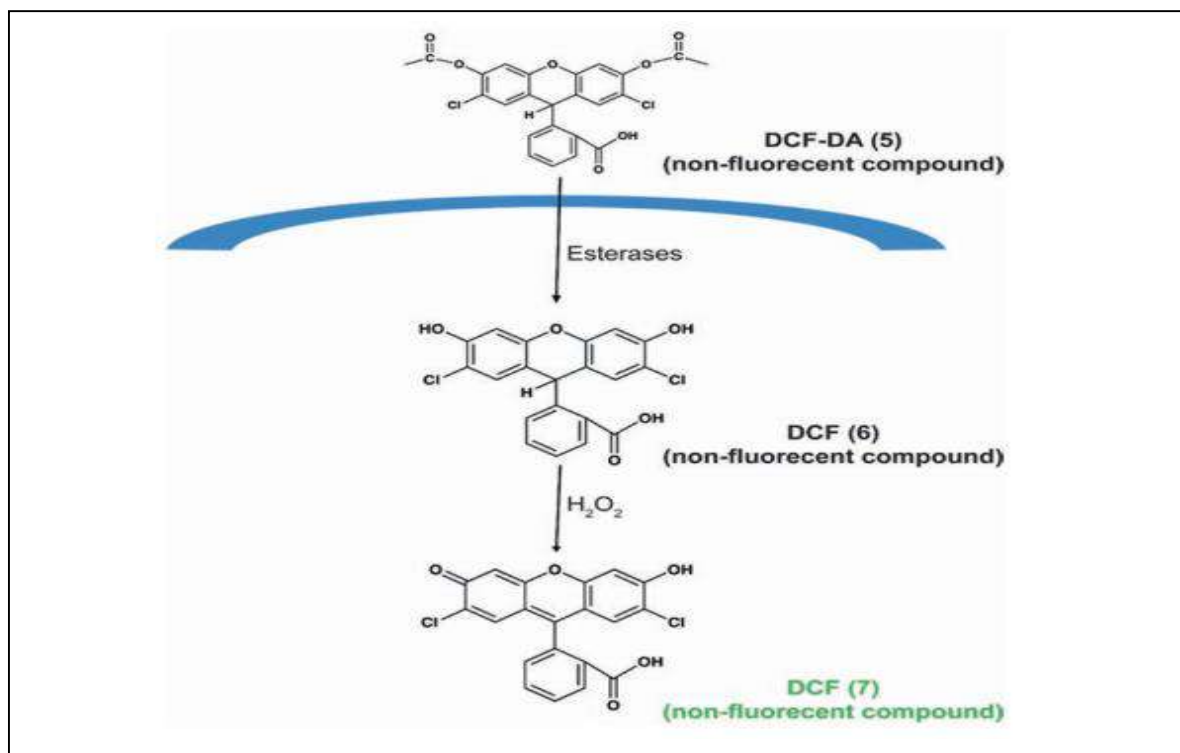


Figure 45 : Mécanisme de détection du ROS par le diacétate DCF-DA (Gardiner *et al.*, 2020)

La détection des ROS est déterminée par la méthode décrite par Pappalardo *et al.*, (2021). Pour évaluer les niveaux de ROS, les cellules U937 ont été ensemencées à la densité de 1×10^5 cellules/puits, différenciées avec 10 ng/mL de PMA et déclenchées par 200 ng/mL de LPS. Après 24 h, les ROS totaux intracellulaires ont été détectés en utilisant le dichlorodihydrofluorescein diacétate (DCF-DA). À la fin des traitements, le milieu de culture cellulaire a été retiré et DCF-DA a été ajouté au culot cellulaire à la concentration finale de 10 μ M. Après 30 min d'incubation à 37 °C dans l'obscurité, 100 μ L d'échantillons ont été transférés dans une plaque de microtitration noire, la fluorescence a été révélée à l'aide du lecteur de plaque GloMax (Promega, Madison, WI, USA).

➤ Oxyde nitrique (NO)

Diacétate 4-amino-5-méthylamino-2',7'-difluorofluorescéine (DAF-FM) est une sonde de NO très puissante, capable de détecter avec précision le NO à de très faibles concentration. Le diacétate de DAF-FM est une molécule stable non fluorescente, capable de diffuser à travers la membrane cellulaire. Après avoir pénétré dans le cytoplasme, les estérases intercellulaires vont cliver la liaison diacétate de la molécule pour former le DAF-FM qui à son tour réagir

avec le NO pour former le composé fluorescent Benzotriazole verte qui absorbe au maximum à 495-515 nm (Gardiner *et al.*, 2020) (Figure 46).

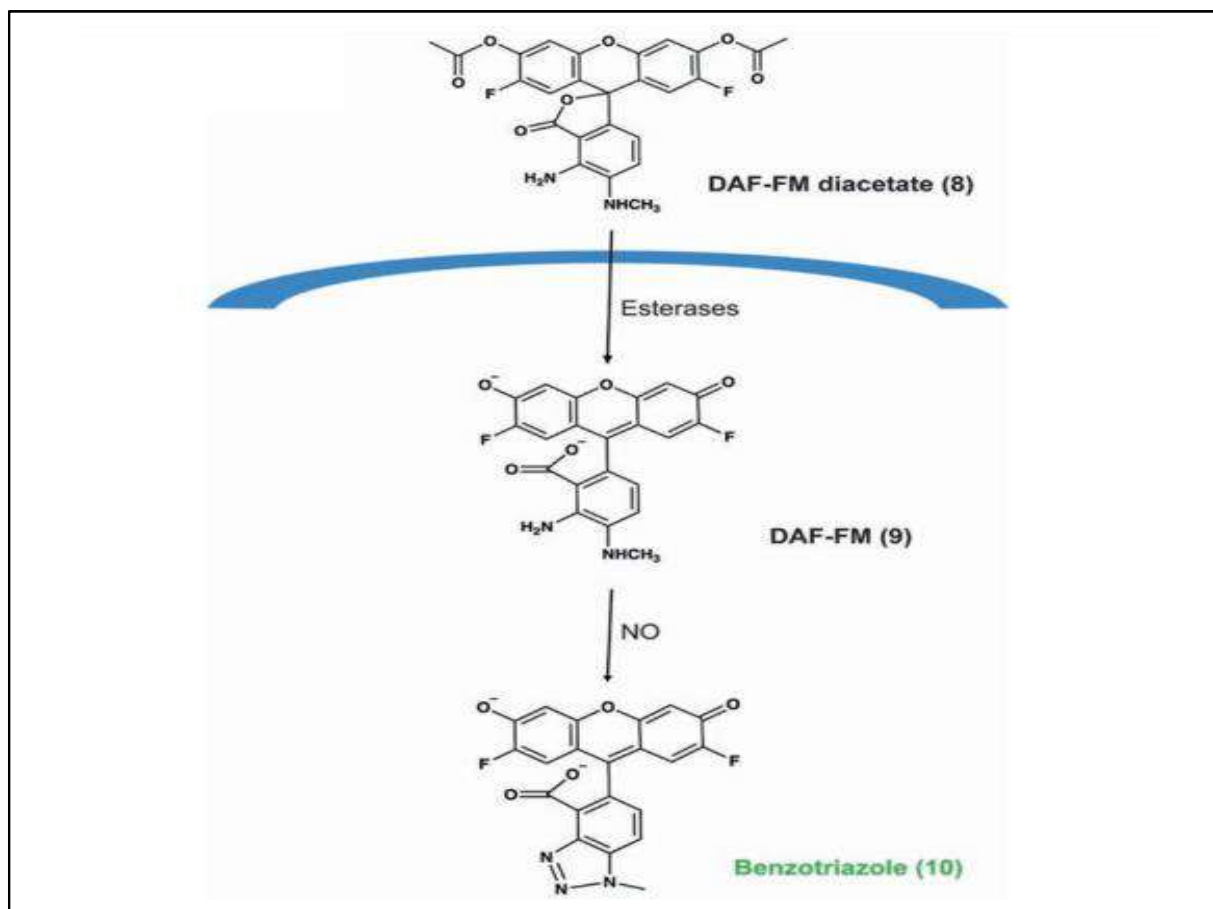


Figure 46 : Mécanisme de détection du NO par le diacétate DAF-FM (Gardiner *et al.*, 2020)

La détection des NO est déterminée par la méthode décrite par Pappalardo *et al.*, (2021). Pour évaluer les niveaux de NO, les cellules U937 ont étéensemencées à la densité de 1×10^5 cellules/puits, différenciées avec 10 ng/mL de PMA et déclenchées par 200 ng/mL de LPS. Les concentrations de NO ont été mesurées à l'aide de DAF-FM Diacetate, 24 h après le début des traitements. Les cellules U937 / PMA ont été incubées avec du diacétate de DAF-FM 2, 24 μ M pendant 30 minutes dans l'obscurité. La fluorescence a été mesurée à l'aide d'un lecteur de plaques GloMax. Chaque expérience a été réalisée en triple.

➤ **Prostaglandine E2 (PGE2)**

Pour évaluer les niveaux de prostaglandine E₂ (PGE₂), les cellules U937 ont d'abord été différenciées en macrophages en ajoutant 10 ng/mL de PMA (U937/PMA) puis traitées avec 50 ou 100 µg/mL *n*-butanol extrait de *Moricandia arvensis* pendant 1 heure avant le déclenchement de l'inflammation avec le LPS. 48 h plus tard, le kit DetectX Prostaglandin E2 High Sensitivity Immunoassay (Arbor Assays, Ann Arbor, MI, USA) a été utilisé pour déterminer les niveaux de PGE₂ dans les milieux de culture cellulaire selon le protocole du fabricant (Vassallo *et al.*, 2020).

I. 5. 4. Analyse par immuno-empreinte (Western Blot)

Western blot, également connu sous le nom d'immunotransfert ou transfert des protéines, est une technique de base en biologie cellulaire et moléculaire. Dans la plupart des termes de base, il est utilisé pour détecter la présence d'une protéine spécifique dans un mélange complexe des cellules (Moore, 2009). La technique utilise l'électrophorèse sur gel de dodécylsulfate de sodium-polyacrylamide (SDS-PAGE) en fonction de la taille, de leur transfert et immobilisation ultérieurs sur un support membranaire et de leur détection sélective. Les protéines sont ensuite transférées depuis le gel sur une membrane, où elles sont exposées à un anticorps spécifique de la protéine d'intérêt. L'anticorps non lié est lavé, ne laissant que l'anticorps lié à la protéine d'intérêt, ces derniers sont ensuite détectés en développant le film, l'épaisseur de la bande correspond à la quantité de protéine présente (Mahmood & Yang, 2012; Hnasko & Hnasko, 2015; Kim, 2017).

Pour l'analyse par immunotransfert, les cellules U937 ont été stimulées avec du LPS en présence ou en l'absence de *Moricandia arvensis* à 50 µg/mL et 100 µg/mL. Les cellules ont été lysées dans un tampon de chargement d'échantillon et bouillies à 100°C pendant 5 min. 30 microgrammes de protéines ont été résolus avec 10 % de SDS/PAGE puis transférés sur des membranes de nitrocellulose. Les membranes ont été buvardées avec des anticorps spécifiques pour la sous-unité p65 de NF-κB (ab7970, abcam, Cambridge, MA) et la β-actine (ab8227, abcam). Après incubation avec l'anticorps HRP Goat anti-Rabbit IgG (H+L) (Thermo Fisher Scientific, San Jose, CA, USA), les intensités de bande pertinentes ont été quantifiées par balayage densitométrique à l'aide du logiciel ImageJ.

II. Matériel animal

II. 1. Animaux et conditions d'hébergement

Les animaux d'expérience sont des rats males de souche *Wistar Albinos*, pesant entre (190-250g). L'élevage a été effectué au niveau de l'animalerie de l'Université Mentouri de Constantine, avec une température ambiante 25°C et un cycle photopériodique de 12h/12h. Les animaux sont logés, dans des cages d'aluminium dont chacun porte 7 animaux, avec un accès libre à la nourriture et à l'eau. La litière utilisée est la sciure, renouvelée trois fois par semaine pour assurer le bon état hygiénique des animaux.

II. 2. Les groupes des animaux

Les rats mâles *Wistar albinos*, ont été répartis en six groupes expérimentaux renfermant chacun 7 rats :

- **Groupe I témoin** : reçoit quotidiennement par gavage l'eau distillée pendant 10 jours.
- **Groupe II Toxique** : reçoit quotidiennement par gavage l'eau distillée pendant 10 jours, puis traités le 8^{ème} jour par la doxorubicine à la dose unique de 15 mg/kg par voie intrapéritonéale.
- **Groupe III extrait 100mg/kg** : reçoit chaque jour par gavage 100 mg/kg de l'extrait butanolique *M. arvensis* pendant 10 jours.
- **Groupe IV extrait 50 mg/kg** : reçoit chaque jour par gavage 50 mg/kg de l'extrait butanolique *M. arvensis* pendant 10 jours.
- **Groupe V DOX+ extrait 100 mg/kg** : animaux prétraités par l'extrait butanolique à la dose quotidienne de 100 mg/kg par gavage pendant 10 jours, puis traités le 8^{ème} jour par la doxorubicine à la dose unique de 15 mg/kg par voie intrapéritonéale.
- **Groupe VI DOX + extrait 50 mg/kg** : animaux prétraités par l'extrait butanolique à la dose quotidienne de 50 mg/kg par gavage pendant 10 jours, puis traités le 8^{ème} jour par la doxorubicine à la dose unique de 15 mg/kg par voie intrapéritonéale.
- **Groupe VII Vitamine E+ DOX** : animaux prétraités par vitamine E 100 mg/kg par gavage pendant 10jours, puis traités le 8^{ème} jour par la doxorubicine à la dose unique de 15 mg/kg par voie intrapéritonéale.

La dose de l'extrait *n*-butanolique de la plante a été choisie sur la base des observations *in vivo* et des recherches menées dans notre laboratoire sur l'effet de différents extraits de plantes sur la toxicité hépatique et rénale induite par des xénobiotiques (Zama *et al.*, 2007; Amrani *et al.*, 2014; Djebbari *et al.*, 2017), tandis que la dose de doxorubicine a été choisie sur la base d'études antérieures (Zordoky *et al.*, 2011; El-Moselhy & El-Sheikh, 2014).

II. 3. Dissection des rats, prélèvement du sang et des organes

A la fin de la période du traitement, les animaux sont mis à jeun pendant une nuit, les rats sont anesthésiés en utilisant le chloroforme. Le sang est prélevé à partir de la veine porte et mis dans des tubes, puis il est centrifugé à 3000 tours/minute pendant 10 minutes pour récupérer le plasma, puis stocké à -20°C jusqu'à l'utilisation pour l'analyse des paramètres biochimiques telles que les transaminases (ALAT, ASAT), cholestérol total, triglycéride, LDL, HDL, Glucose, urée, créatinine et CPK.

II. 4. Préparation de la fraction cytosolique

Après le sacrifice des rats, une perfusion aura lieu avec une solution froide de NaCl (0,9 %) afin de drainer tout le sang restant dans les organes. En suite les organes sont rincés par l'eau physiologique salin 0,9 %, puis coupé en petits morceaux, pesé et enfin homogénéisé à l'aide d'un homogénéisateur dans une solution de KCl 1,15% à raison de 20% pour le foie et 10% pour les reins et le cœur. L'homogénat obtenu est centrifugé à 3000 tours/minute pendant 15 minutes pour éliminer les débris cellulaires. Ensuite, La fraction cytosolique est récupérée et utilisée pour les dosages du taux de malondialdéhyde (MDA), la concentration de glutathion réduit (GSH) et le glutathion peroxydase (GPX).

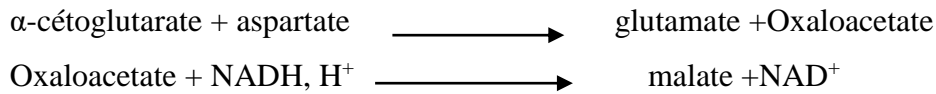
II. 5. Méthodes d'évaluation des paramètres biochimiques

L'analyse des paramètres biochimiques est effectuée suivant des méthodes enzymatiques ou colorimétriques au sein du laboratoire de biochimie du CHU Benbadis de Constantine, en utilisant des Kits commerciale (*Spinreact*).

II. 5. 1. Évaluation de l'aspartate aminotransférase (ASAT)

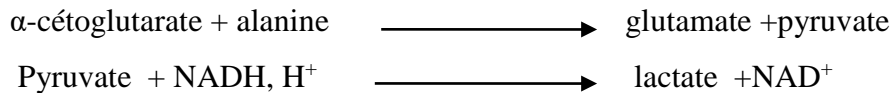
L'aspartate aminotransférase (ASAT) appelée aussi l'oxaloacétate de glutamate transaminase (TGO) catalyse le transfert réversible d'un groupe aminé à partir de l'aspartate au

l'alpha-cétoglutarate formant le glutamate et l'oxaloacétate. L'oxaloacétate est réduit au malate par la malate déhydrogénase (MDH) et le NADH, H⁺ selon la réaction suivante :



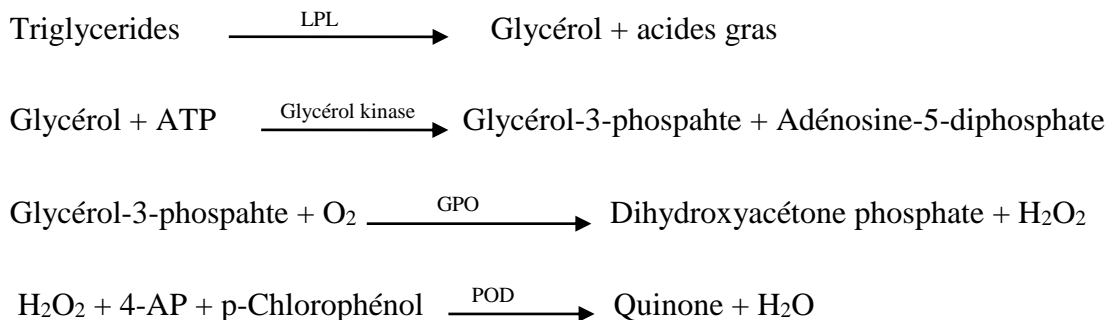
II. 5. 2. Évaluation de l'alanine aminotransférase (ALAT)

L'alanine aminotransférase (ALAT) appelée aussi pyruvate de glutamate transaminase (TGP) catalyse le transfert réversible d'un groupe aminé à partir de l'alanine au l'alpha-cétoglutarate formant le glutamate et pyruvate. Le pyruvate est réduit au lactate par le lactate déhydrogénase (LDH) et le NADH, H⁺ selon la réaction suivante :



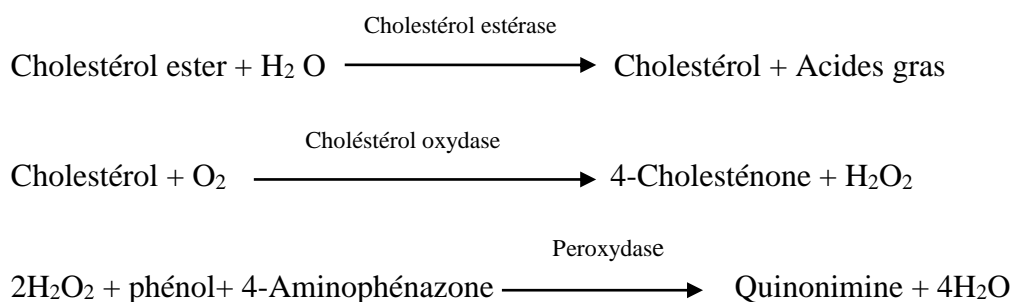
II. 5. 3. Évaluation des triglycérides

Les triglycérides incubés avec la lipoprotéinlipase (LPL), libèrent le glycérol et les acides gras libres. Le glycérol est converti en glycérol-3-phosphate (G3P) et adénosine-5-diphosphate (ADP) par le glycérol kinase et l'adénosine triphosphate (ATP). Le glycérol-3-phosphate (G3P) est alors converti par le glycérol phosphate déshydrogénase (GPO) en dihydroxyacétone phosphate (DAP) et peroxyde d'hydrogène (H₂O₂). Dans la dernière réaction, le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) réagit avec 4-aminophénazone (4-AP) et p-chlorophénol en présence de la peroxydase (POD) pour donner une coloration rouge. Le protocole comprend donc les réactions suivantes :



II. 5. 4. Évaluation du cholestérol total

Les teneurs en cholestérol total sont dosées par une méthode enzymatique colorimétrique, ce dernier présent dans l'échantillon donne après hydrolyse enzymatique et oxydation un complexe coloré quantifiable par spectrophotométrie. L'indicateur est la quinonéimine formé à partir du 4-amino-phenazone et le phénol, par le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) sous l'action de la peroxydase. L'absorbance est mesurée à 500 nm. L'intensité de la couleur est proportionnelle à la concentration de cholestérol. La séquence de réaction est la suivante :



II. 5. 5. Évaluation de cholestérol HDL

Le cholestérol-HDL est une lipoprotéine dite de haute densité. Dans la mesure où il intervient dans l'élimination du cholestérol, il est aussi appelé "bon cholestérol". Il est véhiculé vers le foie pour être métabolisé et excrété sous forme de sels biliaires. Après avoir précipité par l'acide phosphotungstique, en présence d'ions magnésium, les chylomicrons et les lipoprotéines de faible densité (LDL) et de très faible densité (VLDL) contenus dans le sérum. Le surnagent obtenu après centrifugation contient le HDL dont le cholestérol est dosé par le réactif cholestérol total enzymatique et les valeurs sont exprimées en (mg/dl).

II. 5. 6. Évaluation de cholestérol LDL

Les lipoprotéines de faible densité (LDL), sont synthétisées dans le foie sous l'action de différentes enzymes lipolytiques sur les lipoprotéines de très faible densité (VLDL) riches en triglycérides. Le taux de cholestérol-LDL a été mesuré par méthode directe avec un kit enzymatique sélectif et les valeurs sont exprimées en (mg/dl). Le taux du cholestérol-LDL est, peut aussi, calculé à partir des triglycérides (TG), du cholestérol-HDL et du cholestérol total selon la formule de Friedewald :

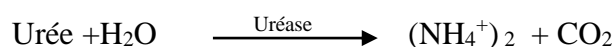
$$\text{LDL (en mg/dl)} = \text{Cholestérol total} - \text{HDL} - (\text{Triglycérides}/5)$$

II. 5. 7. Évaluation du glucose

Le dosage du glucose est basé sur une double réaction enzymatique : la glucose-oxydase (GOD) oxyde le glucose en acide gluconique et en peroxyde d'hydrogène (H₂O₂). Ce dernier permet l'oxydation de l'o-dianisidine en un produit coloré grâce à une autre enzyme, la peroxydase. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration en glucose. À partir d'une courbe étalon, on peut déterminer graphiquement la teneur en glucose d'une solution en mesurant son absorbance à 505 nm par spectrophotométrie.

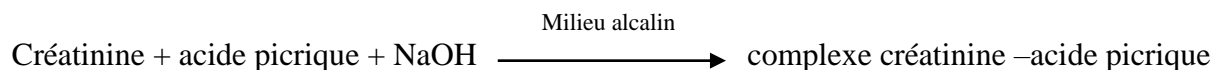
II. 5. 8. Évaluation de l'urée

L'uréase hydrolyse l'urée en ammonium (NH₄⁺) et dioxyde de carbone (CO₂). Les ions ammonium formés réagissent avec le salicylate et l'hypochlorite en présence du nitroprussiate. Pour former un indophénol vert selon les réactions ci-dessous :



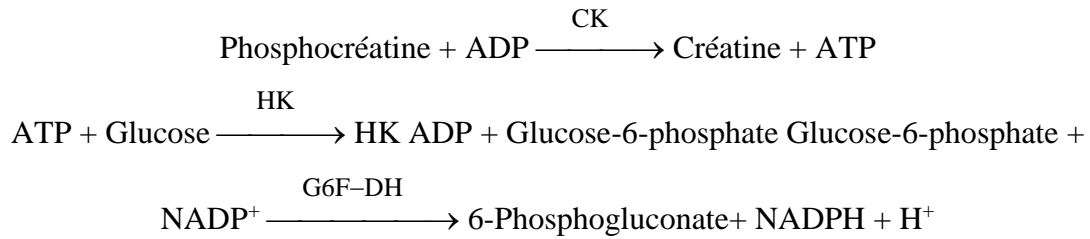
II. 5. 9. Évaluation de créatinine

C'est la formation d'un complexe créatinine-picrate par la réaction de la créatinine de l'échantillon avec le picrate dans un milieu basique, l'augmentation de l'absorbance à 500 nm est proportionnelle à la concentration de la créatinine dans l'échantillon.



II. 5. 10. Évaluation de créatine phosphokinase (CPK)

La créatine-kinase (CK) encore appelée créatine-phosphokinase (CPK) catalyse le transfert réversible d'un groupe de phosphates de la phosphocréatine vers l'ADP. Cette réaction s'accouple avec d'autres réactions catalysées par l'hexokinase (HK) et par la glucose-6-phosphate déshydrogénase (G6F-DH):



La vitesse de formation de NADPH, déterminée par photométrie, est proportionnelle à la concentration catalytique en CK présente dans l'échantillon testé.

II.6. Évaluation des paramètres de stress oxydant

II.6. 1. Évaluation du malondialdéhyde (MDA)

Le dosage du malondialdéhyde (MDA) a été réalisé selon la méthode de Uchiyama & Mihara, 1978. Le MDA est un produit final du processus de peroxydation des lipides, connu comme un marqueur du stress oxydatif qui aboutit finalement à des dommages cellulaires (Dodda *et al.*, 2014).

La détection du MDA constitue une méthode très sensible pour déterminer la lipoperoxydation. Cette détection se base sur une réaction au cours de laquelle, une molécule de MDA réagit avec deux molécules d'acide thiobarbiturique (TBA) et entraînent la formation d'un complexe rose qui absorbe une longueur d'onde de 532 nm selon la réaction suivante (Macdonald *et al.*, 2010) (Figure 47) :

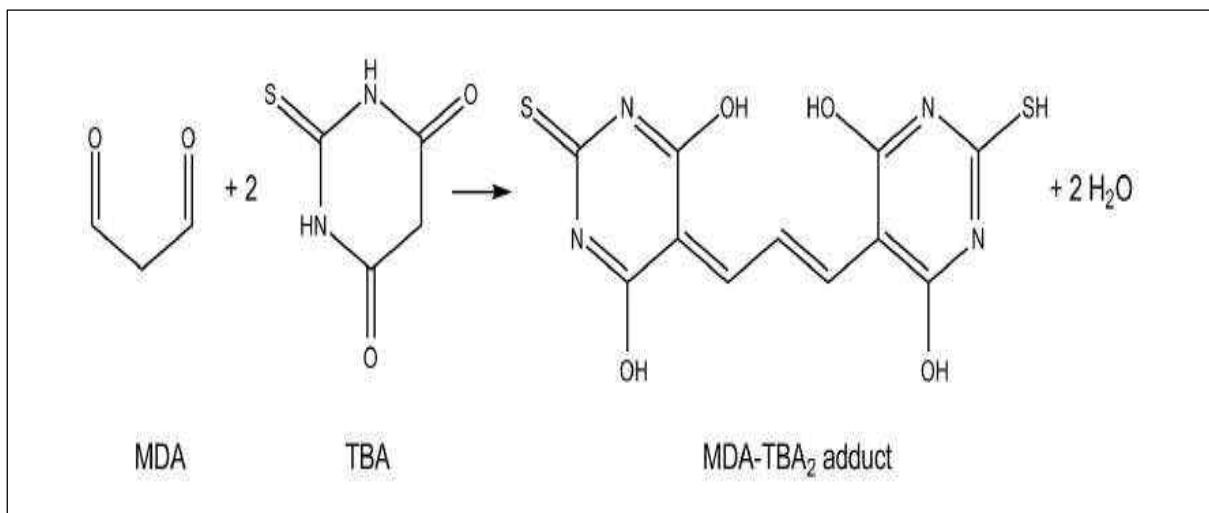


Figure 47 : Réaction du malondialdéhyde (MDA) avec 2 molécules d'acide 2-thiobarbiturique (TBA) (Weitner *et al.*, 2016)

A 0,25 mL d'homogénat, nous avons additionné 1,5 mL de l'acide phosphorique (1%) et 0,5 mL de l'acide thiobarbiturique (TBA) 0,67 %. Le mélange est incubée à 100 °C pendant 45 min et la réaction est arrêtée par immersion des tubes dans la glace puis additionné 2 mL de *n*-butanol. Le mélange est centrifugé à 3000 t/min pendant 15 min. La lecture est effectuée à 532 nm. La quantité du MDA dans l'échantillon est exprimée en nmol/mg de tissu. Elle est obtenue grâce à une courbe standard réalisée avec du 1,1,3,3-tetraetoxypropane dans les mêmes conditions.

II.6. 2. Évaluation du glutathion réduit (GSH)

Le dosage du glutathion réduit (GSH) est réalisé par la méthode colorimétrique par le réactif d'Ellman (DTNB) (Ellman, 1959). Le principe consiste à scinder la molécule d'acide 5,5'-dithiodis-2-nitrobenzoïque (DTNB) par le GSH et la libération de l'acide thionitrobenzoïque (TNB). Ce dernier, à pH (8-9), présente une absorbance maximale à 412 nm selon la réaction suivante (Figure 48).

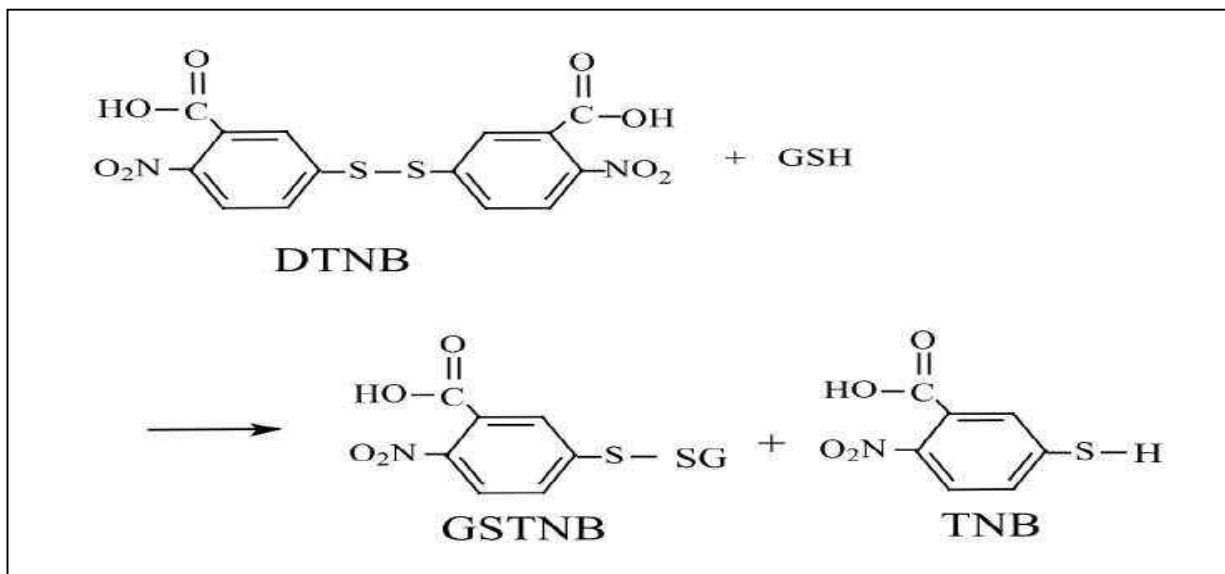
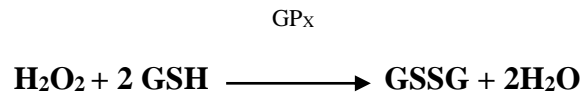


Figure 48 : Réaction entre le glutathion réduit et le DTNB (réactif d'Ellman) (Alves et al., 2003)

A 0,5 mL d'homogénat, nous avons additionné 0,5 mL d'acide trichloracétique (TCA) (10%) ont laissé réagir pendant 15 min puis centrifugés à 2000 t/min pendant 5 min. Un aliquote de 0,2 mL de surnagent et additionner a 1,8 mL de solution tampon phosphate (PH 8, 0,1 M) et 0,1 mL réactif d'Ellman (DTNB), l'absorbance est mesurée à 412 nm après 5 min. La teneur en GSH était exprimée en nmol GSH/mg de protéine.

II. 6. 3. Évaluation du glutathion peroxydase (GPx)

L'activité enzymatique du glutathion peroxydase (GPx) a été mesurée par la méthode de Flohé & Gunzler (Flohé & Günzler, 1984). Le glutathion peroxydase (GPx) de l'homogénat tissulaire oxyde le glutathion (GSH) et simultanément le H₂O₂ est réduit en H₂O. La quantité du glutathion restante réagit avec la solution DTNB pour donner un composé coloré qui est mesuré par spectrophotométrie à 420 nm, selon la réaction suivante :



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

Le mélange réactionnel contient 0,2mL de l'homogénat, 0,4ml de GSH (0,1mM) et 0,2mL de solution TBS (Tris 50mM, NaCl 150mM, PH 7,4). Le mélange est incubé au bain marie 25°C pendant 5 minutes, puis additionné 0,2 mL de H₂O₂ (1,3 mM). Après 10 min 1 mL de TCA 1% (acide tri chloro-acétique) est rajouté dans le but d'arrêter la réaction et le mélange est placé dans la glace pendant 30 min et centrifugé durant 10 min à 3000t/min. Un aliquote de 0,48 mL de surnageant et additionner 2,2 mL TBS et 0,32 mL de DTNB, l'absorbance est mesurée à 412 nm après 5 min. L'activité de GPx est exprimée en nmol GSH/mg de protéine.

III. Examens d'anatomie-pathologiques

L'étude histologique a été réalisée sur les différents organes (foie, reins et cœur) dans le laboratoire d'anatomie pathologique de CHU / Centre Hospitalo-Universitaire Ben Badis de Constantine. Elle est basée sur une analyse sémiologique qui consiste à comparer les tissus normaux et les tissus pathologiques, dont l'objectif est de vérifier l'existence de modifications éventuelles dans l'architecture de ces organes après l'administration de la plante *Moricandia arvensis* et l'injection de doxorubicine.

Les différentes étapes de la préparation des blocs de paraffine sont résumées ci-dessous :

- La fixation consiste à protéger les tissus prélevés de toute hydrolyse due à la libération des enzymes contenues dans les lysosomes cellulaires. La fixation se fait par une solution du formol tamponné (10 %) qui favorise la polymérisation des protéines et, dans certains cas les lipides présents dans l'organe.

- Les fragments des tissus sont mis en cassettes puis plonger dans un récipient fermé de formol 10%.
- La déshydratation on passe les tissus dans des bains d'alcool de degré croissant (70°, 80°, 90°, 95°, 99°, puis enfin 100°). L'intérêt de la déshydratation est d'éliminer l'eau. Juste après la déshydratation, les cassettes sont mises dans un bain de xylène (éclaircissant) ce qui permet d'apprécier le degré de pénétration par la transparence acquise par la pièce.
- Les tissus sont inclus dans du paraffine fondue qui s'incorpore avec l'échantillon et conserve ces tissus permettant ainsi de faire des coupes histologiques fines.
- Les coupes fines (5 µM) sous forme d'un ruban sont réalisées à partir du bloc de paraffine à l'aide d'un microtome. Le ruban obtenu de la microtomie est étalé sur des lames en verre, ces lames passent sur une plaque chauffante pour assurer la fixation de la paraffine contenant la coupe histologique sur la lame.
- Pour faciliter la pénétration des colorants à l'intérieur de la coupe, on commence d'abord par une réhydratation. On passe les lames dans des bains d'alcool de degrés décroissants (de 100°, 90°, 70°C) puis dans de l'eau distillée.
- La coloration est effectuée pour reconnaître les différents composants tissulaires qui sont généralement transparents. La coloration hématoxyline éosine (HE) est la coloration bichromatique standard utilisée en premier temps, elle nous donne une vue globale sur les morphologies tissulaires et les lésions pathologiques.
 - ✓ L'hématoxyline, qui colore en bleu violacé les structures basophiles (noyaux).
 - ✓ L'éosine, qui colore en rose les structures acidophiles (cytoplasme).
- Pour une meilleure visualisation microscopique et une conservation à longue durée contre la décoloration, une résine synthétique est placée entre une lame portant la coupe histologique et une lamelle. Les lames sont prêtes pour la lecture microscopique qui est effectuée par un microscope photonique Leica et photographiées à l'aide d'un appareil photo numérique.

IV. Analyses statistiques

L'analyse statistique a été réalisée à l'aide du logiciel *Graph Pad Prism 5*. Les résultats des tests effectués *in vitro* sont exprimés en moyenne ± écart type. Les valeurs IC₅₀ (*DPPH*, *ABTS*, *Galvinoxyl*, *activité d'inhibition du blanchissement du β-carotène*) et Les valeurs A_{0.5} (*Pouvoir réducteur*, *CUPRAC*, *O-Phenanthroline*) sont calculées par la méthode de régression

linéaire. Pour les tests *in vivo* les résultats sont exprimés en moyenne \pm écart type. Les corrélations entre les données des tests ont été calculées en utilisant les coefficients de corrélation de Pearson (r^2). La détermination des taux de signification sont faites par le test *t* de *Student*, Les différences sont considérées statistiquement significatives au seuil de 0,05.

Résultats

RESULTATS

I. Caractérisation quantitative de *Moricandia arvensis*

I. 1 Teneur de l'extrait en polyphénols et flavonoïdes

La teneur en phénols totaux estimée par la méthode de Folin-Ciocalteu a été quantifiée à partir d'une gamme étalon établie avec différentes concentrations d'acide gallique (l'équation standard de courbe : $y = 0.001x$) (Annexe 01). Les résultats obtenus sont exprimés en μg équivalent d'acide gallique par mg de l'extrait.

Tandis que la teneur en flavonoïdes totaux estimée par la méthode trichlorure d'aluminium a été quantifiée à partir d'une gamme étalon établie avec différentes concentrations de quercétine (l'équation standard de courbe : $y = 0.034x + 0,015$) (Annexe 01). Les résultats obtenus sont exprimés en μg équivalent de quercétine par mg de l'extrait.

Les résultats du dosage des polyphénols et flavonoïdes totaux de partie aérienne de *Moricandia arvensis* sont représentés dans le tableau 2.

Tableau 2 : Teneur en polyphénols totaux et des flavonoïdes

Extrait	Teneur en polyphénols (μg GAE/mg d'extrait)	Teneur en flavonoïdes (μg QE/ mg d'extrait)
L'extrait <i>n</i> -butanol de la plante <i>Moricandia arvensis</i>	86,25 \pm 0,00	22,54 \pm 0,01

La teneur en polyphénols et flavonoïdes totaux d'extrait *n*-butanol de la partie aérienne de *Moricandia arvensis* étudié est égale à 86,25 \pm 0,00 μg d'acide gallique/mg d'extrait et 22, 54 \pm 0,01 μg de quercétine / mg d'extrait.

II. Évaluation de l'activité antioxydante

Dans la présente étude, l'extrait *n*-butanol de la partie aérienne de *Moricandia arvensis* a été étudié pour évaluer les activités antioxydantes potentielles en utilisant 7 méthodes différentes : le

piégeage des radicaux libres, DPPH, ABTS, Galvinoxyl, le pouvoir réducteur, le test de CUPRAC, l'inhibition du blanchissement du β -carotène et O-Phenanthroline.

On note que les valeurs des IC_{50} ou $A_{0,5}$ exprimées en $\mu\text{g}/\text{mL}$ ont été déterminées graphiquement à partir de la droite de régression de pourcentage d'inhibition ou d'absorbance en fonction de la concentration pour l'extrait ou standard testé.

II.1. Effet scavenger du radical DPPH

Le composé chimique 2,2 diphényl-1- picrylhydrazyle (DPPH) est généralement le substrat le plus utilisé pour l'évaluation rapide et directe de l'activité antioxydante en raison de sa stabilité en forme radical libre et la simplicité de l'analyse (Evenamede *et al.*, 2017). Les pourcentages d'inhibition du radical DPPH obtenus sont présentés par la figure 49.

D'après la figure 49 des pourcentages d'inhibitions, nous observons que plus la concentration est élevée, plus l'activité anti-radicalaire est élevée jusqu'à atteindre un plateau. Au-delà de cette limite, l'activité reste constante.

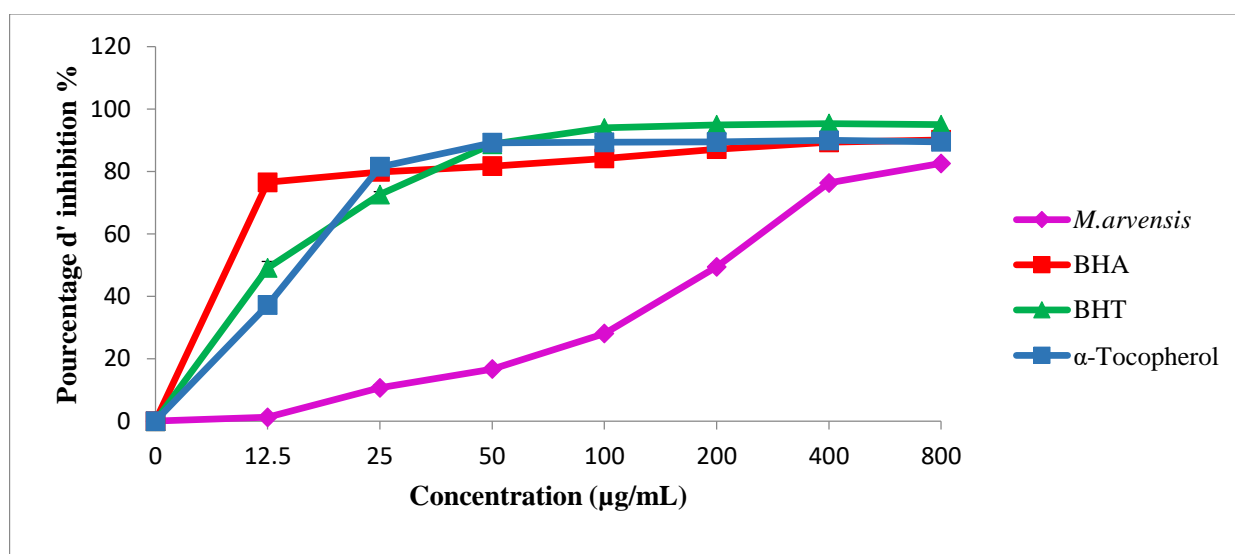


Figure 49 : Activité de piégeage du radical DPPH par l'extrait de *Moricandia arvensis* et du BHA, BHT α -Tocophérol

La capacité antioxydante de l'extrait a été déterminée à partir de l' IC_{50} , c'est la concentration nécessaire pour réduire 50 % du radical DPPH. Plus la valeur d' IC_{50} est basse, plus l'activité antioxydante d'un composé est élevée (Hebi & Eddouks, 2016).

D'après les résultats des valeurs de IC_{50} mentionnées dans le tableau en dessous l'extrait est doté d'un pouvoir antioxydant faible avec un IC_{50} de $221,52 \pm 3,77 \mu\text{g}/\text{mL}$ par rapport à la solution

standard du BHA, BHT et α -Tocophérol $6,14 \pm 0,41$; $12,99 \pm 0,41$ et $13,02 \pm 5,17$ $\mu\text{g/mL}$ respectivement.

Tableau 3 : Le pouvoir antioxydant (exprimé par IC_{50} et $A_{0,5}$ (en $\mu\text{g/mL}$) des antioxydants de références et de l'extrait testés

	IC50 DPPH ($\mu\text{g/mL}$)	IC50 ABTS ($\mu\text{g/mL}$)	IC50 GOR ($\mu\text{g/mL}$)	IC50 de β - carotène ($\mu\text{g/mL}$)	A0,5 CUPRAC ($\mu\text{g/mL}$)	A0,5 de FRAP ($\mu\text{g/mL}$)	A0,5 Phenant hroline ($\mu\text{g/mL}$)
<i>M. arvensis</i>	221,52 \pm 3,77	83,28 \pm 2,40	179,95 \pm 0,0	155,56 \pm 3,09	80,27 \pm 0,46	139,33 \pm 2,89	29,29 \pm 0,89
BHA	6,14 \pm 0,41	1,81 \pm 0,10	5,38 \pm 0,06	1,05 \pm 0,03	5,35 \pm 0,71	NT	4,89 \pm 0,06
BHT	12,99 \pm 0,41	1,29 \pm 0,30	3,32 \pm 0,18	0,91 \pm 0,01	8,97 \pm 3,94	NT	4,84 \pm 0,01
αTocophérol	13,02 \pm 5,17	NT	NT	NT	NT	34,93 \pm 2,38	NT
Acide ascorbique	NT	NT	NT	NT	NT	6,77 \pm 1,15	NT

Les valeurs exprimées sont des moyennes \pm SD de trois mesures parallèles. NT: non testé

II. 2. Activité du piégeage du cation radical ABTS⁺

Les courbes montrant le pourcentage d'inhibition du radical ABTS' en fonction de la concentration de l'extrait de *M. arvensis* et des standards (BHA et BHT) sont représentées dans la figure ci-dessous (Figure 50).

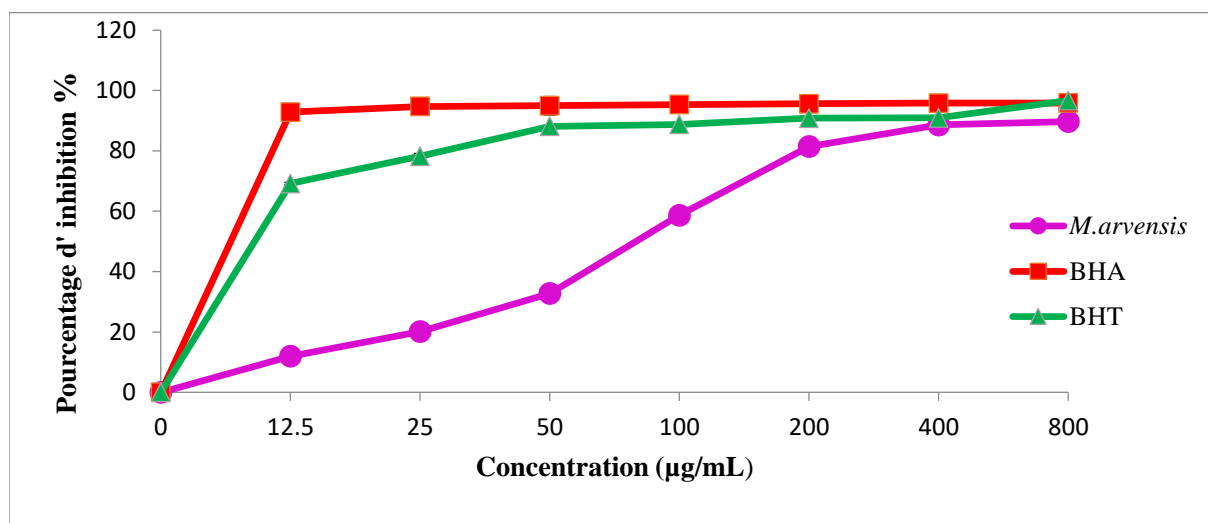


Figure 50 : Activité de piégeage du radical ABTS par l'extrait de *Moricandia arvensis* et du BHA et BHT

D'après la figure 50 on a remarqué que le pourcentage d'inhibition du radical ABTS pour l'extrait était inférieur à celui des standards pour toutes les concentrations utilisées. Pour une concentration de 800 µg/mL les standards (BHA et BHT) et l'extrait testé ont révélé un pourcentage d'inhibition d'ABTS proche de l'ordre de (95,86%, 96,68 % et 89,72%) respectivement. Ces pourcentages correspondent à une inhibition totale du radical ABTS reflétée par la décoloration complète du ABTS du bleu-vert en état neutre incolore.

Les IC₅₀ des standards et de l'extrait montre que *M. arvensis* possède un potentiel de piégeage du radical ABTS⁺ le plus important qui est estimé par une IC₅₀ (83,28±2,40 µg /mL), mais il reste plus faible que l'activité antioxydante du BHA et BHT (1,81±0,10 µg/mL et 1,29± 0,30 µg/mL) (Tableau 3).

II. 3. Activité du piégeage du radical Galvinoxyl (GOR)

Les résultats de piégeage du radical galvinoxyl de de l'extrait de *M. arvensis* et des standards (BHA et BHT) sont illustrés dans la figure 51. Les résultats d'inhibition de radicales galvinoxyl sont doses-dépendantes pour l'extrait et les standards (BHA et BHT).

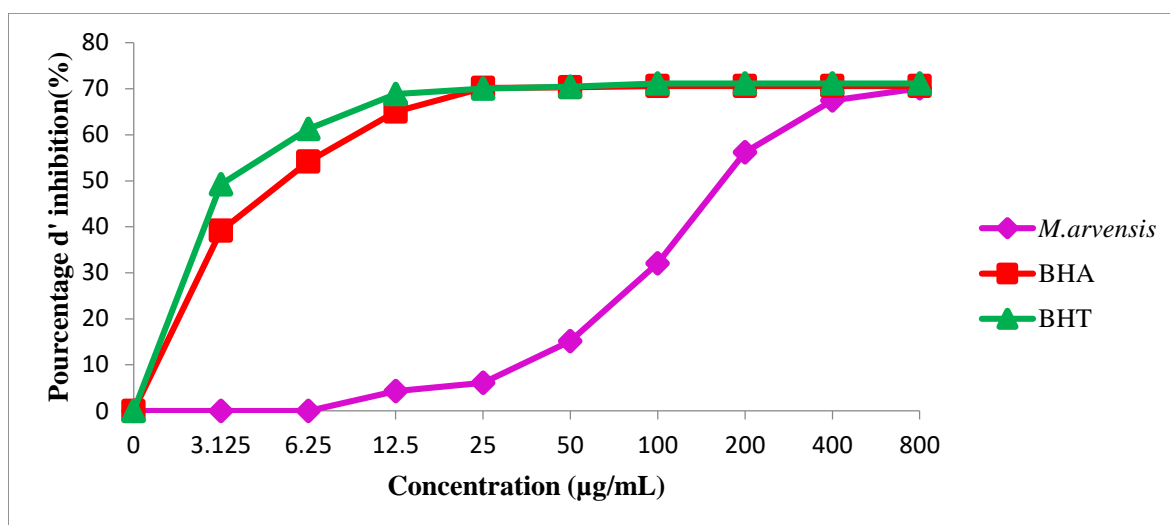


Figure 51 : Activité de piégeage du radical GOR par l'extrait de *Moricandia arvensis* et du BHA et BHT

D'après la figure 51 nous constatons que l'extrait de la plante étudiée présente un très bon pouvoir antioxydant. En effet, à la concentration de 800 µg/mL l'extrait testé réduit 70,14±1,48 % du radical GOR, activité comparable ou similaire à celle du témoin positif, le BHA et BHT qui est inhibé avec 70,60±0,10 % et 71,13±0,74 % respectivement, d'autre part les résultats obtenus dans le tableau 3 montrent que l'extrait de cette plante présente un effet antioxydant très important vis à vis du radical GOR. En effet, La concentration inhibitrice piégeant 50 % du radical GOR (IC₅₀) est de 179.95±0.00 µg/mL, par ailleurs cette dernière est relativement plus importante que celle donnée par BHA et BHT dont la valeur est de l'ordre de 5,38 ±0,06 µg/mL et 3,32±0,18 µg/mL respectivement.

II. 4. Activité de réduction du complexe cuivre-néocuproïne (CUPRAC)

La capacité de l'extrait *n*-butanol de la plante *M. arvensis* à réduire le cuivre a été testée et les résultats ont été comparés avec ceux du BHA et du BHT en tant que standards (Tableau 3). En se référant aux résultats illustrés sur la figure 52, les pouvoirs réducteurs de cuivre de l'extrait et des standards ont été affectés d'une manière dose-dépendante.

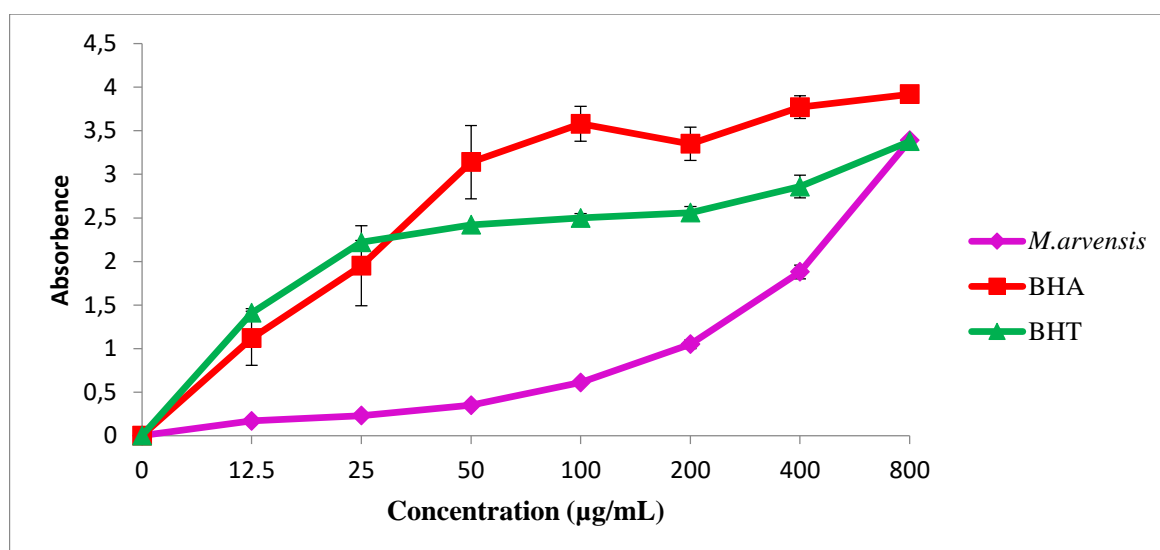


Figure 52 : Test de la réduction du cuivre (CUPRAC) par l'extrait de *Moricandia arvensis* et des standards (BHA , BHT)

D'après les résultats présentés dans la figure 52 nous observons que l'absorbance augmente en fonction de l'augmentation de la concentration de l'extrait et des standards, donc plus l'absorbance est élevée, plus la capacité réductrice est intéressante.

Dans une concentration 800 µg/mL on observe que l'extrait étudié possède une excellente activité inhibitrice du complexe cuivre-néocuproïne avec une densité optique $3,39 \pm 0,08$ nm, comparable ou similaire à celle du témoin positif, le BHA et BHT $3,92 \pm 0,13$ et $3,38 \pm 0,13$ nm.

Les valeurs $A_{0.5}$ (la concentration qui correspond à 0,5 d'absorption) sont déterminées graphiquement à partir des droites de régression linéaire des absorbances en fonction des concentrations afin de pouvoir évaluer l'activité des extraits vis-à-vis des standards. Les résultats obtenus sont illustrés dans le tableau 3, l'extrait butanolique de la plante étudiée montre une capacité inhibitrice du complexe cuivre-néocuproïne avec $A_{0.5} = 80,27 \pm 0,46 \mu\text{g/mL}$ mais cette activité reste faible par rapport à celles des BHA et BHT avec $A_{0.5}$ de l'ordre de $5,35 \pm 0,71 \mu\text{g/mL}$ et $8,97 \pm 3,94 \mu\text{g/mL}$ respectivement.

II. 5. Activité du pouvoir réducteur

Il s'agit d'une méthode de mesure de la puissance des substances des extraits à réduire le fer ferrique Fe^{3+} en fer ferreux Fe^{2+} qui constitue l'un des mécanismes antioxydants (Bammou *et al.*,

2020). Dans ce test, le pouvoir réducteur de *M. arvensis* se manifeste avec le changement de la couleur du milieu réactionnel du jaune au bleu.

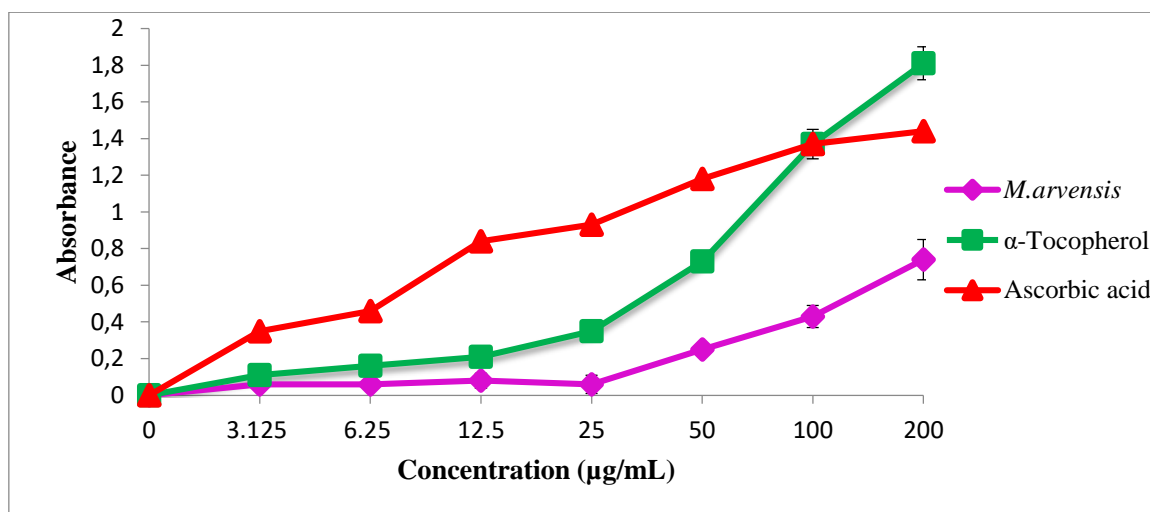


Figure 53: Test de la réduction du Fer par l'extrait de *Moricandia arvensis* et des standards (α -Tocophérol, acide ascorbique)

La figure 53 montre que l'extrait de la plante étudiée a le pouvoir de réduire le fer ferrique du complexe ferricyanure (Fe^{3+}) en fer ferreux Fe^{2+} via l'augmentation de l'absorbance avec la concentration de l'extrait.

En effet, l'extrait de *M. arvensis* présente un effet réducteur des ions ferrique maximum $0,68 \pm 0,11 \text{ nm}$ à la concentration $200 \text{ } \mu\text{g/mL}$, ce qui représente une activité faible par rapport au standard utilisé : acide ascorbique et α -Tocopherol ($1,44 \pm 0,21 \text{ nm}$ et $1,81 \pm 0,09 \text{ nm}$) respectivement.

Cependant les absorbances qui correspondent à 0,5 ($A_{0.5}$) sont illustrés dans le tableau 3 qui montre que l'extrait étudié a un pouvoir réducteur ($A_{0.5} = 139,33 \pm 2,89 \mu\text{g/mL}$) moins efficace par rapport à l'acide ascorbique ($A_{0.5} = 6,77 \pm 1,15 \mu\text{g/mL}$) et le α -Tocophérol ($A_{0.5} = 34,93 \pm 2,38 \mu\text{g/mL}$) comme références.

II. 6. Activité phénanthroline

L'activité de phénanthroline est basée sur la réduction du Fe^{3+} en Fe^{2+} ion en présence d'un antioxydant. L'ion Fe^{2+} formé réagit avec l'ortho-phénanthroline pour donner un complexe rouge orange (Elmagirbi *et al.*, 2012).

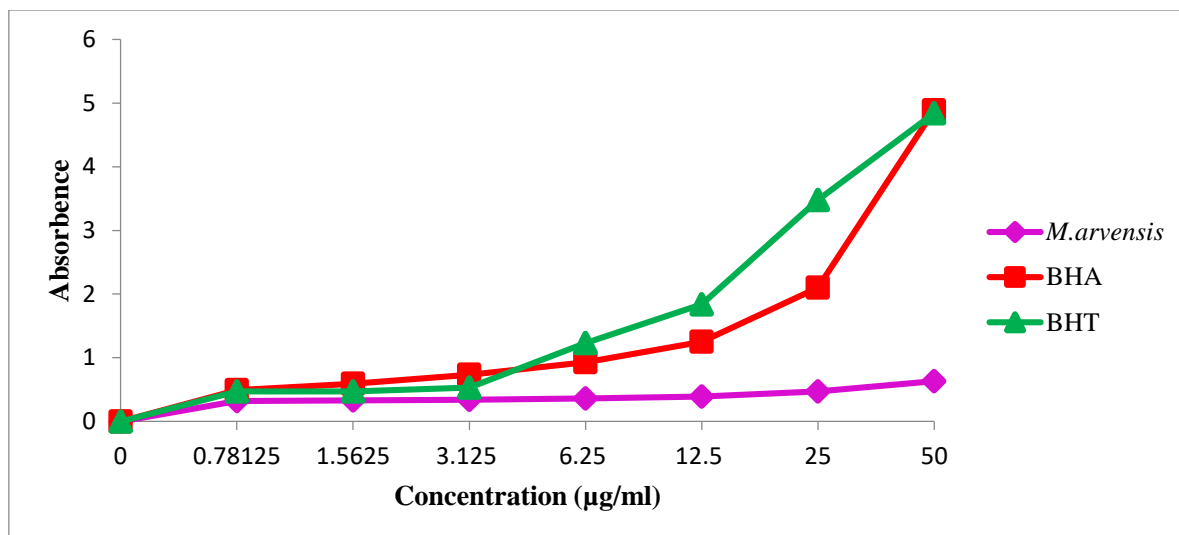


Figure 54 : Test de la réduction du Fer phénthroline par l'extrait de *Moricandia arvensis* et des standards (BHA,BHT)

D'après les résultats représentés dans la figure 54 et le tableau 3 on constate que l'extrait de la plante étudiée expose une excellente activité réductrice de fer ferrique (Fe^{3+}) avec une valeur ($A_{0.5} = 29,29 \pm 0,89 \mu\text{g} / \text{mL}$), mais cette activité reste significativement inférieure à celles du BHA ($A_{0.5} = 4,89 \pm 0,06 \mu\text{g} / \text{mL}$) et BHT ($A_{0.5} = 4,84 \pm 0,01 \mu\text{g} / \text{mL}$) utilisés comme standards.

II. 7. Activité de blanchissement de β -carotène

Pour déterminer la capacité de l'extrait à diminuer la peroxydation lipidique causée par les radicaux libres, le test du blanchissement de la β -carotène a été utilisé. Ce test repose sur l'oxydation de l'acide linoléique pour générer des radicaux libres.

L'activité antioxydante totale de l'extrait a été comparée aux BHT et BHA au tant que standards. Les résultats sont résumés dans le tableau 3 et la figure 55.

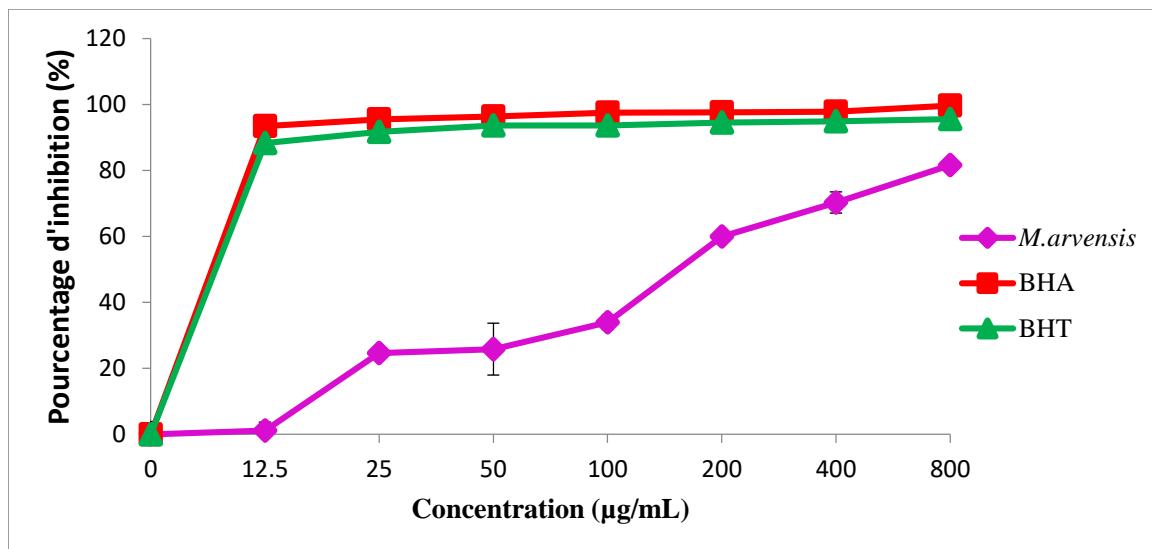


Figure 55 : Test de blanchissement de β -carotène par l'extrait de *Moricandia arvensis* et des standards (BHA , BHT)

D'après ces résultats, l'extrait de la plante étudiée montre une activité inhibitrice de l'oxydation du couple (acide linoléique/ β -carotène) avec une valeur d'IC₅₀ de 155,56± 3,09 µg/mL mais cette activité reste significativement inférieure à celles du BHA et BHT utilisés comme standards qui ont montré une forte activité antioxydante avec des valeurs d'IC₅₀ de 1,05±0,03 µg/mL et 0,91±0,01 µg/mL respectivement.

III. Évaluation de l'activité photoprotectrice ou dermatoprotectrice (SPF)

Le facteur de protection solaire reste la principale information sur l'efficacité photoprotectrice d'un crème solaire. Il a été signalé que dans les indices SPF, les valeurs SPF de 6–10, 15–25, 30–50 et >50 sont considérées comme ayant respectivement une activité de protection solaire minimale, modérée, élevée et maximale(Schalka & Reis, 2011).

L'activité photoprotectrice de *M. arvensis* a été évaluée *in vitro* par le calcul de son facteur de protection solaire (SPF) et les résultats sont présentés dans le tableau 3. D'après ces résultats, l'extrait de la plante étudiée montre une activité photoprotectrice élevé avec un facteur de protection solaire estimé à 47,38 ±0, 10.

Tableau 4: Calcul du facteur de protection solaire (SPF) pour l'extrait butanolique obtenu à partir de *Moricandia arvensis*

L'extrait <i>n</i> -butanol de la plante <i>Moricandia arvensis</i>			
λ (nm)	EE x l (normalized)	Absorbance	SPF
290	0.0150	4.86±0	0.72±0
295	0.0817	4.86±0	3.97±5.43
300	0.2874	4.86±0	13.97±0
305	0.2780	4.86±0	15.94±0
310	0.1864	4.42±0.04	8.25±0.08
315	0.0837	4.41±0.02	3.69±0.01
320	0.0180	4.49 ±0.05	0.80±0
Total	1	/	47.38 ±0.10

IV. Évaluation de l'activité anti-inflammatoire sur la lignée cellulaire (U937)

IV.1. Viabilité cellulaire

La viabilité cellulaire a été déterminée après traitement des cellules U937 avec différentes concentrations (25, 50, 100 et 200 µg/mL) de *M. arvensis* pendant 72 h. Les résultats de test MTT (exprimés en pourcentage de viabilité par rapport aux cellules témoins non traitées) présentés en figure 56. Les résultats indiquent que la viabilité cellulaire des macrophages est réduite par rapport au contrôle à 76,06% ± 4,49 pour la concentration 200 µg/mL, tandis qu'avec les concentrations de 25, 50 et 100 µg/mL, l'extrait étudié n'a pas d'effet cytotoxique sur les macrophages, dont le pourcentage des cellules viables atteint des valeurs respectives de 91,89% ± 4,05, 88,03% ± 3,27 et 82,23% ± 5,62 respectivement. Par conséquent, nous avons choisi 50 et 100 µg/mL deux concentrations non toxiques pour toutes les expériences ultérieures.

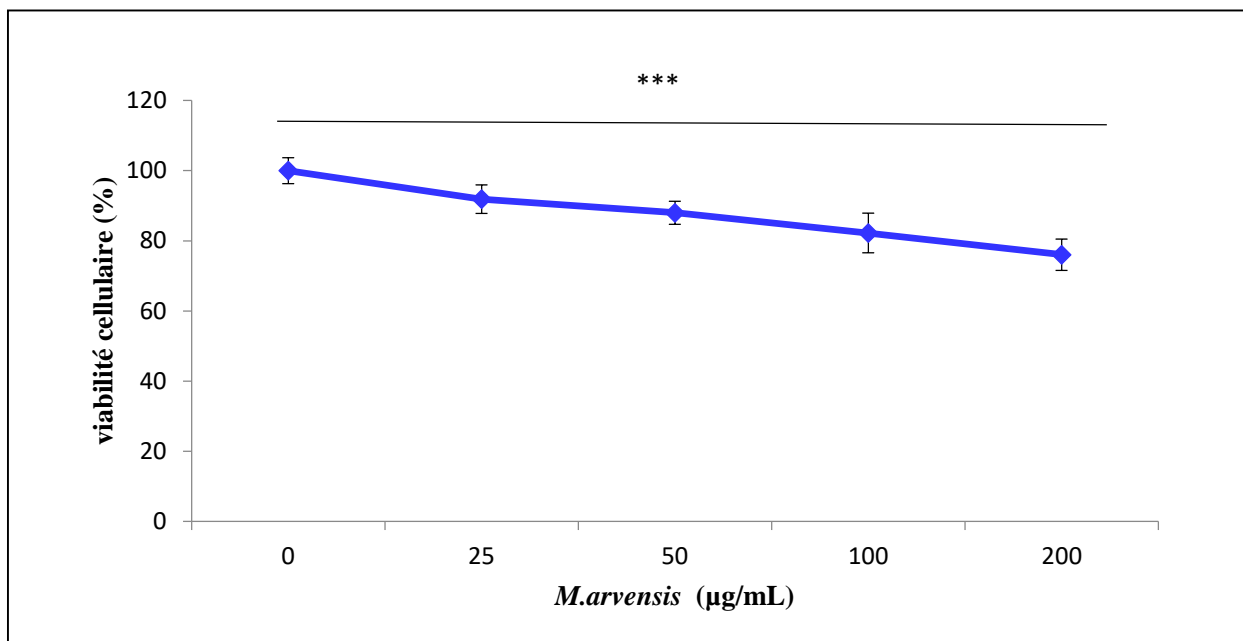


Figure 56 : Effet de l'extrait butanolique de *Moricandia arvensis* sur la viabilité cellulaire des macrophages humains U937 par l'essai du MTT

IV. 2. Effet de l'extrait butanolique de *Moricandia arvensis* sur la production des espèces réactives de l'oxygène (ROS), l'oxyde nitrique (NO), Prostaglandine E2 (PGE₂) et le niveau d'expression NF-κB induit par le LPS

L'activité anti-inflammatoire de l'extrait butanolique de *M. arvensis* a été évaluée dans des cellules U937 par quantification des niveaux de protéine NF-κB et des médiateurs inflammatoires NO, ROS et PGE₂.

Nous avons mesuré l'inhibition de la production des ROS, NO et PGE₂ de la lignée cellulaire macrophages humains U937 sous l'action de l'extrait butanolique de *M. arvensis*. Les résultats montrent que l'extrait étudié a été capable de réduire les niveaux de NO par rapport aux cellules LPS activées à des concentrations de 50 et 100 µg/mL (figure 57 A). En particulier, *M. arvensis* 50 µg/mL réduisait de façon significative la production en NO par rapport aux cellules stimulées par LPS à 75,20 %± 3,29. D'autre part une réduction dépendante de la dose a été observée lorsque les ROS (figure 61B) et PGE₂ (figure 57C) ont été mesurés.

En particulier, à une dose de 100 µg/mL, *M. arvensis* a diminué les niveaux de ROS à 93,51%± 2,86 ainsi a réduit la concentration de PGE₂ d'environ 60 % par rapport aux cellules stimulées par le LPS (figure 57B-C).

D'autre part, La recherche sur la fonction biologique du facteur nucléaire- κ B (NF- κ B), un médiateur clé de la transcription inductible dans le système immunitaire, s'est traditionnellement concentrée sur son rôle dans l'initiation des réponses immunitaires innées et adaptatives (Ghosh & Hayden, 2008). Pour cela, des monocytes humains primaires ont été traités avec du LPS en présence ou en absence de *Moricandia arvensis*.

La figure 57D illustre l'effet de l'extrait butanolique de *Moricandia arvensis* sur le facteur de transcription NF- κ B. On constate le LPS induit une surexpression marquée de la sous-unité p65 de NF- κ B par rapport aux cellules non traitées, tandis que l'extrait étudié a considérablement réduit les niveaux de p65/NF- κ B.

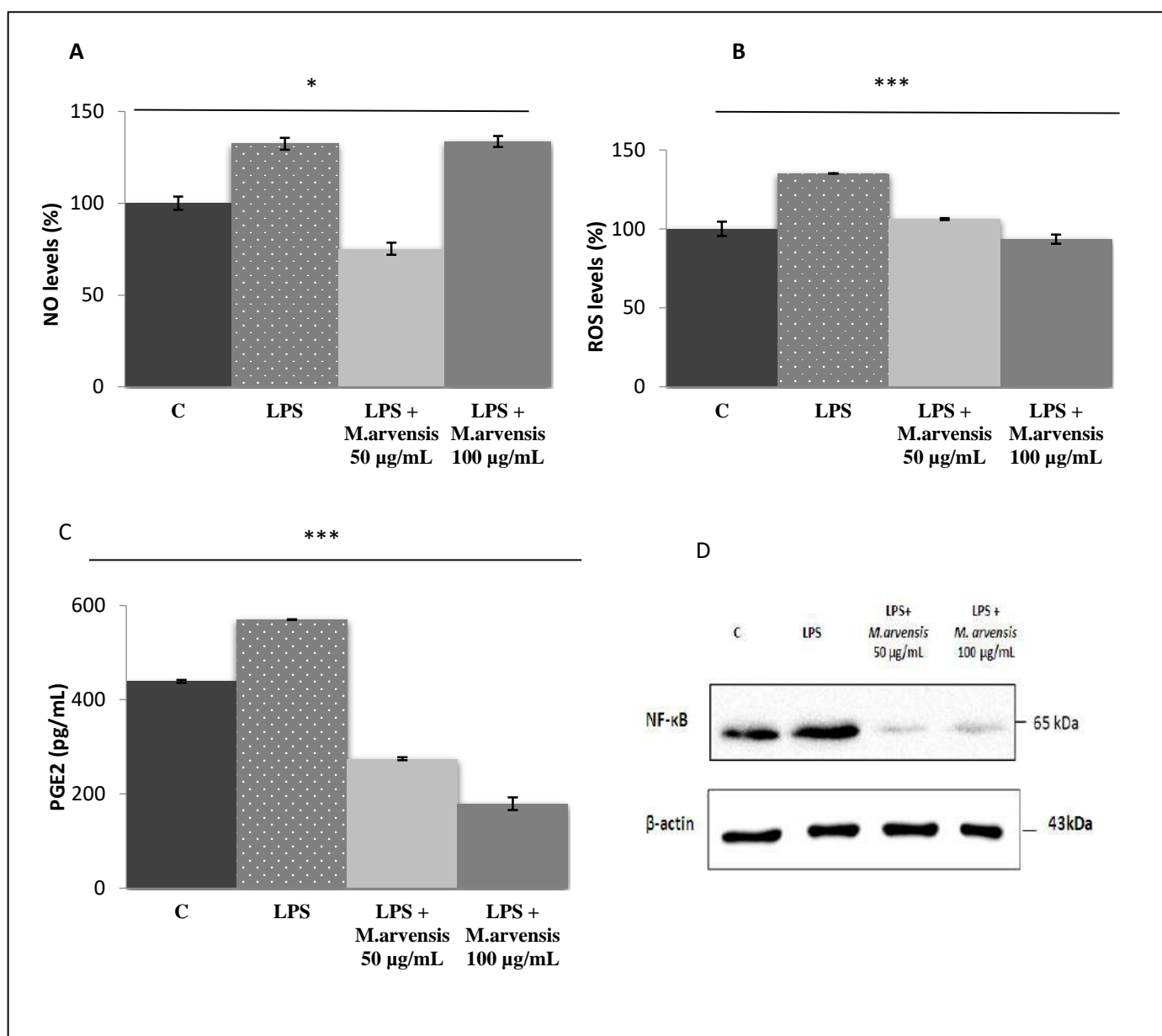


Figure 57 : L'activité anti-inflammatoire de l'extrait butanolique de *M. arvensis* sur la production de NO (A), ROS(B), PGE₂(C) et le niveau d'expression NF- κ B (D) induit par LPS

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

V.1. L'effet des différents traitements sur les marqueurs biochimiques

La toxicité de la doxorubicine a été évaluée par le dosage des marqueurs d'intégrité hépatique (ASAT, ALAT), rénal (urée et créatinine), cardiaque (créatine phosphokinase), lipidique (HDL, LDL, cholestérol et triglycéride) et la Glycémie.

V.1.1. Les enzymes transaminase AST et ALT

Les résultats représentés dans la figure 58 montrent que l'administration de DOX a induit une augmentation très hautement significative ($p < 0,001$) des taux plasmatique d'AST et d'ALT, ils sont passés respectivement de $92,1 \pm 7,16$ et $41,24 \pm 4,75$ à $170,54 \pm 12,49$ et $245,13 \pm 25,48$ par rapport au groupe témoin. Une corrélation positive a été trouvée entre ces deux enzymes ($r^2 = 0,84$). Alors que le prétraitement oral avec les deux doses d'extrait (50 mg/kg et 100 mg/kg) de *M. arvensis* ainsi que la vitamine E (100 mg/kg) a réduit significativement les taux d'AST et d'ALT par rapport au groupe traité par DOX avec une corrélation positive ($r^2 = 0,94, 0,92$ et $0,98$ respectivement) (Annexe 2).

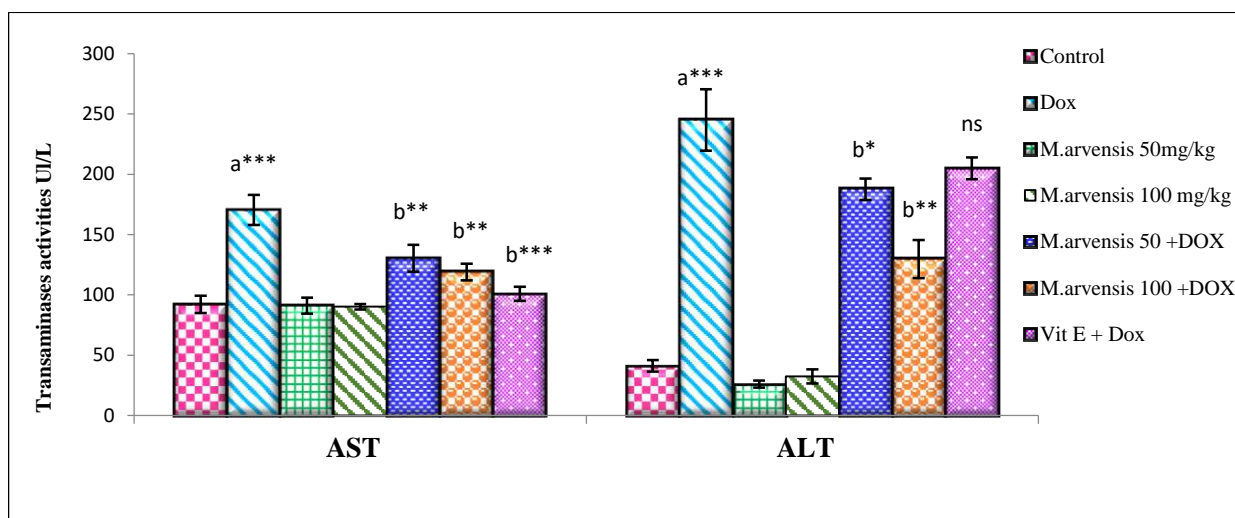


Figure 58 : L'effet protecteur de l'extrait butanolique de *M. arvensis* (50,100 mg/kg) et la vitamine E (100mg/kg) sur l'activité des transaminases (AST et ALT) chez les rats traités par DOX (15 mg/kg).

Chaque valeur représente la moyenne \pm SD ($n = 3$) * : $p < 0.05$, ** : $p < 0.01$ et *** : $p < 0.001$. a : Groupe comparé au groupe témoin. b : Groupes comparés au groupe DOX. ns : non significative par rapport au groupe DOX

V.1.2. L'effet sur les taux de cholestérol total et des triglycérides

Les résultats représentés dans la figure 59 montrent que les taux du cholestérol total et triglycérides dans le groupe traité par DOX ont augmenté de manière très hautement significative ($p < 0,001$) par rapport au groupe témoin ($0,60 \pm 0,02$ contre $0,95 \pm 0,06$) et ($0,49 \pm 0,05$ contre $0,79 \pm 0,03$). Une corrélation positive a été trouvée entre les deux paramètres ($r^2 = 0,89$) (Annexe 2). Cependant, la concentration du cholestérol total dans les groupes co-traités DOX+M50 et DOX+VitE a été significativement diminuée ($p < 0,001$ et $p < 0,01$ respectivement) par rapport à celle du groupe traité par DOX uniquement, les concentrations sont passées de $0,95 \pm 0,06$ à $0,58 \pm 0,05$ ($p < 0,001$) et $0,81 \pm 0,04$ ($p < 0,01$) respectivement. Alors que le prétraitement avec 100 mg/kg d'extrait de *M. arvensis* a provoqué une diminution non significative du taux de cholestérol par rapport au groupe traité par DOX.

Les animaux des trois groupes co-traités DOX+M50, DOX+M100 et DOX+VitE ont montré une diminution significative des triglycérides, ils sont passés de $0,79 \pm 0,03$ à $0,67 \pm 0,01$ ($p < 0,001$) soit $0,71 \pm 0,05$ ($p < 0,05$) ou $0,87 \pm 0,01$ ($p < 0,05$) respectivement, comparé à ceux du groupe DOX.

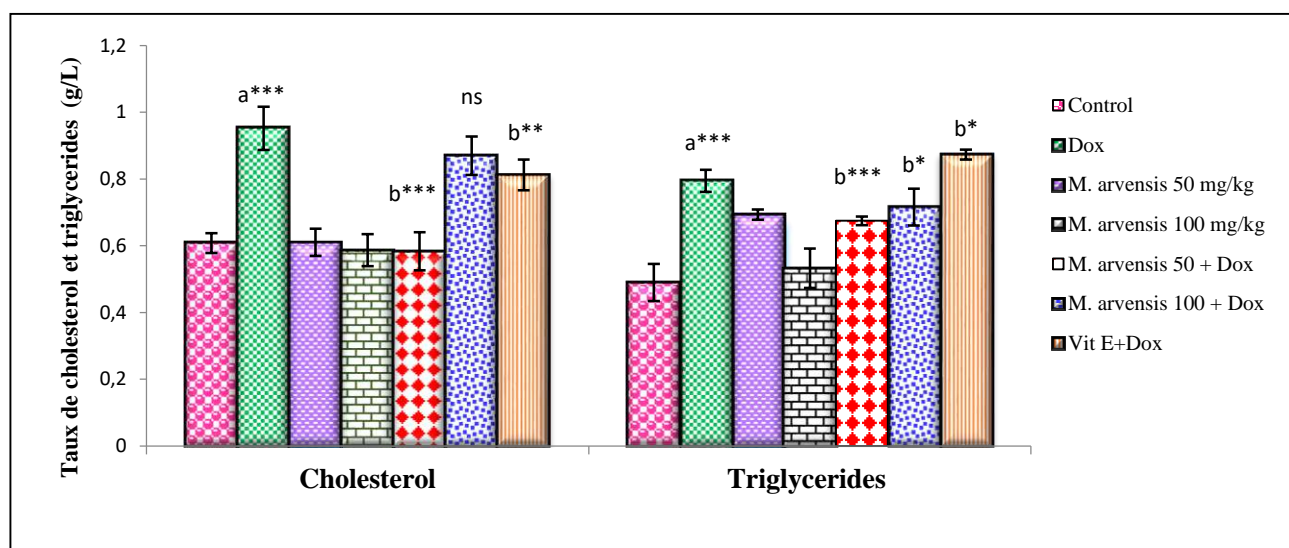


Figure 59 : L'effet protecteur de l'extrait butanolique de *M. arvensis* (50,100 mg/kg) et la vitamine E (100mg/kg) sur le taux de cholestérol total et triglycérides chez les rats traités par DOX (15 mg/kg).

Chaque valeur représente la moyenne \pm SD ($n = 3$) * : $p < 0,05$, ** : $p < 0,01$ et *** : $p < 0,001$. a : Groupe comparé au groupe témoin. b : Groupes comparés au groupe DOX. ns : non significative par rapport au groupe DOX

V.1.3. L'effet sur les taux HDL et LDL

D'après les résultats représentés dans la figure 60 ; le traitement avec le DOX a entraîné une augmentation très hautement significative ($p < 0,001$) du taux plasmatique de LDL par rapport au groupe témoin ($0,34 \pm 0,05$ contre $0,65 \pm 0,05$). La co-administration des deux doses de l'extrait de *M. arvensis* et de la vitamine E a montré une diminution significative des taux plasmatique de LDL de $0,65 \pm 0,05$ à $0,32 \pm 0,07$ ($p < 0,001$) ou $0,56 \pm 0,06$ ($p < 0,05$) ou $0,50 \pm 0,03$ ($p < 0,01$) respectivement, par rapport à ceux du groupe traité par DOX.

Au contraire, l'administration de DOX entraîne une diminution non significative des taux plasmatique de HDL par rapport au groupe témoin ($0,17 \pm 0,02$ contre $0,16 \pm 0,01$). Cependant, les trois groupes co-traités DOX + M50, DOX + M100 et DOX + VitE ont montré une augmentation notable du taux sérique de HDL, ils sont passés de $0,16 \pm 0,01$ à $0,18 \pm 0,01$ ou $0,13 \pm 0,01$ ou $0,23 \pm 0,02$ respectivement, lorsqu'ils sont comparés à ceux du groupe traité par DOX. Une corrélation négative a été trouvée entre l'augmentation de taux d'HDL et LDL (Annexe 2).

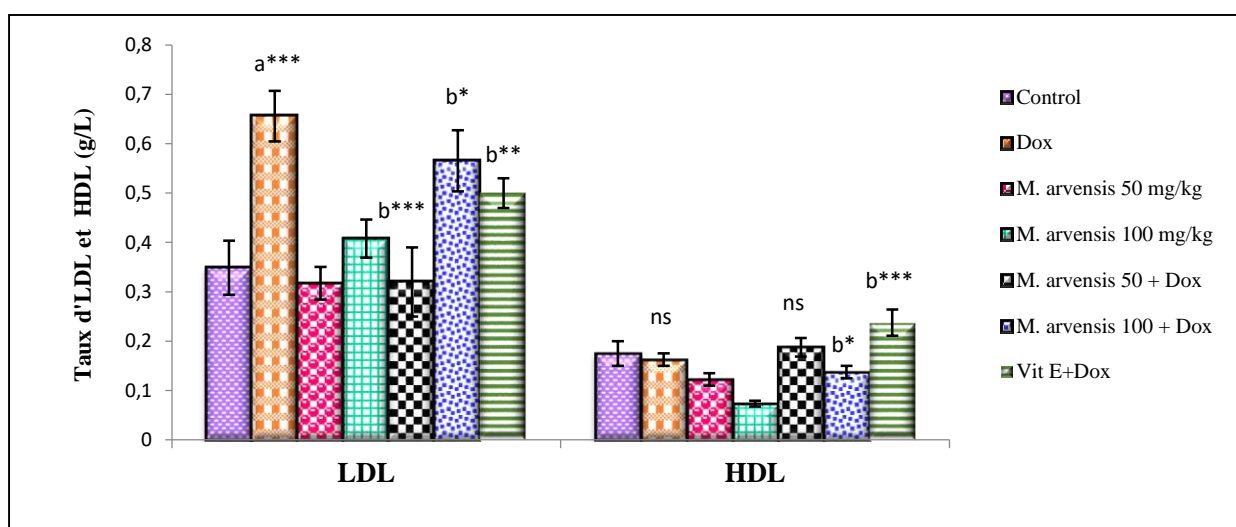


Figure 60 : L'effet protecteur de l'extrait butanolique de *M. arvensis* (50,100 mg/kg) et la vitamine E (100mg/kg) sur le taux de LDL et HDL chez les rats traités par DOX (15 mg/kg). Chaque valeur représente la moyenne \pm SD (n= 3) * : $p < 0,05$, ** : $p < 0,01$ et * : $p < 0,001$. a : Groupe comparé au groupe témoin. b : Groupes comparés au groupe DOX. ns : non significative par rapport au groupe DOX**

V 1.4. L'effet sur le taux de glucose

D'après les résultats illustrés dans la figure 61, le taux plasmatique de glucose a augmenté de manière très hautement significative ($p < 0,001$) dans le groupe traité par DOX ($1,36 \pm 0,25$ contre $2,59 \pm 0,20$) par rapport à celui du groupe témoin. Le traitement concomitant de DOX avec

les doses graduées d'extrait de *M. arvensis* et de la vitamine E a induit une diminution significative des concentrations sériques de glucose, elles sont passées de $2,59 \pm 0,20$ à $2,44 \pm 0,08$ ($p < 0,01$) ou $2,56 \pm 0,05$ ($p < 0,05$) ou $2,50 \pm 0,27$ ($p < 0,01$) respectivement, par rapport au groupe traité par DOX.

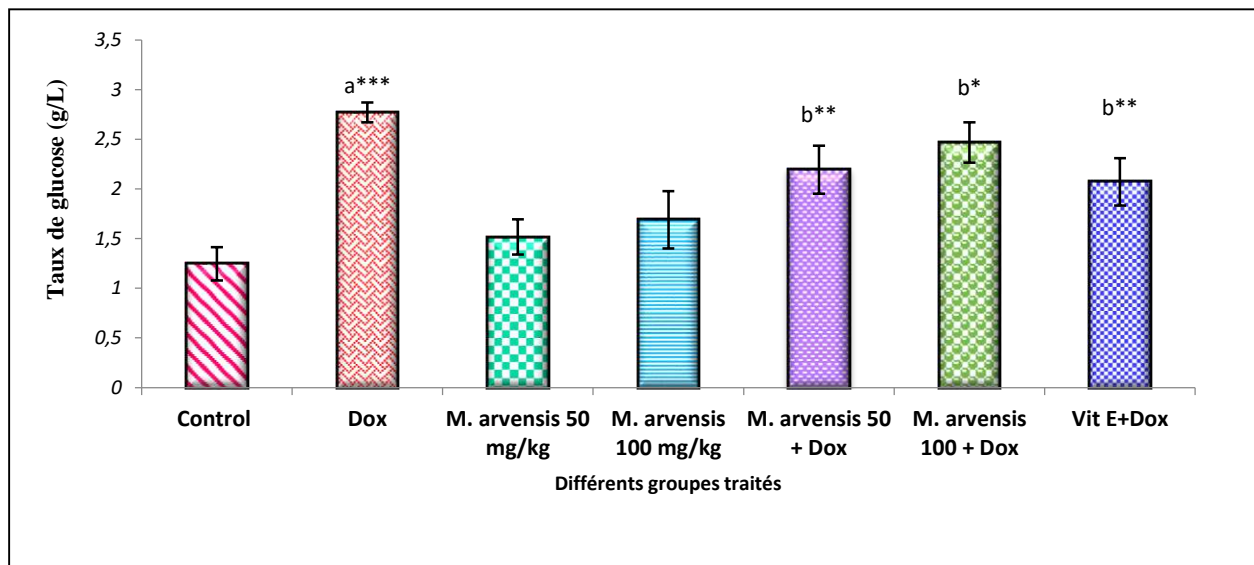


Figure 61 : L'effet protecteur de l'extrait butanolique de *M. arvensis* (50,100 mg/kg) et la vitamine E (100mg/kg) sur le taux de glucose chez les rats traités par DOX (15 mg/kg). Chaque valeur représente la moyenne \pm SD ($n = 3$) * : $p < 0,05$, ** : $p < 0,01$ et *** : $p < 0,001$. a : Groupe comparé au groupe témoin. b : Groupes comparés au groupe DOX

V.1.5. L'effet sur la concentration plasmatique de la créatinine et l'urée

D'après les résultats illustrés dans la figure 62 nous avons constaté chez les rats traités seulement avec DOX une augmentation très hautement significative ($p < 0,001$) de la concentration plasmatique de créatinine par rapport à celle du groupe témoin ($6,61 \pm 0,15$ contre $7,44 \pm 0,41$). Cependant, la co-administration des deux doses de l'extrait de *M. arvensis* a montré une diminution très hautement significative de la concentration ($p < 0,001$) suite à ça elle est passée de $7,44 \pm 0,41$ à $5,98 \pm 0,49$ ou $6,11 \pm 0,35$, tandis qu'une diminution significative ($p < 0,05$) ont été enregistrés dans le groupe DOX + VitE comparé à celle du groupe DOX.

En outre, l'administration de DOX entraîne une augmentation hautement significative ($p < 0,01$) de la concentration plasmatique d'urée par rapport au groupe témoin ($0,4 \pm 0,07$ contre $0,48 \pm 0,04$). Néanmoins, les deux groupes co-traités DOX + M50 et DOX + VitE ont montré une diminution significative ($p < 0,05$) les concentrations sont passées de $0,48 \pm 0,04$ à $0,42 \pm 0,03$ ou $0,41 \pm 0,04$ respectivement, Alors qu'une diminution non significative a été enregistrée dans le groupe DOX + M100 comparé au groupe DOX.

Une corrélation positive a été trouvée entre l'urée et la créatinine ($r^2 = 0,98$). Ainsi qu'entre leurs niveaux diminués après les différents traitements DOX + M50, DOX + M100 et DOX + VitE ($r^2 = 0,99, 0,89$ et $0,92$ respectivement) (Annexe 2).

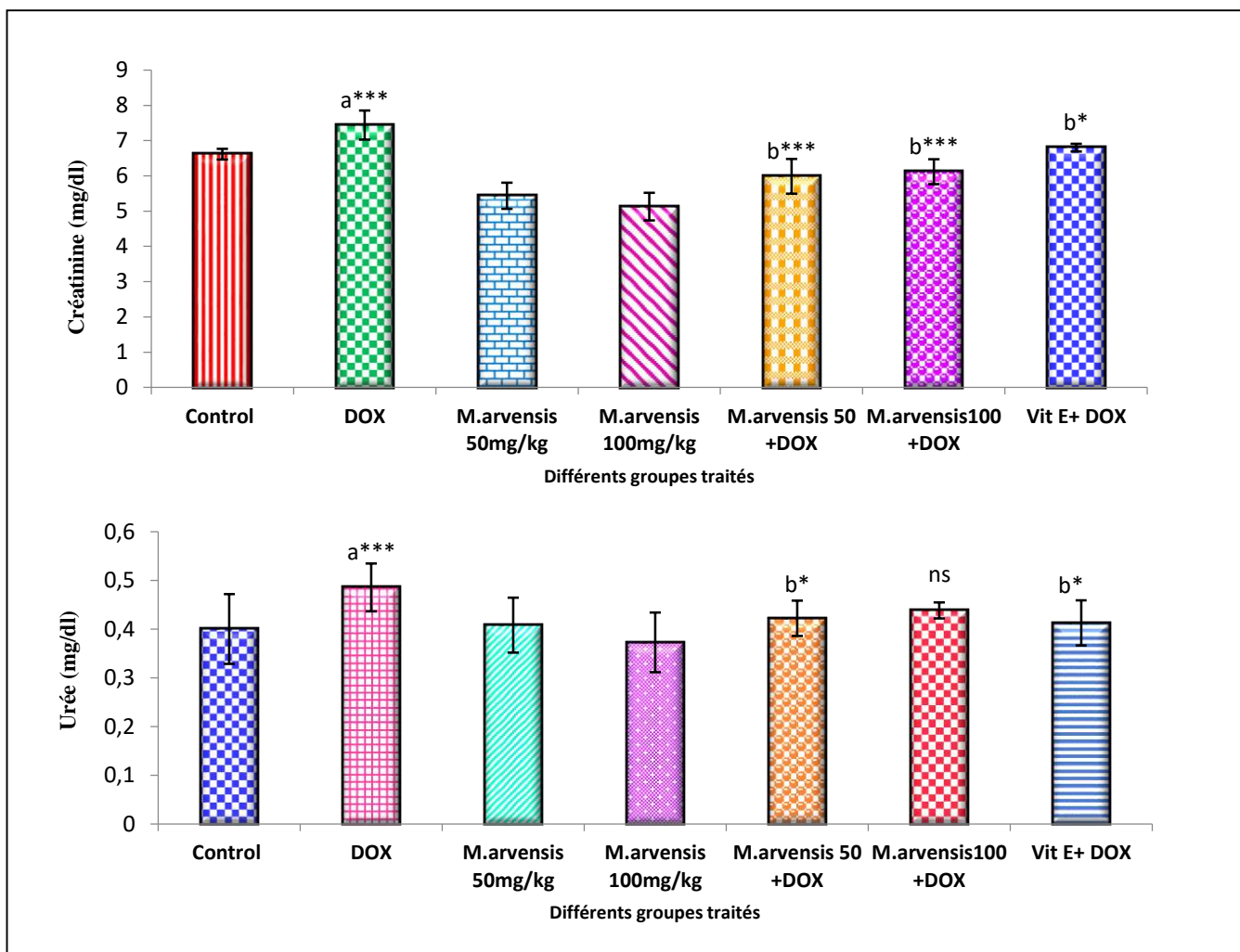


Figure 62 : L'effet protecteur de l'extrait butanolique de *M. arvensis* (50,100 mg/kg) et la vitamine E (100mg/kg) sur la concentration de créatinine et urée chez les rats traités par DOX (15 mg/kg). Chaque valeur représente la moyenne \pm SD ($n=3$) * : $p < 0.05$, ** : $p < 0.01$ et *** : $p < 0.001$. a : Groupe comparé au groupe témoin. b : Groupes comparés au groupe DOX. ns : non significative par rapport au groupe DOX

V.1.6. L'effet sur le taux de créatine phosphokinase (CPK)

D'après les résultats représentés dans la figure 63 ; on a constaté que le traitement avec le DOX a provoqué une légère augmentation du taux de CPK par rapport au groupe témoin mais l'analyse statistique de ce résultat n'a révélé aucune différence significative. Cependant, le taux plasmatique de CPK dans les groupes co-traités DOX+M50, DOX+M100 et DOX+VitE a été

significativement diminué les taux sont passés de $279,49 \pm 9,02$ à $209,76 \pm 17,96$ ($p < 0,01$), ou $228,33 \pm 12,46$ ($p < 0,01$) ou $347,35 \pm 29,71$ ($p < 0,05$) respectivement.

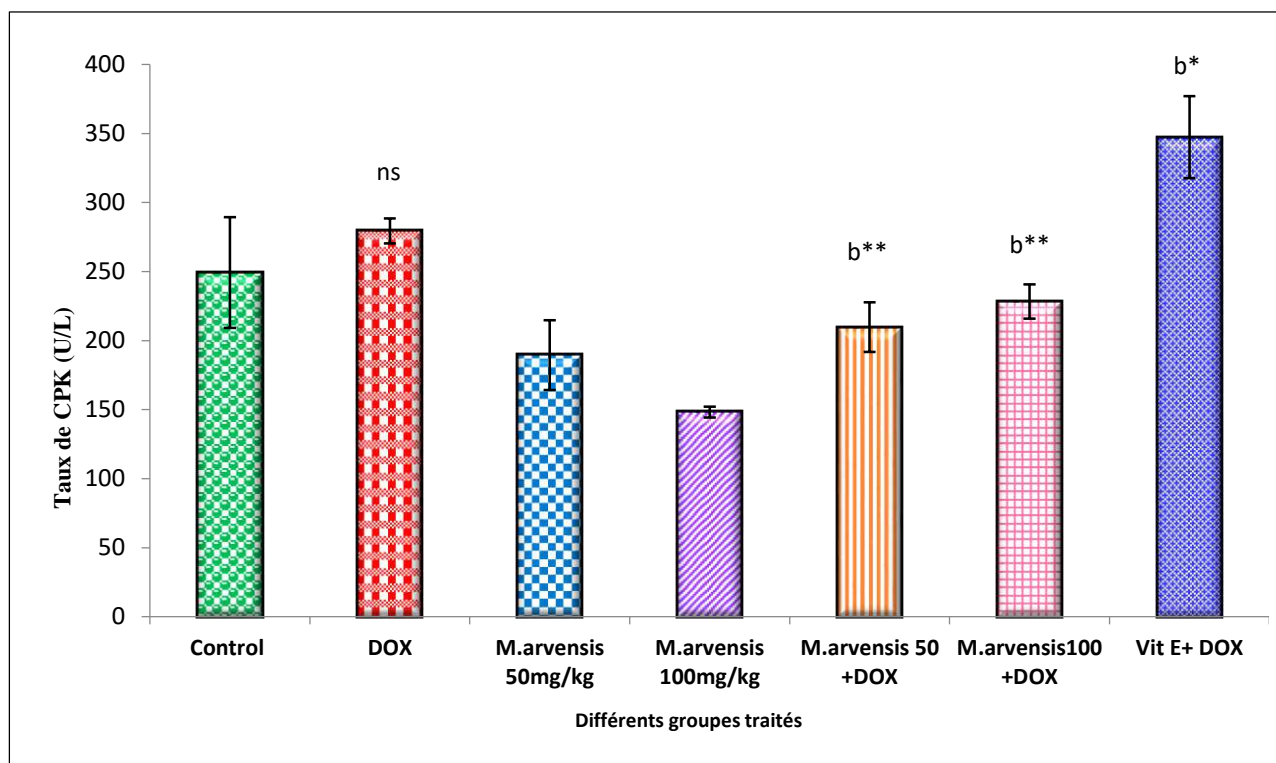


Figure 63 : L'effet protecteur de l'extrait butanolique de *M. arvensis* (50,100 mg/kg) et la vitamine E (100mg/kg) sur le taux de CPK chez les rats traités par DOX (15 mg/kg). Chaque valeur représente la moyenne \pm SD ($n=3$) * : $p < 0,05$, ** : $p < 0,01$ et ns : non significative comparé au groupe témoin. b : Groupes comparés au groupe DOX

V.2. L'effet des différents traitements sur statut oxydant cytosolique

V.2. 1. L'effet sur la peroxydation lipidique (MDA) du foie, reins et cœur

Les résultats de dosage du taux du MDA hépatique, rénaux et cardiaque sont représentés dans la figure 64. L'intoxication des rats par une seule dose de DOX (15 mg/kg) a induit une peroxydation lipidique traduite par une augmentation très hautement significative ($p < 0,001$) du taux du MDA au niveau du foie et rein, tandis que une augmentation significative ($p < 0,05$) a été constaté au niveau du cœur. Par ailleurs, les rats prétraités par l'extrait butanolique de *M. arvensis* (50 et 100 mg/kg) et la vitamine E (100 mg/kg) par voie orale a montré une diminution du taux de MDA cytosolique. Par contre aucune différence significative n'a été remarquée à la dose (50 mg/kg) au niveau du foie en comparaison avec le lot DOX.

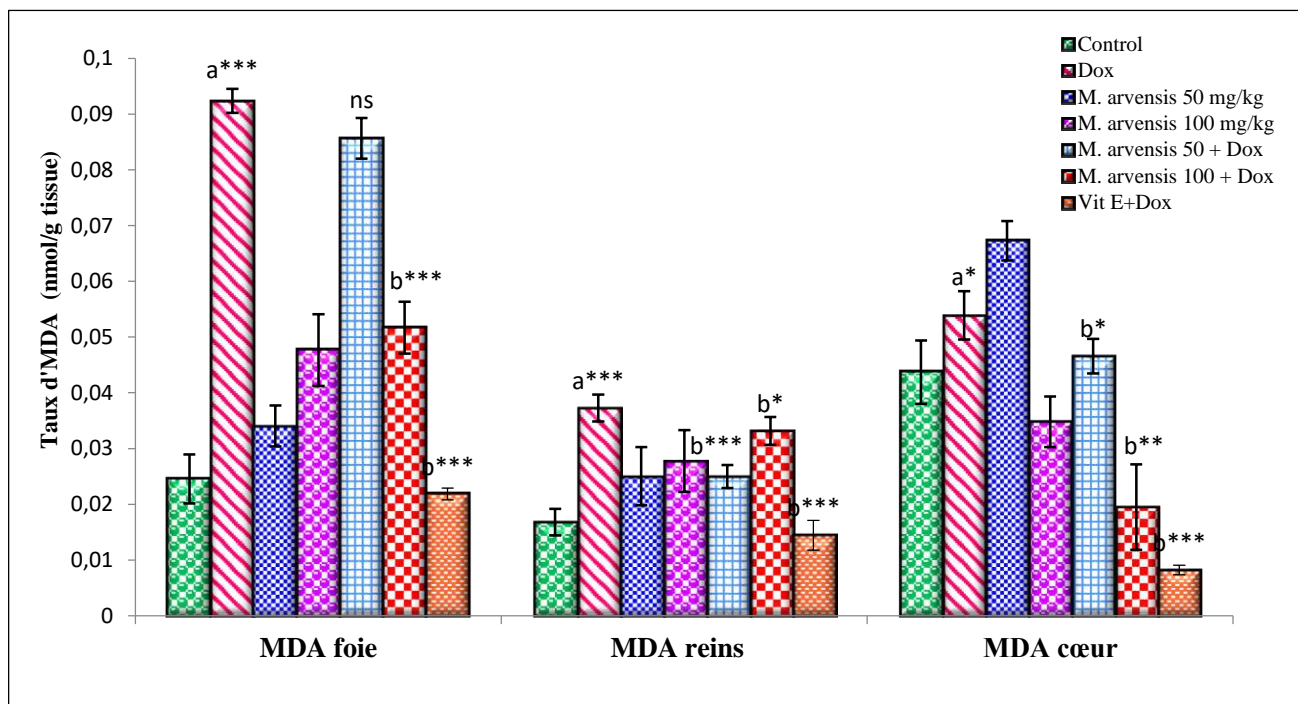


Figure 64 : L'effet protecteur de l'extrait butanolique de *M. arvensis* (50,100 mg/kg) et la vitamine E (100mg/kg) sur le taux de MDA dans le foie, les reins et le cœur chez des rats traités par DOX (15 mg/kg). Chaque valeur représente la moyenne \pm SD (n= 3) * : $p < 0.05$, et *** : $p < 0.001$. a : Groupe comparé au groupe témoin. b : Groupes comparés au groupe DOX. ns : non significative par rapport au groupe DOX

V.2.2. L'effet sur le GSH du foie, reins et cœur

D'après les résultats illustrés dans la figure 65. Le traitement des rats par la DOX a provoqué clairement une déplétion très hautement significative ($p < 0,001$) du taux de GSH hépatique et rénal, tandis qu'une diminution significative ($p < 0,01$) a été remarquée au niveau du cœur par rapport au groupe témoin. Le prétraitement avec les différentes doses d'extrait butanolique de *M. arvensis* et de la vitamine E a montré une amélioration très hautement significative ($p < 0,001$) de la concentration de GSH cytosolique au niveau du foie et cœur, tandis qu'une amélioration significative ($p < 0,01$) a été remarquée dans les deux doses de *M. arvensis* au niveau des reins comparé au groupe DOX.

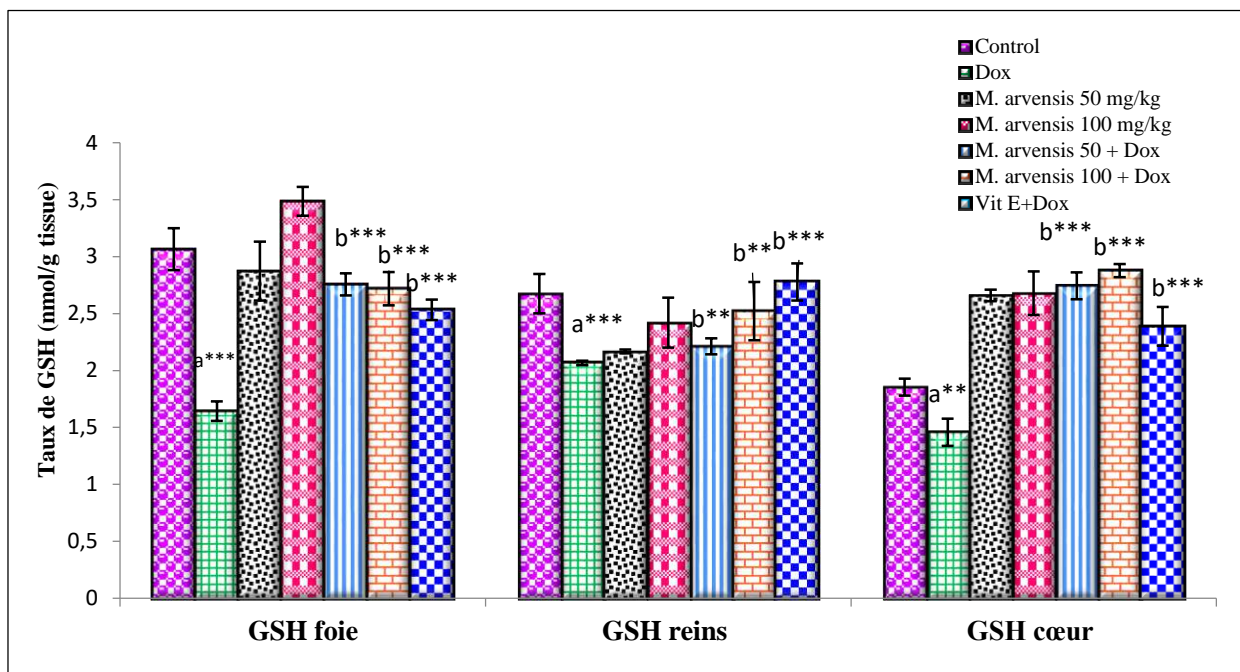


Figure 65 : L'effet protecteur de l'extrait butanolique de *M. arvensis* (50,100 mg/kg) et la vitamine E (100mg/kg) sur l'activité de GSH dans le foie, les reins et le coeur chez des rats traités par DOX (15 mg/kg). Chaque valeur représente la moyenne \pm SD ($n=3$) **: $p < 0.01$, et *** : $p < 0.001$. a : Groupe comparé au groupe témoin. b : Groupes comparés au groupe DOX

V.2.3. L'effet sur le GPX du foie, reins et cœur

La figure 66 a montré que l'activité de la glutathion peroxydase dans les tissus hépatiques, rénaux et cardiaque du groupe traité par DOX a marqué une diminution très hautement significative ($p < 0,001$) par rapport au groupe témoin. Cependant, les trois groupes co-traités DOX + M50, DOX + M100 et DOX+VitE ont montré une augmentation hautement significative de l'activité de cette enzyme dans les trois organes. Par contre une augmentation non significative a été remarquée à la dose (50 mg/kg) au niveau des reins par rapport au groupe traité par DOX.

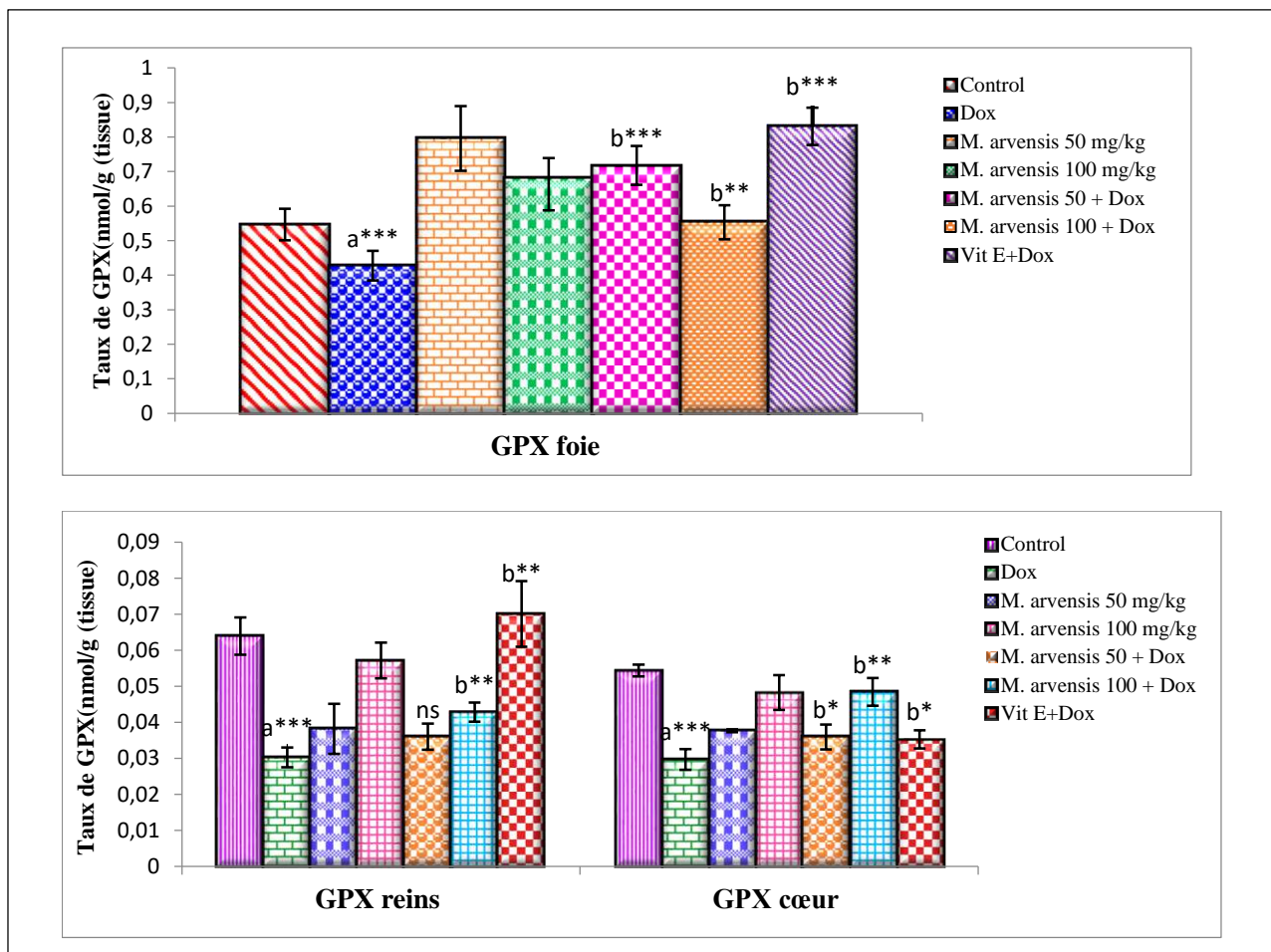


Figure 66: L'effet protecteur de l'extrait butanolique de *M. arvensis* (50,100 mg/kg) et la vitamine E (100mg/kg) sur l'activité de GPX dans le foie, les reins et le coeur chez des rats traités par DOX (15 mg/kg). Chaque valeur représente la moyenne \pm SD ($n=3$) **: $p < 0.01$, et *** : $p < 0.001$. a : Groupe comparé au groupe témoin. b : Groupes comparés au groupe DOX. ns : non significative par rapport au groupe DOX

VI. Étude histopathologique

VI. 1. Au niveau du foie

L'observation microscopique des coupes histologiques du foie révèle un parenchyme hépatique normal du groupe contrôle formé des hépatocytes avec des noyaux arrondis et des sinusoides sanguins, l'espace porte de structure normale (figure 67 A). Cependant, les rats intoxiqués par une seule dose de DOX ont montré une hépatotoxicité sévère traduite par des altérations structurelles des tissus hépatiques, une nécrose et gonflement hépatocytaire, une disparition du noyau et des infiltrations des cellules inflammatoires (figure 67 B, C, D et E). Tandis que les rats co-traités avec les deux doses de *M. arvensis* et la vitamine E ont révélé une amélioration significative avec congestion sinusoidale (figure 67 F, G et H). De plus l'histoarchitecture du foie des groupes traités uniquement avec *M. arvensis* ont révélé une

architecture rénale conservée d'une manière relativement semblable à celle des témoins (figure 67 I et J).

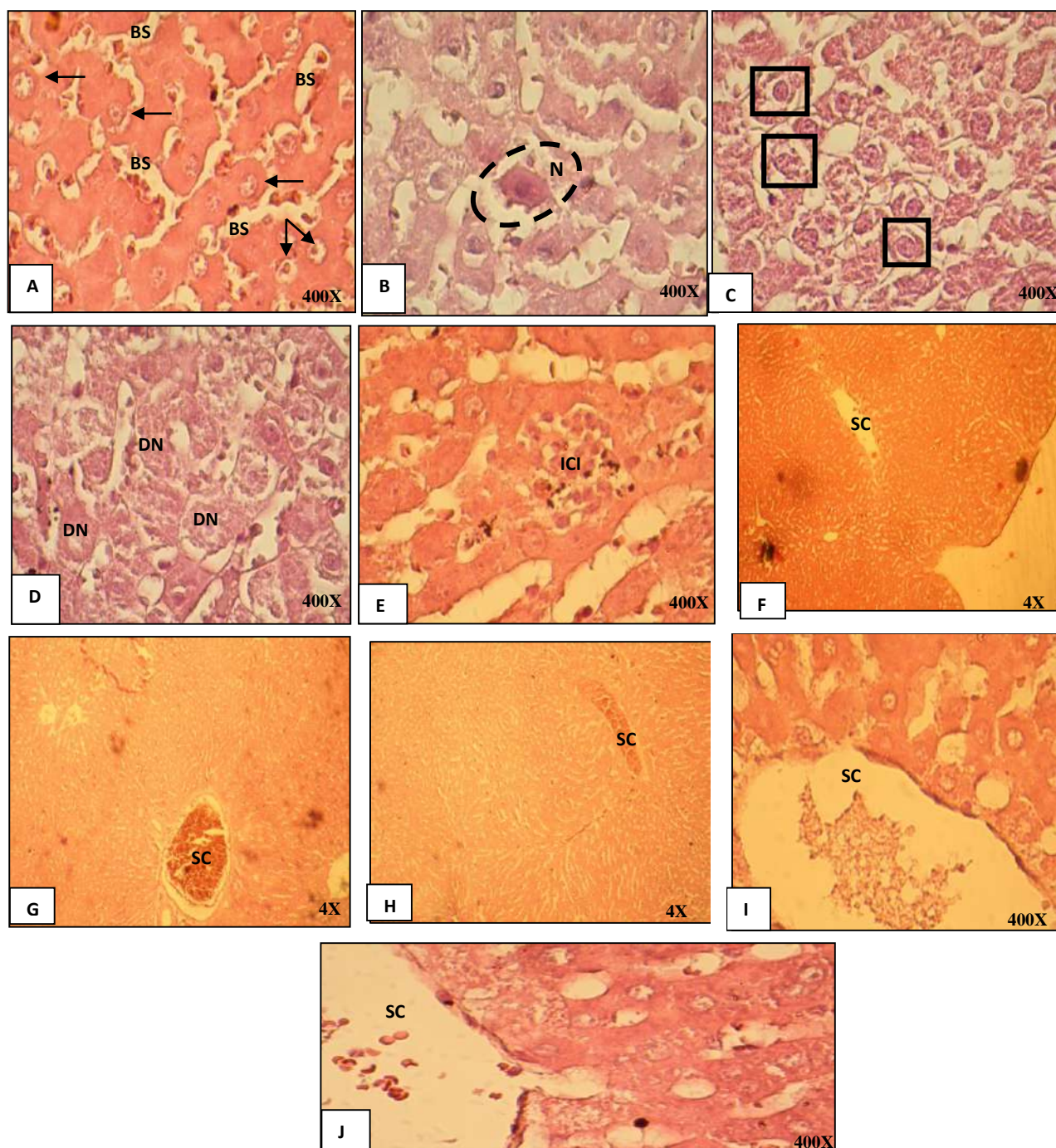


Figure 67: Résultats histopathologiques du foie des rats (A) : architecture hépatique normale avec sinusoides sanguins normaux (BS) et noyaux arrondis (flèche ; (B-E) : Histologie du foie traité par DOX B: nécrose hépatocellulaire (N), C : gonflement des hépatocytes, D :disparition du noyau (DN), E : infiltrations des cellules inflammatoires (ICI) ; ; (F, G et H) : L'histologie du foie co-traité avec l'extrait n-butanol de *M. arvensis* 50 mg/kg, 100 mg/kg et la vitamine E respectivement a montré une congestion sinusoidale (SC) ; (I) et (J) foie des groupes traités uniquement par l'extrait n-butanol de *M. arvensis* (50 mg/kg et 100 mg/kg respectivement) ont montré une congestion sinusoidale (SC)

VI. 2. Au niveau des reins

L'observation microscopique des coupes histologiques des reins révèle un parenchyme rénal normal du groupe contrôle formé d'un parenchyme rénal encapsulé d'architecture conservés, la corticale comportant des glomérules arrondies, contenant un peloton vasculaire entouré par un espace claire (espace de Bowman), tubulaires revêtues par un épithélium cubique simple réalisant les tubules rénaux proximaux et distaux et la médullaire comportant des tubules et des vaisseaux entouré de tissu conjonctif (figure 68 A et B). Cependant, les reins des rats intoxiqués par une seule dose de DOX (15mg/kg) démontrent des altérations histologiques remarquables représentées par distorsion et atrophie glomérulaire, congestion vasculaire et des infiltrations des cellules inflammatoires (figure 68 C, D et E). Tandis que l'histoarchitecture des reins des rats co-traités avec les deux doses de *M. arvensis* ou à la vitamine E ont révélé une amélioration significative avec congestion vasculaire et une atrophie focal moins important que dans le groupe DOX (figure 68 F, G, H, I et J). En revanche, les reins des groupes traités uniquement avec *M. arvensis* ont révélé une architecture rénale conservée d'une manière relativement semblable à celle des témoins (figure 68 K et L).

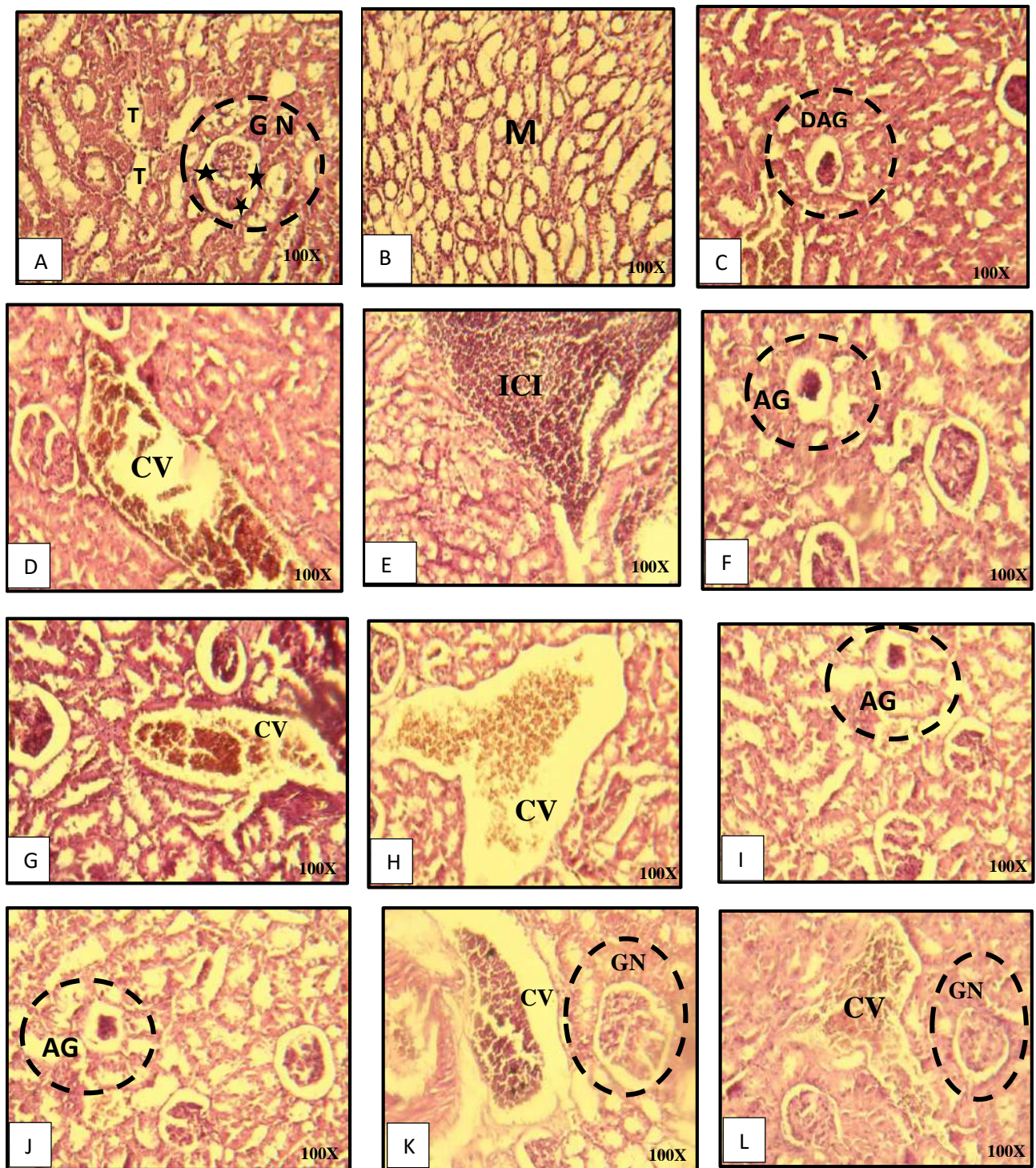


Figure 68: Résultats histopathologiques des reins des rats (A-B) : parenchyme rénal d'architecture conserver A : glomérules normaux (GN), espace de Bowman (étoiles) et des tubules (T), B : Médullaire (M) ; (C-E) : Histologie du rein traité par DOX C : distorsion et atrophie glomérulaire (DAG), D : congestion vasculaire (CV), E : infiltrations des cellules inflammatoires (ICI) ; (F, G), (H,I) et (J) reins des groupes co-traités par l'extrait n-butanol de *M. arvensis* 50 mg/kg, 100 mg/kg et la vitamine E respectivement, ont montré une atrophie glomérulaire (AG) et congestion vasculaire (CV); (K, L) : L'histologie du rein traité uniquement avec l'extrait de *M. arvensis* 50 mg/kg et 100 mg/kg a montré une congestion vasculaire (CV) et glomérules normaux (GN)

VI. 3. Au niveau du cœur

L'observation microscopique des coupes histologiques du myocarde des rats appartenant au lot témoin montre un tissu musculaire strié fait des faisceaux séparés par un tissu conjonctif lâche fait des cellules musculaire à cytoplasme abondant reforme 1 ou 2 noyaux. Les noyaux allongé se situe au centre de la cellule son basophile a extrémité en bout de cigare (figure 69 A, B et C).

Chez les rats traités par la DOX seule, les coupes histologiques du myocarde montre une congestion vasculaire marquée, infiltration des cellules inflammatoire lymphoplasmocytaire et vacuolisation du cytoplasme (figure 69 D, E et F). Néanmoins, l'histoarchitecture des cœurs des rats co-traités avec les deux doses de *M. arvensis* ou à la vitamine E ont révélé une vacuolisation du cytoplasme et infiltration des cellules inflammatoire lymphoplasmocytaire (figure 69 G et H). En revanche, les cœurs des groupes traités uniquement avec *M. arvensis* ont révélé une architecture conservée d'une manière relativement semblable à celle des témoins avec une cogestion vasculaire (figure 69 I et J).

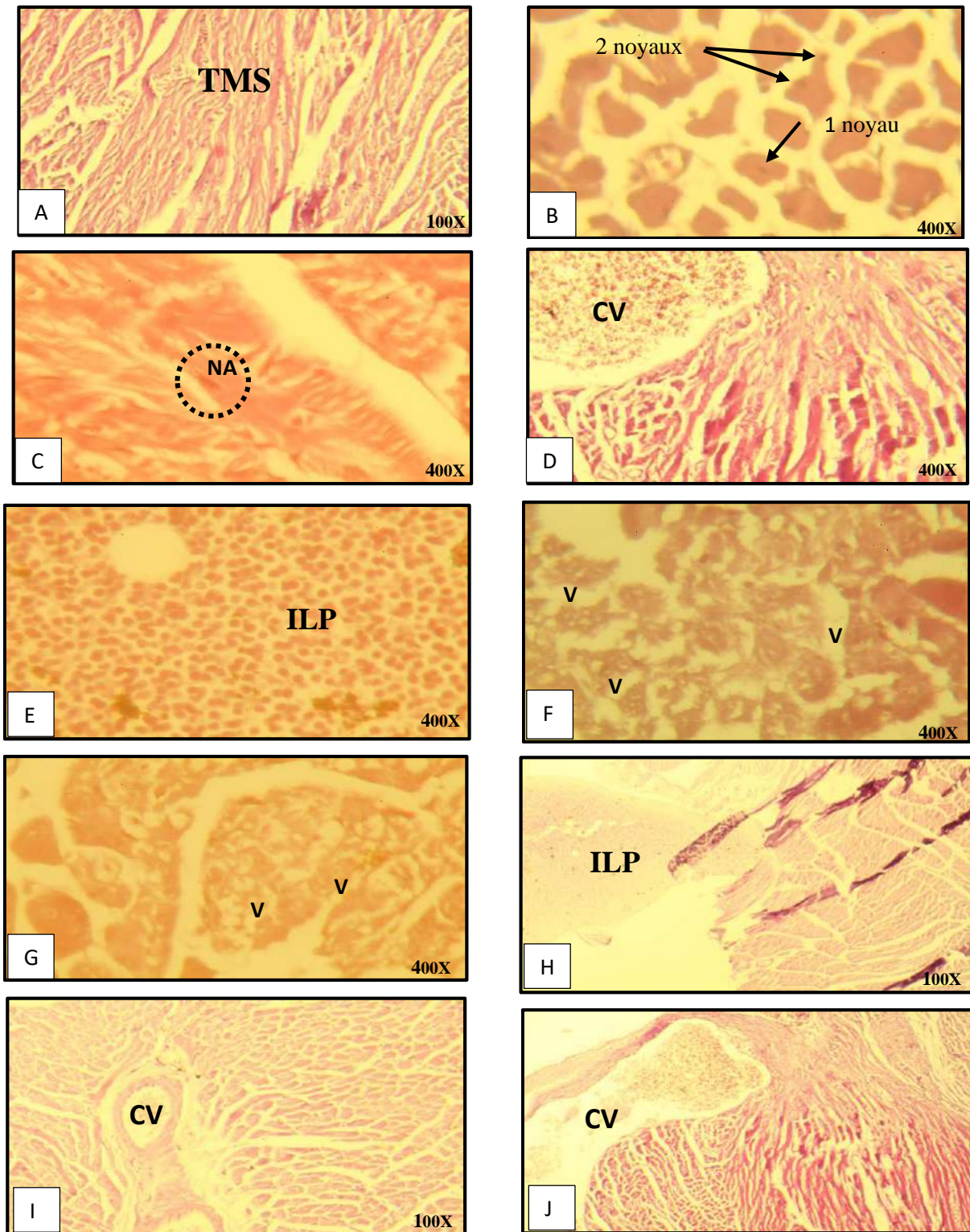


Figure 69: Résultats histopathologiques du cœur des rats (A-C) : Architecture conservée A : Tissu musculaire strié (TMS), B : noyaux (flèche), C : noyau allongé (NA); (D-F) : Histologie du cœur traité par DOX D : congestion vasculaire (CV), E : infiltrations des cellules inflammatoires lymphoplasmocytaires (ILP), F : vacuolisation du cytoplasme (V) ; (G) et (H) cœur des groupes co-traités par l'extrait n-butanol de *M. arvensis* 50 mg/kg, 100 mg/kg et la vitamine E ont montré une vacuolisation du cytoplasme (V) et infiltrations des cellules inflammatoires lymphoplasmocytaires (ILP); (I et J) : L'histologie du cœur traité uniquement avec l'extrait de *M. arvensis* 50 mg/kg et 100 mg/kg a montré une congestion vasculaire (CV)

Discussion

Discussion

La doxorubicine (DOX) est un anthracycline anticancéreux, qui peut traiter divers néoplasmes humains tels que les leucémies, les lymphomes, le cancer du sein, les sarcomes et autres tumeurs malignes. Malgré son efficacité dans la lutte contre diverses tumeurs, la doxorubicine aurait des effets indésirables sur plusieurs organes, notamment le cœur, le cerveau, les reins et le foie, entraînant une forte toxicité (El-Din *et al.*, 2018). Cette dernière est due à la présence d'un fragment quinone dans la structure du cycle anthracycline, qui intervient dans la biotransformation tant oxydative que réductrice et aboutissant à la création des substances hautement réactives prédisposées au stress oxydatif (Afsar *et al.*, 2019). Par conséquent, l'utilisation d'antioxydants naturels ou synthétiques peut protéger contre le stress oxydatif causé par la DOX et d'autres médicaments cytotoxiques (Abdel-Sattar *et al.*, 2012).

En effet, la présente étude a été consacrée en premier lieu pour la mise en évidence *in vitro* de l'activité antioxydante, anti-inflammatoire et photoprotectrice de l'extrait butanolique de *M. arvensis*; puis en second lieu la mise en évidence *in vivo* de l'effets protecteur de l'extrait butanolique de *M. arvensis* contre l'hyapatotoxicité, la néphrotoxicité et la cardiotoxicité induits par la doxorubicine. Pour cette raison, l'évaluation des paramètres biochimiques et du stress oxydant et l'examen histopathologiques ont été performées dans cette étude pour répondre à la problématique posée dans l'introduction.

Dans la présente étude, un dosage des flavonoïdes et des polyphénols totaux s'est imposé afin de caractériser l'extrait utilisé à partir de la partie aérienne de la plante *M. arvensis*. Les résultats de l'analyse quantitative révèlent la richesse de l'extrait butanolique de *M. arvensis* en polyphénols et flavonoïdes (86.25 ± 0.00 μg AG/mg d'extrait) (22.54 ± 0.01 μg QE/mg d'extrait) respectivement, nos résultats sont très proches de celui obtenu par (Marrelli *et al.*, 2018) qui ont montré que l'extrait méthanolique de *M. arvensis* de l'Italie riche de ces constituants avec des valeurs de l'ordre de 92.5 ± 1.0 mg acide chlorogénique/g et 18.34 ± 0.07 mg QE /g respectivement. D'autre part l'extrait aqueux des feuilles de *M. arvensis* de Tunisie qui ont été quantifié par (Skandrani, Limem, *et al.*, 2010) a donné des résultats différents aux nôtres avec des valeurs de l'ordre de 48 μg AG /mL et 90 μg QE /mL respectivement, ces teneurs sont faibles par rapport à nos résultats. Tandis que El-Mekrawy et ses collaborateurs ont montré que *Moricandia sinaica* est très riche en composés phénoliques et flavonoïdique avec des valeurs de l'ordre de 203.73 ± 0.24 μg AG/mg et 114.09 ± 0.04 μg QE/mg respectivement (El-Mekrawy *et al.*, 2020). Cette variabilité des teneurs en polyphénols et flavonoïdes varie selon l'origine, le mode de

séchage, la période de la récolte, le type de solvant d'extraction et les conditions de stockage qui pourraient également dépendre de la zone géographique de la récolte (Addab *et al.*, 2020).

L'évaluation de l'activité antioxydante potentielle et globale des extraits de plantes doit être effectuée par des méthodes multiples et complémentaires puisque les extraits végétaux sont constitués de composés phytochimiques complexes pouvant subir divers processus oxydatifs (Beddiar *et al.*, 2021).

Dans cette étude, l'activité antioxydante *in vitro* de l'extrait butanolique de la plante *M. arvensis* a été évaluée sur la base des méthodes suivantes : DPPH, l'ABTS, Galvinoxyle (GOR), pouvoir réducteur, CUPRAC, phénanthroline et β -carotène.

Le DPPH et l'ABTS sont des radicaux libres relativement stables couramment utilisés dans les essais antioxydants. Leurs maximum d'absorption caractéristiques dans la région visible disparaissent lorsqu'ils sont piégés, et donc la diminution de ces radicaux peut être facilement surveillée par un spectrophotomètre (Prior *et al.*, 2005; Gülçin, 2010).

D'après nos résultats obtenus par ces essais, il est montré que l'extrait butanolique issu de la partie aérienne de *M. arvensis* possède une bonne activité scavenger des radicaux libres, soit vis-à-vis le radical DPPH ou ABTS avec concentrations inhibitrices de 50% des radicaux libres (IC_{50}) de $221,52 \pm 3,77 \mu\text{g/mL}$ et $83,28 \pm 2,40 \mu\text{g/mL}$ respectivement. Ces résultats sont supérieurs à ceux obtenue par (Skandrani *et al.*, 2007) avec IC_{50} de l'ordre de $2,25 \mu\text{g/mL}$ et $1,4 \mu\text{g/mL}$ dans l'extrait méthanolique issu de feuilles de *M. arvensis* cultivées en Tunisie. Cependant, une étude menée par Marrelli et ses collaborateurs montre que le pouvoir antioxydant de radicale DPPH égale $355,5 \pm 7,9 \mu\text{g/mL}$ de l'extrait méthanolique de la partie aérienne de *M. arvensis* cultivée en Italie (Marrelli *et al.*, 2018).

Cette différence des activités antioxydantes est fortement liée à la différence de la teneur en flavonoïdes totaux. Ce qui revient à dire en termes plus clairs que l'activité antioxydante augmente à chaque fois qu'on constate une forte teneur en flavonoïdes totaux. Il est à souligner que le rendement le plus élevé entraîne une augmentation au niveau de la teneur en composés phénoliques et notamment en flavonoïdes, ceci n'exclut pas aussi une augmentation relative au niveau de l'activité antioxydante (Hebi & Eddouks, 2016). Tandis que, d'autres études ont montré que la différence de l'activité antioxydante pourrait être due à la composition du composé phénolique dans les échantillons qui contenait un nombre élevé de groupes hydroxyle. Ces groupes étaient

responsables d'une activité antioxydante élevée. Par ailleurs, la méthode et les conditions d'extraction (température et durée) ont également affecté ces activités (Aissani *et al.*, 2021).

De plus, des études précédentes suggèrent que l'activité inhibitrice du radical DPPH n'est pas dépendante de la teneur totale en composés phénoliques mais en polyphénols qui ont des structures chimiques spécifiques. En d'autres termes, par la grande sélectivité du DPPH car il ne réagit qu'avec les flavonoïdes contenant des groupes hydroxyles dans le cycle B, ainsi qu'avec les acides aromatiques contenant plus d'un groupe hydroxyle (Mammeri *et al.*, 2022).

D'autre part, les études menées par Braham et ses collaborateurs sur la l'activité antioxydante de l'extrait méthanolique de fleurs violettes fraîches de *M. arvensis* de la Tunisie ont permis d'isolés 4 nouveaux glycosides phénoliques ont été identifiés et qui réduisaient le radical DPPH, à savoir la quercétine 3,4'-di-O- β -D-glucopyranoside-7-OR-L-rhamnopyranoside, appelé moricandine, le 4-O- β -D-glucopyranosylcaféate d' β -Dglucopyranosyle, le 3-O- β -D-glucopyranosyl-5 hydroxycinnamate de méthyle et le 4-O- β -D-glucopyranosylbenzoate d' β -D-glucopyranosyle (Braham *et al.*, 2005).

Par ailleurs, la présente étude a montré un meilleur effet anti-radicalaire dans le test ABTS que dans le test DPPH. Cette différence peut être justifiée par la capacité du radical cationique ABTS à être plus polyvalent que le DPPH, qui est soluble dans l'eau et les solvants organiques et permet une évaluation de l'activité de piégeage des radicaux libres pour les composés hydrophiles et lipophiles (Mammeri *et al.*, 2022).

Le DPPH est un radical stable N-centré. La meilleure façon de mesurer l'activité de piégeage des radicaux libres (activité antiradicalaire) serait d'utiliser le radical stable O-centré galvinoxyle qui est plus étroitement lié aux radicaux oxygènes physiologiquement plus actifs que le DPPH vis-à-vis des composés phénoliques (Tirzitis & Bartosz, 2010).

L'évaluation du potentiel anti-radicalaire en fonction du radicale galvinoxyle montre que l'extrait de la plante étudiée piégeait le radical galvinoxyle avec une valeur IC_{50} de $179,95 \pm 0,00$ μ g/mL. Les composés antioxydants sont capables de donner des électrons aux radicaux réactifs et de les réduire en espèces plus stables et non réactives. Les plantes peuvent contenir des réductones, qui peuvent réagir avec les radicaux libres et les rendre plus stables mettant un terme à la chaîne des réactions radicalaires. En plus, les activités antioxydantes et antiradicalaires efficaces des échantillons pourraient être dues à leurs richesse en composé phénolique (Aras *et al.*, 2016).

La capacité de chélation des métaux d'un composé peut également servir d'indicateur significatif de son activité antioxydante potentielle (Ibrahim *et al.*, 2021), par conséquent la capacité chélatrice de l'extrait a été également évaluée par dosage de pouvoir réducteur (FRAP), phénanthroline et la réduction du complexe cuivre-néocuproïne (CUPRAC) car ils présentaient aussi une grande reproductibilité.

Le fer (Fe) joue un rôle important dans de nombreux processus biochimiques et fonctions physiologiques, cependant, lorsqu'il est présent en grande quantité, il provoque une surcharge en fer qui entraîne des lésions oxydatives en raison de son immense contribution aux réactions qui augmentent les quantités de ROS dans les systèmes vivants (Oyeniran *et al.*, 2021).

Le pouvoir réducteur des composés bioactifs ou des composants alimentaires reflète la capacité de donner des électrons et d'association à l'activité antioxydante. Les composés bioactifs ayant des effets antioxydants peuvent être des réducteurs et inactiver les oxydants (Gülçin, 2015). Les résultats obtenus avec ce test montrent que l'extrait butanolique de la plante *M. arvensis* a une faible capacité de réduire les ions ferrique avec un $A_{0,5}$ égale à $139,33 \pm 2,89 \mu\text{g/mL}$ par rapport aux molécules de référence (Acide ascorbique et α -Tocophérol).

Des études sur la chélation des ions du fer par certains flavonoïdes ont mis en évidence les sites essentiels pour la chélation des ions métalliques :

- les groupes 3'-hydroxy et 4'-hydroxy du cycle B (les fonctions catéchol)
- les groupes 3-hydroxy et 4-oxo du cycle C (le motif énone)
- les groupes 4-oxo et 5-hydroxy en position 3. Ainsi, la quercétine qui combine tous ces substituants est un complexant métallique particulièrement efficace (Ghedadba *et al.*, 2015).

D'autre part, une étude précédente, a montré que la L-Carnitine et la curcumine chélaient les ions ferreux (Fe^{2+}) à travers les groupes fonctionnels carbonyle et hydroxyle (Gülçin, 2010). Par ailleurs, l'activité de chélation du fer a été déterminée par réaction avec l'ortho-phénanthroline Fe^{3+} est réduit en Fe^{2+} par un antioxydant et le Fe^{2+} formé réagit rapidement avec la phénanthroline pour constituer un complexe stable de couleur rouge orange (Ibrahim *et al.*, 2021). L'extrait butanolique de la plante *M. arvensis* a une excellente capacité de réduire Fe^{3+} en Fe^{2+} avec un $A_{0,5} = 29,29 \pm 0,89 \mu\text{g/mL}$.

Les flavonoïdes sont responsables de l'activité antioxydante. Ils ont la capacité de donner de l'hydrogène attaché aux structures du cycle aromatique. Ainsi, il peut réduire Fe^{+3} en Fe^{+2} qui sert

d'indicateur antioxydant important. Cette activité est appelée composés phénoliques à pouvoir donneur d'électrons. Plusieurs études ont convenu que les polyphénols et les flavonoïdes sont responsables de l'activité du pouvoir réducteur puisqu'ils agissent comme des extincteurs d'ions métalliques en donnant un électron, en raison de la présence d'une structure cyclique aromatique (Benouchenne *et al.*, 2021).

La réduction du complexe cuivre-néocuproïne (CUPRAC) est un test de réduction du cuivre développé comme une variante du test FRAP, dont le cuivre (Cu) est utilisé au lieu de fer (Fe). Ce test permet de mesurer le pouvoir réducteur des antioxydants pour convertir les ions cuivriques (Cu^{2+}) en ions cuivreux (Cu^+). Cette méthode a l'avantage de mesurer le pouvoir réducteur des antioxydants hydrophiles et hydrophobes (Shahidi & Zhong, 2015).

Les résultats obtenus avec ce test montrent que l'extrait butanolique de la plante *M. arvensis* a une forte capacité de réduire les ions cuivriques avec un $A_{0,5} = 80,27 \pm 0,46 \mu\text{g/mL}$, ce qui est probablement dû à la présence des composés réducteurs de cuivre. La capacité réductrice d'un composé dépend généralement de la présence d'antioxydants, qui exercent l'activité antioxydante en cassant la chaîne des radicaux libres en donnant un atome d'hydrogène (Atere *et al.*, 2018). Une étude de (Muhammad *et al.*, 2016) a montré que la réduction du complexe cuivre-néocuproïne (CUPRAC) pourrait être liée au groupement OH en position C-1 et le groupe 3-méthyl-2-butényle en position C-2 donnant des électrons au cycle benzénique ; c'est probablement la raison de sa meilleure activité.

Dans le système β -carotène/acide linoléique, les radicaux libres peroxydes générés par l'acide linoléique entraînent une décoloration rapide du β -carotène et la solution perd sa coloration rouge-orange en l'absence d'antioxydant. Le peignage des radicaux libres du linoléate par les antioxydants présents dans les extraits ce qui réduit le blanchissement du β -carotène (Mamache *et al.*, 2020). La cinétique du blanchissement du β -carotène montre que l'extrait butanolique inhibe d'une manière significative l'oxydation de l'acide linoléique avec $\text{IC}_{50} = 155,56 \pm 3,09 \mu\text{g/mL}$. Cela est dû au transfert des atomes d'hydrogène aux radicaux peroxydes ($\text{R}_1\text{R}_2\text{CHOO}\cdot$) formés par l'oxydation de l'acide linoléique et les convertit en hydroperoxydes ($\text{R}_1\text{R}_2\text{CHOOH}$), ce qui prévient l'oxydation et le blanchissement de β -carotène (Liu *et al.*, 2010). Cependant, une seule étude précédente a évalué l'effet de blanchissement de β -carotène sur la partie aérienne *M. arvensis* d'Italie en montrant que l'extrait méthanolique a une activité supérieure à nos résultats avec un $\text{IC}_{50} = 63,92 \pm 2,51 \mu\text{g/mL}$ après 60 min d'incubation. Cette différence peut-être due à la richesse de cette phase en deux aglycones quercétine et de kaempférol responsable d'un fort potentiel

antioxydant en raison du cycle B dihydroxylé et de la présence de la double liaison 2–3 en conjugaison avec le groupe 4-carbonyl dans le cycle C qui permet le piégeage des radicaux libres ce qui empêchant le blanchissement du β -carotène (Marrelli *et al.*, 2018). En plus, Addab et ses collaborateurs ont démontré que les solvants polaires étaient les meilleurs milieux d'extraction pour les composés phénoliques, en particulier les flavonoïdes (Addab *et al.*, 2020).

Par ailleurs, (Lekouaghet *et al.*, 2020) ont montré que l'activité antioxydante dépend de la quantité de composés phénoliques des extraits de plantes. En effet, cette précieuse activité antioxydante peut être liée au nombre de groupements hydroxyles, et à leur position dans la molécule ainsi qu'à la nature des composés phénoliques, qui peuvent agir en synergie. En plus, l'activité antioxydante des composés phénoliques tels que les flavonoïdes dépend de leur structure chimique, notamment la distribution des groupes hydroxyles où la réduction des radicaux libre est liée étroitement à la 3',4'-orthodihydroxy sur le cycle B et le groupe 4-carbonyl sur le cycle C les groupes 3-OH et 5-OH sur le cycle C sont également appropriés pour l'effet antioxydant (Chekroun *et al.*, 2015).

Les rayons UVA et UVB peuvent pénétrer à la fois dans l'épiderme et le derme de la peau et induisent plusieurs effets délétères, notamment les coups de soleil, la photocarcinogénèse, l'immunosuppression, le vieillissement précoce et le cancer de la peau (Saewan & Jimtaisong, 2013). Les rayons UV induisent également la production de radicaux libres tels que OH^\cdot , $\text{O}_2^{\cdot-}$ et HOO^\cdot , est peuvent provoquer une diminution considérable des quantités d'antioxydants présents dans la peau (El Aanachi *et al.*, 2021). L'incorporation de molécules ou d'extraits de plantes ayant des effets antioxydants et photoprotecteurs est une approche passionnante, qui a récemment fait l'objet d'une attention considérable pour améliorer l'efficacité d'un écran solaire (El Aanachi *et al.*, 2020).

L'activité photoprotectrice des extraits végétaux a été mesurée par la détermination *in vitro* du facteur de protection solaire (SPF), qui est considéré comme l'un des indicateurs les plus fréquemment utilisés pour la classification des niveaux de protection offerts par les produits de protection solaire contre les coups de soleil dus principalement aux rayons UV-B nocifs (Amrani *et al.*, 2019).

Dans la présente étude, la valeur SPF est de 47.38 ± 0.10 . Les résultats indiquent que l'extrait butanolique ont montré une activité photoprotectrice élevée et peuvent être employés dans des formulations de protection solaire pour protéger la peau des coups de soleil.

Skandrani et ses collaborateurs ont montré que l'extrait chloroformique de la plante *M. arvensis* de la Tunisie a un effet photoprotecteur contre les rayons UV peut entraîner son utilisation en cosmétologie (Skandrani, Pinon, *et al.*, 2010). Une étude menée par (Costa *et al.*, 2015) a démontré que les extraits des plantes riches en flavonoïdes, qui sont efficaces pour absorber la lumière ultraviolette, présentent généralement deux pics d'absorption maximale des ultraviolets, l'un entre 240 et 280 nm et l'autre entre 300 et 550 nm.

En plus, il a été rapporté que les propriétés photoprotectrices de la quercétine et de son glucoside, la rutine (quercétine-3-O-rutinoside), ont été évaluées pour le facteur de protection solaire (SPF) dans les crèmes solaires. Les résultats ont montré que 10 % de crème de quercétine et de rutine donnaient des valeurs SPF similaires à celles de l'homosalate (un agent de protection solaire synthétique). En associant avec le dioxyde de titane, ces deux flavonoïdes ont également fourni un niveau non négligeable de photoprotection dans le domaine UVA (Saewan & Jimtaisong, 2013).

L'inflammation est un mécanisme de défense de l'organisme contre les stimuli nuisibles, notamment les agents pathogènes (bactéries, virus et parasites) et/ou les toxines libérées par les agents pathogènes, les traumatismes, la chaleur ou les cellules endommagées (Pappalardo *et al.*, 2021). Les macrophages activés par le lipopolysaccharide (LPS) ou activés de manière classique acquièrent un phénotype inflammatoire qui déclenche une série de changements métaboliques, tels qu'une augmentation de la phosphorylation oxydative, une réduction de la synthèse des acides gras et la production de médiateurs inflammatoires tels que l'oxyde nitrique (NO), les espèces réactives de l'oxygène (ROS), la prostaglandine E2 (PGE2), l'IL-1 β et d'autres cytokines (Vassallo *et al.*, 2020). Pour ces raisons, dans ce travail, nous avons étudié la capacité de l'extrait butanolique de *M. arvensis* d'inhiber les médiateurs inflammatoires en utilisant un modèle de macrophage U937.

Le MTT est un test de quantification colorimétrique, non radioactif, qui évalue la prolifération, viabilité et la cytotoxicité des cellules. Le test est basé sur le clivage enzymatique du sel de tétrazolium en formazole violet insoluble par des déshydrogénases mitochondriales présentes dans les cellules viables (Das *et al.*, 2018). L'étude de la cytotoxicité *in vitro* à l'aide du test MTT est une étape essentielle dans la recherche de nouvelles thérapies et elle est considérée comme l'une des méthodes de dépistage préliminaire les plus couramment utilisées pour la prolifération et la cytotoxicité des cellules (Verma & Singh, 2020). Les résultats obtenus avec ce test montrent que *M. arvensis* a montré n'a aucune activité cytotoxique sur la cellules U937 à la concentration 25, 50 et 100 $\mu\text{g/mL}$ dont le pourcentage des cellules viables atteint des valeurs

respectives de $91,89\% \pm 4,05$, $88,03\% \pm 3,27$ et $82,23\% \pm 5,62$, tandis que la viabilité cellulaire des macrophages est réduite à $76,06\% \pm 4,49$ par rapport au contrôle pour la concentration $200 \mu\text{g/mL}$, ce qui indique que *M. arvensis* n'a aucun effet cytotoxique sur les macrophages à des concentrations allant jusqu'à $200 \mu\text{g/mL}$.

Les ROS et le NO sont deux espèces radicalaires qui jouent un rôle bien défini dans l'apparition et la progression du processus inflammatoire. Les ROS, à la fois sous-produits de différentes réactions enzymatiques et dans différents compartiments cellulaires, et générés par des enzymes spécifiques telles que la NADPH oxydase, interviennent à la fois dans la transduction du signal physiologique et pathologique.

Le NO est une molécule utilisée comme agent de signalisation ou de toxicité entre les cellules. Il joue des rôles physiologiques chez les mammifères, agissant comme relaxant vasculaire, neurotransmetteur et inhibiteur de l'agrégation plaquettaire. Le NO est également généré au cours des réponses immunitaires et inflammatoires. Par conséquent, en tant que médiateurs inflammatoires, les ROS et le NO sont des cibles importantes dans le traitement des maladies inflammatoires (Pappalardo *et al.*, 2021).

D'autre part, la prostaglandine E_2 (PGE_2) est le médiateur lipidique le plus important chez les animaux (Ji *et al.*, 2021). Les enzymes cyclooxygénase (COX) métabolisent l'acide arachidonique en eicosanoïdes. Les produits du métabolisme de l'acide arachidonique par la COX-2 sont les prostanoïdes de la série 2, parmi lesquels la prostaglandine E_2 (PGE_2) joue un rôle important dans la médiation de la douleur, de l'inflammation et du gonflement (Hammer *et al.*, 2007).

L'activité anti-inflammatoire de la plante *M. arvensis* a été étudiée en mesurant leurs capacités à inhiber la génération cellulaire de ROS, NO et PGE_2 dans les macrophages U937 stimulés qui pourrait être un indicateur typique de l'activité anti-inflammatoire. Les résultats montrent que *M. arvensis* a la capacité de réduire les niveaux de ROS, NO et PGE_2 par rapport aux cellules stimulées par LPS. Par ailleurs, NF- κ B est un important facteur de transcription lié à l'inflammation, NF- κ B est une famille de molécules dimériques ayant des propriétés pro- et anti-inflammatoires. Chez les mammifères, la famille NF- κ B comprend cinq protéines : NF- κ B1 (p50/105), NF- κ B2 (p52/100), Rel A (p65), Rel B et c-Rel. Parmi ces protéines, l'hétérodimère p65/p50 est le complexe pro-inflammatoire le plus prédominant. La translocation nucléaire de p65 et la liaison à l'ADN sont généralement définies comme l'activation de la voie NF- κ B (Choi *et al.*, 2019), par conséquent, l'inhibition des unités NF- κ B activées dans le système de défense

immunitaire est aujourd'hui considérée comme une cible thérapeutique majeure pour la diminution des réponses inflammatoires intenses (Ngabire *et al.*, 2018). Dans la présente étude on a constaté que LPS a induit une surexpression marquée de la sous-unité p65 de NF- κ B dans les cellules U937 par rapport aux cellules non traitées, tandis que l'extrait étudié a considérablement réduit les niveaux de p65/ NF- κ B, cette propriété doit donc être soulignée. Parmi les multiples gènes stimulés par NF- κ B, les gènes codent pour iNOS et COX-2 ; alors, la capacité de l'extrait *n*-butanol de *Moricandia arvensis* à réduire les niveaux de NO et de PGE₂ pourrait être une conséquence directe de l'inhibition de NF- κ B. Les gènes métaboliques immunitaires SLC25AI et ACLY codent respectivement pour le transporteur de citrate mitochondrial (CIC) et l'ATP-citrate lyase qui sont deux autres gènes cibles de NF- κ B. Le CIC est l'un des membres de la famille de transporteurs mitochondriaux SLC25 qui est situé dans la membrane interne des mitochondries. Les transporteurs SLC25 agissent comme un lien entre les processus mitochondriaux et cytosoliques, ils représentent donc un système largement intégré qui interagit avec différentes pathologies, y compris l'inflammation ou le cancer (Infantino *et al.*, 2011; Infantino *et al.*, 2014; Santarsiero *et al.*, 2018; Infantino, Dituri, *et al.*, 2019).

Dans les macrophages déclenchés par le TNF α et/ou l'IFN γ ou le LPS, un rôle important est joué par le CIC et l'ACLY : le CIC exporte le citrate accumulé des mitochondries vers le cytosol. Dans ce cas, le citrate est divisé par l'ACLY en oxaloacétate (OAA) et en acétyl-CoA, tandis que le NADPH est produit par l'OAA par le biais des réactions en aval qui sont catalysées par la malate déshydrogénase (MDH) cytosolique et l'enzyme malique (Todisco *et al.*, 2019). Une source critique d'équivalents réducteurs nécessaires à la synthèse des ROS et du NO est représentée par le NADPH dérivé du citrate (Infantino *et al.*, 2011; Infantino *et al.*, 2013; Iacobazzi & Infantino, 2014; Infantino *et al.*, 2014; Infantino, Pierri, *et al.*, 2019). Au contraire, l'acétyl-CoA est utilisé dans le cytoplasme comme substrat pour la biosynthèse de lipides comptant l'acide arachidonique qui est essentiel pour la synthèse des prostaglandines dont la PGE₂ est un régulateur clé de l'inflammation avec un rôle essentiel dans les maladies inflammatoires (Park *et al.*, 2006). Par conséquent, l'extrait de *n*-butanol de *Moricandia arvensis* pourrait agir sur les niveaux de NO, ROS et PGE₂ par la suppression de la voie du citrate ainsi que par une inhibition directe de NF- κ B. Ce dernier contrôle l'expression des gènes SLC25AI et ACLY mais aussi celle des gènes iNOS, NADPH oxydase et COX-2 qui sont impliqués dans la production de NO, ROS et PGE₂, respectivement. L'inhibition de NF- κ B exploitée par l'extrait *n*-butanol de *Moricandia arvensis* pourrait être liée à sa haute teneur en phénoliques et en flavonoïdes, puisque la capacité des phénols

et des flavonoïdes à bloquer la voie NF- κ B est bien connue (Hämäläinen *et al.*, 2007; Santarsiero *et al.*, 2020).

Il a été démontré que les flavonoïdes possèdent une forte activité anti-inflammatoire, ce qui est souhaitable pour la gestion des maladies inflammatoires chroniques (Ayertey *et al.*, 2021). De plus, de nombreux flavonoïdes ont été étudiés pour leur forte activité anti-inflammatoire, comme la catéchine, qui possède une importante capacité à bloquer la formation du radical O₂ et/ou à inhiber les enzymes de synthèse des prostaglandines. Ce produit et ses dérivés ont été précédemment isolés à partir de nombreuses plantes telles que *Cinnamomum sieboldii*, *Ceiba pentandra*, *Anacardium occidentale* Linn, *Atuna racemosa* et *Syzygium corynocarpum* principalement pour leur effet anti-inflammatoire (Boulaaba *et al.*, 2019).

Nos constatations sont en accord avec d'autres recherches sur l'effet anti-inflammatoire des extraits de plante sur les murins RAW 264.7 stimulés par le LPS. Ngabire et ses collaborateurs a montré que l'extrait de *Aster incisus* a réduit de manière significative la production d'enzymes liées à l'inflammation (iNOS, Cox-2) et de cytokines (TNF α , IL-1 β et IL-6) et l'expression génique des cytokines pro-inflammatoires (Ngabire *et al.*, 2018).

Une autre étude réalisée par Kim et ses collaborateurs a montré que *Acalypha australis* L a inhibé la production de NO, facteur de nécrose tumorale- α (TNF- α) et de l'interleukine-6 (IL-6) en atténuant le facteur nucléaire kappa B (NF- κ B) (Kim *et al.*, 2020).

Le foie et les reins ont de nombreuses fonctions vitales telles que la détoxification, la synthèse des protéines, la production de substances biochimiques nécessaires à la digestion et l'excrétion ou la rétention de diverses substances en fonction des besoins spécifiques de l'organisme. Cependant, le foie et les reins sont les organes cibles les plus courants des lésions induites par les produits chimiques. De nombreux médicaments de chimiothérapie présentent une toxicité hépatique et rénale (Guo *et al.*, 2016).

Dans la présente étude, la toxicité induite par la DOX a été établie après une seule injection intra-péritonéale de DOX à la dose (15 mg/kg). Les toxicités hépatiques, rénales et cardiaques ont été mesurées par l'effet des traitements DOX et *Moricandia arvensis* concomitants sur les paramètres des fonctions hépatiques, rénaux et cardiaques.

Les transaminases sériques peuvent être considérées comme un indice perceptif des lésions hépatiques. L'insuffisance et/ou les lésions hépatiques modifient leur mécanisme de transport et modulent la perméabilité des membranes. Cela peut conduire à l'écoulement de certaines enzymes

spécialisées des cellules hépatiques, ce qui entraîne un taux minimal d'ALT et AST dans les cellules hépatiques, l'augmentation de ces enzymes dans le sérum pourrait également être utilisée en clinique comme marqueurs de lésions hépatiques (AlAsmari *et al.*, 2021). Plusieurs études expérimentales avaient décrit que les atteintes hépatiques par DOX sont généralement caractérisées par une élévation fréquente des transaminases (Metem *et al.*, 2016; Wali *et al.*, 2020).

Les résultats de la présente étude ont clairement démontré une augmentation très hautement significative du taux des transaminases (ALT et AST) chez les rats traités uniquement par DOX, ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par (Zhao *et al.*, 2012; Djebbari *et al.*, 2017; Sikandar *et al.*, 2019). Ceci est expliqué par la génération des anions superoxyde et des radicaux peroxy-nitrite dans le métabolisme de la DOX dans le foie, qui initie une peroxydation lipidique par les espèces réactives de l'oxygène (ERO), ce qui entraîne des dommages aux hépatocytes et provoque l'apparition d'ALT et d'AST dans le sérum (Moustafa & Ali, 2021).

D'autre part, la DOX perturbe la fonction hépatique par des altérations des lipoprotéines plasmatiques, la modification des niveaux de ces derniers est liée à un fonctionnement précis du foie (Afsar *et al.*, 2019). L'hypercholestérolémie est un trouble du métabolisme des lipoprotéines caractérisé par des taux sériques élevés de lipoprotéines de basse densité (LDL-C) et de cholestérol. L'altération du métabolisme du cholestérol et des triglycérides résultant de l'hypercholestérolémie (Mohebbati *et al.*, 2015). Dans cette étude on a constaté une dyslipidémie marquée par une augmentation du taux du cholestérol total, les triglycérides, LDL et une diminution significative du taux d'HDL été observées chez rats traités par DOX. Ces résultats sont conformes avec les études de (Haybar *et al.*, 2019), Ceci est dû au fait que la DOX interfère avec le métabolisme ou la biosynthèse des lipides (Bilgic & Ozgocmen, 2019).

Dans une autre étude, les auteurs ont montré que l'administration de DOX a la capacité d'altérer la structure et la composition chimique ainsi que les fonctions biologiques de la membrane, en particulier dans les mitochondries biologiques. Cela peut être dû à la peroxydation des lipides membranaires, conduisant à la libération de protéines et de cholestérol du cytosol dans le sang (Moussa *et al.*, 2020).

Par ailleurs, l'injection de DOX a conduit à la réduction de l'absorption du glucose. Dans des conditions normales, le glucose est essentiellement transporté à travers les cellules membranaires en induisant la translocation de l'isoforme 4 transporteur du glucose (GLUT 4) (Biondo *et al.*, 2016). Dans la présente étude, l'administration de DOX a induit une hyperglycémie ($p < 0.001$). Ce résultat, est en accord avec l'étude de (Moussa *et al.*, 2020). D'après l'étude de Renu

et ses collaborateurs ont montré que l'administration de DOX provoque une régulation négative de l'expression de GLUT1 et GLUT4, ce qui a entraîné une atténuation du transport du glucose dans les adipocytes (Renu *et al.*, 2019).

L'injection de DOX a été associée à une néphrotoxicité marquée par des altérations significatives de la créatinine et de l'urée qui sont généralement contrôlées pour évaluer le fonctionnement glomérulaire (Adeneye *et al.*, 2021; Ikewuchi *et al.*, 2021). D'après nos résultats, une augmentation significative du taux plasmatique de l'urée et de la créatinine ont été observées chez les animaux traités par DOX. Ces résultats sont cohérents avec plusieurs études (Ahmed *et al.*, 2020; Ali *et al.*, 2021). L'augmentation du taux de créatinine sérique indique que la créatinine peut être facilement éjectée des reins, ce qui indique une altération de la fonction rénale. Cependant l'augmentation du taux d'urée sérique est due à une dégradation rapide des protéines ou à une détérioration de l'homéostasie de l'azote, ce qui est également un marqueur de dysfonctionnement rénal (Kuzu *et al.*, 2019). D'autre part, les mécanismes par lesquels la DOX provoque une toxicité glomérulaire ne sont pas encore totalement compris. Cependant, des rapports antérieurs ont montré que le stress oxydatif sont les principaux causes de la néphrotoxicité induite par la DOX (Hussain *et al.*, 2021). On pense que la conversion de la DOX en sa semiquinone joue un rôle essentiel dans ses actions néphrotoxiques. La semiquinone est instable dans des conditions aérobies et, par conséquent, réagit avec l'oxygène moléculaire pour former des radicaux d'anions superoxyde.

Lorsque le nombre de radicaux libres primaires augmente, les neutrophiles infiltrés localement et les cellules glomérulaires mésenchymateuses actives génèrent davantage de radicaux libres qui endommagent les tissus rénaux. La DOX cause des dommages toxiques directs à la membrane basale glomérulaire, aux podocytes et aux cellules endothéliales glomérulaires, induisant une inflammation et une fibrose interstitielles tubulaires (Soltani Hekmat *et al.*, 2021).

La cardiotoxicité est un défi majeur associé à l'utilisation des chimiothérapies actuellement disponibles. Ces agents chimiothérapeutiques induisent une cardiotoxicité par différents mécanismes et avec des différentes présentations cliniques (Alhazzani *et al.*, 2021). Des études antérieures ont démontré que une seule dose 15 mg/kg de la doxorubicine entraîne une cardiotoxicité marquée par des altérations significatives de la créatine phosphokinase CPK (Saleh *et al.*, 2020; Alhazzani *et al.*, 2021), ces travaux ne sont pas en accordance avec nos résultats, où aucune différence significative n'a été enregistrée dans le taux du CPK chez les rats traités par DOX.

Les toxicités hépatiques, rénaux et cardiaques induites par la DOX ont entraîné un stress oxydatif, comme en témoignent les niveaux réduits de GSH, l'activité réduite de GPx, et un niveau élevé de MDA dans les tissus hépatiques, rénaux et cardiaques examinés (Meté *et al.*, 2016; Li *et al.*, 2020; Mohamed *et al.*, 2022).

Malondialdéhyde (MDA) c'est un produit d'oxydation majeur des acides gras polyinsaturés peroxydés, et l'augmentation du taux de MDA est un indicateur important de la peroxydation lipidique (Meté *et al.*, 2016). La présente étude a montré que les niveaux de MDA dans les tissus hépatiques, rénaux et cardiaques étaient significativement élevés dans le groupe traité uniquement par DOX. Ces résultats sont en accord avec plusieurs études (Chen *et al.*, 2016 ;Guo *et al.*, 2016 ;Al-Oanzi *et al.*, 2020 ;Li *et al.*, 2020). Des études antérieures ont montré que les niveaux élevés de MDA après l'injection de DOX pourrait être attribuée à la production de radicaux libres d'oxygène qui ont provoqué de multiples mutilations tissulaires, s'opposant aux protéines membranaires, aux lipides et aux acides nucléiques (Afsar *et al.*, 2017). La DOX augmente non seulement la production de radicaux libres dans le tissu mais diminue également sa capacité à détoxifier les ROS (Meté *et al.*, 2016).

Le GSH est une molécule endogène qui agit comme un antioxydant pour la détoxification des ROS produits par des stimuli externes et internes nécessaires au maintien de l'homéostasie indispensable au fonctionnement normal des cellules (AlAsmari *et al.*, 2021). Ainsi c'est un piègeur direct de radicaux libres, et il a agi comme un substrat pour la GPx (Rashid *et al.*, 2013).

Nos résultats ont montré que le DOX a entraîné une diminution très hautement significative de taux de GSH ainsi que l'activité de GPx dans les tissus hépatiques, rénaux et cardiaques. Ces résultats sont cohérents avec plusieurs études (Chen *et al.*, 2015 ; Gu *et al.*, 2018 ; Afsar *et al.*, 2019). La diminution du taux de glutathion réduit peut également être due à une consommation réduite de glutathion lors de l'interaction des radicaux libres induits par la doxorubicine avec les biomembranes et les peroxydes lipidiques. La carence en glutathion réduit pourrait être la raison de l'augmentation de la peroxydation lipidique et de la diminution de la glutathion-péroxydase (Rajasekaran, 2019).

En revanche, il est nécessaire de trouver un plan permettant de réduire les effets indésirables des médicaments anticancéreux tout en maintenant leur efficacité chimiothérapeutique. Un grand nombre de constituants végétaux dans le monde ont montré une forte activité antioxydante et une forte activité de piégeage des radicaux libres (Elkareem *et al.*, 2021).

La co-administration orale de l'extrait butanolique de la plante *M. arvensis* à la dose 50 mg/kg et 100 mg/kg a atténué l'hépatotoxicité, néphrototoxicité et la cardiotoxicité induite par DOX. Ces effets indiquent clairement que l'extrait butanolique peut donner une protection en stabilisant la membrane cellulaire vis-à-vis les lésions hépatiques, rénaux et cardiaques induites par DOX, ces résultats peuvent d'être dû à l'activité antioxydante remarquable de cette plante. Ces résultats sont cohérents avec plusieurs études qui ont montré que les plantes médicinales atténuent l'hépatotoxicité, néphrototoxicité et la cardiotoxicité induite par DOX (Elkareem *et al.*, 2021; Nugraha *et al.*, 2021; Syahputra *et al.*, 2021).

En plus, les travaux de Djebbari et ses collaborateurs montrent que le prétraitement avec l'extrait butanolique de *Helianthemum confertum* à la dose 50 mg/kg et 100mg/kg atténue l'hépatotoxicité qui se manifeste par la diminution des transaminases, cholestérol, triglycérides et MDA tandis qu'une augmentation significative de GSH et GPx (Djebbari *et al.*, 2017).

Une autre étude, a montré que l'extrait éthanolique des feuilles de *Clerodendrum volubile* riche en métabolites secondaires tels que les saponines, les flavonoïdes et les phénols et autres substances phytochimiques sont considérés comme des protecteurs potentiels contre les toxicités hépatorénales induites par la DOX et pourraient ainsi améliorer de manière significative l'index thérapeutique de la DOX (Adeneye *et al.*, 2021).

D'autre part, Boutabet et ses collaborateurs ont montré que le mécanisme par lequel l'extrait de propolis prévient le stress oxydatif rénal peut inclure une augmentation du taux de GSH soit par l'induction de sa synthèse soit par un effet piègeur. Au lieu que les métabolites réactifs toxiques se lient au glutathion et se consomment, ils seront capturés par les flavonoïdes (naringénine, pinostrombin et galangine) (Boutabet *et al.*, 2011).

Une autre étude sur l'extrait aqueuse des feuilles de *Chromolaena odorata* et *Tridax procumbens* a montré que la co-administration de ces derniers avec la DOX diminue le taux de la créatinine et de l'urée ceci peut être due à leur contenu en acides caféique et chlorogénique, qui ont tous deux été signalés comme diminuant les niveaux plasmatiques des marqueurs rénaux jusqu'à des niveaux proches de la normale (Ikewuchi *et al.*, 2021).

L'examen histopathologique a montré que l'intoxication par DOX à la dose 15mg/kg a entraîné des changements défavorables au niveau du foie, reins et cœur. Dans la présente étude l'hépatotoxicité induite par DOX a été confirmée par des lésions histopathologiques, y compris nécrose hépatocytaire lobulaire, clarification et ballonnisation du cytoplasme, disparition du noyau,

infiltration des cellules inflammatoires. Ces résultats sont cohérents avec les travaux de (Mecheri *et al.*, 2019).

D'autres études menées par Bilgic and Ozgocmen ont montré que les rats traités par DOX avec une injection intrapéritonéale à la dose de 20 mg/kg présentaient une infiltration des cellules mononucléaires, dilatation et congestion vasculaire, des noyaux pyknotiques et stéatose macro et microvésiculaire (Bilgic & Ozgocmen, 2019).

En plus, Mete et ses collaborateurs ont signalé que les rats traités par une seule injection intrapéritonéale à la dose de 30 mg/kg présentaient une dégénérescence et pléomorphisme dans les hépatocytes, la prolifération dans le canal biliaire, l'éosinophilie cytoplasmique, nécrose parenchymateuse, congestion et thrombose dans la veine centrale et l'inflammation dans l'espace portal du foie (Mete *et al.*, 2016). Ces résultats ne sont pas en accord avec les nôtres.

Par ailleurs, la néphrotoxicité induite par DOX a été confirmée par des altérations histopathologiques enregistrées, y compris distorsion et atrophie glomérulaire, infiltration des cellules inflammatoires lymphocytaires, congestion vasculaire ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par (Adeneye *et al.*, 2021).

Cependant, nos résultats ne sont pas en accord avec ceux enregistrés par Kuzu et son équipe, qui ont trouvé que les animaux traités par DOX à la dose de 40 mg/kg pendant 10 jours, ont présenté une néphrotoxicité sévère mise en évidence par une nécrose de coagulation sévère, une hyperémie sévère et des hémorragies dans les vaisseaux interstitiels ont été détectées dans l'épithélium tubulaire du cortex et de la médulla (Kuzu *et al.*, 2019), cette différence peut être due à la dose de doxorubicine.

De plus, la cardiotoxicité induite par DOX a été confirmée par des altérations histopathologiques enregistrées, y compris congestion vasculaire marquée, infiltration des cellules inflammatoires lymphoplasmocytaires et vacuolisation du cytoplasme ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par (Menon *et al.*, 2019).

Cependant, nos résultats ne sont pas en accord avec ceux enregistrés par Sheibani et ses collaborateurs qui ont trouvé que les rats traités par DOX à la dose de 2,5 mg/kg trois fois par semaine pendant 14 jours, ont présenté un désordre myocytaire et de vaisseaux dilatés sans congestion, infiltration mononucléaire, un œdème et une inflammation modérée aient été observés dans la plupart des zones interstitielles (Sheibani *et al.*, 2020).

En revanche, le co-traitement avec l'extrait butanolique de *M. arvensis* avec ses deux doses (50 et 100 mg/kg) a diminué les changements morphologiques hépatiques, rénaux et cardiaques provoqués par une seule dose de le DOX (15mg/kg).

D'autre part, selon les travaux de Susilawati et son équipe, l'injection des rats males par 3 doses de DOX (25 mg/kg) pendant 14 jours cause une lyse et noyaux pycnotiques au niveau des hépatocytes, congestion des vaisseaux sanguins, hémorragie interstitielle sinusoïdale et infiltration des cellules inflammatoires. Tandis que le co-traitement avec les extraits de *Phyllanthus emblica* Linn à 200 mg/kg et 400 mg/kg pendant 14 jours montrent une amélioration du tissu hépatique qui se manifeste par la domination des hépatocytes normaux par rapport aux cellules lysées, la réparation du tissu hépatique et l'augmentation de l'infiltration des cellules inflammatoires (Susilawati *et al.*, 2021).

De plus, l'étude de Afsar et ses collaborateurs montre que le traitement avec la DOX à la dose 3 mg/kg/ semaine pendant six semaines entraîné des changements dégénératifs, y compris une atrophie ou une disparition glomérulaires, dilatation des capsules et des capillaires de Bowman, désintégration marquée des tubules rénaux avec des cellules exfoliées des protéines cylindres et une dilatation kystique, congestion sanguine dans les boucles capillaires, couche pariétale de la membrane de Bowman de forme cuboïde ou ronde, infiltrations des cellules inflammatoires, vacuolisation dans le cytoplasme des cellules endothéliales des tubules proximaux et microvillosités dégénérées ou perdues. L'administration concomitante l'extrait acétate d'éthyle de la parties aériennes de la plante *Acacia hydaspica* a la dose 400 mg/kg/ jour pendant six semaines a montré une meilleure préservation de la structure cellulaire et tubulaire avec la régénération du revêtement de cellules épithéliales rénales des tubules corticaux, et rétablissement de la morphologie régulière du cortex rénal (Afsar *et al.*, 2020).

Par ailleurs, les travaux de Ibrahim et ses collaborateurs, montrent que le traitement avec la DOX à la dose 1 mg/kg deux fois par semaine pendant 6 semaines montrant une perturbation de l'architecture du muscle cardiaque, une vacuolisation, une nécrose, une congestion et une infiltration de cellules inflammatoires. Néanmoins l'administration concomitante l'extrait méthanolique de *Malva verticillata* à la dose 250 mg/kg pendant 6 semaines montrant une légère perturbation de l'architecture du muscle cardiaque, tandis que la dose 500 mg/kg a préservé la l'architecture du muscle cardiaque (Ibrahim *et al.*, 2021).

Finalement, nos résultats ont montré que la *M. arvensis* réduit les lésions biochimiques, et histopathologiques et protège le système endogène de défense contre les lésions hépatiques, rénaux et cardiaques induites par le DOX.

La présente étude suggère que *M. arvensis* à un effet antioxydant, anti-inflammatoire, hépatoprotecteur, néphroprotecteur et cardioprotecteur par diminution de des espèces réactifs de l'oxygène, des marqueurs pro-inflammatoire, des paramètres biochimiques, la peroxydation lipidique, les lésions histopathologiques et l'augmentaion du système endogène de défense au niveau hépatique, rénale et cardiaque. Ces résultats soutiennent plus ou moins son utilisation, en médecine traditionnelle. Toutefois, de nouvelles études sont nécessaires pour identifier les molécules biologiquement actives afin de donner avec précision le/les mécanisme(s) moléculaire(s) responsable(s) de cet effet antioxydant.

Conclusion et **Perspectives**

Conclusion Générale et Perspectives

La chimiothérapie anticancéreuse dont le mécanisme est d'entraver la prolifération tumorale en induisant l'apoptose, peut-être source d'une toxicité envers les cellules à renouvellement rapide. Son manque de spécificité provoque de nombreux effets indésirables qui se traduisent principalement par une hépatotoxicité, néphrotoxicité et cardiotoxicité, ce qui nécessite l'utilisation d'agents protecteurs, couplés à la chimiothérapie, qui permet toujours de prévenir ou de réduire cette toxicité. L'Algérie par sa position géographique abrite une biodiversité exceptionnelle occupée par une importante richesse des plantes aromatiques et médicinales. Dans ce contexte notre étude se focalise sur la valorisation de la flore locale d'intérêt thérapeutique, par l'évaluation des activités biologiques *in vivo* et *in vitro* de la plante *Moricandia arvensis*. Cette plante est utilisée en médecine traditionnelle pour traiter diverses maladies comme : le rhumatisme, la syphilis, le scorbut.

Dans cette étude, des teneurs modérées en polyphénols et en flavonoïdes ont été estimées par des méthodes colorimétriques. L'extrait *n*-butanol présente des activités antioxydantes *in vitro* intéressantes dans les différents tests utilisés : piégeage des radicaux DPPH, ABTS, GOR, O-phénotholine, le pouvoir réducteur, le test CUPRAC, l'inhibition du blanchissement de β -carotène, ainsi que l'activité anti-inflammatoire sur la lignée cellulaire U937.

De plus, l'activité photoprotectrice de *Moricandia arvensis* a été utilisée pour évaluer les effets dermato-protecteurs en déterminant le facteur de protection solaire (SPF). Les résultats indiquent que la plante étudiée a révélé une activité photoprotectrice élevée qui peut être employés dans des formulations de protection solaire pour protéger la peau des coups de soleil.

D'autre part, l'hépatotoxicité la néphrotoxicité et la cardiotoxicité des médicaments représente un problème majeur pour l'industrie pharmaceutique et la santé publique, le nombre d'études en matière de recherche de nouvelles molécules capable de prévenir ou même d'améliorer l'hépatotoxicité la néphrotoxicité et la cardiotoxicité médicamenteuse, reste très limité.

L'ensemble de nos travaux *in vivo* a montré que l'administration intra-péritonéale de la doxorubicine (15mg /kg) a incité une hépatotoxicité, néphrotoxicité et cardiotoxicité qui s'est traduite par une perturbation des paramètres biochimiques (ALT, AST, glucose, cholestérol totale, triglycérides, HDL, LDL, créatinine, urée et CPK) et le statut antioxydant ainsi que l'histologie des tissus étudiés.

Néanmoins, l'administration de l'extrait butanolique de *Moricandia arvensis* en concomitance avec la doxorubicine peut préserver la fonction hépatique, rénale et cardiaque. Cet effet protecteur est exprimé par la normalisation de statut antioxydants (MDA, GSH et GPx), paramètres biochimiques ainsi que l'histologie des tissus étudiés.

Ceci nous permet de suggérer que les extraits de *Moricandia arvensis* pourraient être utilisés comme une bonne source d'antioxydants naturels, utiles pour prévenir ou ralentir la progression de diverses maladies liées au stress oxydant, qui pourraient avoir des applications pharmaceutiques et nutritionnelles.

L'ensemble des résultats obtenus au cours de cette étude, constitue une première étape dans la recherche des substances biologiquement active de source naturelle, il serait intéressant d'étayer ce travail par :

- Une étude phytochimique visant l'identification et la purification des principes actifs de cette plante.
- Des études approfondies sur la pharmacocinétique et la pharmacodynamique pour la détermination des doses préventives et thérapeutiques.
- Développer des crèmes antisolaires à base de plantes, doués d'une activité antioxydante.
- L'élargissement du spectre des propriétés biologiques *in vitro* et *in vivo* telles que l'activité antitumorale, antivirale, insecticide et allélopathique, analgésique, cicatrisante, antidiabétique et antiulcéreuse.
- Réaliser des tests *in vivo* de toxicité subchronique et même chronique de *Moricandia arvensis*, de la mutagénicité et de la cancérogénicité afin de mieux comprendre le profil de sécurité de la plante. Idéalement, une telle exploration de la recherche conduira à un effet pharmacologique plus sûr et plus efficace dans le traitement de l'hépatotoxicité, néphrotoxicité et la cardiotoxicité médicamenteuse.

Références
Bibliographiques

- Abdel-Sattar, E., El-Gayed, S. H., Shehata, I., Ashour, O. M., Nagy, A. A., & Mohamadin, A. M. (2012).** Antioxidant and cardioprotective activity of *Stachys schimperii* Vatke against doxorubicin-induced cardiotoxicity. *Bulletin of Faculty of Pharmacy, Cairo University*, 50(1), 41-47.
- Addab, N., Fetni, S., Hamlaoui, F., Zerguine, A., & Mahloul, K. (2020).** Evaluation comparative de l'activité anti-oxydante des extraits éthanoliques des feuilles d'*Olea europaea* L. de l'Est Algérien. *Journal of the Faculty of Medicine of Oran 1*, 4(2).
- Adeneye, A. A., Olorundare, O. E., Akinsola, A. O., Sanni, D. A., Okoye, I. I., Ntambi, J. M., & Mukhtar, H. (2021).** Ameliorative potential of *Clerodendrum volubile* ethanol leaf extract on doxorubicin-induced hepatorenal toxicities in rats. *Pharmacol Toxicol*, 1(1), 1-13.
- Adjimani, J. P., & Asare, P. (2015).** Antioxidant and free radical scavenging activity of iron chelators. *Toxicology Reports*, 2, 721-728.
- Afsar, T., Razak, S., & Almajwal, A. (2019).** Effect of *Acacia hydasypica* R. Parker extract on lipid peroxidation, antioxidant status, liver function test and histopathology in doxorubicin treated rats. *Lipids in Health and Disease*, 18(1), 1-12.
- Afsar, T., Razak, S., Almajwal, A., & Al-Disi, D. (2020).** Doxorubicin-induced alterations in kidney functioning, oxidative stress, DNA damage, and renal tissue morphology; Improvement by *Acacia hydasypica* tannin-rich ethyl acetate fraction. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 27(9), 2251-2260.
- Afsar, T., Razak, S., Batoo, K. M., & Khan, M. R. (2017).** *Acacia hydasypica* R. Parker prevents doxorubicin-induced cardiac injury by attenuation of oxidative stress and structural cardiomyocyte alterations in rats. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 17(1), 1-14.
- Ahmed, O. M., Abdul-Hamid, M. M., El-Bakry, A. M., Mohamed, H. M., & Rahman, F. E.-Z. S. A. (2019).** *Camellia sinensis* and *epicatechin abate* doxorubicin-induced hepatotoxicity in male Wistar rats via their modulatory effects on oxidative stress, inflammation, and apoptosis. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 9(04), 030-044.
- Ahmed, O. M., Galaly, S. R., Raslan, M., & Mostafa, M.-A. M. (2020).** Thyme oil and thymol abrogate doxorubicin-induced nephrotoxicity and cardiotoxicity in Wistar rats via repression of oxidative stress and enhancement of antioxidant defense mechanisms. *Biocell*, 44(1), 41.
- Aissani, F., Grara, N., Bensouici, C., Bousbia, A., Ayed, H., Idris, M. H. M., & Teh, L. K. (2021).** Algerian *Sonchus oleraceus* L.: a comparison of different extraction solvent on phytochemical composition, antioxidant properties and anti-cholinesterase activity. *Advances in Traditional Medicine*, 1-12.
- Ajaykumar, C. (2020).** Overview on the side effects of doxorubicin. *Advances in Precision Medicine Oncology*.
- Aksu, E. H., Kandemir, F. M., Yıldırım, S., Küçükler, S., Dörtbudak, M. B., Çağlayan, C., & Benzer, F. (2019).** Palliative effect of curcumin on doxorubicin-induced testicular damage in male rats. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 33(10), e22384.
- Al-Oanzi, Z. H., Elsbali, A. M., Alruwaili, N. K., Alotaibi, N. H., Alharbi, K. S., Alzarea, A. I., Alsuwayt, B. H., & Al-Enazi, M. M. (2020).** Protective effect of baicalein alone and losartan–baicalein combination therapy on doxorubicin-induced hepatotoxicity in rats. *Toxicology and Environmental Health Sciences*, 12(1), 45-54.
- Al-Shehbaz, I. A. (2001).** Brassicaceae (mustard family). *Encyclopedia of life sciences*.
- AlAsmari, A. F., Alharbi, M., Alqahtani, F., Alasmari, F., AlSwayyed, M., Alzarea, S. I., Al-Alallah, I. A., Alghamdi, A., Hakami, H. M., & Alyousef, M. K. (2021).** Diosmin alleviates doxorubicin-induced liver Injury via modulation of oxidative stress-mediated

- hepatic inflammation and apoptosis via NfκB and MAPK Pathway: A Preclinical Study. *Antioxidants*, 10(12), 1998.
- Alhazzani, K., Alotaibi, M. R., Alotaibi, F. N., Algerian, K., As Sobeai, H. M., Alhoshani, A. R., Alanazi, A. Z., Alanazi, W. A., & Alswayyed, M. (2021).** Protective effect of valsartan against doxorubicin-induced cardiotoxicity: Histopathology and metabolomics *in vivo* study. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 35(9), e22842.
- Ali, E. A., El Fiky, S. R., El-Batsh, M. M., El-Dien, M. M. S., & Safan, M. A. (2021).** The protective effect of metformin and exenatide on doxorubicin-induced nephrotoxicity in rats. *Menoufia Medical Journal*, 34(3), 1060.
- Altinkaynak, Y., Kural, B., Akcan, B. A., Bodur, A., Özer, S., Yuluğ, E., Munğan, S., Kaya, C., & Örem, A. (2018).** Protective effects of L-theanine against doxorubicin-induced nephrotoxicity in rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 108, 1524-1534.
- Alves, A., da Silva, L. P., Macedo, D., & Kubota, L. (2003).** Amperometric sensor for glutathione reductase activity determination in erythrocyte hemolysate. *Analytical Biochemistry*, 323(1), 33-38.
- Amić, D., Davidović-Amić, D., Bešlo, D., & Trinajstić, N. (2003).** Structure-radical scavenging activity relationships of flavonoids. *Croatica Chemica Acta*, 76(1), 55-61.
- Amini, S. M., & Akbari, A. (2019).** Metal nanoparticles synthesis through natural phenolic acids. *IET Nanobiotechnology*, 13(8), 771-777.
- Amrani, A., Benaissa, O., Boubekri, N., Zama, D., Biod, K., Beroal, N., Benayache, F., Benayache, S., & Bettuzzi, S. (2014).** Effet hépatoprotecteur et antiradicalaire d'un extrait butanolique de *Rhantherium suaveolens*. *Phytothérapie*, 12(6), 386-392.
- Amrani, A., Mecheri, A., Bensouici, C., Boubekri, N., Benaissa, O., Zama, D., Benayache, F., & Benayache, S. (2019).** Evaluation of antidiabetic, dermatoprotective, neuroprotective and antioxidant activities of *Chrysanthemum fontanesii* flowers and leaves extracts. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 20, 101209.
- Angeli, J. P. F., Schneider, M., Proneth, B., Tyurina, Y. Y., Tyurin, V. A., Hammond, V. J., Herbach, N., Aichler, M., Walch, A., & Eggenhofer, E. (2014).** Inactivation of the ferroptosis regulator Gpx4 triggers acute renal failure in mice. *Nature Cell Biology*, 16(12), 1180-1191.
- Angelo, P. M., & Jorge, N. (2007).** Phenolic compounds in foods-A brief review. *Revista do Instituto Adolfo Lutz (Impresso)*, 66(1), 01-09.
- Angsutararux, P., Luanpitpong, S., & Issaragrisil, S. (2015).** Chemotherapy-induced cardiotoxicity: overview of the roles of oxidative stress. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2015.
- Aniogo, E. C., George, B. P. A., & Abrahamse, H. (2017).** Phthalocyanine induced phototherapy coupled with Doxorubicin; a promising novel treatment for breast cancer. *Expert Review of Anticancer Therapy*, 17(8), 693-702.
- Anjum, N. A., Ahmad, I., Pereira, M. E., Duarte, A. C., Umar, S., & Khan, N. A. (2012).** The plant family Brassicaceae: contribution towards phytoremediation. *Springer Netherlands*, p266.
- Anouar, E. H., Raweh, S., Bayach, I., Taha, M., Baharudin, M. S., Di Meo, F., Hasan, M. H., Adam, A., Ismail, N. H., & Weber, J.-F. F. (2013).** Antioxidant properties of phenolic Schiff bases: structure-activity relationship and mechanism of action. *Journal of Computer-aided Molecular Design*, 27(11).
- Apak, R., Güclü, K., Özyürek, M., & Celik, S. E. (2008).** Mechanism of antioxidant capacity assays and the CUPRAC (cupric ion reducing antioxidant capacity) assay. *Microchimica Acta*, 160(4), 413-419.
- Aras, A., Dogru, M., & Bursal, E. (2016).** Determination of antioxidant potential of *Nepeta nuda* subsp. *lydiae*. *Analytical Chemistry Letters*, 6(6), 758-765.

- Atere, T., Akinloye, O., Ugbaja, R., Ojo, D., & Dealtry, G. (2018).** *In vitro* antioxidant capacity and free radical scavenging evaluation of standardized extract of *Costus afer* leaf. *Food Science and Human Wellness*, 7(4), 266-272.
- Atmaca, M., Bilgin, H. M., Obay, B. D., Diken, H., Kelle, M., & Kale, E. (2011).** The hepatoprotective effect of coumarin and coumarin derivatives on carbon tetrachloride-induced hepatic injury by antioxidative activities in rats. *Journal of Physiology and Biochemistry*, 67(4), 569.
- Ayertey, F., Ofori-Attah, E., Antwi, S., Amoa-Bosompem, M., Djameh, G., Lartey, N. L., Ohashi, M., Kusi, K. A., Appiah, A. A., & Appiah-Opong, R. (2021).** Anti-inflammatory activity and mechanism of action of ethanolic leaf extract of *Morinda lucida* Benth. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, 11(3), 249-258.
- Bahadoran, Z., Mirmiran, P., & Azizi, F. (2013).** Dietary polyphenols as potential nutraceuticals in management of diabetes: a review. *Journal of Diabetes & Metabolic Disorders*, 12(1), 43.
- Bammou, M., Bouhlali, E., Sellam, K., El-Rhaffari, L., Ibijbijen, J., & Nassiri, L. (2020).** Évaluation des activités antioxydante et antibactérienne des extraits aqueux des feuilles et des fleurs de *Bituminaria bituminosa* (L.) Stirton. *Phytothérapie*.
- Bartwal, A., Mall, R., Lohani, P., Guru, S., & Arora, S. (2013).** Role of secondary metabolites and brassinosteroids in plant defense against environmental stresses. *Journal of Plant Growth Regulation*, 32(1), 216-232.
- Barzegar, A., & Moosavi-Movahedi, A. A. (2011).** Intracellular ROS protection efficiency and free radical-scavenging activity of curcumin. *PloS one*, 6(10), e26012.
- Becker, M. M., Nunes, G. S., Ribeiro, D. B., Silva, F. E., Catanante, G., & Marty, J.-L. (2019).** Determination of the antioxidant capacity of red fruits by miniaturized spectrophotometry assays. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 30(5), 1108-1114.
- Beddiar, H., Boudiba, S., Benahmed, M., Tamfu, A. N., Ceylan, Ö., Hanini, K., Kucukaydin, S., Elomri, A., Bensouici, C., & Laouer, H. (2021).** Chemical composition, anti-quorum sensing, enzyme inhibitory, and antioxidant properties of phenolic extracts of *Clinopodium nepeta* L. Kuntze. *Plants*, 10(9), 1955.
- Bedlovičová, Z., Strapáč, I., Baláž, M., & Salayová, A. (2020).** A brief overview on antioxidant activity determination of silver nanoparticles. *Molecules*, 25(14), 3191.
- Benouche, D., Bellil, I., Akkal, S., & Khelifi, D. (2021).** Investigation of phytochemical and evaluation of antioxidant and antibacterial activities from *Abies* extract. *Scientific Journal of King Faisal University: Basic and Applied Sciences*, 22(2), 26-32.
- Benzer, F., Kandemir, F. M., Kucukler, S., Comaklı, S., & Caglayan, C. (2018).** Chemoprotective effects of curcumin on doxorubicin-induced nephrotoxicity in wistar rats: by modulating inflammatory cytokines, apoptosis, oxidative stress and oxidative DNA damage. *Archives of Physiology and Biochemistry*, 124(5), 448-457.
- Berreghioua, A., Cheriti, A., & Belboukhari, N. (2016).** Flavonoids from the antibacterial extract of *Moricandia arvensis* L. growing in Algerian Sahara. *Der Pharmacia Lettre*, 8(4), 45-49.
- Berreghioua, A., & Cheriti, A. (2018).** Phytochemical investigation of the medicinal plant *Moricandia arvensis* L. from Algerian Sahara. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 5, 450-453.
- Bertleff-Zieschang, N., Rahim, M. A., Ju, Y., Braunger, J. A., Suma, T., Dai, Y., Pan, S., Cavalieri, F., & Caruso, F. (2017).** Biofunctional metal-phenolic films from dietary flavonoids. *Chemical Communications*, 53(6), 1068-1071.
- Besançon, (2012).** Progrès en dermato-allergologie. *Libbey Eurotext*, p111.
- Bielak-Zmijewska, A., Wnuk, M., Przybylska, D., Grabowska, W., Lewinska, A., Alster, O., Korwek, Z., Cmoch, A., Myszk, A., & Pikula, S. (2014).** A comparison of replicative

- senescence and doxorubicin-induced premature senescence of vascular smooth muscle cells isolated from human aorta. *Biogerontology*, 15(1), 47-64.
- Bilgic, S., & Ozgocmen, M. (2019).** The protective effect of misoprostol against doxorubicin induced liver injury. *Biotechnic & Histochemistry*, 94(8), 583-591.
- Biondo, L. A., Lima Junior, E. A., Souza, C. O., Cruz, M. M., Cunha, R. D., Alonso-Vale, M. I., Oyama, L. M., Nascimento, C. M. O., Pimentel, G. D., & Dos Santos, R. V. (2016).** Impact of doxorubicin treatment on the physiological functions of white adipose tissue. *PloS one*, 11(3), e0151548.
- Birben, E., Sahiner, U. M., Sackesen, C., Erzurum, S., & Kalayci, O. (2012).** Oxidative stress and antioxidant defense. *World Allergy Organization Journal*, 5(1), 9-19.
- Blois, M. S. (1958).** Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 181(4617), 1199-1200.
- Boizot, N., & Charpentier, J.-P. (2006).** Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. *Cahier des Techniques de l'INRA*, 79-82.
- Borges, A., Ferreira, C., Saavedra, M. J., & Simoes, M. (2013).** Antibacterial activity and mode of action of ferulic and gallic acids against pathogenic bacteria. *Microbial Drug Resistance*, 19(4), 256-265.
- Boulaaba, M., Kalai, F. Z., Dakhlaoui, S., Ezzine, Y., Selmi, S., Bourgou, S., Smaoui, A., Isoda, H., & Ksouri, R. (2019).** Antioxidant, antiproliferative and anti-inflammatory effects of *Glaucium flavum* fractions enriched in phenolic compounds. *Medicinal Chemistry Research*, 28(11), 1995-2001.
- Boutabet, K., Kebsa, W., Alyane, M., & Lahouel, M. (2011).** Polyphenolic fraction of Algerian propolis protects rat kidney against acute oxidative stress induced by doxorubicin. *Indian Journal of Nephrology*, 21(2), 101.
- Bouzid, A., Chadli, R., & Bouzid, K. (2017).** Étude ethnobotanique de la plante médicinale *Arbutus unedo* L. dans la région de Sidi Bel Abbés en Algérie occidentale. *Phytothérapie*, 15(6), 373-378.
- Braham, H., Mighri, Z., Jannet, H., Matthew, S., & Abreu, P. (2005).** Antioxidant phenolic glycosides from *Moricandia arvensis*. *Journal of Natural Products*, 68(4), 517.
- Bukowski, K., Kciuk, M., & Kontek, R. (2020).** Mechanisms of multidrug resistance in cancer chemotherapy. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(9), 3233.
- Cao, Y., Shen, T., Huang, X., Lin, Y., Chen, B., Pang, J., Li, G., Wang, Q., Zohrabian, S., & Duan, C. (2017).** Astragalus polysaccharide restores autophagic flux and improves cardiomyocyte function in doxorubicin-induced cardiotoxicity. *Oncotarget*, 8(3), 4837.
- Carvalho, C., Santos, R. X., Cardoso, S., Correia, S., Oliveira, P. J., Santos, M. S., & Moreira, P. I. (2009).** Doxorubicin: the good, the bad and the ugly effect. *Current Medicinal Chemistry*, 16(25), 3267-3285.
- Castel, M., Despas, F., Modesto, A., Gales, C., Honton, B., Galinier, M., Senard, J.-M., & Pathak, A. (2013).** Effets indésirables cardiaques des chimiothérapies. *La presse Médicale*, 42(1), 26-39.
- Chekroun, E., Benariba, N., Adida, H., Bechiri, A., Azzi, R., & Djaziri, R. (2015).** Antioxidant activity and phytochemical screening of two Cucurbitaceae: *Citrullus colocynthis* fruits and *Bryonia dioica* roots. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 5(8), 632-637.
- Chen, C.-T., Wang, Z.-H., Hsu, C.-C., Lin, H.-H., & Chen, J.-H. (2015).** *In vivo* protective effects of diosgenin against doxorubicin-induced cardiotoxicity. *Nutrients*, 7(6), 4938-4954.
- Chen, X., Zhang, Y., Zhu, Z., Liu, H., Guo, H., Xiong, C., Xie, K., Zhang, X., & Su, S. (2016).** Protective effect of berberine on doxorubicin-induced acute hepatorenal toxicity in rats. *Molecular Medicine Reports*, 13(5), 3953-3960.

- Chen, Y., Xiao, H., Zheng, J., & Liang, G. (2015).** Structure-thermodynamics-antioxidant activity relationships of selected natural phenolic acids and derivatives: An experimental and theoretical evaluation. *PloS one*, *10*(3).
- Chira, K., Suh, J.-H., Saucier, C., & Teissèdre, P.-L. (2008).** Les polyphénols du raisin. *Phytothérapie*, *6*(2), 75-82.
- Choi, J., Kim, M. J., Komakech, R., Jung, H., & Kang, Y. (2019).** Anti-inflammatory activities of astringent persimmons (*Diospyros kaki Thunb.*) stalks of various cultivar types based on the stages of maturity in the Gyeongnam province. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, *19*(1), 1-10.
- Chouhan, S., Sharma, K., Zha, J., Guleria, S., & Koffas, M. A. (2017).** Recent advances in the recombinant biosynthesis of polyphenols. *Frontiers in Microbiology*, *8*, 2259.
- Christidi, E., & Brunham, L. R. (2021).** Regulated cell death pathways in doxorubicin-induced cardiotoxicity. *Cell Death & Disease*, *12*(4), 1-15.
- Corremans, R., Adão, R., De Keulenaer, G. W., Leite-Moreira, A. F., & Brás-Silva, C. (2019).** Update on pathophysiology and preventive strategies of anthracycline-induced cardiotoxicity. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, *46*(3), 204-215.
- Coșarcă, S.-L., Moacă, E.-A., Tanase, C., Muntean, D. L., Pavel, I. Z., & Dehelean, C. A. (2019).** Spruce and beech bark aqueous extracts: Source of polyphenols, tannins and antioxidants correlated to *in vitro* antitumor potential on two different cell lines. *Wood Science and Technology*, *53*(2), 313-333.
- Costa, S. C., Detoni, C. B., Branco, C. R., Botura, M. B., & Branco, A. (2015).** *In vitro* photoprotective effects of *Marcetia taxifolia* ethanolic extract and its potential for sunscreen formulations. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, *25*, 413-418.
- Crozier, A., Jaganath, I. B., & Clifford, M. N. (2006).** Plant secondary metabolites: Occurrence, structure and role in the human diet. *Blackwell*, p 4.
- Cutts, S. M., Swift, L. P., Pillay, V., Forrest, R. A., Nudelman, A., Rephaeli, A., & Phillips, D. R. (2007).** Activation of clinically used anthracyclines by the formaldehyde-releasing prodrug pivaloyloxymethyl butyrate. *Molecular Cancer Therapeutics*, *6*(4), 1450-1459.
- Czarny, P., Pawlowska, E., Bialkowska-Warzecha, J., Kaarniranta, K., & Blasiak, J. (2015).** Autophagy in DNA damage response. *International Journal of Molecular Sciences*, *16*(2), 2641-2662.
- Daglia, M. (2012).** Polyphenols as antimicrobial agents. *Current Opinion in Biotechnology*, *23*(2), 174-181.
- Danesi, R., Fogli, S., Gennari, A., Conte, P., & Del Tacca, M. (2002).** Pharmacokinetic-pharmacodynamic relationships of the anthracycline anticancer drugs. *Clinical Pharmacokinetics*, *41*(6), 431-444.
- Dangles, O. (2012).** Antioxidant activity of plant phenols: chemical mechanisms and biological significance. *Current Organic Chemistry*, *16*(6), 692-714.
- Das, S. K., Samantaray, D., Mahapatra, A., Pal, N., Munda, R., & Thatoi, H. (2018).** Pharmacological activities of leaf and bark extracts of a medicinal mangrove plant *Avicennia officinalis* L. *Clinical Phytoscience*, *4*(1), 1-10.
- Dassamiour, S., Bensaad, M. S., Hambaba, L., Melakhessou, M. A., Sami, R., Al-Mushhin, A. A., Aljahani, A. H., & Al Masoudi, L. M. (2022).** *In Silico* investigation of some compounds from the n-butanol extract of *Centaurea tougourensis* Boiss. & Reut. *Crystals*, *12*(3), 355.
- De Pairon, M.-C. (2017).** La gemmothérapie. Dates de tombée, pour réception du matériel à publier, 23.
- Delemasure, S., Vergely, C., Zeller, M., Cottin, Y., & Rochette, L. (2006).** Prévention de la cardiotoxicité des anthracyclines: approche fondamentale des mécanismes mis en jeu;

- relations avec les données cliniques. *Annales de Cardiologie et d'Angéiologie*, 55, 104–112.
- Demarque, D. P., Callejon, D. R., Oliveira, G. G. d., Silva, D. B., Carollo, C. A., & Lopes, N. P. (2018).** The role of tannins as antiulcer agents: a fluorescence-imaging based study. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 28(4), 425-432.
- Djebbari, R., Chemam, Y., Boubekri, N., Lakroun, Z., Kebieche, M., Amrani, A., Benayache, F., Benayache, S., & Zama, D. (2017).** Chemoprotective potential of *Helianthemum confertum* against the loss of molecular and functional integrity of the liver cell in doxorubicin-treated rats. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, 9(7), 903-910.
- Dodda, D., Chhajed, R., & Mishra, J. (2014).** Protective effect of quercetin against acetic acid induced inflammatory bowel disease (IBD) like symptoms in rats: Possible morphological and biochemical alterations. *Pharmacological Reports*, 66(1), 169-173.
- Domínguez-Robles, J., Tamminen, T., Liitiä, T., Peresin, M. S., Rodríguez, A., & Jääskeläinen, A.-S. (2018).** Aqueous acetone fractionation of kraft, organosolv and soda lignins. *International Journal of Biological Macromolecules*, 106, 979-987.
- Dos Santos, D. S., & dos Santos Goldenberg, R. C. (2018).** Doxorubicin-induced cardiotoxicity: from mechanisms to development of efficient therapy. *Cardiotoxicity*, 3-24.
- Duraffourd, C., & Lapraz, J. C. (2002).** Traité de phytothérapie clinique: endobiogénie et médecine. *Elsevier Masson*, p 27.
- Dwivedi, S., Malik, C., & Chhokar, V. (2017).** Molecular structure, biological functions, and metabolic regulation of flavonoids. In *plant biotechnology: recent advancements and developments*. Springer, p172.
- El-Din, A. E., Ali, M. H. M., Ahmed, E. S., Hassanane, M. M., & Khalil, W. K. B. (2018).** Ameliorative effect of *Zygophyllum album* Extract against hepatotoxicity induced by doxorubicin in male mice. *Pharmacology*, 14(3), 421-427.
- El-Mekkawy, S., Shahat, A. A., Alqahtani, A. S., Alsaid, M. S., Abdelfattah, M. A., Ullah, R., Emam, M., Yasri, A., & Sobeh, M. (2020).** A polyphenols-rich extract from *Moricandia sinaica* boiss. Exhibits analgesic, anti-inflammatory and antipyretic activities *in vivo*. *Molecules*, 25(21), 5049.
- El-Moselhy, M. A., & El-Sheikh, A. A. (2014).** Protective mechanisms of atorvastatin against doxorubicin-induced hepato-renal toxicity. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 68(1), 101-110.
- El Aanachi, S., Gali, L., Nacer, S. N., Bensouici, C., Dari, K., & Aassila, H. (2020).** Phenolic contents and *in vitro* investigation of the antioxidant, enzyme inhibitory, photoprotective, and antimicrobial effects of the organic extracts of *Pelargonium graveolens* growing in Morocco. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 29, 101819.
- El Aanachi, S., Gali, L., Rammali, S., Bensouici, C., Aassila, H., & Dari, K. (2021).** *In vitro* study of the antioxidant, photoprotective, anti-tyrosinase, and anti-urease effects of methanolic extracts from leaves of six Moroccan Lamiaceae. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 15(2), 1785-1795.
- Elansary, H., Szopa, A., Klimek-Szczykutowicz, M., Jafarnik, K., Ekiert, H., Mahmoud, E. A., Abdelmoneim Barakat, A., & O El-Ansary, D. (2020).** *Mammillaria* species polyphenols studies and anti-cancer, anti-oxidant, and anti-bacterial activities. *Molecules*, 25(1), 131.
- Elkareem, H. F., Essawy, A. E.-N. I., Ashry, M., Badawi, M. A., & Abdel-Wahhab, K. G. (2021).** Ameliorating and anti-inflammatory role of *Balanites aegyptiaca* aqueous extract on doxorubicin-induced hepatotoxicity in male Wistar rats. *Egyptian Pharmaceutical Journal*, 20(2), 157.
- Ellman, G. (1959).** Plasma antioxidants. *Arch Biochem Biophys*, 82, 70-77.

- Elmagirbi, A., Sulistyarti, H., & Atikah, A. (2012).** Study of ascorbic acid as iron (III) reducing agent for spectrophotometric iron speciation. *The Journal of Pure and Applied Chemistry Research*, 1(1), 11-17.
- Evenamede, K. S., Kpegba, K., Simalou, O., Boyode, P., Agbonon, A., & Gbeassor, M. (2017).** Etude comparative des activités antioxydantes d'extraits éthanoliques de feuilles, d'écorces et de racines de *Cassia sieberiana*. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 11(6), 2924-2935.
- Fang, X., Cai, Z., Wang, H., Min, J., & Wang, F. (2019).** Role of iron overload and ferroptosis in heart disease. *Chinese Science Bulletin*, 64(28-29), 2974-2987.
- Figueira, I., Menezes, R., Macedo, D., Costa, I., & Nunes dos Santos, C. (2017).** Polyphenols beyond barriers: a glimpse into the brain. *Current Neuropharmacology*, 15(4), 562-594.
- Flohé, L., & Günzler, W. A. (1984).** [12] Assays of glutathione peroxidase. In *Methods in Enzymology*, 105, 114-120.
- Ford, L., Theodoridou, K., Sheldrake, G. N., & Walsh, P. J. (2019).** A critical review of analytical methods used for the chemical characterisation and quantification of phlorotannin compounds in brown seaweeds. *Phytochemical Analysis*, 30(6), 587-599.
- Forêt, R. (2012).** Dico de Bio: De Boeck Supérieur. *De Boeck*, p 473.
- Freyssin, A., Page, G., Fauconneau, B., & Bilan, A. R. (2018).** Natural polyphenols effects on protein aggregates in alzheimer's and parkinson's prion-like diseases. *Neural Regeneration Research*, 13(6), 955.
- Gardiner, B., Dougherty, J. A., Ponnalagu, D., Singh, H., Angelos, M., Chen, C.-A., & Khan, M. (2020).** Measurement of oxidative stress markers *in vitro* using commercially available kits. *Measuring Oxidants and Oxidative Stress in Biological Systems*, 39-60.
- Ghedadba, N., Hambaba, L., Ayachi, A., Aberkane, M., Bousselsela, H., & Oueld-Mokhtar, S. (2015).** Polyphénols totaux, activités antioxydante et antimicrobienne des extraits des feuilles de *Marrubium deserti* de Noé. *Phytothérapie*, 13(2), 118-129.
- Ghigo, A., Li, M., & Hirsch, E. (2016).** New signal transduction paradigms in anthracycline-induced cardiotoxicity. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research*, 1863(7), 1916-1925.
- Ghosh, S., & Hayden, M. S. (2008).** New regulators of NF-κB in inflammation. *Nature Reviews Immunology*, 8(11), 837-848.
- Giada, M. (2013).** Food phenolic compounds: main classes, sources and their antioxidant power. *Oxidative stress and chronic degenerative diseases*, 87-112.
- Giri, B. (2017).** 14 - Colorimetric determination of multiple metal ions on μ PAD. *Laboratory Methods in Microfluidics*. 89-95.
- Goel, G., & Makkar, H. P. (2012).** Methane mitigation from ruminants using tannins and saponins. *Tropical Animal Health and Production*, 44(4), 729-739.
- Goetz, P. (2012).** Les meilleures tisanes thérapeutiques de différentes pharmacopées. *Phytothérapie*, 10(4), 251-256.
- Gómez-Herrerros, F. (2019).** DNA double strand breaks and chromosomal translocations induced by DNA topoisomerase II. *Frontiers in Molecular Biosciences*, 6, 141.
- Govender, J., Loos, B., Marais, E., & Engelbrecht, A. M. (2014).** Mitochondrial catastrophe during doxorubicin-induced cardiotoxicity: a review of the protective role of melatonin. *Journal of Pineal Research*, 57(4), 367-380.
- Gozuacik, D., Akkoc, Y., Ozturk, D. G., & Kocak, M. (2017).** Autophagy-regulating microRNAs and cancer. *Frontiers in Oncology*, 7, 65.
- Granados-Principal, S., Quiles, J. L., Ramirez-Tortosa, C. L., Sanchez-Rovira, P., & Ramirez-Tortosa, M. (2010).** New advances in molecular mechanisms and the prevention of adriamycin toxicity by antioxidant nutrients. *Food and Chemical Toxicology*, 48(6), 1425-1438.

- Greathead, H. (2003).** Plants and plant extracts for improving animal productivity. *Proceedings of the Nutrition Society*, 62(2), 279-290.
- Grela, E., Kozłowska, J., & Grabowiecka, A. (2018).** Current methodology of MTT assay in bacteria—A review. *Acta Histochemica*, 120(4), 303-311.
- Gu, Y., Ju, A., Jiang, B., Zhang, J., Man, S., Liu, C., & Gao, W. (2018).** *Yiqi Fumai* lyophilized injection attenuates doxorubicin-induced cardiotoxicity, hepatotoxicity and nephrotoxicity in rats by inhibition of oxidative stress, inflammation and apoptosis. *RSC Advances*, 8(71), 40894-40911.
- Gulcin, İ. (2020).** Antioxidants and antioxidant methods: an updated overview. *Archives of Toxicology*, 1-65.
- Gülçin, İ. (2010).** Antioxidant properties of resveratrol: A structure–activity insight. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 11(1), 210-218.
- Gülçin, İ. (2015).** Fe³⁺–Fe²⁺ transformation method: an important antioxidant assay. In *Advanced Protocols in Oxidative Stress III* (pp. 233-246): Springer.
- Guo, H., Liu, Y., Wang, L., Zhang, G., Su, S., Zhang, R., Zhang, J., Li, A., Shang, C., & Bi, B. (2016).** Alleviation of doxorubicin–induced hepatorenal toxicities with sesamin via the suppression of oxidative stress. *Human & Experimental Toxicology*, 35(11), 1183-1193.
- Gupta, D. (2015).** Methods for determination of antioxidant capacity: a review. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 6(2), 546.
- Guven, C., Sevgiler, Y., & Taskin, E. (2018).** Mitochondrial dysfunction associated with doxorubicin. *Mitochondrial Diseases*, 323.
- Hämäläinen, M., Nieminen, R., Vuorela, P., Heinonen, M., & Moilanen, E. (2007).** Anti-inflammatory effects of flavonoids: genistein, kaempferol, quercetin, and daidzein inhibit STAT-1 and NF-κB activations, whereas flavone, isorhamnetin, naringenin, and pelargonidin inhibit only NF-κB activation along with their inhibitory effect on iNOS expression and NO production in activated macrophages. *Mediators of Inflammation*, 2007.
- Hammer, K. D., Hillwig, M. L., Solco, A. K., Dixon, P. M., Delate, K., Murphy, P. A., Wurtele, E. S., & Birt, D. F. (2007).** Inhibition of prostaglandin E2 production by anti-inflammatory *Hypericum perforatum* extracts and constituents in RAW264. 7 mouse macrophage cells. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(18), 7323-7331.
- Han, X., Shen, T., & Lou, H. (2007).** Dietary polyphenols and their biological significance. *International Journal of Molecular Sciences*, 8, 950-988.
- Hasnaoui, N., Daly, D., Haj Khelil, A., Zorgui, L., & Chekir-Ghedira, L. (2006).** Etude des protéines totales et de l'ADN issus des feuilles de *Moricandia arvensis* collectées de quatre régions du sud Tunisien. *Revue des Régions Arides*, 507-513.
- Haybar, H., Goudarzi, M., Mehrzadi, S., Aminzadeh, A., Khodayar, M. J., Kalantar, M., & Fatemi, I. (2019).** Effect of gemfibrozil on cardiotoxicity induced by doxorubicin in male experimental rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 109, 530-535.
- Hebi, M., & Eddouks, M. (2016).** Evaluation of the antioxidant activity of *Stevia rebaudiana*. *Phytothérapie*, 14, 17-22.
- Hnasko, T. S., & Hnasko, R. M. (2015).** The western blot. In *ELISA* (pp. 87-96): Springer.
- Hu, B., Liu, X., Zhang, C., & Zeng, X. (2017).** Food macromolecule based nanodelivery systems for enhancing the bioavailability of polyphenols. *Journal of Food and Drug Analysis*, 25(1), 3-15.
- Hussain, M. A., Abogresha, N. M., AbdelKader, G., Hassan, R., Abdelaziz, E. Z., & Greish, S. M. (2021).** Antioxidant and anti-inflammatory effects of crocin ameliorate doxorubicin-induced nephrotoxicity in rats. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2021.

- Hussain, T., Tan, B., Yin, Y., Blachier, F., Tossou, M. C., & Rahu, N. (2016).** Oxidative stress and inflammation: what polyphenols can do for us?. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016.
- Iacobazzi, V., & Infantino, V. (2014).** Citrate–new functions for an old metabolite. *Biological Chemistry*, 395(4), 387-399.
- Ibrahim, D. a. A., Almutawakel, M. A., & Al-Badani, R. (2021).** Cardioprotective effect of *Malva verticillata* against doxorubicin-induced toxicity in rats. *Clinical Phytoscience*, 7(1), 1-9.
- Ibrahim, M., Oyebanji, E., Fowora, M., Aiyeolemi, A., Orabuchi, C., Akinnawo, B., & Adekunle, A. A. (2021).** Extracts of *Endophytic fungi* from leaves of selected Nigerian ethnomedicinal plants exhibited antioxidant activity. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, 21(1), 1-13.
- Ikewuchi, C. C., Ifeanacho, M. O., & Ikewuchi, J. C. (2021).** Moderation of doxorubicin-induced nephrotoxicity in Wistar rats by aqueous leaf-extracts of *Chromolaena odorata* and *Tridax procumbens*. *Porto Biomedical Journal*, 6(1).
- Ilies, S., Schinteie, B., Pop, A., Negrea, S., Cretu, C., Szerb, E. I., & Manea, F. (2021).** Graphene quantum dots and Cu (I) liquid crystal for advanced electrochemical detection of doxorubicine in aqueous solutions. *Nanomaterials*, 11(11), 2788.
- Infantino, V., Convertini, P., Cucci, L., Panaro, M. A., Di Noia, M. A., Calvello, R., Palmieri, F., & Iacobazzi, V. (2011).** The mitochondrial citrate carrier: a new player in inflammation. *Biochemical Journal*, 438(3), 433-436.
- Infantino, V., Iacobazzi, V., Palmieri, F., & Menga, A. (2013).** ATP-citrate lyase is essential for macrophage inflammatory response. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 440(1), 105-111.
- Infantino, V., Iacobazzi, V., Menga, A., Avantaggiati, M. L., & Palmieri, F. (2014).** A key role of the mitochondrial citrate carrier (SLC25A1) in TNF α -and IFN γ -triggered inflammation. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Gene Regulatory Mechanisms*, 1839(11), 1217-1225.
- Infantino, V., Dituri, F., Convertini, P., Santarsiero, A., Palmieri, F., Todisco, S., Mancarella, S., Giannelli, G., & Iacobazzi, V. (2019).** Epigenetic upregulation and functional role of the mitochondrial aspartate/glutamate carrier isoform 1 in hepatocellular carcinoma. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, 1865(1), 38-47.
- Infantino, V., Pierri, C. L., & Iacobazzi, V. (2019).** Metabolic routes in inflammation: the citrate pathway and its potential as therapeutic target. *Current Medicinal Chemistry*, 26(40), 7104-7116.
- Ivanova, D., Zhelev, Z., Aoki, I., Bakalova, R., & Higashi, T. (2016).** Overproduction of reactive oxygen species-obligatory or not for induction of apoptosis by anticancer drugs. *Chinese Journal of Cancer Research*, 28(4), 383.
- Jacquemard, K. (2019).** Le guide de la phytothérapie au quotidien. *Rustice édition*, p 30, 31.
- Ji, H., Zhang, Y., Chen, C., Li, H., He, B., Yang, T., Sun, C., Hao, H., Zhang, X., & Wang, Y. (2021).** D-dopachrome tautomerase activates COX2/PGE2 pathway of astrocytes to mediate inflammation following spinal cord injury. *Journal of Neuroinflammation*, 18(1), 1-16.
- Jomová, K., Hudcová, L., Lauro, P., Simunková, M., Alwasel, S. H., Alhazza, I. M., & Valko, M. (2019).** A switch between antioxidant and prooxidant properties of the phenolic compounds myricetin, morin, 3', 4'-dihydroxyflavone, taxifolin and 4-hydroxy-coumarin in the presence of copper (II) ions: a spectroscopic, absorption titration and DNA damage study. *Molecules*, 24(23), 4335.
- Jovanović, A., Petrović, P., Đorđević, V., Zdunić, G., Šavikin, K., & Bugarski, B. (2017).** Polyphenols extraction from plant sources. *Lekovite sirovine*, (37), 45-49.

- Kalyanaraman, B., Joseph, J., Kalivendi, S., Wang, S., Konorev, E., & Kotamraju, S. (2002).** Doxorubicin-induced apoptosis: implications in cardiotoxicity. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 234(1), 119-124.
- Karabin, M., Hudcova, T., Jelinek, L., & Dostalek, P. (2015).** Biotransformations and biological activities of hop flavonoids. *Biotechnology Advances*, 33(6), 1063-1090.
- Karasakal, A. (2015).** Evaluation of Antioxidant activities of Brassica napus's seeds by CUPRAC, ABTS/Persulphate and DMPD methods. *Marmara Pharmaceutical Journal*, 19, 153-158,
- Karlíčková, J., Macáková, K., Říha, M., Pinheiro, L. M. T., Filipský, T., Horňasová, V., Hrdina, R., & Mladěnka, P. (2015).** Isoflavones reduce copper with minimal impact on iron *in vitro*. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2015.
- Karunaweera, N., Raju, R., Gyengesi, E., & Münch, G. (2015).** Plant polyphenols as inhibitors of NF-κB induced cytokine production—a potential anti-inflammatory treatment for Alzheimer's disease?. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 8, 24.
- Kasprzak, M. M., Erxleben, A., & Ochocki, J. (2015).** Properties and applications of flavonoid metal complexes. *RSC advances*, 5(57), 45853-45877.
- Kaurinovic, B., & Vastag, D. (2019).** Flavonoids and phenolic acids as potential natural antioxidants. *Antioxidants*.
- Kennedy, D. O., & Wightman, E. L. (2011).** Herbal extracts and phytochemicals: plant secondary metabolites and the enhancement of human brain function. *Advances in Nutrition*, 2(1), 32-50.
- Khajuria, R., Singh, S., & Bahl, A. (2019).** General introduction and sources of flavonoids. In *Current Aspects of Flavonoids: Their Role in Cancer Treatment* (pp. 1-7): Springer.
- Khasraw, M., Bell, R., & Dang, C. (2012).** Epirubicin: is it like doxorubicin in breast cancer? A clinical review. *The Breast*, 21(2), 142-149.
- Kim, S.-Y., Kim, S.-J., Kim, B.-J., Rah, S.-Y., Chung, S. M., Im, M.-J., & Kim, U.-H. (2006).** Doxorubicin-induced reactive oxygen species generation and intracellular Ca²⁺ increase are reciprocally modulated in rat cardiomyocytes. *Experimental & Molecular Medicine*, 38(5), 535-545.
- Kim, Y., Keogh, J. B., & Clifton, P. M. (2016).** Polyphenols and glycemic control. *Nutrients*, 8(1), 17.
- Kim, B. (2017).** Western blot techniques. In *Molecular Profiling* (pp. 133-139): Springer.
- Kim, H.-J., Joe, H.-I., Zhang, Z., Lee, S. W., Lee, K.-Y., Kook, Y.-B., & An, H.-J. (2020).** Anti-inflammatory effect of *Acalypha australis* L. via suppression of NF-κB signaling in LPS-stimulated RAW 264.7 macrophages and LPS-induced septic mice. *Molecular Immunology*, 119, 123-131.
- Konaté, K., Hilou, A., Mavoungou, J. F., Lepengué, A. N., Souza, A., Barro, N., Datté, J. Y., M'batchi, B., & Nacoulma, O. G. (2012).** Antimicrobial activity of polyphenol-rich fractions from *Sida alba* L.(Malvaceae) against co-trimoxazol-resistant bacteria strains. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 11(1), 5.
- Kondapuram, S. K., Sarvagalla, S., & Coumar, M. S. (2019).** Targeting autophagy with small molecules for cancer therapy. *Journal Cancer Metastasis Treat*, 5, (32)1-25.
- Kong, C.-Y., Guo, Z., Song, P., Zhang, X., Yuan, Y.-P., Teng, T., Yan, L., & Tang, Q.-Z. (2022).** Underlying the mechanisms of doxorubicin-induced acute cardiotoxicity: oxidative Stress and cell death. *International Journal of Biological Sciences*, 18(2), 760.
- Kuzu, M., Yıldırım, S., Kandemir, F. M., Küçükler, S., Çağlayan, C., Türk, E., & Dörtbudak, M. B. (2019).** Protective effect of morin on doxorubicin-induced hepatorenal toxicity in rats. *Chemico-biological Interactions*, 308, 89-100.
- Lacave, R., Larsen, C. J., & Robert, J. (2005).** Cancérologie fondamentale. *John Libbey Eurotext*. p 407.

- Lal, S., Mahajan, A., Ning Chen, W., & Chowbay, B. (2010).** Pharmacogenetics of target genes across doxorubicin disposition pathway: a review. *Current Drug Metabolism*, 11(1), 115-128.
- Lanore, D., & Delprat, C. (2002).** Chimiothérapie anticancéreuse. *Masson*, p 05.
- Lansiaux, A. (2011).** Les antimétabolites. *Bulletin du Cancer*, 98(11), 1263-1274.
- Laurent, P., Roiz, J., Wertz, J.-L., Richel, A., & Paquot, M. (2011).** Le bioraffinage, une alternative prometteuse à la pétrochimie. *Biotechnology, Agronomy and Society and Environment*, 15(4), 597-610.
- Lekouaghet, A., Boutefnouchet, A., Bensuici, C., Gali, L., Ghenaiet, K., & Tichati, L. (2020).** *In vitro* evaluation of antioxidant and anti-inflammatory activities of the hydroalcoholic extract and its fractions from *Leuzea conifera* L. roots. *South African Journal of Botany*, 132, 103-107.
- Létard, J.-C., Costil, V., & Dalbiès, P. (2015).** Phytothérapie-principes généraux. *Hegel*, 5(1), 29-35.
- Li, A.-N., Li, S., Zhang, Y.-J., Xu, X.-R., Chen, Y.-M., & Li, H.-B. (2014).** Resources and biological activities of natural polyphenols. *Nutrients*, 6(12), 6020-6047.
- Li, D. L., Wang, Z. V., Ding, G., Tan, W., Luo, X., Criollo, A., Xie, M., Jiang, N., May, H., & Kyrychenko, V. (2016).** Doxorubicin blocks cardiomyocyte autophagic flux by inhibiting lysosome acidification. *Circulation*, 133(17), 1668-1687.
- Li, H., Xia, B., Chen, W., Zhang, Y., Gao, X., Chinnathambi, A., Alharbi, S. A., & Zhao, Y. (2020).** Nimbolide prevents myocardial damage by regulating cardiac biomarkers, antioxidant level, and apoptosis signaling against doxorubicin-induced cardiotoxicity in rats. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 34(9), e22543.
- Liu, H., Mou, Y., Zhao, J., Wang, J., Zhou, L., Wang, M., Wang, D., Han, J., Yu, Z., & Yang, F. (2010).** Flavonoids from *Halostachys caspica* and their antimicrobial and antioxidant activities. *Molecules*, 15(11), 7933-7945.
- Liu, Y., Zeng, L., Yang, Y., Chen, C., Wang, D., & Wang, H. (2020).** Acyl-CoA thioesterase 1 prevents cardiomyocytes from doxorubicin-induced ferroptosis via shaping the lipid composition. *Cell Death & Disease*, 11(9), 1-14.
- Lohani, A., Mishra, A. K., & Verma, A. (2019).** Cosmeceutical potential of geranium and calendula essential oil: Determination of antioxidant activity and *in vitro* sun protection factor. *Journal of Cosmetic Dermatology*, 18(2), 550-557.
- Longuo, H., Chehma, A., & Oulad Belkhir, A. (1989).** Quelques aspects botaniques et nutritionnels des pâturages du dromadaire en Algérie. *Option Méditerranéenne, Série Séminaires*, 2, 47-53.
- Ma, W., Wei, S., Zhang, B., & Li, W. (2020).** Molecular mechanisms of cardiomyocyte death in drug-induced cardiotoxicity. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 8, 434.
- Macdonald, I. O., Olusola, O. J., & Osaigbovo, U. A. (2010).** Effects of chronic ethanol administration on body weight, reduced glutathione (GSH), malondialdehyde (MDA) levels and glutathione-s-transferase activity (GST) in rats. *New York Science Journal*, 3(4), 3947.
- Mahmood, T., & Yang, P.-C. (2012).** Western blot: technique, theory, and trouble shooting. *North American Journal of Medical Sciences*, 4(9), 429.
- Makuasa, D. A. A., & Ningsih, P. (2020).** The analysis of total flavonoid levels in Young leaves and Old Soursop Leaves (*Annona muricata* L.) using uv-vis sepctrofotometry methods. *Journal of Applied Science Engineering Technology and Education*, 2(1), 11-17.
- Malki, F., Touati, A., & Moulay, S. (2017).** Comparative study of antioxidant activity of some amides. *Journal Analytical & Pharmaceutical Research*, 5(3), 00143.

- Mamache, W., Amira, S., Ben Souici, C., Laouer, H., & Benchikh, F. (2020).** *In vitro* antioxidant, anticholinesterases, anti- α -amylase, and anti- α -glucosidase effects of Algerian *Salvia aegyptiaca* and *Salvia verbenaca*. *Journal of Food Biochemistry*, 44(11), e13472.
- Mammeri, A., Bendif, H., Bensouici, C., Benslama, A., Rebas, K., Bouasla, A., Rebaia, I., Souilah, N., & Miara, M. D. (2022).** Total phenolic contents, *in vitro* antioxidant activity, enzymes inhibition and anti-inflammatory effect of the selective extracts from the Algerian *Lavandula multifida*. *Acta Pharmaceutica Scientia*, 60(1) 1-23.
- Manarim, G., & De Aguilar, C. (2016).** Removal of pigments from sugarcane cells by adsorbent chromatographic column. *Annals of Chromatography and Separation Techniques*, 2, 1-5.
- Mandal, S. M., Chakraborty, D., & Dey, S. (2010).** Phenolic acids act as signaling molecules in plant-microbe symbioses. *Plant Signaling & Behavior*, 5(4), 359-368.
- Mansouri, E., Jangaran, A., & Ashtari, A. (2017).** Protective effect of pravastatin on doxorubicin-induced hepatotoxicity. *Bratislavske Lekarske Listy*, 118(5), 273-277.
- Mansur, J. d. S., Breder, M. N. R., Mansur, M. C. d. A., & Azulay, R. D. (1986).** Determinação do fator de proteção solar por espectrofotometria. *An. Bras. Dermatol*, 121-124.
- Mao, Z., Liu, Z., Yang, J., Han, X., Zhao, B., & Zhao, C. (2018).** *In situ* semi-quantitative assessment of single-cell viability by resonance Raman spectroscopy. *Chemical Communications*, 54(52), 7135-7138.
- Marco, G. J. (1968).** A rapid method for evaluation of antioxidants. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 45(9), 594-598.
- Marrelli, M., Morrone, F., Argentieri, M. P., Gambacorta, L., Conforti, F., & Avato, P. (2018).** Phytochemical and biological profile of *Moricandia arvensis* (L.) DC.: an inhibitor of pancreatic lipase. *Molecules*, 23(11), 2829.
- Massaux, C. (2012).** Polyphénols: des alliés pour la santé. *Abeilles & Cie*, 149, 4.
- Mecheri, A., Benabderrahmane, W., Amrani, A., Boubekri, N., Benayache, F., Benayache, S., & Zama, D. (2019).** Hepatoprotective Effects of Algerian *Crataegus oxyacantha* Leaves. *Recent Patents on Food, Nutrition & Agriculture*, 10(1), 70-75.
- Menon, S., Lawrence, L., Sivaram, V. P., & Padikkala, J. (2019).** *Oroxylum indicum* root bark extract prevents doxorubicin-induced cardiac damage by restoring redox balance. *Journal of Ayurveda and Integrative Medicine*, 10(3), 159-165.
- Meredith, A. M., & Dass, C. R. (2016).** Increasing role of the cancer chemotherapeutic doxorubicin in cellular metabolism. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 68(6), 729-741.
- Mete, R., Oran, M., Topcu, B., Oznur, M., Seber, E. S., Gedikbasi, A., & Yetisyigit, T. (2016).** Protective effects of onion (*Allium cepa*) extract against doxorubicin-induced hepatotoxicity in rats. *Toxicology and Industrial Health*, 32(3), 551-557.
- Micallef, I., & Baron, B. (2020).** Doxorubicin: an overview of the anti-Cancer and chemoresistance mechanisms. *Annals of Clinical Toxicology*. 2020; 3 (2), 1031.
- Miele, S., Tegli, S., Izquierdo, C. G., Cerboneschi, M., & Bargiacchi, E. (2019).** Hydrolysable tannins in agriculture. In *Tannins-Structural Properties, Biological Properties and Current Knowledge*.
- Mileo, A. M., & Miccadei, S. (2016).** Polyphenols as modulator of oxidative stress in cancer disease: new therapeutic strategies. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016.
- Millet, F. (2010).** Les formes galéniques et les huiles essentielles. *Phytothérapie*, 8(1), 33-36.
- Miotto, G., Rossetto, M., Di Paolo, M. L., Orian, L., Venerando, R., Roveri, A., Vučković, A.-M., Travain, V. B., Zaccarin, M., & Zennaro, L. (2020).** Insight into the mechanism of ferroptosis inhibition by ferrostatin-1. *Redox Biology*, 28, 101328.

- Mobaraki, M., Faraji, A., Zare, M., Dolati, P., Ataei, M., & Manshadi, H. D. (2017).** Molecular mechanisms of cardiotoxicity: a review on major side-effect of doxorubicin. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 79(3), 335-344.
- Mohamed, H. K., Mobasher, M. A., Ebiya, R. A., Hassen, M. T., Hagag, H. M., El-Sayed, R., Abdel-Ghany, S., Said, M. M., & Awad, N. S. (2022).** Anti-Inflammatory, Anti-Apoptotic, and antioxidant roles of honey, royal jelly, and propolis in suppressing nephrotoxicity induced by doxorubicin in male Albino rats. *Antioxidants*, 11(5), 1029.
- Mohammedi, S. (2013).** Phytothérapie: la première médecine du monde. *Santé-MAG*(18), 18.
- Mohebbati, R., Khajavi Rad, A., Naser Shafei, M., Soukhtanloo, M., Hosseini, S., Beheshti, F., & Reza Khazdair, M. (2015).** The effects of vitamin C on adriamycin-induced hypercholesterolemia in rat. *Current Nutrition & Food Science*, 11(4), 309-314.
- Montaigne, D., Hurt, C., & Nevriere, R. (2012).** Mitochondria death/survival signaling pathways in cardiotoxicity induced by anthracyclines and anticancer-targeted therapies. *Biochemistry Research International*, 1-25.
- Moore, C. (2009).** Introduction to western blotting. *AbD serotec*, 4-20.
- Moussa, F. I., El-gawad, A., Horeya, S., Mahmoud, S. S., Mahboub, F. A., & Abdelseyd, S. G. (2020).** Protective effect of omega-3 on doxorubicin-induced hepatotoxicity in male Albino rats. *Journal of Bioscience and Applied Research*, 6(4), 207-219.
- Moustafa, S., & Ali, M. (2021).** The probable protective effect of quercetin against doxorubicin-induced hepatotoxicity in adult Albino rats: A Biochemical and Immunohistopathological Study. *Ain Shams Journal of Forensic Medicine and Clinical Toxicology*, 37(2), 78-97.
- Muhammad, A., Tel-Çayan, G., Öztürk, M., Duru, M. E., Nadeem, S., Anis, I., Ng, S. W., & Shah, M. R. (2016).** Phytochemicals from *Dodonaea viscosa* and their antioxidant and anticholinesterase activities with structure–activity relationships. *Pharmaceutical Biology*, 54(9), 1649-1655.
- Mukhopadhyay, D., Dasgupta, P., Roy, D. S., Palchoudhuri, S., Chatterjee, I., Ali, S., & Dastidar, S. G. (2016).** A sensitive *in vitro* spectrophotometric hydrogen peroxide scavenging assay using 1, 10-Phenanthroline. *Free Radicals & Antioxidants*, 6(1).
- Murthy, H. N., Lee, E.-J., & Paek, K.-Y. (2014).** Production of secondary metabolites from cell and organ cultures: strategies and approaches for biomass improvement and metabolite accumulation. *Plant Cell Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 118(1), 1-16.
- Musa, M. A., Cooperwood, J. S., & Khan, M. O. F. (2008).** A review of coumarin derivatives in pharmacotherapy of breast cancer. *Current Medicinal Chemistry*, 15(26), 2664-2679.
- Nardo, P., & Leblanc, S. (2012).** Mes tisanes bien-être: *Rustica Editions*, p 3.
- Nebigil, C. G., & Désaubry, L. (2018).** Updates in anthracycline-mediated cardiotoxicity. *Frontiers in Pharmacology*, 9, 1262.
- Nemitz, M. C., Moraes, R. C., Koester, L. S., Bassani, V. L., von Poser, G. L., & Teixeira, H. F. (2015).** Bioactive soy isoflavones: extraction and purification procedures, potential dermal use and nanotechnology-based delivery systems. *Phytochemistry Reviews*, 14(5), 849-869.
- Ngabire, D., Seong, Y., Patil, M. P., Niyonizigiye, I., Seo, Y. B., & Kim, G.-D. (2018).** Anti-inflammatory effects of *Aster incisus* through the inhibition of NF-κB, MAPK, and Akt pathways in LPS-stimulated RAW 264.7 macrophages. *Mediators of Inflammation*, 2018.
- Nijveldt, R. J., Van Nood, E., Van Hoorn, D. E., Boelens, P. G., Van Norren, K., & Van Leeuwen, P. A. (2001).** Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 74(4), 418-425.
- Nugraha, S. E., Yuandani, Y., & Syahputra, R. A. (2021).** Protective activity of Beetroot extract on doxorubicin-induced hepatic and renal toxicity in rat model. *Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences*, 9(A), 1037-1042.

- Obreque-Slíer, E., Peña-Neira, A., López-Solís, R., Ramírez-Escudero, C., & Zamora-Marín, F. (2009).** Phenolic characterization of commercial enological tannins. *European Food Research and Technology*, 229(6), 859-866.
- Octavia, Y., Tocchetti, C. G., Gabrielson, K. L., Janssens, S., Crijns, H. J., & Moens, A. L. (2012).** Doxorubicin-induced cardiomyopathy: from molecular mechanisms to therapeutic strategies. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 52(6), 1213-1225.
- Oliveira, L. d. L. d., Carvalho, M. V. d., & Melo, L. (2014).** Propriedades de saúde e sensoriais de compostos fenólicos em alimentos. *Revista Ceres*, 61, 764-779.
- Olszowy, M. (2019).** What is responsible for antioxidant properties of polyphenolic compounds from plants? *Plant Physiology and Biochemistry*, 144, 135-143.
- Omobowale, T. O., Oyagbemi, A. A., Ajufo, U. E., Adejumobi, O. A., Ola-Davies, O. E., Adedapo, A. A., & Yakubu, M. A. (2018).** Ameliorative effect of gallic acid in doxorubicin-induced hepatotoxicity in *Wistar* rats through antioxidant defense system. *Journal of Dietary Supplements*, 15(2), 183-196.
- Oyaizu, M. (1986).** Studies on products of browning reactions: antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *Japanese Journal of Nutrition*, 44, 307-315.
- Oyeniran, O. H., Ademiluyi, A. O., & Oboh, G. (2021).** Comparative study of the phenolic profile, antioxidant properties, and inhibitory effects of *Moringa (Moringa oleifera Lam.)* and Almond (*Terminalia catappa Linn.*) leaves on acetylcholinesterase and monoamine oxidase activities in the head region of Fruitfly (*Drosophila melanogaster Meigen*) *in vitro*. *Journal of Food Biochemistry*, 45(3), e13401.
- Paliyath, G., Murr, D. P., Handa, A. K., & Lurie, S. (2009).** Postharvest biology and technology of fruits, vegetables, and flowers: John Wiley & Sons, p 269.
- Palma-Tenango, M., Soto-Hernández, M., & Aguirre-Hernández, E. (2017).** Flavonoids in Agriculture. *Flavonoids-from biosynthesis to human health*. p 190.
- Pandey, K. B., & Rizvi, S. I. (2009).** Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2(5), 270-278.
- Pappalardo, I., Santarsiero, A., De Luca, M., Acquavia, M. A., Todisco, S., Caddeo, C., Bianco, G., Infantino, V., Martelli, G., & Vassallo, A. (2021).** Exploiting the anti-inflammatory potential of white *Capsicum* extract by the nanoformulation in phospholipid vesicles. *Antioxidants*, 10(11), 1683.
- Papuc, C., Goran, G. V., Predescu, C. N., Nicorescu, V., & Stefan, G. (2017).** Plant polyphenols as antioxidant and antibacterial agents for shelf-life extension of meat and meat products: Classification, structures, sources, and action mechanisms. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 16(6), 1243-1268.
- Patil, P. P., Khanal, P., Patil, V. S., Charla, R., Harish, D. R., Patil, B. M., & Roy, S. (2022).** Effect of *Theobroma cacao* L. on the efficacy and toxicity of doxorubicin in mice bearing ehrlich ascitescarcinoma. *Antioxidants*, 11(6), 1094.
- Pérez-Arnaiz, C., Busto, N., Leal, J. M., & García, B. (2014).** New insights into the mechanism of the DNA/doxorubicin interaction. *The Journal of Physical Chemistry B*, 118(5), 1288-1295.
- Perfectti, F., Gómez, J. M., González-Megías, A., Abdelaziz, M., & Lorite, J. (2017).** Molecular phylogeny and evolutionary history of *Moricandia* DC (Brassicaceae). *PeerJ*, 5, e3964.
- Pierre, M., & Lys, M. (2007).** Secrets des plantes. *Artémis*, p 36.
- Popovici, C., Saykova, I., & Tylkowski, B. (2010).** Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *Revue de génie industriel*, 4(8)

- Potočník, N., Perše, M., Cerar, A., Injac, R., & FINDERLE, Ž. (2017). Cardiac autonomic modulation induced by doxorubicin in a rodent model of colorectal cancer and the influence of fullerene pretreatment. *PLoS one*, 12(7).
- Prior, R. L., Wu, X., & Schaich, K. (2005). Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(10), 4290-4302.
- Procházková, D., Boušová, I., & Wilhelmová, N. (2011). Antioxidant and prooxidant properties of flavonoids. *Fitoterapia*, 82, 513-523.
- Pyne, M. E., Narcross, L., & Martin, V. J. (2019). Engineering plant secondary metabolism in microbial systems. *Plant Physiology*, 179(3), 844-861.
- Quezel, P., & Santa S. (1962). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Paris: Centre national de la recherche scientifique.
- Rajasekaran, M. (2019). Nephroprotective effect of *Costus pictus* extract against doxorubicin-induced toxicity on Wistar rat. *Bangladesh Journal of Pharmacology*, 14(2), 93-100.
- Ramadan, M. F. (2010). Rapid antiradical method for screening deep fried oils. *Journal Für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit*, 5(1), 47-50.
- Rashid, S., Ali, N., Nafees, S., Ahmad, S. T., Arjumand, W., Hasan, S. K., & Sultana, S. (2013). Alleviation of doxorubicin-induced nephrotoxicity and hepatotoxicity by chrysin in Wistar rats. *Toxicology Mechanisms and Methods*, 23(5), 337-345.
- Rawat, P. S., Jaiswal, A., Khurana, A., Bhatti, J. S., & Navik, U. (2021). Doxorubicin-induced cardiotoxicity: An update on the molecular mechanism and novel therapeutic strategies for effective management. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 139, 111708.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9-10), 1231-1237.
- Renu, K., Abilash, V., PB, T. P., & Arunachalam, S. (2018). Molecular mechanism of doxorubicin-induced cardiomyopathy—An update. *European Journal of Pharmacology*, 818, 241-253.
- Renu, K., Sruthy, K., Parthiban, S., Sugunapriyadarshini, S., George, A., PB, T. P., Suman, S., Abilash, V., & Arunachalam, S. (2019). Elevated lipolysis in adipose tissue by doxorubicin via PPAR α activation associated with hepatic steatosis and insulin resistance. *European Journal of Pharmacology*, 843, 162-176.
- Renu, K., Pureti, L. P., Vellingiri, B., & Valsala Gopalakrishnan, A. (2021). Toxic effects and molecular mechanism of doxorubicin on different organs—an update. *Toxin Reviews*, 1-25.
- Rivankar, S. (2014). An overview of doxorubicin formulations in cancer therapy. *Journal of cancer Research and Therapeutics*, 10(4), 853.
- Robert, J. (2007). Les poisons du fuseau. *Oncologie*, 9(11), 766-772.
- Rocha, J. D., Gallon, M. E., de Melo Bisneto, A. V., Santana Amaral, V. C., de Almeida, L. M., Borges, L. L., Chen-Chen, L., Gobbo-Neto, L., & Bailão, E. F. L. C. (2022). Phytochemical composition and protective effect of *Vernonanthura polyanthes* leaf against *in vivo* doxorubicin-mediated toxicity. *Molecules*, 27(8), 2553.
- Rzepecka-Stojko, A., Stojko, J., Kurek-Górecka, A., Górecki, M., Kabala-Dzik, A., Kubina, R., Moździerz, A., & Buszman, E. (2015). Polyphenols from bee pollen: structure, absorption, metabolism and biological activity. *Molecules*, 20(12), 21732-21749.
- Saewan, N., & Jimtaisong, A. (2013). Photoprotection of natural flavonoids. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 3(9), 129-141.
- Sainvitu, P., Nott, K., Richard, G., Blecker, C., Jérôme, C., Wathelet, J.-P., Paquot, M., & Deleu, M. (2012). Structure, properties and obtention routes of flaxseed lignan secoisolariciresinol, a review. *BASE*.

- Saleh, M. A., Antar, S. A., Hazem, R. M., & El-Azab, M. F. (2020). Pirfenidone and vitamin D ameliorate cardiac fibrosis induced by doxorubicin in Ehrlich ascites carcinoma bearing mice: modulation of monocyte chemoattractant protein-1 and Jun N-terminal kinase-1 pathways. *Pharmaceuticals*, 13(11), 348.
- Šamec, D., & Salopek-Sondi, B. (2019). Cruciferous (brassicaceae) vegetables. In *Nonvitamin and Nonmineral Nutritional Supplements* (pp. 195-202): Elsevier.
- Samouelian, F., Martine Boccara, V. G. F. S., Gaudin, V., & Boccara, M. (2009). Génétique moléculaire des plantes. *Quae*, p 21.
- Santarsiero, A., Bochicchio, A., Funicello, M., Lupattelli, P., Choppin, S., Colobert, F., Hanquet, G., Schiavo, L., Convertini, P., & Chiummiento, L. (2020). New synthesized polyoxygenated diarylheptanoids suppress lipopolysaccharide-induced neuroinflammation. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 529(4), 1117-1123.
- Santarsiero, A., Leccese, P., Convertini, P., Padula, A., Abriola, P., D'Angelo, S., Bisaccia, F., & Infantino, V. (2018). New insights into Behçet's syndrome metabolic reprogramming: citrate pathway dysregulation. *Mediators of Inflammation*, 2018.
- Santos-Sánchez, N. F., Salas-Coronado, R., Villanueva-Cañongo, C., & Hernández-Carlos, B. (2019). Antioxidant compounds and their antioxidant mechanism. In *Antioxidants*: IntechOpen.
- Sarosiek, K. A., Fraser, C., Muthalagu, N., Bhola, P. D., Chang, W., McBrayer, S. K., Cantlon, A., Fisch, S., Golomb-Mello, G., & Ryan, J. A. (2017). Developmental regulation of mitochondrial apoptosis by c-Myc governs age- and tissue-specific sensitivity to cancer therapeutics. *Cancer Cell*, 31(1), 142-156.
- Sayre, R. M., Agin, P. P., LeVee, G. J., & Marlowe, E. (1979). A comparison of *in vivo* and *in vitro* testing of sunscreens formulas. *Photochemistry and Photobiology*, 29(3), 559-566.
- Schalka, S., & Reis, V. M. S. d. (2011). Sun protection factor: meaning and controversies. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, 86, 507-515.
- Schlüter, U., Bräutigam, A., Gowik, U., Melzer, M., Christin, P.-A., Kurz, S., Mettler-Altman, T., & Weber, A. P. (2017). Photosynthesis in C3-C4 intermediate *Moricandia* species. *Journal of Experimental Botany*, 68(2), 191-206.
- Shahidi, F., & Zhong, Y. (2015). Measurement of antioxidant activity. *Journal of Functional Foods*, 18, 757-781.
- Shay, P.-E., Trofymow, J., & Constabel, C. P. (2017). An improved butanol-HCl assay for quantification of water-soluble, acetone: methanol-soluble, and insoluble proanthocyanidins (condensed tannins). *Plant Methods*, 13(1), 63.
- Sheibani, M., Nezamoleslami, S., Faghir-Ghanesefat, H., & Dehpour, A. R. (2020). Cardioprotective effects of dapsone against doxorubicin-induced cardiotoxicity in rats. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, 85(3), 563-571.
- Shen, M., Hang Chan, T., & Ping Dou, Q. (2012). Targeting tumor ubiquitin-proteasome pathway with polyphenols for chemosensitization. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry (Formerly Current Medicinal Chemistry-Anti-Cancer Agents)*, 12(8), 891-901.
- Shih, T.-L., Liu, M.-H., Li, C.-W., & Kuo, C.-F. (2018). Halo-substituted chalcones and azachalcones inhibited lipopolysaccharide-stimulated pro-inflammatory responses through the TLR4-mediated pathway. *Molecules*, 23(3), 597.
- Shimada, T. (2006). Salivary proteins as a defense against dietary tannins. *Journal of Chemical Ecology*, 32(6), 1149-1163.
- Shtukenberg, A. G., Zhu, Q., Carter, D. J., Vogt, L., Hoja, J., Schneider, E., Song, H., Pokroy, B., Polishchuk, I., & Tkatchenko, A. (2017). Powder diffraction and crystal structure prediction identify four new coumarin polymorphs. *Chemical Science*, 8(7), 4926-4940.

- Sikandar, A., Farhat, K., & Hamza, A. (2019).** Evaluation and comparison of the hepatoprotective effects of trimetazidine and lovastatin against doxorubicin-induced hepatotoxicity. *International Journal of Basic & Clinical Pharmacology*, 8(4), 693-699.
- Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventós, R. M. (1999).** [14] Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. In *Methods in Enzymology*, 299, 152-178.
- Skandrani, I., Ben Sghaier, M., Neffati, A., Boubaker, J., Bouhlel, I., Kilani, S., Mahmoud, A., Ghedira, K., & Chekir-Ghedira, L. (2007).** Antigenotoxic and free radical scavenging activities of extracts from *Moricandia arvensis*. *Drug and Chemical Toxicology*, 30(4), 361-382.
- Skandrani, I., Limem, I., Neffati, A., Boubaker, J., Sghaier, M. B., Bhourri, W., Bouhlel, I., Kilani, S., Ghedira, K., & Chekir-Ghedira, L. (2010).** Assessment of phenolic content, free-radical-scavenging capacity genotoxic and anti-genotoxic effect of aqueous extract prepared from *Moricandia arvensis* leaves. *Food and Chemical Toxicology*, 48(2), 710-715.
- Skandrani, I., Pinon, A., Simon, A., Ghedira, K., & Chekir-Ghedira, L. (2010).** Chloroform extract from *Moricandia arvensis* inhibits growth of B16-F0 melanoma cells and promotes differentiation in vitro. *Cell Proliferation*, 43(5), 471-479.
- Skandrani, I., Leloup, L., Kovacic, H., Dijoux-Franca, M.-G., Ghedira, K., & Ghedira, L. C. (2017).** Antioxidant, antimutagenic, tanning and calpain induction activities of methanolic extract of Tunisian Plant (*Moricandia arvensis*). *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 16, 119-134.
- Smith, A. H., Zoetendal, E., & Mackie, R. I. (2005).** Bacterial mechanisms to overcome inhibitory effects of dietary tannins. *Microbial Ecology*, 50(2), 197-205.
- Sofowora, A. (2010).** Plantes médicinales et médecine traditionnelle d'Afrique. *Karthala*, p 25.
- Soltani Hekmat, A., Chenari, A., Alipanah, H., & Javanmardi, K. (2021).** Protective effect of alamandine on doxorubicin-induced nephrotoxicity in rats. *BMC Pharmacology and Toxicology*, 22(1), 1-11.
- Soria, J. C., Jean-Charles Soria, S. V. C. M. O. M., Vignot, S., & Massard, C. (2013).** Cours de chimiothérapie antitumorale et traitement médical du cancer: XXVIIe cours de l'Institut de cancérologie Gustave-Roussy. *John Libbey Eurotext*, p125.
- Stanković, M., Jakovljević, D., Stojadinov, M., & Stevanović, Z. D. (2019).** Halophyte Species as a Source of Secondary Metabolites with Antioxidant Activity. In *Ecophysiology, Abiotic Stress Responses and Utilization of Halophytes*. Springer, Singapore, 289-312.
- Steffen, Y., Gruber, C., Schewe, T., & Sies, H. (2008).** Mono-O-methylated flavanols and other flavonoids as inhibitors of endothelial NADPH oxidase. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 469(2), 209-219.
- Štěrba, M., Popelová, O., Vávrová, A., Jirkovský, E., Kovaříková, P., Geršl, V., & Šimůnek, T. (2013).** Oxidative stress, redox signaling, and metal chelation in anthracycline cardiotoxicity and pharmacological cardioprotection. *Antioxidants & Redox Signaling*, 18(8), 899-929.
- Susilawati, E., Lister, I. N. E., & Fachrial, E. (2021).** The protective effect of *Phyllanthus emblica* Linn. extract against doxorubicin-induced hepatotoxicity in rats. *Pharmaciana*, 11(1), 153-162.
- Syahputra, R., Harahap, U., Dalimunthe, A., Pandapotan, M., & Satria, D. (2021).** Protective effect of *Vernonia amygdalina* delile against doxorubicin-induced cardiotoxicity. *Heliyon*, 7(7), e07434.
- Szydłowska-Czerniak, A., Dianoczki, C., Recseg, K., Karlovits, G., & Szlyk, E. (2008).** Determination of antioxidant capacities of vegetable oils by ferric-ion spectrophotometric methods. *Talanta*, 76(4), 899-905.

- Tacar, O., Sriamornsak, P., & Dass, C. R. (2013).** Doxorubicin: an update on anticancer molecular action, toxicity and novel drug delivery systems. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 65(2), 157-170.
- Tadokoro, T., Ikeda, M., Ide, T., Deguchi, H., Ikeda, S., Okabe, K., Ishikita, A., Matsushima, S., Koumura, T., & Yamada, K.-i. (2020).** Mitochondria-dependent ferroptosis plays a pivotal role in doxorubicin cardiotoxicity. *JCI Insight*, 5(9).
- Tahir, M., & Watts, R. (2011).** *Moricandia*. In Wild Crop Relatives: Genomic and Breeding Resources. Springer, 191-198.
- Tan, B. L., & Norhaizan, M. E. (2019).** Curcumin combination chemotherapy: the implication and efficacy in cancer. *Molecules*, 24(14), 2527.
- Tang, R., Xu, J., Zhang, B., Liu, J., Liang, C., Hua, J., Meng, Q., Yu, X., & Shi, S. (2020).** Ferroptosis, necroptosis, and pyroptosis in anticancer immunity. *Journal of Hematology & Oncology*, 13(1), 1-18.
- Tatsuzawa, F., Hatakeyama, N., Takehara, A., Nakajo, S., Muraoka, H., Ogawa, S., Takahata, Y., Kato, K., Tatsuzawa, F., & Hatakeyama, N. (2015).** Acylated anthocyanins in flowers of *Moricandia* DC.(Brassicaceae). *Biochemical Systematics and Ecology*(58), 38-42.
- Teixeira, J., Gaspar, A., Garrido, E. M., Garrido, J., & Borges, F. (2013).** Hydroxycinnamic acid antioxidants: an electrochemical overview. *BioMed Research International*, 2013.
- Tétou, M. (2005).** Rhumatismes : votre ordonnance naturelle. *Alpen éditions*, p26
- Thorn, C. F., Oshiro, C., Marsh, S., Hernandez-Boussard, T., McLeod, H., Klein, T. E., & Altman, R. B. (2011).** Doxorubicin pathways: pharmacodynamics and adverse effects. *Pharmacogenetics and Genomics*, 21(7), 440.
- Tirzitis, G., & Bartosz, G. (2010).** Determination of antiradical and antioxidant activity: basic principles and new insights. *Acta Biochimica Polonica*, 57(2).
- Todisco, S., Convertini, P., Iacobazzi, V., & Infantino, V. (2019).** TCA cycle rewiring as emerging metabolic signature of hepatocellular carcinoma. *Cancers*, 12(1), 68.
- Todorova, V. K., Siegel, E. R., Kaufmann, Y., Kumarapeli, A., Owen, A., Wei, J. Y., Makhoul, I., & Klimberg, V. S. (2020).** Dantrolene attenuates cardiotoxicity of doxorubicin without reducing its antitumor efficacy in a breast cancer model. *Translational Oncology*, 13(2), 471-480.
- Tshibangu, D. S., Divakar, S., Ramanathan, M., Syamala, G., Mudogo, J. C. V., Tshilanda, D. D., Misengabu, N. M., & Mpiana, P. T. (2016).** *In Vitro* Anticancer Assessment of *Annickia chlorantha* (Oliv.) Setten & Maas Stem (Annonaceae) Bark from Democratic Republic of Congo. *Journal of Biosciences and Medicines*, 4(4), 23-29.
- Uchiyama, M., & Mihara, M. (1978).** Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test. *Analytical Biochemistry*, 86(1), 271-278.
- Valls, J., Millán, S., Martí, M. P., Borràs, E., & Arola, L. (2009).** Advanced separation methods of food anthocyanins, isoflavones and flavanols. *Journal of Chromatography A*, 1216(43), 7143-7172.
- Vassallo, A., Santoro, V., Pappalardo, I., Santarsiero, A., Convertini, P., De Luca, M., Martelli, G., Infantino, V., & Caddeo, C. (2020).** Liposome-mediated inhibition of inflammation by hydroxycitrate. *Nanomaterials*, 10(10), 2080.
- Verma, A. K., & Pratap, R. (2010).** The biological potential of flavones. *Natural Product Reports*, 27(11), 1571-1593.
- Verma, A. K., & Singh, S. (2020).** Phytochemical analysis and *in vitro* cytostatic potential of ethnopharmacological important medicinal plants. *Toxicology Reports*, 7, 443-452.
- Vesperinas, E. S. (1997).** Interfertility in the genus "*Moricandia*" DC. *Lagasalia*, 19(1), 839-844.

- Vuillet-A-Ciles, H., Lagarde, A., & Buxeraud, J. (2014). La chimiothérapie cytotoxique. *Actualités Pharmaceutiques*, 53(540), 16-24.
- Wali, A. F., Rashid, S., Rashid, S. M., Ansari, M. A., Khan, M. R., Haq, N., Alhareth, D. Y., Ahmad, A., & Rehman, M. U. (2020). Naringenin regulates doxorubicin-induced liver dysfunction: impact on oxidative stress and inflammation. *Plants*, 9(4), 550.
- Wang, H., Gao, X. D., Zhou, G. C., Cai, L., & Yao, W. B. (2008). *In vitro* and *in vivo* antioxidant activity of aqueous extract from *Choerospondias axillaris* fruit. *Food Chemistry*, 106(3), 888-895.
- Wang, L.-S., & Stoner, G. D. (2008). Anthocyanins and their role in cancer prevention. *Cancer Letters*, 269(2), 281-290.
- Weitner, T., Inić, S., Jablan, J., Gabričević, M., & Domijan, A.-M. (2016). Spectrophotometric determination of malondialdehyde in urine suitable for epidemiological studies. *Croatica Chemica Acta*, 89(1), 133-139.
- Wu, W., & Maravelias, C. T. (2018). Synthesis and techno-economic assessment of microbial-based processes for terpenes production. *Biotechnology for Biofuels*, 11(1), 294.
- Xi, L. (2016). Visnagin—a new protectant against doxorubicin cardiotoxicity? Inhibition of mitochondrial malate dehydrogenase 2 (MDH2) and beyond. *Annals of Translational Medicine*, 4(4).
- Xiao, B., Hong, L., Cai, X., Mei, S., Zhang, P., & Shao, L. (2019). The true colors of autophagy in doxorubicin-induced cardiotoxicity. *Oncology Letters*, 18(3), 2165-2172.
- Yang, F., Teves, S. S., Kemp, C. J., & Henikoff, S. (2014). Doxorubicin, DNA torsion, and chromatin dynamics. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Reviews on Cancer*, 1845(1), 84-89.
- Yazaki, K. (2006). ABC transporters involved in the transport of plant secondary metabolites. *FEBS Letters*, 580(4), 1183-1191.
- Yu, P., Wang, H.-y., Tian, M., Li, A.-x., Chen, X.-s., Wang, X.-l., Zhang, Y., & Cheng, Y. (2019). Eukaryotic elongation factor-2 kinase regulates the cross-talk between autophagy and pyroptosis in doxorubicin-treated human melanoma cells *in vitro*. *Acta Pharmacologica Sinica*, 40(9), 1237-1244.
- Yu, X., Ruan, Y., Huang, X., Dou, L., Lan, M., Cui, J., Chen, B., Gong, H., Wang, Q., & Yan, M. (2020). Dexrazoxane ameliorates doxorubicin-induced cardiotoxicity by inhibiting both apoptosis and necroptosis in cardiomyocytes. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 523(1), 140-146.
- Yuan, C.-H., Filippova, M., & Duerksen-Hughes, P. (2012). Modulation of apoptotic pathways by human papillomaviruses (HPV): mechanisms and implications for therapy. *Viruses*, 4(12), 3831-3850.
- Zama, D., Meraihi, Z., Tebibel, S., Benayssa, W., Benayache, F., Benayache, S., & Vlietinck, A. (2007). Chlorpyrifos-induced oxidative stress and tissue damage in the liver, kidney, brain and fetus in pregnant rats: The protective role of the butanolic extract of *Paronychia argentea* L. *Indian Journal of Pharmacology*, 39(3), 145.
- Zenebe, W., Pechánová, O., & Bernátová, I. (2001). Protective effects of red wine polyphenolic compounds on the cardiovascular system. *Experimental & Clinical Cardiology*, 6(3), 153.
- Zhang, Y.-W., Shi, J., Li, Y.-J., & Wei, L. (2009). Cardiomyocyte death in doxorubicin-induced cardiotoxicity. *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis*, 57(6), 435-445.
- Zhang, L., Fan, C., Jiao, H.-C., Zhang, Q., Jiang, Y.-H., Cui, J., Liu, Y., Jiang, Y.-H., Zhang, J., & Yang, M.-Q. (2022). Calycosin Alleviates doxorubicin-induced cardiotoxicity and pyroptosis by inhibiting NLRP3 inflammasome activation. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2022.

- Zhao, X., Zhang, J., Tong, N., Chen, Y., & Luo, Y. (2012).** Protective effects of berberine on doxorubicin-induced hepatotoxicity in mice. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 35(5), 796-800.
- Zilinyi, R., Czompa, A., Czegledi, A., Gajtko, A., Pituk, D., Lekli, I., & Tosaki, A. (2018).** The cardioprotective effect of metformin in doxorubicin-induced cardiotoxicity: the role of autophagy. *Molecules*, 23(5), 1184.
- Zordoky, B. N., Anwar-Mohamed, A., Aboutabl, M. E., & El-Kadi, A. O. (2011).** Acute doxorubicin toxicity differentially alters cytochrome P450 expression and arachidonic acid metabolism in rat kidney and liver. *Drug Metabolism and Disposition*, 39(8), 1440-1450.

Annexes

Annexe 1

Les courbes d'étalonnage du dosage des polyphénols et flavonoïdes totaux coefficients de corrélation de Pearson (r^2)

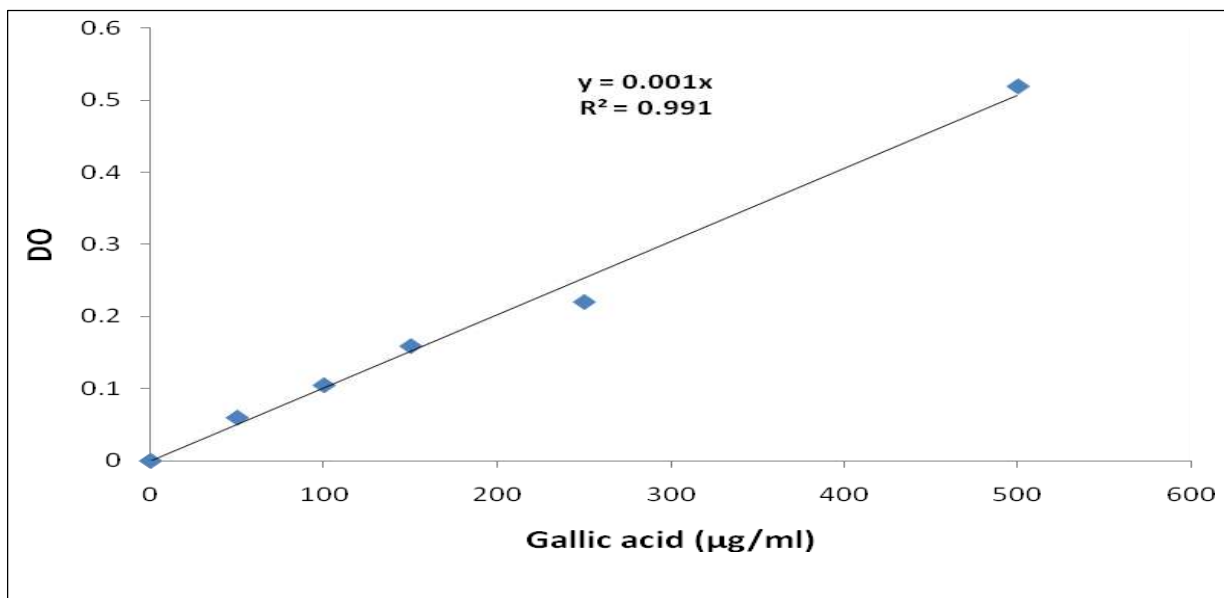


Figure 1 : Courbe d'étalonnage du dosage des polyphénols totaux (l'acide gallique comme un standard) (Moyenne de 3 essais)

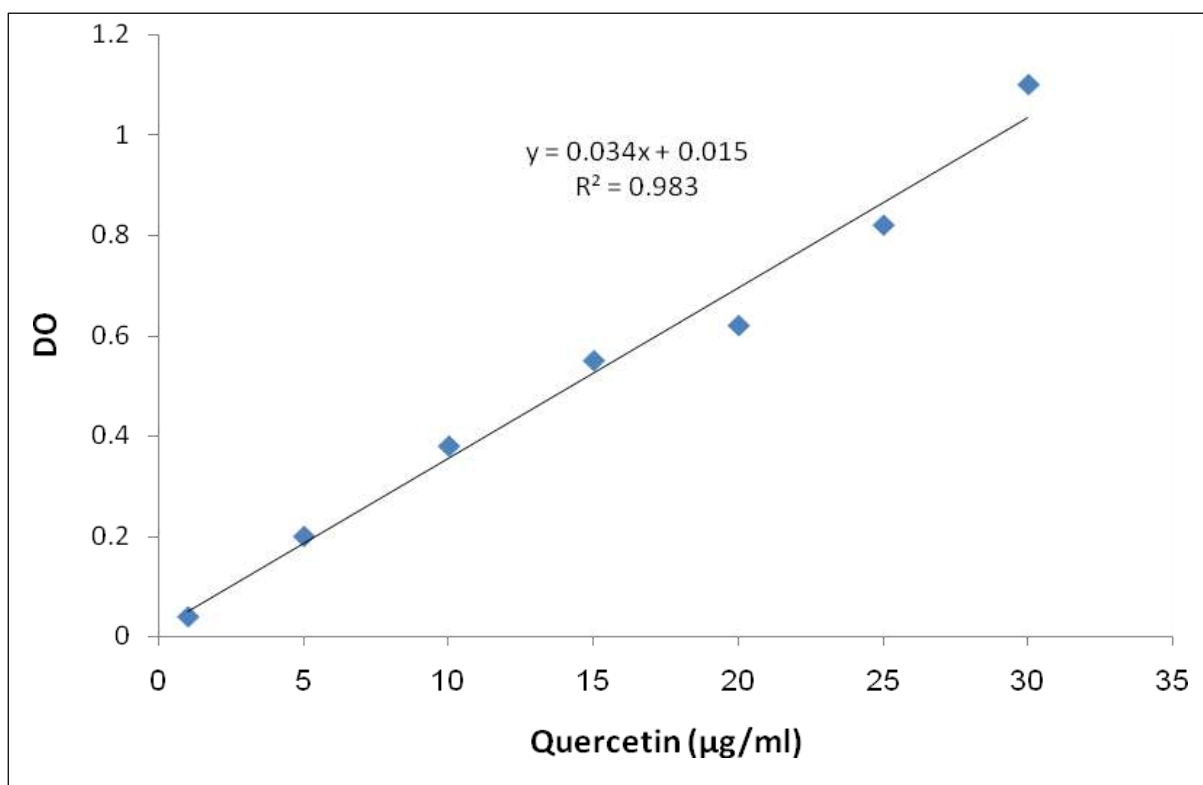


Figure 2 : Courbe d'étalonnage du dosage des flavonoïdes totaux (la quercétine comme un standard) (Moyenne de 3 essais)

Annexe 2

Les coefficients de corrélation de Pearson (r^2)**Tableau 1** : Coefficients de corrélation de Pearson (r^2) entre les paramètres biochimiques du foie et les paramètres de statut oxydant/ antioxydant de groupe traité par doxorubicine (15mg/kg)

	AST	ALT	TRG	CHOL	LDL	HDL	GLU	MDA	GSH	GPX
AST	1									
ALT	0,84	1								
TRG	0,99	0,801	1							
CHOL	0,98	0,921	0,89	1						
LDL	0,96	0,950	0,977	0,97	1					
HDL	-0,93	-0,6045	-0,97	-0,91	-0,89	1				
GLU	0,91	0,98	0,85	0,78	0,92	-0,77	1			
MDA	0,96	0,668	0,980	0,90	0,86	-0,99	0,77	1		
GSH	-0,96	-0,676	-0,91	-0,88	-0,77	0,94	-0,55	-0,99	1	
GPX	-0,76	-0,992	-0,82	-0,86	-0,78	0,69	-0,98	-0,56	0,49	1

Tableau 2 : Coefficients de corrélation de Pearson (r^2) entre les paramètres biochimiques du foie et les paramètres de statut oxydant/ antioxydant de groupe traité par l'extrait butanolique de *M.arvensis* (50mg/kg) et doxorubicine (15mg/ kg)

	AST	ALT	TRG	CHOL	LDL	HDL	GLU	MDA	GSH	GPX
AST	1									
ALT	0,94	1								
TRG	0,97	0,96	1							
CHOL	0,99	0,85	0,95	1						
LDL	0,91	0,99	0,92	0,80	1					
HDL	-0,95	-0,97	-0,88	-0,95	-0,98	1				
GLU	0,90	0,99	0,97	0,85	0,97	-0,78	1			
MDA	0,90	0,98	0,94	0,84	0,99	-0,83	0,98	1		
GSH	-0,82	-0,71	-0,88	-0,81	-0,64	0,63	-0,91	-0,83	1	
GPX	-0,98	-0,99	-0,989	-0,96	-0,97	0,93	-0,94	-0,95	0,81	1

Tableau 3 : Coefficients de corrélation de Pearson (r^2) entre les paramètres biochimiques du foie et les paramètres de statut oxydant/ antioxydant de groupe traité par l'extrait butanolique de *M.arvensis* (100 mg/kg) et doxorubicine (15mg/ kg)

	AST	ALT	TRG	CHOL	LDL	HDL	GLU	MDA	GSH	GPX
AST	1									
ALT	0,92	1								
TRG	0,99	0,89	1							
CHOL	0,96	0,98	0,96	1						
LDL	0,88	0,99	0,90	0,97	1					
HDL	-0,68	-0,91	-0,79	-0,76	-0,83	1				
GLU	0,74	0,94	0,78	0,91	0,97	-0,78	1			
MDA	0,86	0,99	0,88	0,97	0,99	-0,82	0,98	1		
GSH	-0,99	-0,90	-0,84	-0,79	-0,88	0,88	-0,77	-0,87	1	
GPX	-0,94	-0,99	-0,91	-0,99	-0,98	0,88	-0,92	-0,98	0,92	1

Tableau 4 : Coefficients de corrélation de Pearson (r^2) entre les paramètres biochimiques du foie et les paramètres de statut oxydant/ antioxydant de groupe traité par la vitamine E (100 mg/kg) et doxorubicine (15mg/ kg)

	AST	ALT	TRG	CHOL	LDL	HDL	GLU	MDA	GSH	GPX
AST	1									
ALT	0,98	1								
TRG	0,98	0,99	1							
CHOL	0,64	0,92	0,63	1						
LDL	0,96	0,92	0,90	1	1					
HDL	-0,83	-0,60	-0,68	-0,74	-0,86	1				
GLU	0,95	0,99	0,99	0,80	0,91	-0,79	1			
MDA	0,54	0,92	0,58	0,99	1	-0,65	0,55	1		
GSH	-0,57	-0,60	-0,68	-0,09	-0,86	0,73	-0,33	-0,65	1	
GPX	-0,78	-0,60	-0,69	-0,91	-0,86	0,95	-0,84	-0,78	0,45	1

Tableau 5 : Coefficients de corrélation de Pearson (r^2) entre les paramètres biochimiques des reins et les paramètres de statut oxydant/ antioxydant de groupe traité par doxorubicine (15mg/kg)

	Urée	Créatinine	MDA	GSH	GPx
Urée	1				
Créatinine	0,98	1			
MDA	0,96	0,95	1		
GSH	-0,99	-0,98	-0,98	1	
GPx	-0,57	-0,68	-0,87	0,69	1

Tableau 6 : Coefficients de corrélation de Pearson (r^2) entre les paramètres biochimiques des reins et les paramètres de statut oxydant/ antioxydant de groupe traité par l'extrait butanolique de *M.arvensis* (50mg/kg) et doxorubicine (15mg/ kg)

	Urée	Créatinine	MDA	GSH	GPx
Urée	1				
Créatinine	0,99	1			
MDA	0,72	0,78	1		
GSH	-0,92	-0,96	-0,85	1	
GPx	-0,94	-0,89	-0,73	0,88	1

Tableau 7 : Coefficients de corrélation de Pearson (r^2) entre les paramètres biochimiques des reins et les paramètres de statut oxydant/ antioxydant de groupe traité par l'extrait butanolique de *M.arvensis* (100 mg/kg) et doxorubicine (15mg/ kg)

	Urée	Créatinine	MDA	GSH	GPx
Urée	1				
Créatinine	0,92	1			
MDA	0,99	0,98	1		
GSH	-0,92	-0,98	-0,97	1	
GPx	-0,90	-0,85	-0,82	0,79	1

Tableau 8 : Coefficients de corrélation de Pearson (r^2) entre les paramètres biochimiques des reins et les paramètres de statut oxydant/ antioxydant de groupe traité par la vitamine E (100 mg/kg) et doxorubicine (15mg/ kg)

	Urée	Créatinine	MDA	GSH	GPx
Urée	1				
Créatinine	0,89	1			
MDA	0,91	0,98	1		
GSH	-0,82	-0,92	-0,99	1	
GPx	-0,60	-0,95	-0,88	0,93	1

Tableau 9 : Coefficients de corrélation de Pearson (r^2) entre les paramètres biochimiques du cœur et les paramètres de statut oxydant/ antioxydant de groupe traité par doxorubicine (15mg/kg)

	CPK	MDA	GSH	GPx
CPK	1			
MDA	0,98	1		
GSH	-0,85	-0,76	1	
GPx	-0,99	-0,99	0,63	1

Tableau 10 : Coefficients de corrélation de Pearson (r^2) entre les paramètres biochimiques du cœur et les paramètres de statut oxydant/ antioxydant de groupe traité par l'extrait butanolique de *M.arvensis* (50mg/kg) et doxorubicine (15mg/ kg)

	CPK	MDA	GSH	GPx
CPK	1			
MDA	0,98	1		
GSH	-0,88	-0,95	1	
GPx	-0,78	-0,91	0,97	1

Tableau 11 : Coefficients de corrélation de Pearson (r^2) entre les paramètres biochimiques du cœur et les paramètres de statut oxydant/ antioxydant de groupe traité par l'extrait butanolique de *M.arvensis* (100 mg/kg) et doxorubicine (15mg/ kg)

	CPK	MDA	GSH	GPx
CPK	1			
MDA	0,81	1		
GSH	-0,58	-0,94	1	
GPx	-0,99	-0,75	0,50	1

Tableau 12 : Coefficients de corrélation de Pearson (r^2) entre les paramètres biochimiques du cœur et les paramètres de statut oxydant/ antioxydant de groupe traité par la vitamine E (100 mg/kg) et doxorubicine (15mg/ kg)

	CPK	MDA	GSH	GPx
CPK	1			
MDA	0,98	1		
GSH	-0,96	-0,97	1	
GPx	-0,99	-0,87	0,93	1



Hepatoprotective potential of the *n*-butanol extract of *Moricandia arvensis* from Algeria against doxorubicin induced toxicity in *Wistar albino* rats

Meriem Laraba^{1,2} · Sana Hazar Tachour³ · Hanene Belbache² · Nassima Boubekri^{1,2} · Radja Djebbari⁴ · Fadila Benayache² · Samir Benayache² · Djamilia Zama²

Received: 27 December 2021 / Accepted: 30 March 2022

© The Author(s), under exclusive licence to Institute of Korean Medicine, Kyung Hee University 2022

Abstract

Doxorubicin (DOX) is a potent anticancer drug; its use has been limited by its hepatotoxicity, which is due to free radicals generation. This work aims to investigate whether the *n*-butanol soluble part of the 70% methanol extract of the aerial parts of *Moricandia arvensis*, alleviates doxorubicin-induced hepatotoxicity. According to the literature data, *Moricandia arvensis* (Brassicaceae) is renowned for its richness in flavonoid and phenolic acid glycosides. In this work, we have rightly assessed the total phenolic and flavonoid contents of the studied extract (*n*-butanol extract). The results obtained (TPC: 86.25 ± 0.00 μg GAE/mg; TFC: 22.54 ± 0.01 μg QE/mg) encouraged us to continue our investigations. *Wistar albino* rats were orally administered with *n*-butanol extract of *M. arvensis* (50 mg/kg and 100 mg/kg body weight) or vitamin E as a standard antioxidant (100 mg/kg) for 10 days; and DOX (15 mg/kg on the 8th day that was intraperitoneally injected). At the end of the experiment, blood and liver samples were analyzed for biomarker levels and histopathological changes. Liver homogenates were used to determine oxidative stress parameters such as malondialdehyde (MDA), glutathione peroxidase (GP_x) and glutathione (GSH) activity. DOX-administered rats significantly increased different levels of the serum biochemical parameters, increased TBARS level, decreased GP_x activity and GSH level in the liver. In addition, *M. arvensis* (50 mg/kg and 100 mg/kg) *n*-butanol extract treatments significantly decreased the level of TBARS, increased GSH level and GP_x activity compared to the DOX-treated rats ($p < 0.01$). The histological study revealed the hepatoprotective effects of the tested extract on DOX-induced toxicity. This was demonstrated by the preservation of hepatic architecture as well as a reduction in structural and functional changes in the liver. The obtained results indicate a protective action of *n*-butanol extract of *M. arvensis* that could be the result of the inhibition of reactive oxygen species (ROS) generation. This may be the result of the presence of phenolic compounds in *M. arvensis* plant.

Keywords Doxorubicin · *Moricandia arvensis* · Hepatoprotective · Flavonoids

Introduction

The liver, one of the human body's critical organs, is responsible for endogenous and exogenous agent's metabolism. This organ has a key function in the elimination and

detoxification of drugs. Even though, the liver has a self-regeneration ability, parasitic and viral infections, autoimmune diseases, drug-induced hepatotoxicity, alcoholic fatty liver diseases can increase the prevalence of hepatic failure (Ahmed et al. 2019). The anthracycline doxorubicin

✉ Djamilia Zama
atrouzl@umc.edu.dz

¹ Département de Biologie Animale, Faculté Des Sciences de La Nature Et de La Vie, Université Frères Mentouri Constantine 1, Route d'Ain El Bey, 25000 Constantine, Algérie

² Unité de Recherche: Valorisation Des Ressources Naturelles, Molécules Bioactives Et Analyses Physicochimiques Et

Biologiques (VARENBIOMOL), Université Frères Mentouri Constantine 1, Route d'Ain El Bey, 25000 Constantine, Algérie

³ Laboratoire d'Anatomie Et Cytologie Pathologique, Centre Hospitalier Universitaire, Constantine, Algérie

⁴ Département de Microbiologie Et Biochimie, Université Mostefa Ben Boulaid Batna 2, 53, Route de Constantine, Fesdis, 05078 Batna, Algérie

(DOX), whose important effects have been proved on a wide range of cancer diseases such as sarcomas, carcinomas and hematological malignancies, is usually used in chemotherapy (Carvalho et al. 2009). The DOX antimalignancies activity has been reported in previous studies for the treatment of transplantable leukemia, solid tumors and lymphomas as well (Kabel 2018; Zhu et al. 2016).

Different DOX action mechanisms have been proposed. DOX binds with the DNA by intercalation causing the inhibition of macromolecules biosynthesis via the inhibition of topoisomerase II progression, which is an enzyme that relaxes DNA supercoils for transcription. DOX ensures the topoisomerase II complex stability after breaking DNA chains for replication, preventing the double DNA helix from being resealed and thus halting the replication process (Rivankar 2014). On the other hand, DOX can generate reactive oxygen species (ROS) and apoptosis induction (Ramos et al. 2011). These free radicals are basic to the DOX-mediated cytotoxicity, including cardiotoxicity (Omobowale et al. 2018), genotoxicity, neurotoxicity (Utomo et al. 2018), nephrotoxicity, testicular toxicity (Aksu et al. 2019) and hepatotoxicity (Mansouri et al. 2017).

The increased production of ROS, due to oxidative stress in the liver, can be the result of two pathways: the common one is that of DOX's semiquinone interaction with O_2 producing the superoxide anion radical ($O_2^{\cdot-}$) and hydrogen peroxide (H_2O_2). The other one occurs in hepatocytes through the main extra-mitochondrial ROS producers which are NADPH oxidases (Carvalho et al. 2009). The main challenge that encounters researchers is to look for the protective effects against free radicals mediated injuries. Therefore, it is highly desirable to explore effective strategies for DOX complications, while keeping its therapeutic effects. Researchers have reported that many natural products have the ability to neutralize the DOX negative effects and other anthracycline antibiotics (Afsar et al. 2019).

Herbal medicines are usually considered as harmless and without side effects with an estimation of about 7500 plants can be used in the local health traditions. The scientific community and the local population know very little about many plants that are commonly used (Paudel et al. 2020).

Saharan plants that are known for their adaptation to hard environmental conditions can constitute a large reservoir of new, safe and effective natural products that can show different biological activities (Berregioua et al. 2016).

The Brassicaceae (Cruciferae) family, one of the most important groups having 338 genera and 3709 species worldwide, includes several economically important crop plants grown as vegetables, fodder, condiment and oil source (Gidik et al. 2019). Five species of *Moricandia* are spread in the North Africa, South Europe and Western Asia (Skandrani et al. 2010). *Moricandia arvensis* has been used in

traditional remedies by the decoction of its leaves and stems in the treatment of syphilis and scurvy. Moreover, this plant is used in traditional cooking (Skandrani et al. 2017).

Moricandia arvensis is specifically rich in sulfur compounds, glucosinolates and isothiocyanates (Fahey et al. 2001). Moreover, an indole derivative and three glucosinolates have been reported from this species (Belkhirri and Lockwood 1990). In addition to that, a number of studies have underlined that cruciferous vegetables may have anti-carcinogenic activity. On the other hand, glucosinolates are biologically active secondary metabolites and are commonly found in Brassicaceae and vegetables related families. We can also confirm the dietetic properties of *Moricandia arvensis*, as it showed an important antioxidant activity and therefore represent a source of various products, including polyphenols (Zeraib et al. 2011; Braham et al. 2005; Marrelli et al. 2018).

Therefore, the current study aims to evaluate the total phenolic and flavonoid contents of the *n*-butanol soluble part (*n*-butanol extract) of the 70% methanol extract of the aerial part of *Moricandia arvensis* and to investigate its ability to prevent DOX-induced hepatocellular damage.

Materials and methods

Plant materials and extraction procedure

The plant used in this study was collected in May 2015 from Mogheul (Béchar province) in western Algeria, (latitude: N 32°1' 23.69'', longitude W 2°13'3.06'') and authenticated by Mohamed Benabdelhakem, director of the nature preservation agency, Bechar on the basis of Quezel and Santa (1962). A voucher specimen (MAB0515-MOG-ALG-70) has been deposited at the VARENBIOMOL Research Unit Herbarium, Université Frères Mentouri Constantine 1.

Air-dried and powdered aerial parts (2100 g) of *Moricandia arvensis* (L.) DC. (Brassicaceae), were macerated with methanol–water (70:30, v/v) at room temperature for 48 h. The operation was repeated three times. After filtration, the three alcoholic solutions were combined and concentrated under reduced pressure (up to 35 °C) to reach a volume for around 1000 mL. The remaining solution was diluted with distilled water (840 mL) under magnetic stirring and then kept at 4 °C for one night to precipitate a maximum of chlorophylls. After filtration the resulting aqueous solution was successively extracted with solvents of increasing polarity: petroleum ether, chloroform, ethyl acetate and *n*-butanol. The organic phases were dried with anhydrous sodium sulfate (Na_2SO_4), filtered and concentrated in vacuum (up to 35 °C) to obtain the corresponding extracts: petroleum ether (0.19 g), chloroform (5.7 g), ethyl acetate (1.5 g) and

n-butanol (23.36 g) which were kept in the freezer until further analysis.

Total phenolic content (TPC) determination

The Folin–Ciocalteu assay was conducted to perform the colorimetric analysis, as was defined by Singleton et al. (1999). A 20 μ L of the sample was blended with 100 μ L of Folin–Ciocalteu and 1580 μ L of distilled water. The resulting mixture was shaken and held for 8 min then; 300 μ L of 20% Na_2CO_3 solution has been added. After 2 h of incubation in darkness, the optical density was measured spectrophotometrically at 765 nm using a spectrophotometer (Shimadzu, Kyoto, Japan). Gallic acid (GA) has been used as a standard, and TPC concentration was expressed as μ g GA equivalent per mg of extract. Tests were carried out in triplicate.

Total flavonoid content (TFC) determination

TFC was determined using the method described by Wang et al. (2008). Briefly 0.5 mL of the sample was mixed with 0.5 mL of 2% aluminum chloride (AlCl_3). The mixture was left for 1 h, and then the optical density was estimated at 420 nm. Quercetin (QE) was used as a standard. The standard cuve is prepared using (0, 5, 10, 15, 20 and 30 μ g/mL) of QE dissolved in methanol. The TFC concentration was expressed as μ g of QE equivalent per mg of extract. Tests were carried out in triplicate.

Animals and treatment

This study was carried out on healthy male *Wistar albino* rats weighing (190–250 g). They were brought from Pasteur Institute (Algiers, Algeria). The rats were maintained under laboratory conditions at an ambient temperature of (25 ± 1 °C) with an ordinary light/dark cycle of 12 h. They were provided with free food and water. The doses used of vitamin E and plant extract, were chosen according to prior in vivo experiments that were performed in our laboratory (Djebbari et al. 2017). The DOX dose was selected as it has been used previously to induce acute hepatotoxicity in male albino rats (Mecheri et al. 2018). These treatments were administered to the animals that were split into 7 groups of 7 animals each.

Group 1 Represent the untreated group

Group 2 Group of rats received a single injection of 15 mg/kg, i.p. of DOX (injected on the 8th day).

Group 3 Group of rats received oral administrations of *n*-butanol extract of *M. arvensis* (50 mg/kg b.w) for 10 days.

Group 4 Group of rats received oral administrations of *n*-butanol extract of *M. arvensis* (100 mg/kg b.w) for 10 days.

Group 5 Group of rats received oral administrations of *n*-butanol extract of *M. arvensis* (50 mg/kg b.w) for 10 days and single injection of 15 mg/kg, i.p. of DOX (injected on the 8th day).

Group 6 Group of rats received oral administrations of *n*-butanol extract of *M. arvensis* (100 mg/kg b.w) for 10 days and single injection of 15 mg/kg, i.p. of DOX (injected on the 8th day).

Group 7 Group of rats received oral administrations of vitamin E (100 mg/kg) for 10 days and single injection of 15 mg/kg, i.p. of DOX (injected on the 8th day).

At the end of this experiment (after 24 h of the last dose of extract or vitamin E treatments and 72 h after DOX administration), the rats were anesthetized and portal vein blood that was used for the biochemical analysis was collected on heparin tubes.

Additionally, rats were sacrificed and livers were removed and examined histopathologically as well as for the measurement of antioxidant enzymes activities and MDA.

The obtained livers were used to make 20% homogenate after dipping in cold KCl (1.15%). Then, the obtained homogenate was cold centrifuged for 15 min at 3000 rpm. All antioxidant parameters were analyzed using these supernatants.

Dosage of biochemical parameters

After blood centrifugation for 10 min at 3000 rpm, the clear serum supernatants were analyzed for AST, ALT, cholesterol, triglyceride, HDL, LDL and glucose using commercial kits (Spinreact, Spain).

Evaluation of tissue antioxidant status

Lipid peroxidation (MDA) assay

Lipid peroxidation was measured in the supernatants of all homogenates using the thiobarbituric acid reactive substances (TBARS), a colorimetric method of Uchiyama and Mihara (1978). The reaction mixture contained the 20% of liver homogenates (0.5 mL), 1% phosphoric acid (3 mL) and 0.67% of thiobarbituric acid (1 ml of TBA). After 45 min of boiling, 4 ml of *n*-butanol was added. Then the mixture was centrifuged and absorbance was measured at 532 nm. All tests were performed in triplicate. The standard curve was constructed using an MDA standard and the TBARS content was given nmol MDA/mg protein.

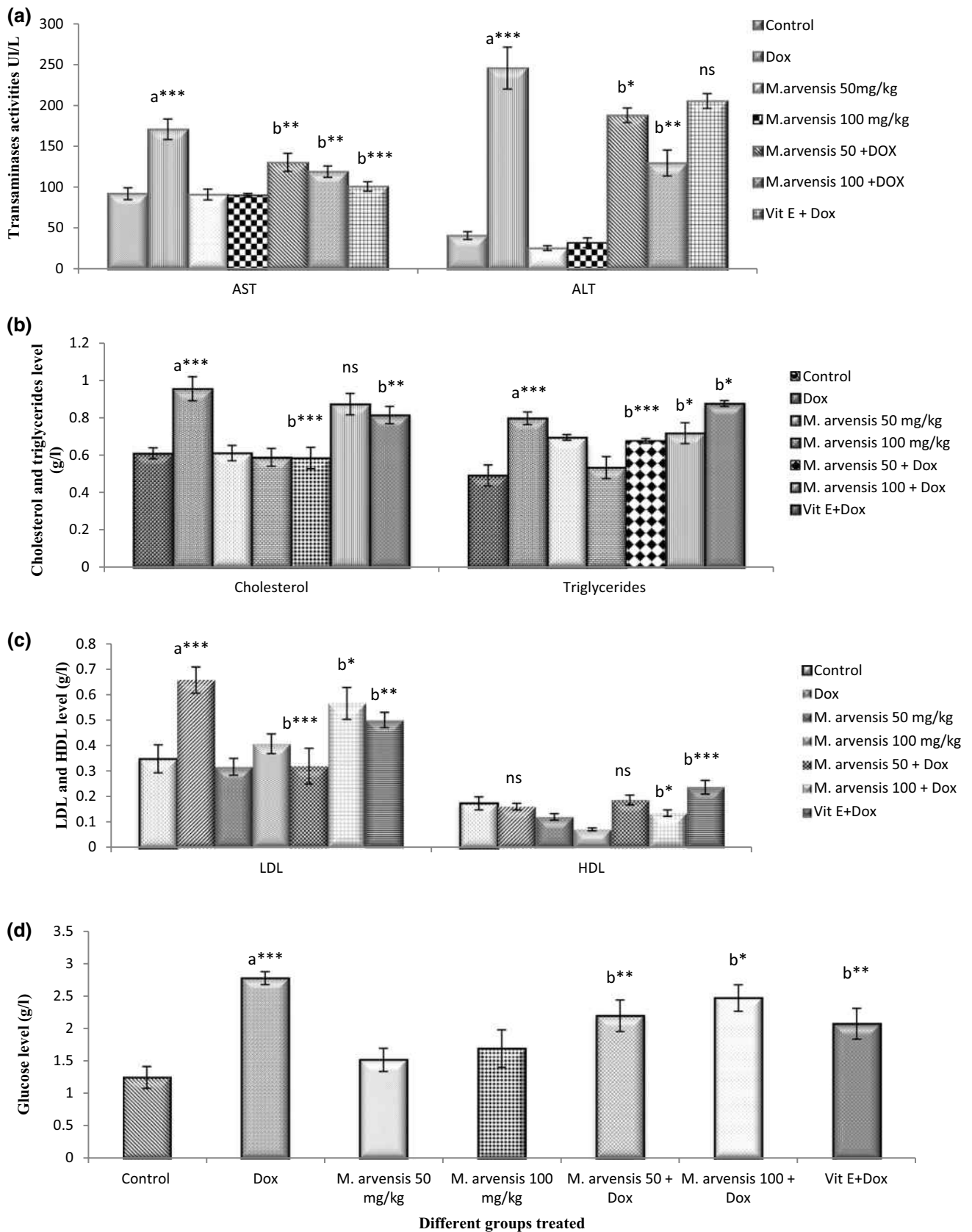


Fig. 1 Effect of DOX, plant extract and vitamin E on serum AST, ALT (a); Cholesterol, Triglycerides (b); LDL, HDL (c) and Glucose (d) levels in experimental rats. Data are reported as means \pm SD. a: group compared to control group, b: group compared to DOX group. (** $P < 0.001$; * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$)

Reduced glutathione content measurement

GSH is a co-factor of many enzymes, a powerful antioxidant, and an important scavenger of harmful oxygen radicals, which aids in the maintenance of normal cell functions (Jain et al. 2016). GSH amounts were measured using the Ellman (1959) method. The reaction mixture consisted of 0.5 mL of the obtained homogenates and 0.5 mL of trichloroacetic acid (10%TCA) were centrifuged for 5 min at 2000 rpm. Then, 0.2 μ L of supernatant was added to 1.8 mL of phosphate buffer solution (pH 8, 0.1 M) and 0.1 μ L of Elman's reagent (5,5'-dithiobis-(2-nitrobenzoic acid, called also DTNB). After the development of yellow color, the tubes were immediately read at 412 nm in a spectrophotometer and the GSH content was given in terms of nmol GSH/mg protein. Tests were carried out in triplicate.

Evaluation of glutathione peroxidase (GPx) activity

GPx activity was evaluated using Flohé and Günzler (1984) procedure. In the presence of GSH, GPx reduces the amount of H₂O₂ in the medium. Tissue homogenate (0.2 mL) was added to 0.4 mL GSH (0.1 Mm) and 0.2 mL TBS solution (Tris50mM, NaCl150mM pH 7.4). This mixture was incubated at 25°C. After 5 min, we added 0.2 mL of H₂O₂ (1.3 mM) and let it act for 10 min. Then, 1 mL of 1%TCA was added and the tubes were maintained in an ice bath at 0–5 °C for 30 min to terminate the reaction. Finally, the mixture was centrifuged (3000 rpm and 10 min) and 0.48 mL of supernatant was added to 2.2 mL of TBS solution and 0.32 mL of DTNB (1 mM). The absorbance was read at 412 nm after 5 min and the activity is given in nmol GSH/mg protein. Tests were carried out in triplicate.

Histopathological study

For the histopathological analysis that was conducted at the cyto-anatomo-pathological Laboratory of University Hospital Center of Constantine (Constantine district, Algeria), the liver samples were excised and rinsed with normal saline solution. The organ was then fixed in 10% formalin for 48 h, dehydrated in graded ethanol and embedded in paraffin wax. The obtained liver tubes were cut in 5 μ m-thick sections that were deparaffinated in xylene and further stained Harris hematoxylin and eosin. Finally, the obtained slides were observed under the photometric microscope (Leica DM1000, Germany).

Statistical analysis

The obtained data were presented as Mean SD, and statistical significance was determined using Graph Pad Prism 5.01 version 5 for comparison of mean values of control and treated animals, with ($p < 0.05$) considered significant.

Results

Total phenolic content

The TPC of the aerial part extract of *Moricandia arvensis* was determined by the Folin–Ciocalteu procedure using GA as a standard. The *n*-butanol extract possessed a moderate level of the TPC equal to 86.25 ± 0.00 μ g GAE/mg.

Total flavonoids content

The TFC of the *n*-butanol extract of *Moricandia arvensis* was measured using the spectrophotometric method that is based on the formation of a complex with AlCl₃. The flavonoids content that was expressed in terms of QE that was equal to 22.54 ± 0.01 μ g QE/mg.

Effects on biochemical parameters

Serum transaminases (AST and ALT) levels

AST, ALT are sensitive markers of the liver, and their elevated levels are indicative of liver damage. The administration of DOX induced a significant increase ($p < 0.001$) in AST and ALT serum levels, they increased respectively from 92.1 ± 7.16 and 41.24 ± 4.75 to 170.54 ± 12.49 and 245.13 ± 25.48 compared to the control group. Whereas, the oral pre-treatment with both grade doses of *M. arvensis* extract as well as vitamin E lowered serum levels of AST and ALT significantly from 170.54 ± 12.49 and 245.13 ± 25.48 to 130.38 ± 11.07 or 118.95 ± 6.92 or 100.92 ± 5.80 and 187.57 ± 8.9 or 129.66 ± 15.88 or 205.01 ± 9.05 in the three co-treated groups DOX + M50, DOX + M100 and DOX + VitE respectively in comparison with DOX-treated group (Fig. 1a).

Cholesterol and triglycerides levels

Cholesterol and triglycerides serum levels in DOX-treated group were increased significantly ($p < 0.001$) when compared to the control group (0.60 ± 0.02 vs 0.95 ± 0.06) and (0.49 ± 0.05 vs 0.79 ± 0.03). However, cholesterol concentration in the serum of co-treated groups DOX + M50 and DOX + VitE were decreased significantly in comparison

with DOX-treated group, they passed from 0.95 ± 0.06 to 0.58 ± 0.05 ($p < 0.001$) and 0.81 ± 0.04 ($p < 0.01$) respectively. While, the pre-treatment with 100 mg/kg of *M. arvensis* extract induced an insignificant decrease in cholesterol level when compared with DOX-treated group.

The animals of the three co-treated groups DOX + M50, DOX + M100 and DOX + VitE showed a significant decrease in the triglyceride serum level, they were declined from 0.79 ± 0.03 to 0.67 ± 0.01 ($p < 0.001$) or 0.71 ± 0.05 ($p < 0.05$) or 0.87 ± 0.01 ($p < 0.05$) respectively, when compared with DOX-treated group (Fig. 1b).

HDL and LDL levels

DOX treatment led to a significant increase ($p < 0.001$) in LDL serum level compared to the control group (0.34 ± 0.05 vs 0.65 ± 0.05). The co-administration of both doses of *M. arvensis* extract and vitamin E showed a significant decrease in LDL serum levels from 0.65 ± 0.05 to 0.32 ± 0.07 ($p < 0.001$) or 0.56 ± 0.06 ($p < 0.05$) or 0.50 ± 0.03 ($p < 0.01$) respectively, when compared with DOX-treated group.

On the contrary, DOX administration causes an insignificant decrease in serum HDL levels compared to the control group (0.17 ± 0.02 vs 0.16 ± 0.01). However, the three co-treated groups DOX + M50, DOX + M100 and DOX + VitE showed a noticeable increase in HDL serum level, they passed from 0.16 ± 0.01 to 0.18 ± 0.01 or 0.13 ± 0.01 or 0.23 ± 0.02 respectively, when compared with DOX-treated group (Fig. 1c).

Glucose level

Glucose serum level were increased significantly ($p < 0.001$) in DOX-treated group (1.36 ± 0.25 vs 2.59 ± 0.20) in comparison with the control group. The concomitant treatment of DOX with the graded doses of *M. arvensis* extract and vitamin E induced a significant decrease in glucose serum concentrations, they were decrease from 2.59 ± 0.20 to 2.44 ± 0.08 ($p < 0.01$) or 2.56 ± 0.05 ($p < 0.05$) or 2.50 ± 0.27 ($p < 0.01$) respectively, when compared with DOX-treated group (Fig. 1d).

Evaluation of antioxidant status in tissue samples

Effect on MDA level

The administration of DOX alone induced a significant increase ($p < 0.001$) in hepatic MDA levels when compared to the control group (0.02 ± 0.01 vs 0.10 ± 0.01). However, the oral pre-treatment with the two doses of *M. arvensis*

extract and vitamin E decreased MDA level values that were near normal concentration, they passed from 0.10 ± 0.01 to 0.07 ± 0.01 or 0.04 ± 0.01 or 0.02 ± 0.01 , thus providing a protective effect against DOX-induced lipid peroxidation in the liver (Fig. 2).

Effect on GSH level

The administration of a single dose of DOX induced a significant decrease ($p < 0.001$) in the GSH level (3.06 ± 0.18 vs 1.64 ± 0.08) in the liver homogenates as compared to the normal group. The pre-treatment with different doses of *M. arvensis* *n*-butanol extract and vitamin E showed a significant improvement in GSH concentration, they were increase from 1.64 ± 0.08 to 2.75 ± 0.09 or 2.71 ± 0.14 or 2.53 ± 0.09 respectively, when compared with DOX-treated group (Fig. 3a).

Effect on GPx activity

The glutathione peroxidase activity in liver tissues of DOX-treated group marked a significant decrease ($p < 0.001$) when compared to the control group (0.54 ± 0.04 vs 0.42 ± 0.04). Whereas, the three co-treated groups DOX + M50, DOX + M100 and DOX + VitE showed a significant elevation in the activity of this enzyme. Indeed, GPx activity values increased from 0.42 ± 0.04 to 0.68 ± 0.08 or 0.59 ± 0.07 or 0.78 ± 0.08 respectively, when compared with DOX-treated group (Fig. 3b).

Histopathology examination of liver tissues

A histopathological examination of liver tissues revealed that hepatocytes had a normal histological structure in the control group with rounded nuclei and blood sinusoids (Fig. 4). However, rats treated with DOX exhibited structural alteration in the liver tissue, a hepatic necrosis, ballooning of hepatocytes, disappearance of the nucleus and inflammatory cell infiltrates were observed. While the histoarchitecture of the liver tissues treated with plant extract or vitamin E before administration of DOX showed a sinusoidal congestion. In contrast, the liver in groups treated with *Moricandia arvensis* only has a nearly normal liver histology with some minor changes like congestion. In addition, the hepatic architecture was preserved in 50%, 70% and 80% for animals treated with 50 mg/kg, 100 mg/kg of *n*-butanol extract of *Moricandia arvensis* and vitamin E, respectively.

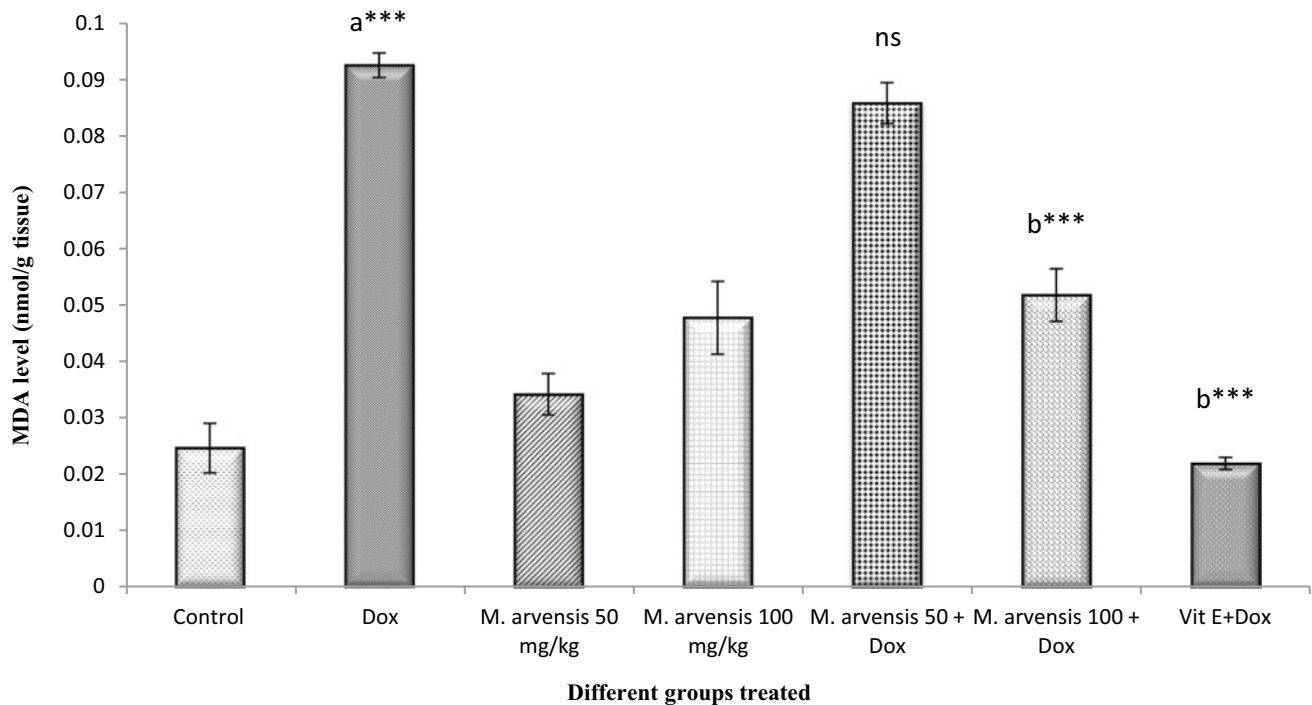


Fig. 2 Effect of DOX, plant extract and vitamin E on lipid peroxidation (TBARs content) in liver. Data are reported as means \pm SD. **a**: group compared to control group, **b**: group compared to DOX group. (***) $P < 0.001$

Discussion

DOX is one of the anthracycline drugs that is widely used in cancer chemotherapy in a variety of human neoplasms like breast cancer, lymphomas, sarcomas, leukemias and others (Gu et al. 2018). Despite the wide use and efficiency of this treatment, many authors have reported different side effects that could mainly cause toxicity of several organs like brain, kidney heart and liver (El-Din et al. 2018; Ibrahim Fouad and Ahmed 2021; Siva et al. 2022; Wali et al. 2020).

The liver is an organ that has mainly a role in detoxification which makes it a preferable target of genotoxic compounds and anticancer drugs including DOX. Statistically, around 40% of patients treated by DOX have liver damage that might be due to the presence of a common quinine moiety in the anthracycline ring structure. This may cause both oxidative and reductive biotransformation and can result in oxidative stress generation due to the presence of ROS (Afsar et al. 2019). Thus, natural and/or synthetic antioxidant molecules might have a protective effect against the oxidative stress caused by cytotoxic drugs including DOX (Abdel-Sattar et al. 2012).

Plants bio-products with protective roles against oxidative damage in human body recently attracted immense attention. Phenolic compounds, is ranged as the first class of plant-derived antioxidants, potentially reduces oxidative stress.

while, the balance between antioxidants and pro-oxidants is maintained owing to their metal chelating and free radical quenching effects (Gonçalves et al. 2017).

Our attention was guided to *Moricandia arvensis* which belongs to the Brassicaceae family that contains phenolic compounds including flavonoids (Cartea et al. 2011). The determination of total phenolic and flavonoid contents of aerial part *M. arvensis* *n*-butanol extract findings disclosed a moderate level of antioxidant compounds with a TPC of 86.25 ± 0.00 μ g GAE/mg and with TFC of 22.54 ± 0.01 μ g QE/mg.

The single-dose administration of DOX (15 mg / kg) on rats has caused acute liver damage, which is evidenced by a the significant elevation of serum ALT and AST. The continuous generation of ROS and failure of the antioxidant system may cause hepatotoxicity. The high levels of biochemical biomarkers in the serums after drug-induced hepatic toxicity administration are an indication of liver damage that can be due to the enzyme leakage from hepatocytes (Wali et al. 2020). These results are in accordance with Zhao et al. (2012); Djebbari et al. (2017) and Sikandar et al. (2019).

Our results has shown that the DOX-treated rats significantly exhibited higher cholesterol, triglycerides and LDL levels and, in contrast, lower HDL levels. These findings are in accordance with the results reported by Mansouri et al.

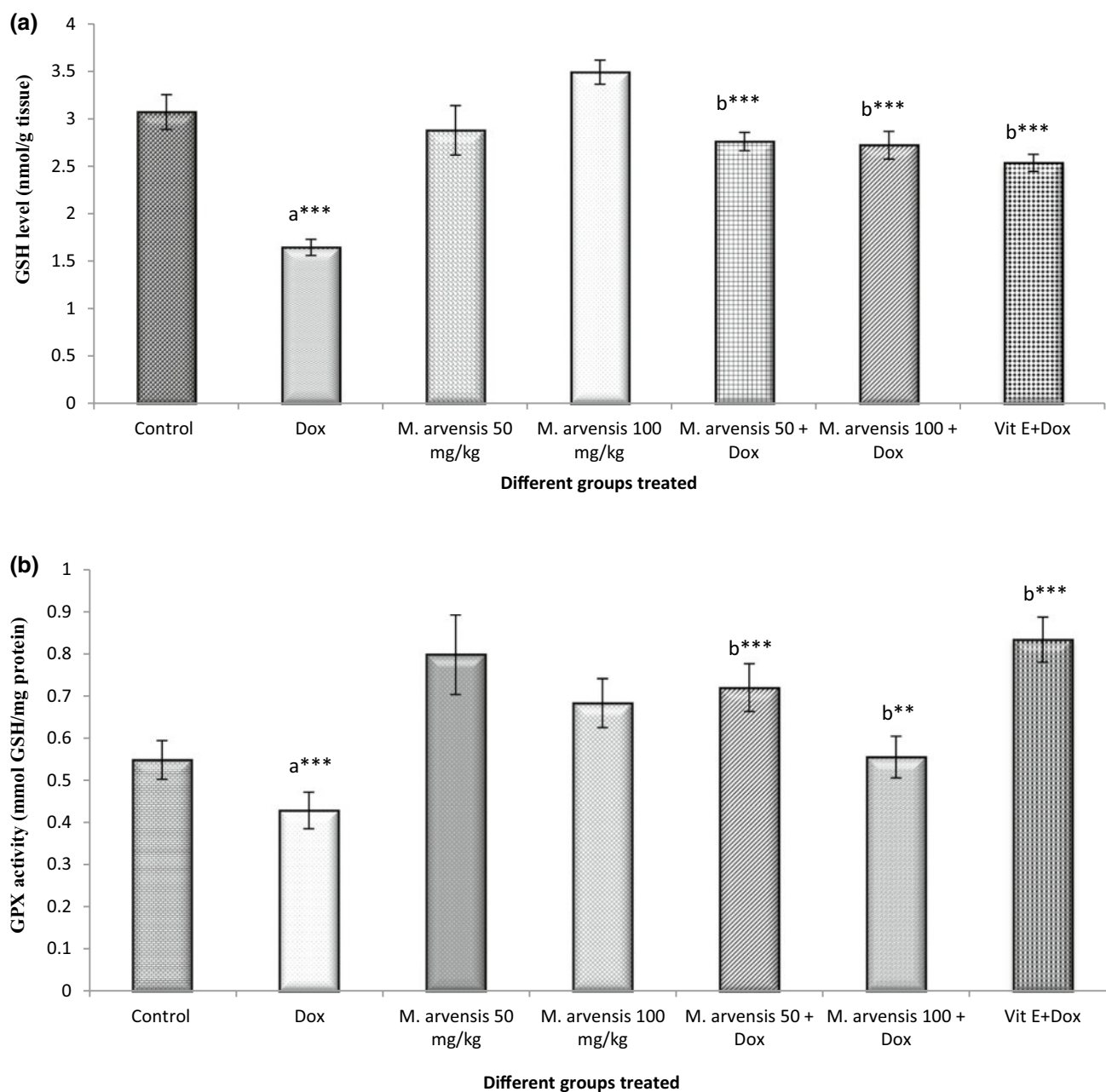


Fig. 3 Glutathion level and Glutathione peroxidase activity in control and experimental groups.. Data are reported as means \pm SD. **a:** group compared to control group, **b:** group compared to DOX group. (***) $P < 0.001$; (**) $P < 0.01$)

(2017) and Afsar et al. (2019). These alterations in lipid profile indicated that the DOX administration may interfere with lipid metabolism or biosynthesis (Bilgic and Ozgocmen 2019). In another study, the authors showed that the DOX administration has the ability to alter the chemical structure and composition as well as the biological membrane functions, particularly in mitochondria. This can be due to the peroxidation of membrane lipids, leading to the release of proteins and cholesterol from the cytosol into the blood stream (Moussa et al. 2020).

The DOX injection has led to the glucose uptake reduction. In normal conditions, glucose is essentially transported across membrane cells inducing the translocation of glucose transporter isoform 4 (GLUT 4) (Biondo et al. 2016). In our study, the DOX administration has induced hyperglycemia ($p < 0.001$). This result, is in accordance with Moussa et al. (2020). Based on the study of Renu et al. (2019), DOX administration has caused a down-regulation in the expression of both GLUT1 and GLUT4 causing an attenuation of glucose transportation into adipocytes. However, the oral

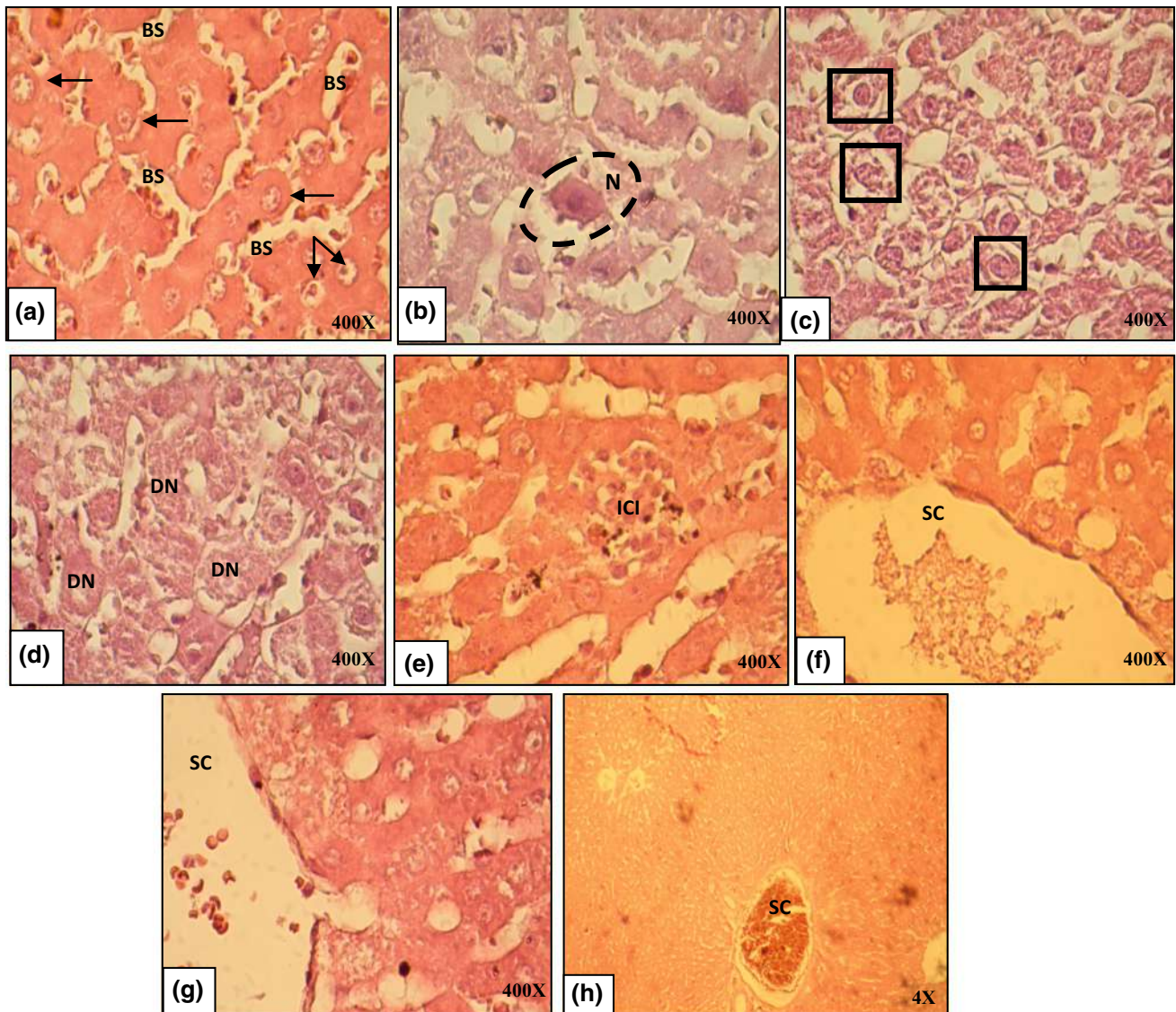


Fig. 4 Histopathologic results of rat liver **a**: normal hepatic architecture with normal blood sinusoids (BS) and rounded nuclei (arrow) **b-e**: Histology of liver treated with DOX **b**: hepatocellular necrosis (N), **c** ballooning of hepatocytes, **d** disappearance of the nucleus (DN), **e** inflammatory cell infiltrates (ICI); **f** and **g** liver of treated groups

n-butanol extract 50 mg/kg and 100 mg/kg respectively showed Sinusoidal congestion (SC); **h** Histology of the liver treated with DOX + extract 50 mg/kg, 100 mg/kg and vitamin E showed Sinusoidal congestion (SC)

treatment of *n*-butanol extract of *Moricandia arvensis* has shown a significant amelioration of biochemical parameters in the DOX-treated groups.

Changes in the liver biochemical markers were followed by an increase of LPO in the DOX-treated rats. The increase of MDA, a major oxidation product of polyunsaturated fatty acids, is a key indicator of lipid peroxidation (Ahmed et al. 2019; Kalender et al. 2005). The obtained results showed that MDA levels were increasing in DOX-treated rats, which is consistent with the findings of Omobowale et al. (2018) and Al-Oanzi et al. (2020). The high levels of MDA after DOX injection could be attributed to the production of oxygen

free radicals that caused multiple tissue mutilations, countering with membrane proteins, lipids and nucleic acids (Afsar et al. 2017).

Glutathione (GSH) is a tripeptide that has a major role in the detoxification of free radicals an antioxidant molecule. When the GSH levels decrease in tissues, it may result in peroxidative injuries and damage of cell defense against ROS. In our study, GSH levels decreased in the DOX-treated rats compared to the control group. In addition to being a direct free radical scavenger, GSH acted as a substrate for GPx. DOX treatment has led to a decrease in the GPx activity that could be caused by the unavailability of GSH

(Rashid et al. 2013). Our results agree with those obtained by several authors such as Fathy et al. (2017) and Gu et al. (2018). However, in our study, *Moricandia arvensis*, the treated rats has shown a decrease in the liver tissue MDA levels with an increase in the GSH levels and GP_x activity compared to the DOX- intoxicated group which confirms the protective effect on liver tissues. Natural bioactive compounds extracted from plants may have high antioxidant activity that could be due to the phenolics scavenged free radicals ability for example (El-Din et al. 2018).

The histopathology study for rats liver, administered with DOX, indicated the presence of lobular hepatic necrosis, ballooning of hepatocytes, disappearance of the nucleus and inflammatory cell infiltration. These findings are in accordance with those obtained by Mecheri et al. (2018). Other studies have confirmed that the intraperitoneal injection of 20 mg/kg of DOX dose presented parenchymal mononuclear cell infiltration, pyknotic nuclei in hepatocytes and macroand microvesicular steatosis (Bilgic and Ozgocmen 2019). Therefore, the pretreatment with *Moricandia arvensis* extract has restored the normal architectural structure of the liver. This observation correlates with the results of biochemical and oxidative stress parameters.

Conclusion

In conclusion, the present study revealed that *n*-butanol extract of *Moricandia arvensis* reduced the effect of DOX on the biochemical and histological liver injury in rats. We can say that *Moricandia arvensis* extract is a potential treatment for induced oxidative damage as a consequence of oxidative stress, including DOX- induced hepatotoxicity.

Acknowledgements The authors thank Professor. Mohamed Benabdelhakem, director of the nature preservation agency, Bechar for the identification of the plant material.

Funding This project did not receive any specific grant from funding agencies.

Declarations

Ethical statement The University's Ethics Committee approved all experimental assays, which were carried out in accordance with national guidelines for the care and use of laboratory animals.

Conflict of interest Meriem Laraba has no conflict of interest. Sana Hazar Tachour has no conflict of interest. Hanene Belbache has no conflict of interest. Nassima Boubekri has no conflict of interest. Radja Djebbari has no conflict of interest. Fadila Benayache has no conflict of interest. Samir Benayache has no conflict of interest. Djamila Zama has no conflict of interest.

References

- Abdel-Sattar E, El-Gayed SH, Shehata I, Ashour OM, Nagy AA, Mohamadin AM (2012) Antioxidant and cardioprotective activity of *Stachys schimperi* Vatke against doxorubicin-induced cardiotoxicity. Bull Fac Pharm Cairo Univ 50(1):41–47. <https://doi.org/10.1016/j.bfopcu.2012.01.002>
- Afsar T, Razak S, Batoo KM, Khan MR (2017) *Acacia hydasypica* R. Parker prevents doxorubicin-induced cardiac injury by attenuation of oxidative stress and structural cardiomyocyte alterations in rats. BMC Complement Altern Med 17(1):554. <https://doi.org/10.1186/s12906-017-2061-0>
- Afsar T, Razak S, Almajwal A (2019) Effect of *Acacia hydasypica* R Parker extract on lipid peroxidation, antioxidant status, liver function test and histopathology in doxorubicin treated rats. Lipids Health Dis 18(1):126. <https://doi.org/10.1186/s12944-019-1051-2>
- Ahmed OM, Abdul-Hamid MM, El-Bakry AM, Mohamed HM, Rahman FE-ZSA (2019) *Camellia sinensis* and epicatechin abate doxorubicin-induced hepatotoxicity in male Wistar rats via their modulatory effects on oxidative stress, inflammation, and apoptosis. J Appl Pharm Sci 9(04):030–044. <https://doi.org/10.7324/JAPS.2019.90405>
- Aksu EH, Kandemir FM, Yıldırım S, Küçükler S, Dörtbudak MB, Çağlayan C, Benzer F (2019) Palliative effect of curcumin on doxorubicin-induced testicular damage in male rats. J Biochem Mol Toxicol 33(10):e22384. <https://doi.org/10.1002/jbt.22384>
- Al-Oanzi ZH, Elsbali AM, Alruwaili NK, Alotaibi NH, Alharbi KS, Alzarea AI, Alsuwayt BH, Al-Enazi MM (2020) Protective effect of baicalein alone and losartan–baicalein combination therapy on doxorubicin-induced hepatotoxicity in rats. Toxicol Environ Health Sci. <https://doi.org/10.1007/s13530-020-00037-7>
- Belkhiri A, Lockwood BG (1990) An indole derivative and glucosinolates from *Moricandia arvensis*. Phytochemistry 29(4):1315–1316
- Berreguioua A, Cheriti A, Belboukhari N (2016) Flavonoids from the antibacterial extract of *Moricandia arvensis* L. growing in Algerian Sahara. Der Pharm Lett 8(4):45–49
- Bilgic S, Ozgocmen M (2019) The protective effect of misoprostol against doxorubicin induced liver injury. Biotech Histochem 94(8):583–591. <https://doi.org/10.1080/10520295.2019.1605457>
- Biondo LA, Lima Junior EA, Souza CO, Cruz MM, Cunha RD, Alonso-Vale MI, Oyama LM, Nascimento CMO, Pimentel GD, Dos Santos RV (2016) Impact of doxorubicin treatment on the physiological functions of white adipose tissue. PLoS ONE 11(3):e0151548. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0151548>
- Braham H, Mighri Z, Jannet H, Matthew S, Abreu P (2005) Antioxidant phenolic glycosides from *Moricandia arvensis*. J Nat Prod 68(4):517–522. <https://doi.org/10.1021/np049581m>
- Cartea ME, Francisco M, Soengas P, Velasco P (2011) Phenolic compounds in *Brassica* vegetables. Molecules 16(1):251–280. <https://doi.org/10.3390/molecules16010251>
- Carvalho C, Santos RX, Cardoso S, Correia S, Oliveira PJ, Santos MS, Moreira PI (2009) Doxorubicin: the good, the bad and the ugly effect. Curr Med Chem 16(25):3267–3285. <https://doi.org/10.2174/092986709788803312>
- Djebbari R, Chemam Y, Boubekri N, Lakroun Z, Kebieche M, Amrani A, Benayache F, Benayache S, Zama D (2017) Chemo-protective potential of *Helianthemum confertum* against the loss of molecular and functional integrity of the liver cell in doxorubicin-treated rats. Int Pharmacogn Phytochem Res 9(7):903–910
- El-Din AE, Ali MHM, Ahmed ES, Hassanane MM, Khalil WKB (2018) Ameliorative effect of *Zygophyllum album* extract against hepatotoxicity induced by doxorubicin in male mice. Pharmacology 14(3):421–427

- Ellman G (1959) Plasma antioxidants. Arch Biochem Biophys 82:70–77
- Fahey JW, Zalcmann AT, Talalay P (2001) The chemical diversity and distribution of glucosinolates and isothiocyanates among plants. Phytochemistry 56(1):5–51
- Fathy AH, Bashandy MA, Mansour AM, Azab K, Bashandy SA (2017) Hepatoprotective effects of olive oil with fig and date-palm fruit extracts in rats treated with doxorubicin and gamma radiation. Adv Pharm Ethnomed 5(1):8–15. <https://doi.org/10.17582/journal.ape/2017/5.1.8.15>
- Flohé L, Günzler WA (1984) [12] Assays of glutathione peroxidase. Methods Enzymol 105:114–120. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(84\)05015-1](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(84)05015-1)
- Gidik B, Gül V, Sefali A (2019) A study of wild plant species of Brassicaceae family in Bayburt region of Turkey. Pak J Bot 51(2):681–687. [https://doi.org/10.30848/PJB2019-2\(33\)](https://doi.org/10.30848/PJB2019-2(33))
- Gonçalves S, Moreira E, Grosso C, Andrade PB, Valentão P, Romano A (2017) Phenolic profile, antioxidant activity and enzyme inhibitory activities of extracts from aromatic plants used in Mediterranean diet. J Food Sci Technol 54(1):219–227. <https://doi.org/10.1007/s13197-016-2453-z>
- Gu Y, Ju A, Jiang B, Zhang J, Man S, Liu C, Gao W (2018) Yiqi fumai lyophilized injection attenuates doxorubicin-induced cardiotoxicity, hepatotoxicity and nephrotoxicity in rats by inhibition of oxidative stress, inflammation and apoptosis. RSC Adv 8(71):40894–40911
- Ibrahim Fouad G, Ahmed KA (2021) Neuroprotective potential of Berberine against doxorubicin-induced toxicity in rat's brain. Neurochem Res 46:3247–3263. <https://doi.org/10.1007/s11064-021-03428-5>
- Jain SK, Kanikarla-Marie P, Warden C, Micinski D (2016) L-cysteine supplementation upregulates glutathione (GSH) and vitamin D binding protein (VDBP) in hepatocytes cultured in high glucose and *in vivo* in liver, and increases blood levels of GSH, VDBP, and 25-hydroxy-vitamin D in Zucker diabetic fatty rats. Mol Nutr Food Res 60(5):1090–1098. <https://doi.org/10.1002/mnfr.20150667>
- Kabel AM (2018) Zinc/alogliptin combination attenuates testicular toxicity induced by doxorubicin in rats: role of oxidative stress, apoptosis and TGF- β 1/NF- κ B signaling. Biomed Pharmacother 97:439–449. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.10.144>
- Kalender Y, Yel M, Kalender S (2005) Doxorubicin hepatotoxicity and hepatic free radical metabolism in rats: the effects of vitamin E and catechin. Toxicology 209(1):39–45. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2004.12.003>
- Mansouri E, Jangaran A, Ashtari A (2017) Protective effect of pravastatin on doxorubicin-induced hepatotoxicity. Bratisl Lek Listy 118(5):273–277. https://doi.org/10.4149/bl_2017_054
- Marrelli M, Morrone F, Argentieri MP, Gambacorta L, Conforti F, Avato P (2018) Phytochemical and biological profile of *Moricandia arvensis* (L.) DC.: an inhibitor of pancreatic lipase. Molecules 23(11):2829. <https://doi.org/10.3390/molecules2311282923:2829>
- Mecheri A, Benabderrahmane W, Amrani A, Boubekri N, Benayache F, Benayache S, Zama D (2018) Hepatoprotective effects of Algerian *Crataegus oxyacantha* leaves. Recent Pat Food Nutr Agric 10(1):70–75. <https://doi.org/10.2174/2212798410666180730095456>
- Moussa FI, El-gawad A, Horeya S, Mahmoud SS, Mahboub FA, Abdelseyd SG (2020) Protective effect of omega-3 on doxorubicin-induced hepatotoxicity in male albino rats. J Biosci Appl Res 6(4):207–219. <https://doi.org/10.21608/JBAAR.2020.119773>
- Omobowale TO, Oyagbemi AA, Ajufo UE, Adejumbi OA, Olatunji OE, Adedapo AA, Yakubu MA (2018) Ameliorative effect of gallic acid in doxorubicin-induced hepatotoxicity in Wistar rats through antioxidant defense system. J Diet Suppl 15(2):183–196. <https://doi.org/10.1080/19390211.2017.1335822>
- Paudel K, Ramamurthy A, Sharma G (2020) Some important hepatoprotective medicinal plants in *Ayurveda*- a review. Int J Ayurveda Res 3(8):138–150. <https://doi.org/10.47223/IRJAY.2020.3815>
- Quezel P, Santa S (1962) Nouvelle flore de L'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome 1, P. 426, Edition du Centre National de la Recherche Scientifique, Paris
- Ramos D, Gaspar J, Pingarilho M, Gil O, Fernandes A, Rueff J, Oliveira N (2011) Genotoxic effects of doxorubicin in cultured human lymphocytes with different glutathione S-transferase genotypes. Mutat Res Gene Toxicol Environ Mutagenes 724(1–2):28–34. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2011.04.013>
- Rashid S, Ali N, Nafees S, Ahmad ST, Arjumand W, Hasan SK, Sultana S (2013) Alleviation of doxorubicin-induced nephrotoxicity and hepatotoxicity by chrysin in Wistar rats. Toxicol Mech Methods 23(5):337–345. <https://doi.org/10.3109/15376516.2012.759306>
- Renu K, Sruthy KB, Parthiban S, Sugunapriyadarshini S, George A, Tirupathi Pichiah PB, Suman S, Abilash VG, Arunachalam S (2019) Elevated lipolysis in adipose tissue by doxorubicin via ppar α activation associated with hepatic steatosis and insulin resistance. Eur J Pharmacol 843:162–176. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2018.11.018>
- Rivankar S (2014) An overview of doxorubicin formulations in cancer therapy. J Cancer Res Ther 10(4):853. <https://doi.org/10.4103/0973-1482.139267>
- Sikandar A, Farhat K, Hamza A (2019) Evaluation and comparison of the hepatoprotective effects of trimetazidine and lovastatin against doxorubicin-induced hepatotoxicity. Int J Basic Clin Pharmacol 8(4):693–699. <https://doi.org/10.18203/2319-2003.ijbcp20191102>
- Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventós RM (1999) [14] Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. Method Enzymol 299:152–178. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(99\)99017-1](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1)
- Siva D, Abinaya S, Rajesh D, Archunan G, Padmanabhan P, Gulyás B, Achiraman S (2022) Mollification of doxorubicin (DOX)-mediated cardiotoxicity using conjugated chitosan nanoparticles with supplementation of propionic acid. Nanomaterials 12(3):502. <https://doi.org/10.3390/nano12030502>
- Skandrani I, Boubaker J, Bhouiri W, Limem I, Kilani S, Sghaier MB, Neffati A, Bouhlef I, Ghedira K, Chekir-Ghedira L (2010) Leaf extracts from *Moricandia arvensis* promote antiproliferation of human cancer cells, induce apoptosis, and enhance antioxidant activity. Drug Chem Toxicol 33(1):20–27. <https://doi.org/10.3109/01480540903376215>
- Skandrani I, Leloup L, Kovacic H, Dijoux-Franca MG, Ghedira K, Chekir-Ghedira L (2017) Antioxidant, antimutagenic, tanning and calpain induction activities of methanolic extract of Tunisian plant (*Moricandia arvensis*). Iran J Pharm Res 16:119–134
- Uchiyama M, Mihara M (1978) Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test. Anal Biochem 86(1):271–278. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(78\)90342-1](https://doi.org/10.1016/0003-2697(78)90342-1)
- Utomo RY, Novarina A, Tirtanirmala P, Kastian RF, Jenie RI (2018) Enhancement of cytotoxicity and apoptosis induction of doxorubicin by Brazilein containing fraction of secang (*Caesalpinia sappan* L.) on T47D Cells. Indones J Cancer Chemoprevent 9(1):32–40
- Wali AF, Rashid S, Rashid SM, Ansari MA, Khan MR, Haq N, Alharith DY, Ahmad A, Rehman MU (2020) Naringenin regulates doxorubicin-induced liver dysfunction: impact on oxidative stress and inflammation. Plants 9(4):550. <https://doi.org/10.3390/plant9040550>
- Wang H, Gao XD, Zhou GC, Cai L, Yao WB (2008) *In vitro* and *in vivo* antioxidant activity of aqueous extract from *Choerospondias axillaris* fruit. Food Chem 106(3):888–895. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.05.068>

- Zeraib A, Ramdani M, Lograda T, Chalard P, Figueredo G (2011) Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil of *Moricandia arvensis* L.(DC.). *Asian J Plant Sci* 10(6):342–346. <https://doi.org/10.3923/ajps.2011.342.346>
- Zhao X, Zhang J, Tong N, Chen Y, Luo Y (2012) Protective effects of berberine on doxorubicin-induced hepatotoxicity in mice. *Biol Pharm Bull* 35(5):796–800. <https://doi.org/10.1248/bpb.35.796>
- Zhu H, Sarkar S, Scott L, Danelisen I, Trush MA, Jia Z, Li YR (2016) Doxorubicin redox biology: redox cycling, topoisomerase inhibition, and oxidative stress. *React Oxyg Species* (raleigh, NC) 1(3):189

Publisher's Note Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Intitulé

Les activités biologiques de l'extrait *n*-butanol de la plante médicinale endémique *Moricandia arvensis* vis-à-vis de la toxicité induite par Doxorubicine : étude *in vivo* et *in vitro*

Thèse en vue de l'obtention du diplôme de doctorat

Résumé

La doxorubicine est une des molécules les plus efficaces utilisée en chimiothérapie dans de nombreux types de cancers. Son utilisation clinique est limitée en raison de sa toxicité grave sur divers organes.

Ce travail de recherche a porté sur l'investigation de l'effet protecteur de l'extrait *n*-butanol obtenus de la partie aérienne de la plante *Moricandia arvensis* sur l'hépatotoxicité, néphrotoxicité et la cardiotoxicité induite par l'administration de la doxorubicine à la dose (15mg/kg). Des tests *in vitro* ont également réalisés dans cette étude: l'activité antioxydante (DPPH, ABTS, Glavinoxyle, O-phénantroline, activité de réduction du complexe cuivre-neocuproéne (CUPRAC), pouvoir réducteur (FRAP), et l'inhibition de blanchissement du β -carotène), l'activité photoprotectrice et l'activité anti-inflammatoire sur la lignée cellulaire (U937).

Les résultats obtenus dans la présente étude ont montré clairement des modifications significatives des paramètres biochimiques (ALAT, ASAT, cholestérol total, triglycérides, HDL, LDL, glucose, urée, créatinine et CPK) et de stress oxydatif (malondialdéhyde (MDA), glutathion (GSH) et glutathion peroxydase (GPx) dans le groupe traité par la doxorubicine (15mg/kg), ce dysfonctionnement a été accompagné par des altérations et des changements de l'architecture hépatique, rénale et cardiaque. En revanche, le prétraitement des rats par l'extrait *n*-butanol de *Moricandia arvensis* (50 et 100 mg/kg) et la vitamine E (100 mg/kg) a permis de rétablir les paramètres biochimiques et améliorer le statut antioxydant. Ces effets bénéfiques ont été évidents au niveau des coupes histologiques. En plus, les études *in vitro* ont montré que *M. arvensis* est dotée de propriétés antioxydantes et photoprotectrice ainsi que anti-inflammatoire qui se traduit par la diminution des niveaux de ROS, NO, PGE₂ et NF- κ B.

En conclusion, les résultats obtenus dans cette étude révèlent que l'extrait *n*-butanol de *Moricandia arvensis* peut être considéré comme une source naturelle pour prévenir l'hépatotoxicité, néphrotoxicité et la cardiotoxicité induite par la doxorubicine, ces propriétés s'expliquent probablement par sa richesse en polyphénols et flavonoïdes.

Mots clés : Doxorubicine, *Moricandia arvensis*, Hépatotoxicité, Néphrotoxicité, Cardiotoxicité, Activité antioxydante, Activité anti-inflammatoire.