



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique et Populaire  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

N° série:

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة الشهيد حمزة لخضر الوادي

Université Echahid Hamma Lakhdar El -OUED

كلية علوم الطبيعة والحياة

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

قسم البيولوجيا

Département de biologie

## MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

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

Spécialité : Biochimie appliquée

### THEME

**Biosynthèse verte des nanoparticules d'oxyde de zinc  
(NP-ZnO) par l'extrait d'*Hélianthème lippii* L. et  
évaluation leur activités biologiques**

Présenté Par :

M<sup>elle</sup> FERHAT Djemaa

M<sup>elle</sup> REDOUANI Islam

Devant le jury composé de :

Président	Dr. KHALAF Yahia	M.A.A, Université d'El Oued.
Promoteur	Dr. DJAHRA ALI Boutlelis	M.A.A, Université d'El Oued.
Examineur	M <sup>elle</sup> ALLOUCHE Djenet	M.A.A, Université d'El Oued.

# *Dédicace*

À l'aide de **ALLAH** tout puissant, qui m'a tracé le chemin de ma vie, j'ai pu réaliser ce travail que je dédie:

À la lumière de mes yeux, l'ombre de mes pas et le Bonheur de ma vie ma **mère El hadj ahmed fadjra** qui ma apporté son appui durant toutes mes Années d' étude, pour son sacrifice et soutien qui m' ont donné Confiance, courage et sécurité.

À mon cher **père mahdjoub** qui ma appris le sens de la persévérance tout Au long de mes études, pour son sacrifice ses conseils et ses Encouragements.

À mes frères : **tedjaní** et **ayoube**

et mes soeurs : **samíra** , **rayane** et **lína** , en reconnaissance de leur affection toujours constant.

À mon fiancé **kassemí mohammed rída** qui donné la force de continuer et pour tout le soutien, l'aide.

À mon binôme **Islam** qui a partagée avec moi les moments difficiles de ce travail et son famille.

À tous mes proches, mes amis, mes camarades de promotion

**Djemaa**

# *Dédicace*

Tout d'abord, je remercie *Allah* le Miséricordieux

Je dédie ce modeste travail à :

Mes très chères parents *REDOUANI Ali* et  
*MENACEUR Ouassila* qui avec beaucoup d'amour et  
de tendresse n'ont jamais cessé de m'encourager et de  
prier pour moi ; ce travail est le fruit de leurs sacrifices  
pour mon éducation.

Merci à mon chère frère *nizar* et ainsi que mes chères  
soeurs *Liela ; wafa ; Soumaia ; Khaouthar ;*  
*Khadija* et *khaoula*. Toute ma famille.

Merci à mes enseignants de l'école primaire jusqu'à  
l'université et aussi à les belles " *GOUBI Sana* " pour  
cet effort et conseil

Merci à mes amis et mes camarades de biochimie,  
végétale et toxicologie avec lesquels j'avais passé des  
bons moments pendant ce cursus, je vous souhaite tout  
le succès.

A ma amie « *Djemaa* » pour leur solidarité envers moi.  
Et tout autre amis qui j'aime.

*Islam*

# Remerciements

Avant, nous remercions Dieu « **Allah** » tout puissant de nous avoir donné la force, le courage, la persistance et nous a permis d'accomplir ce modeste travail. Merci de nous avoir éclairé tout le chemin de la réussite

Nos remerciement chaleureux et nos plus sincère gratitude à notre encadreur "**Dr. DJAHRA ALI boutléfis**", qui a accepté de nous encadrer. On le remercie infiniment pour son aide, ses orientations son patience et son correction sérieuse de ce travail.

Nos vifs remerciements aux membres du jury pour l'honneur qui nous ont fait d'avoir accepté d'examiner notre mémoire.

Nous tenons à remercier profondément tout qui nous aide pour faire ce travail, et surtout tous les enseignants et les travailleurs du laboratoire de la faculté des sciences de la nature et de la vie, université Echahid Hamma Lakhdar d'EL-OUED, en particulier "**GOUBI Sana**" pour leur soutien et les facilités accordées dans la réalisation de ce travail et "**REBIAI Abdelkarim**" de la faculté des sciences departement de la Chimie, université Echahid Hamma Lakhdar d'EL-OUED pour l'aide qu'il nous a apportée.

Nos respects et reconnaissance sont adressés à **Mr BARKA Abd Erraouf**, technicienne au laboratoire CENTRE DE LUTTE CONTRE LE CANCER d'El-oued.

Nos vifs remerciements à tous ceux qui nous ont aidés de près ou de loin pour réaliser ce mémoire.

## Résumé

Le but de cette étude est la biosynthèse verte et caractérisation spectroscopique de Nanoparticule d'Oxyde de zinc ZnO-NPs issu de l'extrait aqueux de l'espèce végétale: *Helianthemum lippii* L. et l'évaluation de pouvoir antioxydant *In vitro* par le test de DPPH et l'évaluation des activités biologiques *In vivo* contre l'intoxication induite par le tétrachlorure de carbone chez des rattes femelles de type *Wistar Albinos*. Notre expérimentation *In vivo* (pendant 15 jours), a été réalisée chez 30 rattes; divisées en 6 lots de cinq rattes chacun, lot 1: témoin, lot 2: intoxiqué par le CCl<sub>4</sub> (25 µl/kg/2j), lot 3: traité avec l'extrait d'*Helianthemum lippii* L. (200mg/kg/jours) et intoxiqué par le CCl<sub>4</sub> (25 µl/kg/2j), lot 4 : traité avec de ZnO-NPs (100 mg/kg/jour) et intoxiqué par le CCl<sub>4</sub> (25 µl/kg/2j), lot 5 : traité avec le mélange Extrait-ZnO-NPs et intoxiqué par le CCl<sub>4</sub> (25 µl/kg/2j), lot 6 : traité avec le Silymarine (200 mg/kg/jour) et intoxiqué par le CCl<sub>4</sub>(25 µl/kg/2j).

Les résultats d'étude phytochimique obtenues montrent que notre extrait aqueux a un rendement de l'ordre de 7,08% et la présence des différents métabolites secondaires tels que : Alcaloïdes ,Terpénoïdes, Saponines, Flavonoïdes et Tanins. De plus, L'analyse quantitative a montré que l'extrait aqueux est riche en polyphénols totaux (175 ±0.0226 mg d'EAG/g d'extrait sec) avec une teneur en flavonoïdes égale à 2.09 ±0.039 mg d'EQC/g d'extrait sec. D'après les résultats IR de la biosynthèse verte de ZnO-NPs, on remarque : groupe fonctionnel impliqué dans la synthèse de ZnO-NPs a illustré dans les pics 980 et 700 cm<sup>-1</sup>, de même les observations du MEB nous conservons des Nanoparticules en cluster de différentes formes avec une taille de l'ordre de nanomètre. L'évaluation de pouvoir antioxydant *In vitro* de l'extrait par le piégeage du radical libre DPPH a donné la valeur d'IC<sub>50</sub> de 0.842 mg/ml. Concernant l'évaluation des activités biologiques *In vivo* on observe une diminution considérable de poids corporelle des individus intoxiqués par CCl<sub>4</sub> et une augmentation de poids relatifs du foie chez le groupe contaminé par le CCl<sub>4</sub> par rapport au témoin. De plus, pour les produits testés : Extrait aqueux et ZnO-NPs nous a impressionnée par leur capacité régulatrice vis-à-vis les taux des enzymes sériques (TGO, TGP, PAL et γ-GT) qu'ils sont perturbés par le CCl<sub>4</sub> avec une diminution très *significatives* ( $p < 0,001$ ), même pour les paramètres biochimique tel que (Bilirubine, Cholestérol ,Triglycéride, Urée et Créatinine).

En conclusion, les résultats de cette étude montrent que : Extrait aqueux et ZnO-NPs et spécialement la synergie entre Extrait aqueux-ZnO-NPs de la plante *Helianthemum lippii* L. peut être proposé pour protéger le foie contre les dommages oxydatifs induits par le tétrachlorure de carbone.

**Mots clés:** Biosynthèse verte, Nanoparticule d'Oxyde de zinc, *Helianthemum lippii* L., Pouvoir antioxydant, CCl<sub>4</sub>.

الهدف من هذه الدراسة هو التخليق الحيوي الأخضر والتوصيف الطيفي لجسيمات النانوية لأكسيد الزنك من المستخلص المائي للنوع النباتي "*Helianthemum lippii L*" وتقييم النشاطية المضادة للأكسدة في المختبر عن طريق الاختبار DPPH وتقييم الأنشطة البيولوجية في الجسم الحي ضد التسمم الناجم عن رابع كلوريد الكربون في إناث الفئران من نوع Wistar Albinos. أجريت تجربتنا في الجسم الحي (لمدة 15 يومًا) على 30 فأرة؛ مقسمة إلى 6 دفعات كل منها خمس فئران، الدفعة 1: الشاهد، الدفعة 2: مسممة بواسطة  $CCl_4$  (25 ميكرو لتر / كغ / 2 يوم)، الدفعة 3: تمت معالجتها بخلاصة *Helianthemum lippii L* (200 مغ / كغ / يوم) وتسمم بـ  $CCl_4$  (25 ميكرو لتر / كغ / 2 يوم)، الدفعة 4: عولجت بجسيمات النانوية لأكسيد الزنك (100 مغ / كغ / يوم) وتسممت بـ  $CCl_4$  (25 ميكرو لتر / كغ / 2 يوم)، الدفعة 5: المعالجة مع خليط *Extrait-ZnO-NPs* وتسميها بواسطة  $CCl_4$  (25 ميكرو لتر / كجم / 2 يوم)، الدفعة 6: معالجة بواسطة سيليمارين (200 مغ / كغ / يوم) مسممة بـ  $CCl_4$  (25 ميكرو لتر / كغ / 2 يوم). أظهرت نتائج الدراسة الكيميائية النباتية التي تم الحصول عليها أن مستخلصنا المائي له مردود يبلغ حوالي 7.08٪ ووجود مركبات ثانوية مختلفة مثل: القلويدات، التربينويدات، الصابونين، الفلافونويد والتانينات. بالإضافة إلى ذلك، أظهر التحليل الكمي أن المستخلص المائي غني بالبوليفينول الكلي ( $175 \pm 0.0226$  مع من EAG / غ من المستخلص الجاف) مع محتوى فلافونويد ( $0.039 \pm 2.09$  مغ من EQC / غ من المستخلص الجاف). وفقًا لنتائج الأشعة تحت الحمراء (IR) للتخليق الحيوي الأخضر لـ *ZnO-NPs*، نلاحظ: مجموعة وظيفية تشارك في تخليق *ZnO-NPs* الموضحة في ذروة 700 و 980، وبالمثل، فإن ملاحظات مسح المجهر الإلكتروني (MEB) تظهر الجسيمات النانوية متجمعة من أشكال مختلفة مع حجم نانومتري. أعطى تقييم النشاطية المضادة للأكسدة في المختبر للمستخلص عن طريق محاصرة الجذور الحرة DPPH قيمة  $IC_{50}$  قدرها 0.842 مغ / مل. أما بخصوص تقييم الأنشطة البيولوجية في الجسم الحي، هناك انخفاض كبير في وزن الجسم للأفراد المصابين بالتسمم بواسطة  $CCl_4$  وزيادة في أوزان الكبد النسبية في المجموعة الملوثة بـ  $CCl_4$  مقارنةً بمجموعة الشاهد. بالإضافة إلى ذلك، بالنسبة للمنتجات التي تم اختبارها: لقد أبعرنا المستخلص المائي و *ZnO-NPs* بقدرتهما التنظيمية فيما يتعلق بمستويات إنزيمات المصل (TGO, TGP, PAL et  $\gamma$ -GT) التي اضطرت بواسطة رابع كلوريد الكربون مع انخفاض معنوي جدا ( $p < 0.001$ )، نفس الشيء فيما يخص المعايير البيوكيميائية مثل Bilirubine, (Cholestérol, Triglycérine, Urée Créatinine).

في الختام، أظهرت نتائج هذه الدراسة أن: المستخلص المائي و *ZnO-NPs* وخاصة التآزر بين المستخلص المائي- *ZnO-NPs* لنبات *Helianthemum lippii L* يمكن اقتراحه لحماية الكبد من التلف التأكسدي الناجم عن رابع كلوريد الكربون.

**الكلمات المفتاحية:** التخليق الحيوي الأخضر، جزيئات النانوية لأكسيد الزنك،

*Helianthemum lippii L*، فاعلية مضادة للأكسدة، رابع كلوريد الكربون.

## ABSTRACT

The aim of this study is the green biosynthesis and spectroscopic characterization of ZnO-NPs Zinc Oxide Nanoparticle from the aqueous extract of the plant species: *Helianthemum lippii* L. and the evaluation of antioxidant power In vitro by the test of DPPH and the evaluation of the biological activities in vivo against poisoning induced by carbon tetrachloride in female rats of the Wistar Albino type.

Our in vivo experiment (for 15 days) was carried out on 30 rats; divided into 6 batches of five rats each, batch 1: control, batch 2: intoxicated by CCl<sub>4</sub> (25 µl / kg / 2d), batch 3: treated with the extract of *Helianthemum lippii* L. (200 mg / kg / day) and intoxicated by CCl<sub>4</sub> (25 µl / kg / 2d), batch 4: treated with ZnO-NPs (100 mg / kg / day) and intoxicated by CCl<sub>4</sub> (25 µl / kg / 2d), batch 5: treated with the Extract-ZnO-NPs mixture and intoxicated by CCl<sub>4</sub> (25 µl / kg / 2d), batch 6: treated with Silymarin ( 200 mg / kg / day) and intoxicated by CCl<sub>4</sub> (25 µl / kg / 2d). The phytochemical study results obtained show that our aqueous extract has a yield of around 7.08% and the presence of various secondary metabolites such as: Alkaloids, Terpenoids, Saponins, Flavonoids and Tannins. In addition, the quantitative analysis showed that the aqueous extract is rich in total polyphenols (175 ±0.0226 mg of EAG / g of dry extract) with a flavonoid content equal to 2.09 ± 0.039 mg of EQC / g of dry extract. According to the IR results of the green biosynthesis of ZnO-NPs, we notice: functional group involved in the synthesis of ZnO-NPs illustrated in parts 980 and 700 cm<sup>-1</sup>, likewise the observations of the SEM we keep Nanoparticles cluster of different shapes with a size of the order of nanometer. Evaluation of the extract's antioxidant power in vitro by scavenging the free radical DPPH gave the IC<sub>50</sub> value of 0.842 mg / ml. Dismaying the evaluation of biological activities In vivo, there is a considerable decrease in body weight of individuals poisoned by CCl<sub>4</sub> and an increase in relative liver weights in the group contaminated with CCl<sub>4</sub> compared to the control. In addition, for the products tested: Aqueous extract and ZnO-NPs impressed us with their regulatory capacity with respect to the levels of serum enzymes (TGO, TGP, PAL and γ-GT) that they are disturbed by CCl<sub>4</sub> with a very significant decrease (p <0.001), even for biochemical parameters such as (Bilirubin, Cholesterol, Triglyceride, Urea and Creatinine).

In conclusion, the results of this study show that: Aqueous extract and ZnO-NPs and especially the synergy between aqueous extract-ZnO-NPs of the plant *Helianthemum lippii* L. can be proposed to protect the liver against oxidative damage induced by tetrachloride of carbon.

**Key words :** Green biosynthesis, Zinc Oxide Nanoparticle, *Helianthemum lippii* L, Antioxidant power, CCl<sub>4</sub>.

## Liste d'abréviation

- Ac:** Absorbance du contrôle
- ADN:** Acide désoxyribonucléique.
- Apo B:** Apolipoprotéine B
- ARN:** Acide ribonucléique.
- At:** Absorbance de test effectué
- CCl<sub>4</sub>:** Tétrachlorure de carbone
- Cu/Zn-SOD:** Superoxyde dismutase aux ions cuivre et zinc
- Cu:** Cuivre
- CYP- 450:** Cytochrome P 450
- DPPH :** Diphenyl picryl hydrazyl
- ERO :** Espèces réactives de l'oxygène
- GRAS:** Generally Recognized as Safe
- GSH:** Glutathion réduit
- H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>:** peroxyde d'hydrogène.
- HO•:** Radical hydroxyl
- IC<sub>50</sub> :** concentration inhibitrice 50
- KC :** cellules de Kupffer
- LPO :** Les peroxydes lipidiques.
- MDA:** Malondialdéhyde
- MT:** Métallo-thionéine.
- NaCl:** Chlorure de Sodium
- NH<sub>2</sub>:** Groupement amine
- NPs :** Nanoparticules
- NPs-ZnO :** Nanoparticules des oxyde de zinc
- O<sub>2</sub><sup>-</sup>:** Ions superoxydes.
- O<sub>2</sub>:** Oxygène.
- O<sub>2</sub><sup>•-</sup>:** Radical superoxyde (anion superoxyde).
- OMS:** Organisation Mondiale de la Santé
- PA:** La phosphatase alcaline.
- R:** Rendement
- RE:** Reticulum endoplasmique
- ROS:** Espèces activées de l'oxygène.

**Sly:** Silymarine

**TGO:** Glutamate oxalo acétate-transaminase

**TGP :** Transaminase glutamique pyruvique

**TNF:** Facteur de Nécrose Tumorale

**tr/min :** tour par minute

**UV:** Ultra Violets

**VIS:** Visible

**Zn:** Le zinc

**ZnO:** Oxyde de zinc

## Listes des Figures

Figure	Titre	Page
Figure 01	Mécanisme de l'absorption du zinc	6
Figure 02	Modes d'internalisation cellulaire des NPs en fonction de leur taille	9
Figure 03	Vue générale de la plante de <i>Helianthemum lippii</i> L	12
Figure 04	Formule brute de tétrachlorure de carbone	14
Figure 05	Séquence chronobiologique d'événements au cours de dommages du foie Provoqués par le CCl <sub>4</sub>	17
Figure 06	Molécules composants de la silymarine	19
Figure 07	la partie aérienne d' <i>Helianthemum lippii</i> L (photo originale).	23
Figure 08	photo présente le médicament utilisé Silymarine (photo originale).	25
Figure 09	Mécanisme réactionnel intervenant lors du test DPPH entre l'espèce radicalaire DPPH et un antioxydant	28
Figure 10	Plan expérimental d'étude	31
Figure 11	Rendement de l'extrait brut d' <i>Helianthemum lippii</i> L.	33
Figure 12	Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.	34
Figure 13	Courbe d'étalonnage de Quercetin.	35
Figure 14	spectroscopie infrarouge des nanoparticules de zinc synthétisé par l'extrait de <i>Helianthemum lippii</i> L.	36
Figure 15	Image de Microscope Electronique à Balayage (MEB) des nanoparticules de zinc synthétisé par l'extrait d' <i>Helianthemum lippii</i> L.	36
Figure 16	Variation de valeurs d'IC <sub>50</sub> de <i>Helianthemum lippii</i> L. et l'Acide ascorbique.	37
Figure 17	Taux de TGP et TGO chez les rates intoxiqués et traités.	38
Figure 18	Le taux de PAL et GAMMA GT chez les rates intoxiqués et traités.	38
Figure 19	Taux de bilan hépatique chez les rates intoxiqués et traités.	39
Figure 20	Le taux de Cholestérol et Triglycéride chez les rates intoxiqués et traités.	40
Figure 21	Le taux d'Urée et Créatinine chez les rates intoxiqués et traités.	40

**Listes des Tableaux**

<b>Tableau</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
Tableau 01	Principales propriétés physiques de l'oxyde de Zinc	10
Tableau 02	classification de l'espèce végétale <i>Helianthemum lippii</i> L.	12
Tableau 03	Propriétés physico-chimiques de tétrachlorure de carbone	15
Tableau 04	Résumé du protocole expérimental suivi et concentrations utilisées.	30
Tableau 05	Composants phytochimique de l'extrait aqueux d' <i>Helianthemum lippii</i> L.	33
Tableau 06	Teneur en composés phénoliques totaux de l'extrait brut d' <i>Helianthemum lippii</i> L.	34
Tableau 07	Teneur des Flavonoïdes de l'extrait brut d' <i>Helianthemum lippii</i> L.	35
Tableau 08	Le poid corporel, poids du foie et poids relatif du foie des différents lots des rats.	37

## Table de matière

<b>Dédicace</b>	
<b>Remerciements</b>	
<b>Résumé</b>	
<b>Liste d'abréviation</b>	
<b>Listes des Figures</b>	
<b>Listes des Tableaux</b>	
<b>Table de matière</b>	
<b>Introduction</b>	<b>1</b>
<b>Synthèse Bibliographique</b>	
<b>Chapitre I : Zinc et Nanoparticules d'oxyde de Zinc</b>	
1. Généralité	<b>5</b>
2. Métabolisme de zinc	<b>5</b>
3. Zinc et le stress oxydatif	<b>6</b>
4. Nanoparticules	<b>7</b>
4.1. Propriété des Nanoparticules	<b>8</b>
4.2. Pénétration cellulaire des nanoparticules	<b>8</b>
4.3. Biosynthèse des nanoparticules	<b>9</b>
5. Oxyde de Zinc	<b>10</b>
6. Application des nanoparticules d'oxyde de zinc	<b>10</b>
6.1. Activité antioxydant des nanoparticules d'oxyde de zinc	<b>11</b>
<b>Chapitre II : Etude de l'espèce végétale <i>Helianthemum Lippii</i> L.</b>	
1. Description botanique	<b>12</b>
2. Classification botanique	<b>12</b>
3. Noms vernaculaires	<b>13</b>
4. Localisation géographique	<b>13</b>
5. Propriétés et usages thérapeutiques	<b>13</b>
<b>Chapitre III : Agent Toxique Tétrachlorure de Carbone</b>	
1. Définition	<b>14</b>
2. Caractéristiques de tétrachlorure de carbone	<b>14</b>
3. Utilisation de tétrachlorure de carbone	<b>15</b>
4. Effet de tétrachlorure de carbone	<b>15</b>

4..1 Chez l'Homme	15
4.2. Chez l'animale	16
5. Mécanisme hépato-toxicité de tétrachlorure de carbone	16
<b>Chapitre IV : Le Médicament Silymarine</b>	
1. Généralité	18
2. Composition de Silymarine	18
3. Usage de Silymarine	19
4. Pharmacocinétique de Silymarine	20
<b>Partie expérimentale</b>	
<b>Matériels et Méthodes</b>	
1. Matériels utilisés	23
.1.1 Matériel végétal	23
1.1.1. Récolte	23
1.1.2. Séchage	24
.1.2 Matériel animal	24
1.3. Tétrachlorure de carbone	24
1.4. Silymarine	24
2. Méthodes suivies	25
2.1. Etude phytochimique	25
2.1.1. Préparation de l'extrait aqueux	25
2.1.2. Tests phytochimique	26
2.1.3. Dosage des composés phénoliques totaux	26
2.1.4. Méthode de dosage des Flavonoïdes	27
2.1.5. Préparation de Nanoparticule d'oxyde de zinc	27
2.2. Etude antioxydant In-vitro	28
2.2.1. Test de 2, 2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH)	28
2.3. Etude antioxydant In-vivo	29
2.3.1. Préparation de dose de Silymarine	29
2.3.2. Préparation de la dose de l'extrait végétal	29
2.3.3. Préparation de dose de Tétrachlorure de carbone	29
2.3.4. Préparation de dose de Nanoparticule d'oxyde de zinc	29
2.4. Protocole expérimental	29
2.5. Sacrifice et prélèvement de sang et organe	30

2.5.1. Prélèvement de sang	30
2.6. Dosage des paramètres biochimiques sériques	30
2.7. Etude statistique	30
<b>Résultats</b>	
Résultats	33
1. Etude phytochimique	33
1.1. Rendement de l'extrait brut	33
1.2. Tests phytochimique	33
1.3. Teneur des composés phénoliques totaux	34
1.4. Teneur en Flavonoïdes	34
1.5. Caractérisation par spectroscopie Infrarouge (IR)	35
1.6. Caractérisation par Microscope Electronique à Balayage (MEB)	36
2. Etude antioxydant In-vitro	37
2.1. Test de 2, 2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH)	37
3. Etude antioxydant In-vivo	37
3.1. Effet sur les poids	37
3.2. Effet sur les teneurs en enzymes sériques	39
3.3. Effet sur les paramètres de bilan hépatique	40
3.4. Effet sur les paramètres de bilan lipidique	40
3.5. Effet sur les paramètres de bilan rénal	40
Discutions	
Conclusion et perspectives	
Références bibliographique	
Annexe	

# *Introduction*

## Introduction

Au cours de ces dernières années, de nombreuses études et recherches se sont focalisées sur les nanomatériaux. Elles ont reçu une énorme attention en raison de leurs applications en optique, biologie, médecine,... etc (WIESNER et *al.*,2007).La nanotechnologie s'est développée énergiquement comme un domaine indispensable de la recherche moderne avec effets en électronique, biochimie et biotechnologie (GNANASANGEETHA et *al.*,2014).

La biosynthèse des nanoparticules biologiquement sont un aspect important de la nanotechnologie. Avec l'avènement des nouvelles technologies et l'amélioration des connaissances scientifiques ont ouvert la voie à l'utilisation d'entités biologiques dans la synthèse de nanoparticules parmi lesquelles l'emploi de plantes pour la synthèse de nanoparticules peut être avantageux par rapport à d'autres entités biologiques (KAVITHA et *al.*,2013).La synthèse biologique des nanoparticules par extrait végétal est actuellement exploitée au motif que développer une synthèse de nanoparticules bénigne pour l'environnement afin d'éviter des effets néfastes dans les applications biomédicales (KAVITHA et *al.*,2011). Certaines nanoparticules jouent un rôle important dans décomposition des radicaux libres, détruisant ainsi les dommages oxydatifs du corps humain (Rehana et *al.*,2017). Dans à cet égard, il est possible d'utiliser des nanoparticules vertes. qui présentent des propriétés antioxydantes puissante contre le stress oxydative . Parmi les nanoparticules, ZnO-NPs peuvent être mentionnés que ont été considérés dans les domaines scientifique et industriel applications au cours des dernières décennies(ZAMAN,2012). des études précédentes ont montré que des ZnO-NP ont été signalés pour les cellules humaines non toxiques. Cet aspect fait leur utilisation comme agents antioxydant puissant , et leur adaptation aux cellules humaines (SIRELKHATIM et *al.*,2013).

Des rapports récents sur les plantes vers la production de nanoparticules auraient des avantages tels que facilement disponibles, sûrs à manipuler et une large gamme de des biomolécules telles que les alcaloïdes, les terpénoïdes, les phénols, les flavanoïdes, les tanins, etc (KAVITHA et *al.*,2013).

En Algérie, nous avons longtemps eu recours à la médecine traditionnelle grâce à la richesse et la diversité floristique de notre pays, qui constitue un véritable réservoir phytogénétique, avec environ 3000 espèces appartenant à plusieurs familles botaniques (BOUZID et *al.*,2016). parmi les plantes médicinales le *Helianthemum lippii* qui est une source très riche en polyphénol que l'on rencontre dans les feuilles. Elle est largement utilisée dans la médecine traditionnelle pour leurs propriétés antimicrobienne, antitumorale,

antivirale anti inflammatoire, antifongique, anti oxydante, activités spasmolytique et hypotensive (BOUAMAMAA et *al.*,2006).

Les troubles hépatiques sont généralement causés par des produits chimiques toxiques, des médicaments ou des infections pathogènes, et sont considérés comme problèmes de santé publique graves (GORDILLO et *al.*,2017;CHAO et *al.*,2013). L'un des meilleurs modèles de lésions hépatiques provient du tétrachlorure de carbone est un solvant utilisé dans l'industrie chimique et il est bien connu par ses effets néfastes sur la santé notamment l'hépatotoxicité (ADEWALE et *al.*,2014).

À la lumière de ces informations, L'objectif de cette étude est la fabrication de nanoparticules d'oxyde de zinc par approche verte et évaluation l' activités biologiques de nanoparticule d'oxyde de zinc synthétisé biologiquement à base de *Helianthemum lippii* L. contre des altérations physiologiques induit par le CCL<sub>4</sub> chez les rattes Wistar. En utilisant des outils biochimiques

Ce travail est divisé en deux parties: La première partie est consacrée à la synthèse bibliographique qui comporte quatre chapitres.Le premier chapitre concernant zinc et nanoparticules d'oxyde de zinc , le deuxième chapitre concernant étude de l'espèce végétale *Helianthemum lippii* L.,Le troisième chapitre est agent toxique tétrachlorure de carbone,et la dernière chapitre sur le médicament silymarine .La deuxième partie est consacrée à la partie expérimentale qui contient le chapitre des matériels et méthodes utilisées durant ce travail et le chapitre des résultats et discussion qui contient la présentation des résultats et leur interprétation en se basant sur ce qui était dit dans la partie bibliographie.

# *Synthèse Bibliographique*

## Chapitre I : Zinc et Nanoparticules d'oxyde de Zinc

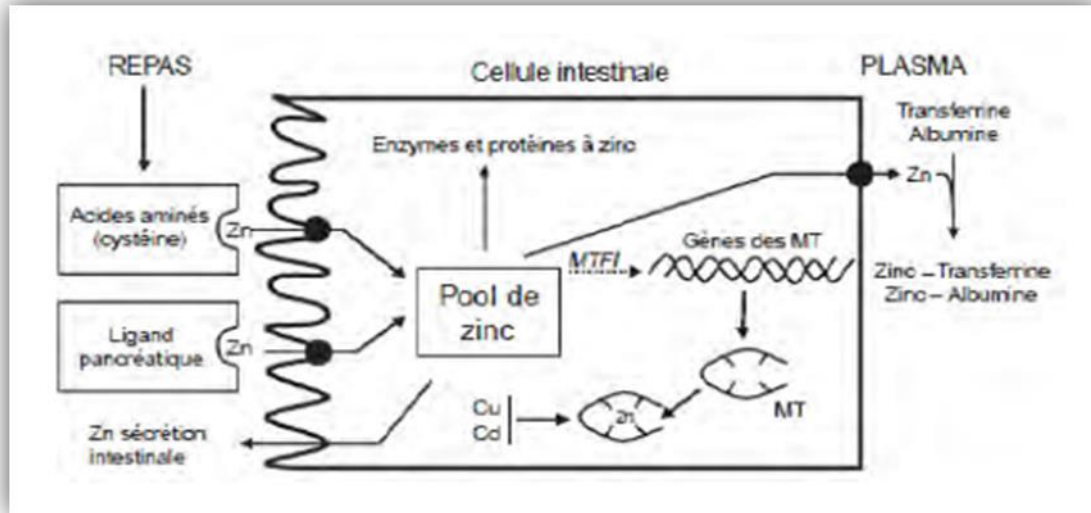
### 1. Généralité

Le zinc est un oligo-élément présent dans toutes les cellules et est essentiel pour le fonctionnement normal des tissus et organes du corps (PORIES,1976). Le Zn agit en tant qu'antioxydant et sa carence entraîne une augmentation des lésions oxydatives des tissus (OTEIZA et *al.*, 1995).Zn n'a jamais été montré pour interagir directement avec une espèce oxydante mais préfère plutôt exercer ses effets dans de manière indirecte (POWELL et *al.*, 2000).En plus, le zinc stimule les défenses immunitaires ainsi que le renouvellement cellulaire, cet oligo-élément participe à la formation de nouveaux tissus, d'où son rôle essentiel dans la croissance des enfants. Il favorise le développement des lymphocytes T, qui nous défendent contre microorganismes pathogènes,et aide aussi à la cicatrisation des plaies (MANSOURI,2014) .

D'autre part, L'atome de zinc est présent dans plus de 200 métallo-enzymes ; Il est essentiel et agit comme cofacteur enzymatique dans de nombreux processus métaboliques de l'être humain (LEFEVRE,2002).Il entre dans la composition de nombreuses enzymes et joue un rôle dans la synthèse des protéines. Le Zn agit en tant qu'antioxydant et sa carence entraîne une augmentation des lésions oxydatives des tissus (OTEIZA et *al.*,1995).

### 2. Métabolisme de zinc

L'absorption intestinale du Zinc est une étape clé de son métabolisme car elle assure en grande partie la régulation de la teneur en ce métal dans le corps humain (WILLIS et *al.*, 2005).De nombreux facteurs alimentaires et physiologiques modulent cette absorption et le transfert du zinc vers le compartiment sérique. Le mécanisme de passage de la muqueuse intestinale implique la fixation du zinc sur une métallo-thionéine puis sur d'autre protéine dans les cellules intestinales (GOYER,1995). D'autre façon le mode d'absorption est saturable : le zinc induit la synthèse de la métallo-thionine, dans les cellules muqueuses intestinales. La saturation de ces dernières provoque la rétention du complexe zinc- métallo-thionine dans les cellules muqueuses qui tapissent le tractus gastro-intestinale son excrétion (Figure 01) (JAKUBOVSKI,2001).



**Figure 01** : Mécanisme de l'absorption du zinc (Seve,2002).

Après l'absorption intestinale ; la diffusion de zinc se fait dans le plasma, les érythrocytes les leucocytes et les plaquettes. Dans le plasma, le zinc est fixé à des protéines principalement l'albumine (60%) et l'alpha 2 macroglobuline, et des aminoacides qui servent de transport. Initialement, le zinc est concentré dans le foie (60%) et les reins, fixé sur une métallo-thionine. La synthèse de cette protéine hépatique est stimulée quand la concentration plasmique en zinc est élevée. Puis le zinc est distribué dans tout l'organisme (JAKUBOVSKI, 2001). Le zinc traverse la muqueuse intestinale à partir de 0.4% dans la nourriture et passe dans le lait maternel (LANDOWN, 1991). La majorité est répartie dans les muscles (60%), et dans les os (30%) ; le reste se distribue entre le foie la prostate, le tractus gastro-intestinale les reins, la peau, les poumons, le cerveau, le cœur et le pancréas (JAKUBOVSKI, 2001).

L'excrétion du zinc se fait principalement par le tube digestif. Le zinc fécal (environ 10 mg/j) correspond au zinc non absorbé (67%) des aliments et à du zinc endogène (33%). Aussi, environ 0,5 mg de zinc peut être perdu chaque jour par la sueur de même que dans les urines (APOSTOLI,2002;LEE,2000).Les autres fluides corporels sont également des voies importantes d'élimination du zinc (FAVIER,1990).

### 3. Zinc et le stress oxydatif

Le zinc est considéré comme un antioxydant, plusieurs études ont révélé la capacité du zinc contre le stress oxydatif et épuisement du glutathion. Cet oligo-élément a un rôle sur stabilisation de la Cu/Zn-SOD (POISSON,2014). De plus, le zinc joue un rôle vital dans la protection contre les dommages des radicaux libres (BANNISTER,1987). La prise de zinc conduit à long terme à l'induction des protéines antioxydantes comme les métallothionéines

(MT). Le zinc protège également les groupements thiols des protéines et peut inhiber partiellement les réactions de formation des espèces oxygénées induites par le fer ou le cuivre (MEZZETTI *et al.*,1998). Oligo-élément zinc retarde les processus oxydatifs par plusieurs mécanismes. Précisément ; la génération réduite des espèces réactives oxygénées ROS telle que :  $O_2^{\cdot}$  et  $H_2O_2$ . En plus, Le zinc induit également la génération de métallothionéine, qui est très riches en cystéine et un excellent piègeur d'OH. (PRASAD, 2014).

Le zinc joue un rôle important en cours la stabilisation des groupes sulfhydryles R-SH contre l'oxydation (BRAY et BETTGER.,1990; POWELL,2000). Il y a trois façons dans lequel le zinc réduit la réactivité sulfhydryle. Tout d'abord, le zinc se lie directement au groupe thiol. Deuxièmement, cela crée un obstacle stérique, en se liant à proximité immédiate du groupe sulfhydryle de la protéine. Troisièmement, il modifie la conformation de la protéine, en se liant à l'autre site de la protéine. Le zinc est antagonisant les réactions catalysées par les métaux de transition, (POWELL,2000). Il a été démontré que les métaux de transition tels que le cuivre et le fer redox actifs catalysent la formation de radicaux, principalement par Réaction de Fenton (JOMOVA et VALKO.,2011). Ces métaux de transition formée des complexes avec des composants cellulaires, tels que les nucléotides, le glucose et les citrates pour le fer et glucides, ADN et enzymes pour le cuivre. Lorsque le métal est complexé, il devient piégé et réagit avec  $H_2O_2$  et forme un radical hydroxyle réactif ( $HO^{\cdot}$ ). Cela conduit à la peroxydation lipidique, à l'ADN et des dommages aux protéines, et par conséquent des lésions tissulaires graves. Le zinc est capable de remplacer le cuivre et le fer et réduire les lésions oxydatives localisées (POWEL,2000).

#### 4. Nanoparticules

Les nano particules (NPs) sont généralement, considérés comme un nombre d'atomes ou molécules, reliées entre eux avec un rayon inférieur à 100 nm. Nous pouvons les définir d'une façon pratique, comme étant un agrégat ou un ensemble d'atomes dont les dimensions sont comprises entre 1 et 100 nm (DAHMOUN,2013). Cette taille leur permet l'interagir facilement avec les composants biologiques. Ils comprennent un grand classe des particules ayant des propriétés médicales environnementales et commercialement importantes (TEEGUARDEN *et al.*,2014). Il est composé d'un oxyde métallique qui reste l'un des composés reconnus comme étant sans danger qui classe comme un matériau (GRAS) ne par l'agence américaine Food and Drug Administration (FDA)(JAMDAGNI *et al.*,2016).

#### 4.1. Propriété des Nanoparticules

Les nanoparticules présentent des propriétés qui sont fonction de leur composition, de leur structure cristalline, de la surface exposée ainsi que de leur procédé de synthèse. Cependant, quelle que soit leur origine, les nanoparticules possèdent des propriétés physiques communes qui découlent notamment de leur dimension. Lorsque la taille diminue, la surface spécifique augmente, le nombre d'atomes en surface devenant plus important. Cela a pour conséquence une modification des propriétés optiques, électriques, magnétiques, physiques (abaissement de la température de fusion), catalytiques (réactivité accrue) du matériau sous forme nano-particulaire par comparaison au même matériau à l'échelle microscopique (BUZEA et *al.*, 2007; PREINING, 1998). Les propriétés des nanoparticules sont pour la plupart directement liées à leur petite taille ainsi qu'à leur surface. Lorsque la taille diminue, le nombre de particules par gramme de matière croît considérablement. Ainsi, le nombre d'atomes localisés en surface, c'est-à-dire en contact avec le milieu environnant augmente. De plus, la réactivité d'une nanoparticule dépend de sa surface. Le rapport surface/particules et surface/masse étant beaucoup plus important pour les nanoparticules que pour les particules microscopiques, leur réactivité augmente (BUZEA et *al.*, 2007; WITSCHGER and FABRIES., 2005). Les propriétés optiques des nanoparticules s'avèrent également très intéressantes (SEZNEC, 2014). Grâce à ces propriétés, les nanoparticules d'oxyde de zinc (NPs-ZnO) ont fait l'objet d'une attention accrue dans les applications biomédicales (JIANG et *al.*, 2018).

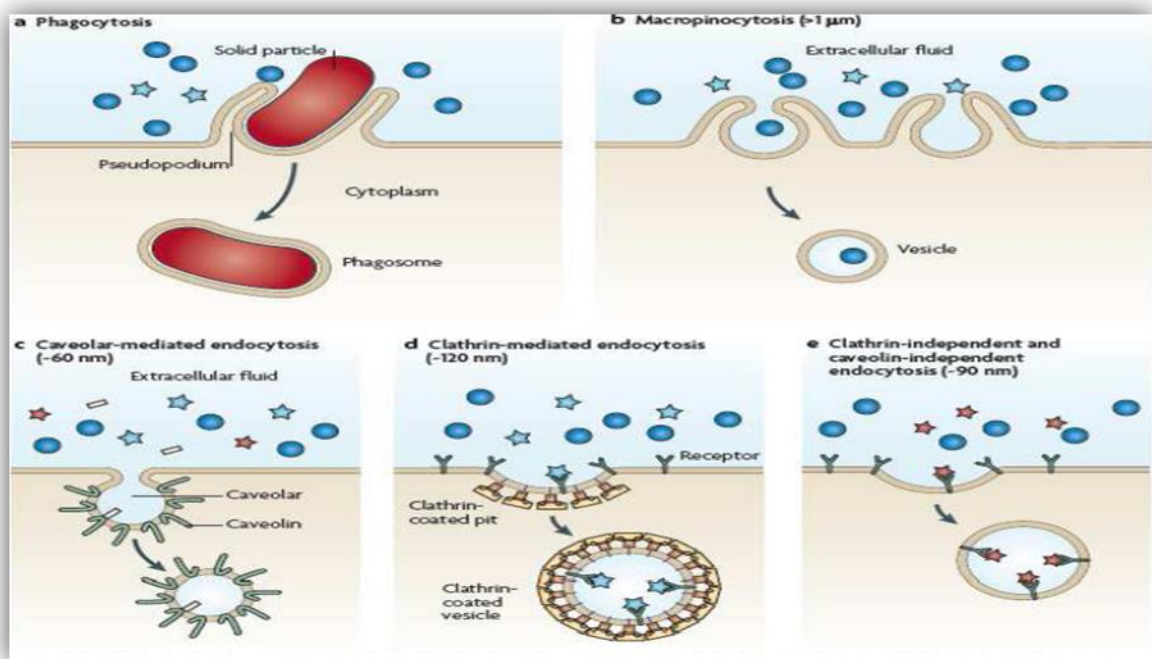
#### 4.2. Pénétration cellulaire des nanoparticules

La taille régit tout d'abord la profondeur d'atteinte des NPs dans l'organisme (TRIBOULE, 2013). Il est bien établi que les nanomatériaux de plus petite taille ont une plus grande capacité de pénétrer les cellules (NABESHI et *al.*, 2010; SAKAI et *al.*, 2011). La capacité des NPs de certaines tailles à pénétrer plus facilement les cellules peut être liée à différents mécanismes d'entrée dans la cellule en fonction de la taille (KRUG et WICK., 2011). Lorsque les NPs atteignent la membrane extérieure d'une cellule, ils peuvent interagir avec les composants de la membrane plasmique ou de la matrice extracellulaire et entrer dans la cellule (BEHZADI et *al.*, 2018), par plusieurs mécanismes peuvent être mis en jeu :

- ✓ La phagocytose, qui concerne les très grosses particules de 1 à plusieurs micromètres ou dizaines de micromètres de diamètre.

- ✓ La pinocytose et la macro-pinocytose, correspondant à l'internalisation non spécifique de fluides extracellulaires, mais aussi parfois de particules de l'ordre de quelques centaines de nanomètres à quelques  $\mu\text{m}$  de diamètre, respectivement.

Des processus d'endocytose, plus fréquents pour des NPs de taille inférieure à 200 nm, (PETROS et *al.*,2010;JIANG et *al.*,2008). Selon le type de cellule, ainsi que les protéines, lipides et d'autres molécules impliquées dans le processus, l'endocytose peut être classée en différents types d'endocytose; endocytose médiée par la clathrine, endocytose médiée par la cavéoline, endocytose indépendante de la clathrine / cavéole et macro-pinocytose (BEHZADI et *al.*,2018) et dont la nature et l'efficacité dépendent aussi du type cellulaire et de la chimie de surface des NPs (Figure 02) (PETROS et *al.*,2010;JIANG et *al.*,2008). De plus, il semblerait qu'il existe une taille optimale d'internalisation lors des mécanismes d'endocytose (CHITHRANI et *al.*,2006).



**Figure 02** : Modes d'internalisation cellulaire des NPs en fonction de leur taille (CHITHRANI et *al.*,2006).

### 4.3. Biosynthèse des nanoparticules

Parmi les sources biologiques employées pour la synthèse des nanoparticules, la synthèse médiée par les plantes (Extraits des végétaux) est très courante lorsque les composés phytochimiques bioactifs dérivés des plantes sont utilisés pour la production de nanoparticules. Récemment, la synthèse des nanoparticules par l'intermédiaire d'extraits de

plantes est devenue l'une des alternatives populaires par rapport aux méthodes conventionnelles. Les approches de biosynthèse ou de synthèse verte ont retenu l'attention car elles sont rentables, innovantes et l'utilisation de produits chimiques toxiques et les conditions difficiles de réduction et de stabilisation sont évitées (MASON et *al.*,2012). Diverses nanoparticules de métal et d'oxyde métallique ont été synthétisées avec succès à l'aide de sources biologiques (HUSEN et *al.*,2014; SINGH et *al.*,2016; FARHANA et *al.*,2017).

Dans ce contexte là, nous nous sommes intéressé par l'extraction des l'extrait végétal riche en principes actifs d'une espèce végétale et la formation des nanoparticules d'oxyde de zinc ZnO.

## 5. Oxyde de Zinc

Le ZnO est un composé inorganique de formule chimique «ZnO» (BOZETINE,2017; DAHMOUN,2013), multifonctionnel en raison de ses propriétés physiques et chimiques uniques ( Tableau 01 ). Est un matériau non toxique, et d'une importante abondance sur terre (ROUMILI,2016). Il se présente généralement sous forme de poudre blanche, presque insoluble dans l'eau, largement utilisée comme additif dans de nombreux matériaux et produits biomédicales (JACOBSSON,2009). il est possède plusieurs propriétés intéressantes: une bonne transparence, une mobilité des électrons importante, une large bande interdite et une forte luminescence à température ambiante (HARVEYBROWN,1957).

**Tableau 01** : Principales propriétés physiques de l'oxyde de Zinc (DAHMOUN,2013).

Propriété	Valeur
Masse volumique	5,506 g cm <sup>-3</sup>
Point de fusion	Point de fusion
Conductivité thermique	1 -1,2 Wm <sup>-1</sup> K <sup>-1</sup>
Masse effective de l'électron	0,24
Energie de liaison des exciton	60 meV
Energie de la bande interdite	3,4 eV (direct)

## 6. Application des nanoparticules d'oxyde de zinc

Les NP-ZnO ont des intérêts considérables dans divers domaines, elles sont considérés comme relativement biocompatibles, ce qui soutient leurs applications biomédicales et représente une propriété puissante dans la promotion de la recherche biomédicale (JIANG et

al.,2018). Y compris les antidiabétiques, anti-inflammatoires, activités anticancéreuses, antibactériennes et antioxydantes, (RASMUSSEN et *al.*,2010).

### **6.1. Activité antioxydant des nanoparticules d'oxyde de zinc**

Les NP-ZnO pourraient être utilisées comme antioxydant puissant et comme traitement adjuvant efficace aux médicaments chimio-thérapeutiques qui provoquent des troubles de la reproduction chez les hommes. Ceci était basé sur la capacité des NP-ZnO à augmenter l'efficacité thérapeutique de la doxorubicine et à réduire propriétés gonado-toxiques de la doxorubicine (BADKOOBEH et *al.*,2013).

Dans le même contexte, les NP-ZnO avaient la capacité d'augmenter les niveaux d'enzymes antioxydantes et de diminuer niveau de malondialdéhyde (MDA). Par conséquent, les NP-ZnO pourraient protéger l'intégrité de la membrane cellulaire contre dommages dus au stress oxydatif (DAWEI et *al.*,2009).

Les faibles doses de NP-ZnO avaient des effets cytoprotecteurs. Ces particules pourraient améliorer l'activité antioxydante et diminuer les niveaux de radicaux libres. Donc les NP-ZnO pourraient protéger les cellules hépatiques de l'effet néfaste des xénobiotiques (ATEF et *al.*,2016).

## Chapitre II : Etude de l'espèce végétale *Helianthemum lippii* L.

### 1. Description botanique

C'est une plante herbacée vivace à feuilles persistantes dures, petites, de hauteurs variant de 10 à 45 cm et pouvant atteindre jusqu'à 50 cm (CHOUIKH et *al.*,2015), portant 5 sépales dont deux plus petits, 5 pétales qui tombent très vite après la floraison, de nombreuses étamines, un ovaire formé de 3 carpelles soudés et coiffé d'un style unique coudé. (BOUZERKOUNE,2009)



**Figure 03** : Vue générale de la plante de *Helianthemum lippii* L (www.tela-botanica.org).

### 2. Classification botanique

Selon MANDEEL et AL-LAITH (2007), la position systématique de l'espèce végétale *Helianthemum lippii* est mentionnée dans le tableau suivant :

**Tableau 02** : classification de l'espèce végétale *Helianthemum lippii* L.

Règne	Végétale
Embranchement	Spermaphytes
Sous embranchement	Angiospermes
Classe	Endicots
Sous classe	Rosidées
Ordre	Malvales
Famille	Cistacées
Genre	<i>Helianthemum</i>
Espèce	<i>Helianthemum lippii</i> L.

### 3. Noms vernaculaires

Le nom vernaculaire de cette espèce est différent selon les régions et les continents, par exemple le nom d'Al Samhari (dans la région d'Oued Souf: sud-est de l'Algérie); Reguig (dans la région de Ouargla: sud de l'Algérie) Tahsowat et Alrjik (sud-ouest de l'Algérie); Alrkarouq (au Koweït), Umm Souika (la péninsule arabe) et Sun Flower (Nord-est de la Jordanie) (BOUZERKOUNE,2009).

### 4. Localisation géographique

Le genre *Helianthemum* appartenant à la famille des Cistacées (KUBITZKI et BAYER., 2003) contient 08 genres et 200 espèces qui sont répartis dans les régions méditerranéennes. En Algérie, ce genre a une seule espèce *Helianthemum lippii* L.(SAMBAMURTY,2005).

### 5. Propriétés et usages thérapeutiques

Toutes les espèces de la famille Cistaceae sont fréquemment employées dans la médecine traditionnelle pour leurs propriétés antimicrobienne, antitumorale, antivirale anti-inflammatoire, antifongique, antiulcer, anti oxydante, activités spasmolytique et hypotensive (BOUAMAMAA et al.,2006).

Cette plante est employée pour calmer les douleurs des règles menstruelles. Comparativement à d'autres espèces ; *Helianthemum glomeratum* a montré des effets antibactériens, antiprotozoaire et antigiardiale et pour traiter les troubles gastro-intestinaux comme les diarrhées et les dysenteries .Concernant l'activité antioxydante, cette propriété a été prouvée par la littérature chez *Helianthemum ledifolium* (NEDJMI et SOUSSOU.,2014).

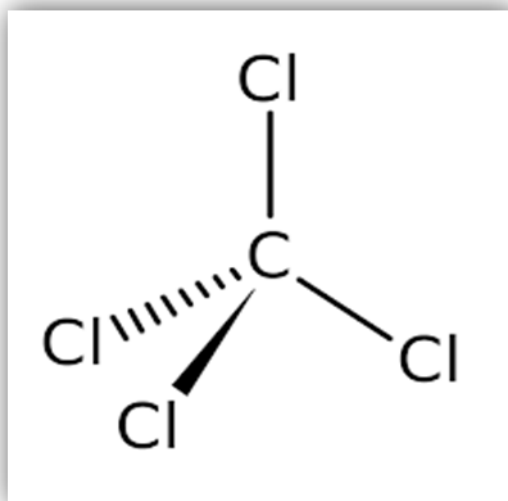
## Chapitre III : Agent Toxique Tétrachlorure de Carbone

### 1. Définition

Le tétrachlorure de carbone ( $\text{CCl}_4$ ) est un liquide incolore, ininflammable et volatil, avec une odeur distincte. Au 19<sup>ème</sup> siècle, il a été utilisé comme anesthésique. Dans les 25 premières années du 20<sup>ème</sup> siècle sa toxicité était fermement établie (XIAOYUE et *al.*, 2007). Il est cependant un solvant largement utilisé dans les industries chimiques (FILIPPIN et *al.*, 2012). Le tétrachlorure de carbone ( $\text{CCl}_4$ ) est un xénobiotiques connu à cause sa toxicité (OUATTARA, 1999) où il est considéré un hépato-toxique qui provoque une altération massive des hépatocytes (SANGARE et *al.*, 2014).

### 2. Caractéristiques de tétrachlorure de carbone

Tétrachlorure de carbone est un molécule caractérisé par un poids moléculaire est égale à 153.84 g/mol. Il possède plusieurs synonyme comme: Perchlorométhane, Tétrachlorométhane, Carbon chloride, Carbon tétrachloride, Méthane tétrachloride, Méthane tétrachloro-Perchlorométhane, Tétrachlorométhane et Tétrachlorocarbon (BISSON et *al.*, 2005).



**Figure 04:** Formule brute de tétrachlorure de carbone (BISSON et *al.*, 2005).

Comme les autres molécules chimiques, il y'a plusieurs paramètres physico-chimiques de tétrachlorure de carbone tel que: la densité, pression de vapeur, viscosité dynamique. Les paramètres physico-chimique les plus importantes sont mentionnées dans le tableau suivant.

**Tableau 03:** Propriétés physico-chimiques de tétrachlorure de carbone (BISSON et *al.*, 2005).

Propriétés	Valeur
Pression de vapeur (Pa à 20 °C)	12,50
Constante de Henry (Pa*m <sup>3</sup> /mol)	2,14.10 <sup>-2</sup> à 20°C - 2,87.10 <sup>-2</sup> à 25°C
Solubilités dans l'eau (mg/L)	800 à 20°C
Vitesse d'hydrolyse (jour)	Temps de demi-vie : 1 heure . 5 jours.
Dissociation dans l'eau	Absence de dissociation
Point d'ébullition (C°) (à pression normale)	76.77

### 3. Utilisation de tétrachlorure de carbone

Le tétrachlorure de carbone, CCl<sub>4</sub>, a été un produit chimique fréquemment utilisé pour la production des solvants chimiques, hydrocarbures chlorés et l'éthylcellulose (agent nettoyant pour les machines et les équipements électriques). Utiliser aussi à l'industrie pour la synthèse des différentes matières comme: nylon, gomme et caoutchouc chloré (INERIS, 2005). Durant 1987; le tétrachlorure de carbone peut utiliser dans le domaine d'agriculture comme un produit phytosanitaire contre les insectes (insecticide), et utilisé aussi comme nettoyant domestique (INERIS,2005).

Par ailleurs, le CCl<sub>4</sub> a démontré son utilité en tant que modèle expérimental pour l'étude des lésions hépatiques chez l'homme (LI et *al.*,2016),largement utiliser pour induire un stress oxydatif ( LIN et *al.*,2008) et aussi pour induire expérimentalement la fibrose hépatique. En fonction de la dose et de la durée, l'effet du CCl<sub>4</sub> sur les hépatocytes se manifeste histologiquement sous la forme de statues hépatiques, de fibrose, de mort hépatocellulaire et de carcinogenici. (EL-BOSHY et *al.*,2017; EBAID et *al.*,2013) .

### 4. Effet de tétrachlorure de carbone

#### 4.1. Chez l'Homme

Le tétrachlorométhane est bien absorbé par voies digestive, respiratoire et à travers la peau lésée. Inhalé, il est rapidement distribué dans tout l'organisme, en particulier dans les tissus adipeux, le foie et la moelle osseuse ( PELLIEUX,2009). L'exposition à des dose élevés de CCl<sub>4</sub> se provoque des intoxications aiguës se traduisent par une dépression du système nerveux central qui se compliquent d'atteintes hépatiques (cytolyse) et rénales tubulaires ( IARC,1979 ).

En cas d'ingestion, les premiers signes de l'intoxication sont digestifs (nausées, vomissements, douleurs abdominales). Ils s'accompagnent ensuite d'une atteinte neurologique centrale (céphalées, sensations de vertige, somnolence puis coma); les atteintes hépatiques et rénales, qui font la gravité de l'intoxication, apparaissent 24 à 48 heures après la prise. La tubulopathie aiguë est au premier plan. Elle réalise une insuffisance rénale anurique réversible en 3 à 15 jours après son installation. L'atteinte hépatique est une cytolyse évoluant rarement vers une insuffisance hépatique. La survenue d'un Oedème Aiguë du Poumon (OAP) est fréquente. En plus, la plupart des intoxications sont dues à l'inhalation de tétrachlorométhane. Les troubles de conscience et les signes d'irritation sont alors discrets ou absents. L'hépatonéphrite est découverte après un intervalle libre de 1 à 4 jours (CONSO et RUDLER.,1978).

#### 4.2. Chez l'animale

Quelle que soit la voie de pénétration dans l'organisme, La toxicité aiguë du tétrachlorométhane observés sont une dépression du système nerveux central, une irritation des muqueuses, une cytolyse hépatique et une nécrose tubulaire rénale. Dans les intoxications subaiguës, les troubles de conscience et les signes d'irritation sont discrets ou absents : l'hépatonéphrite apparaît après quelques heures de latence. L'oedème aigu pulmonaire, complication fréquente de l'intoxication, est dû à l'insuffisance rénale( PELLIEUX,2009).

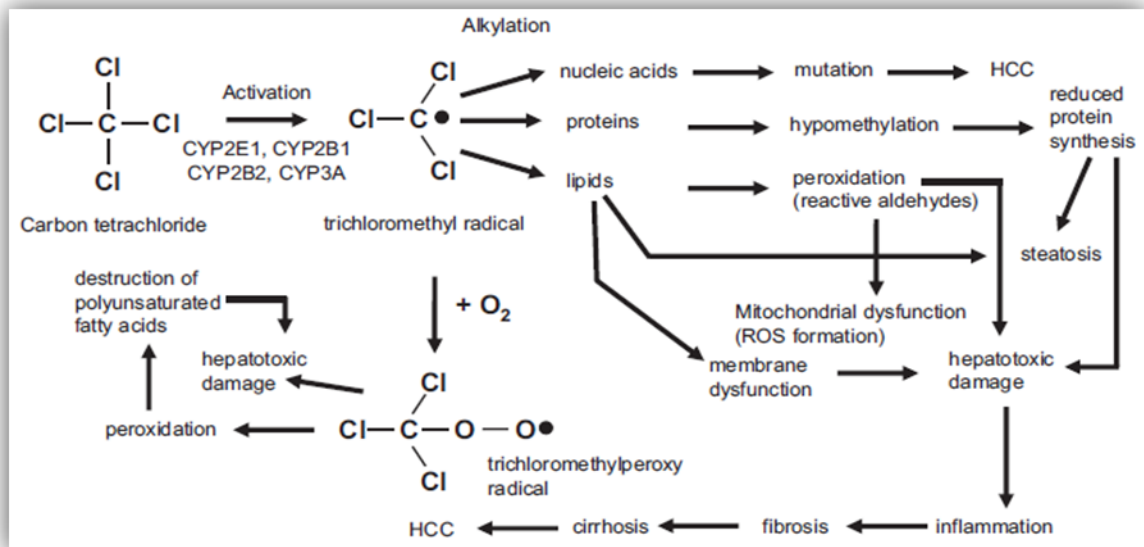
Mais les expositions répétées (toxicité chronique) sont à l'origine de lésions hépatiques (stéatose, cytolyse) ainsi que de neuropathies périphériques. On observe dans certains cas des atteintes glomérulaires rénales( ZIMMERMAN et *al.*,1983). Le tétrachlorométhane est aussi responsable de lésions surrénaliennes.

Le tétrachlorométhane n'a pas d'effet génotoxiques car la plupart des tests réalisés sont négatifs donc; le CCl<sub>4</sub> ne touche pas l'ADN et il n'induit pas aucune mutation (IARC,1979) malgré qu'il est cancérigène hépatique dans diverses espèces animales; associé souvent à un processus de nécrose cellulaire. Le tétrachlorométhane est classé cancérigène catégorie 3( IARC,1982).

#### 5. Mécanisme hépto-toxicité de tétrachlorure de carbone

Le CCl<sub>4</sub> est rapidement absorbé par toute voie d'administration chez l'homme et l'animal. Une fois absorbé, il est largement distribué dans les tissus, en particulier ceux ayant une teneur élevée en lipides. Il est métabolisé par le foie, les poumons et d'autres tissus (EPA, 2010). Le CCl<sub>4</sub> appartient à la classe des hépatotoxines, qui agissent après transformation

métabolique (RITESHA et *al.*,2015). L'hépatotoxicité induite par le  $\text{CCl}_4$  est supposée impliquer deux phases (EIDI et *al.*,2012), la phase initiale implique, le métabolisme de  $\text{CCl}_4$  par le cytochrome  $\text{P}_{450}$  en radical trichlorométhyl ( $\text{CCl}_3^\bullet$ ), qui réagit avec les macromolécules pour former des adduits à l'ADN, aux protéines et aux lipides (Rosa et *al.*,2010; XU et *al.*, 2017) suivie d'une série de perturbations biochimiques telles que l'accumulation de triglycérides (MAAMERI et *al.*,2015). Le  $\text{CCl}_3^\bullet$  peut également réagir avec l'oxygène ( $\text{O}_2$ ) pour former un radical très réactive ( $\text{CCl}_3\text{OO}^\bullet$ ) qui est plus susceptible que le  $\text{CCl}_3^\bullet$  d'extraire l'hydrogène des acides gras polyinsaturés (AGPI), ce qui conduit à la peroxydation lipidique (CHAO et *al.*,2013). Par conséquent, les membranaires cellulaires sont détruites conduisant à la fuite des enzymes intracellulaires comme l'ALAT et l'ASAT dans la circulation sanguine et à la mort cellulaire (MAAMERI et *al.*,2015). La deuxième phase implique l'activation des cellules de Kupffer, probablement par des radicaux libres. L'activation des KC est accompagnée par la sécrétion de médiateurs pro-inflammatoires, comme les espèces réactives de l'oxygène (ROS) (HUANG et *al.*,2012).



**Figure 05:** Séquence chronobiologique d'événements au cours de dommages du foie Provoqués par le  $\text{CCl}_4$  (SCHOLTEN et *al.*,2015).

## Chapitre IV : Le Médicament Silymarine

### 1. Généralité

La Silymarine est l'un des exemples les plus réussis de développement d'un médicament moderne à partir d'une médecine complémentaire et alternative (RAŠKOVIĆ et al.,2011). La Silymarine est isolée de l'espèce végétale *Silybum marianum* L. (BOIGK et al.,1997) et ce principe actif existe dans les fruits du chardon-Marie (WANGA et al.,2004). Herbe *Silybum marianum* également connue sous le nom de Chardon Mary et lait chardon en anglais ou Mariendistel en allemand. (SHAMAMA et al.,2011), L'extrait de Chardon-Marie est utilisé en médecine traditionnelle depuis plus de 2000 ans notamment dans le traitement de la jaunisse. (MOUILLÉ,2014)

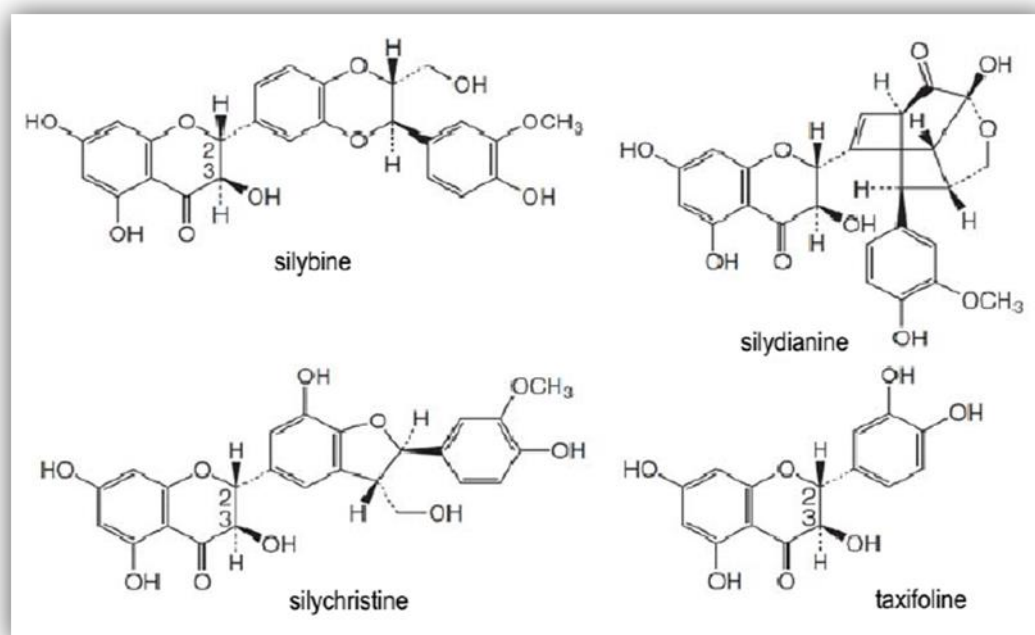
### 2. Composition de Silymarine

Le *Silybum marianum* est un végétal riche en composés actifs de point de vue médicinal, ses propriétés sont dues à la présence de la silymarine. La graine de *Silybum marianum* contient un taux élevé de silymarine (qui peut être extraite séparément ou séparé des différents composés de l'huile) d'où l'intérêt porté à cette partie de la plante (KARKANIS et al.,2011). Les préparations commerciales de silymarine contiennent plusieurs flavonoïdes (FEHÉR et al.,2012).

L'akène du chardon-marie contient 1,5 à 3 % de flavanolignanes dont le mélange porte le nom de silymarine et qui constitue les molécules les plus actives du chardon-marie qu'ils sont : Silibinine, Iso-silibinine, Silychristine et Silidianine (Figure 06). Il contient aussi des flavonoïdes : Quercétol, Taxifoline, Eryodictyol, Chrysoériol et quelques autres (Notamment du Dihydrokaempférol, Kaempférol, Apigénol et Naringétol) qui présentent eux aussi des propriétés intéressantes. Les molécules autres que celles constituant la silymarine que l'on trouve dans le chardon-marie, notamment les flavonoïdes, peuvent avoir des propriétés rapportées pour des usages autres que le soutien hépatique et être présentes chez d'autres plantes en concentration plus importante. En revanche, elles ne jouent qu'un rôle minoritaire dans les propriétés attribuées au chardon-marie (MOUILLÉ,2014).

Dans l'akène du chardon-marie, on trouve aussi 15 à 30 % d'acides gras dont environ 60 % d'acide linoléique, 30 % d'acide oléique et 9 % d'acide palmitique, environ 25 à 30 % de protéines (la tyramine et de la bêtaïne...) ainsi que du tocophérol (0.038 % environ), des dérivés phénoliques et des steroles (0.063% environ) dont du campestérol, du stigmastérol, et

du sitostérol. Quelques sucres (arabinose, rhamnose, xylose, glucose) et du mucilage sont aussi présents (MOUILLE,2014).



**Figure 06:** Molécules composants de la silymarine (FEHÉR et *al.*,2012).

### 3. Usage de Silymarine

Selon de l'Organisation Mondiale de la Santé (2002); l'utilisation de Silymarine comme un médicament pour le traitement de soutien de l'hépatite aigüe ou chronique et de la cirrhose induite par de l'alcool, des drogues ou des toxines (FRASCHIN et *al.*,2002). La Silymarine comme un médicament joue un rôle aussi très important contre la peroxidation lipidique, résultant de la capture des radicaux libres et de la capacité d'augmenter le contenu cellulaire de glutathion sous sa forme réduite.

Une capacité très importantes de réguler la perméabilité membranaire et d'acroitre la stabilité des membranes, en présence des dommages induits par xénobiotiques. (FRASCHINI et *al.*,2002). Aussi La silymarine est utilisée comme traitement de soutien pour les maladies du foie d'étiologie différente où elle est hépatoprotectrice par son activité antioxydante (EL-SHITANY et *al.*,2008), diverses études ont indiqué que la silymarine présente une forte activité antioxydante. (DEHMLOW et *al.*,1996;BOIGK et *al.*,1997). Stimule la synthèse des protéines, influence le métabolisme lipidique et stabilise les phospholipides membranaires. La silymarine réagit avec les espèces réactives de l'oxygène (ROS) et les convertit en composés moins réactifs et toxiques. Il potentialise les effets des antioxydants physiologiques

(Glutathion, Superoxyde dismutase) et empêche la réduction de leurs concentrations (PSOTOVA et al.,2002).

Elle protège les hépatocytes des lésions causées par des radiations, une surcharge en fer, des toxines, des virus d'hépatites virales ou par ischémie. (CAREL,2003). La silymarine exercerait son effet protecteur contre la toxine amanitine en empêchant celle-ci de traverser les membranes des hépatocytes et en inhibant les effets du TNF (Facteur de Nécrose Tumorale) qui exacerbent la peroxydation lipidique. (PIERR,2010). En plus; la capacité de réguler l'expression nucléaire, par d'un effet similaire aux stéroïdes. Elle est capable de l'inhibition de la transformation des hépatocytes stellaires en myofibroblastes, c'est un processus responsable du dépôt de fibres de collagène menant à la cirrhose (FRASCHINI et al.,2002).

Selon VALENZUELA et GARRIDO (1994) L'hépto-protection fournie par la silymarine semble reposer sur quatre propriétés:

- ✓ Activité contre la peroxydation lipidique résultant de l'élimination des radicaux libres et de la capacité d'augmenter le contenu cellulaire de GSH.
- ✓ Capacité de réguler la perméabilité des membranes et d'augmenter la stabilité des membranes en présence de dommages xénobiotiques.
- ✓ Capacité à réguler l'expression nucléaire.
- ✓ Inhiber le système de détoxification du cytochrome P<sub>450</sub> hépatique (CYP).

#### **4. Pharmacocinétique de Silymarine**

L'extrait de Silymarine normalisée (70-80% silibinine) est peu soluble dans l'eau (FRASCHINI et al.,2002). L'absorption suite à une prise orale de silymarine est faible, avec une biodisponibilité estimée à 23-47 % (PEPPING et MILK.,1999). Le pic plasmatique est atteint 2 à 6 heures après une prise orale (PEPPING et MILK.,1999 ; FRASCHINI et al., 2002).Le Silymarine serait soumise à une circulation entéro-hépatique extensive, atteignant des niveaux biliaires plusieurs fois supérieurs à ceux retrouvés dans le sérum (PEPPING et MILK.,1999). Elle est rapidement glucuronoconjugués et sulfatés au niveau hépatique (FRASCHINI et al.,2002). Quelque 40 à 80 % d'une dose orale est récupérable à partir de la bile sous forme de conjugués, seulement 2 à 5 % étant excrétés dans l'urine (PEPPING et MILK.,1999;FRASCHINI et al.,2002).

# *Partie expérimentale*

# *Matériels Et Méthodes*

## 1. Matériels utilisés

### 1.1. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans cette étude expérimentale appartenant à la famille des Cistacées, qui est : *Helianthemum lippii* L. de la région Oued Souf (Sud-est Algérien); sa taxonomie et toutes les données ont été détaillées précédemment dans la partie bibliographique (page : 12). L'organe végétal choisi pour la réalisation des expérimentations de cette étude est la partie aérienne, puisque la partie la plus utilisée par les arboriste.



**Figure 07** : la partie aérienne d' *Helianthemum lippii* L. (photo originale).

#### 1.1.1. Récolte

Les échantillons de la plante ont été prélevés à partir d'un site de la wilaya d'El-Oued Sud-Est Algérien notamment (ourmes), notre espèce végétale a été récoltée en Septembre 2019. On générale la récolte des plantes médicinales en pleine nature nécessite une bonne connaissance de espèce végétale, de la localité où elles croissent et de leur cycle biologique qui déterminera le moment le plus propice à ce ramassage. Il est toujours préférable de procéder à la récolte par un temps sec, et chaud. Le matin est le moment le plus favorable.

### 1.1.2. Séchage

Le plante prélevée tôt le matin et au moment du débourrement sont placées dans des sacs en tissu, puis transportées immédiatement en vue du séchage et des analyses. Les parties aériennes de *Helianthemum lippii* L. sont soumises à un rinçage à l'eau de robinet pour éliminer les impuretés puis étendues en couches minces, à bonne aération pendant deux semaines. Une fois séchées, les parties aériennes de la plante sont soumises à un broyage manuel afin d'obtenir une poudre prête à l'emploi. La drogue obtenue est conservée dans des flacons en verre ambré en vue des expérimentations.

### 1.2 . Matériel animal

Notre étude a réalisé sur 30 rattes femelles de souche WISTAR ALBINOS (208.64 g  $\pm$ 5) fournies par les laboratoires de l'Institut de Pasteur d'Alger (Septembre 2019). Elles sont divisées en six lots et hébergées au niveau de l'animalerie de la Faculté de Sciences de Nature et de la Vie, Université Echahid Hamma Lakhdar-El-Oued. Dans des cages de polypropylène (Cinq rattes pour chaque lot (n= 5)) munies d'un porte étiquette ou sont mentionnés le nom du lot et le traitement subi. Les rats sont soumises pendant un mois à une période d'adaptation ou elles ont un accès libre à l'eau et l'aliment dans des conditions : Température 24° et 12 heures d'éclairage.

### 1.3. Tétrachlorure de carbone

Pour provoquer une intoxication chez notre modèle animale et des perturbations des paramètres biochimiques et des modifications histologiques, on a utilisé le tétrachlorure de carbone (CCl<sub>4</sub>). Ce produit toxique manifeste sa toxicité sur l'organisme animal en provoquant d'importantes lésions sur plusieurs organes ; notamment le foie par conséquence des lésions de nécrose qui à long terme peuvent évoluer en cirrhoses hépatiques. Ce produit toxique est fournit par les de laboratoire de MERCK. On a détaillé ces informations dans la partie bibliographique (page :14).

### 1.4. Silymarine

Le Silymarine est un médicament d'origine végétal fournis par des laboratoires Bio-Gatrana sous forme des gélules (0,25 g), ce médicament est utilisé pour l'amélioration des fonctions du foie. Dans cette étude expérimentale, l'utilisation de Silymarine comme

médicament pour le but de la comparaison de l'activité hepatoprotective entre : Extrait du plant, NP-ZnO, Extrait+ NP-Zno et Silymarine face l'intoxication par le CCl<sub>4</sub>.



**Figure 08** : photo présente le médicament utilisé Silymarine (photo originale).

## 2. Méthodes suivies

### 2.1. Etude phytochimique

#### 2.1.1. Préparation de l'extrait aqueux

L'extrait aqueux de la partie aérienne de *Helianthemum lippii* L. est préparé selon la méthode de MOTAMED and NAGHIBI (2010). 100 g de matériel végétal de *Helianthemum lippii* est mis à macérer dans 1000 ml d'eau distillée pendant 24 heures à l'ombre et température ambiante. L'extrait récupéré par filtration est soumis à une évaporation sous pression réduite à 45°C dans un rotavapeur (BÜCHI), pour obtenir extrait aqueux qui est conservée à 4°C jusqu'à son utilisation.

#### *-Rendement de l'extrait*

Le rendement est exprimé en pourcentage de la masse de l'extrait aqueux par rapport à la masse de matériel végétal :

$$R (\%) = M/M_0 * 100$$

R % : Rendement exprimé en %

M : Masse en gramme de l'extrait aqueux résultant

M<sub>0</sub> : Masse en gramme du matériel végétal à traiter

### 2.1.2. Tests phytochimique

Les tests phytochimique consistent à détecter les différents métabolites secondaires des plantes par des réactions qualitatives. Ces réactions sont basées sur des phénomènes de précipitation ou de coloration par des réactifs spécifiques et a été réalisé selon les méthodes de (HARBORNE,1998;EVANS,1983).

#### ✓ **Alcaloïdes**

Dans deux tubes à essai, introduire 1 ml d'extrait à l'analyse. Acidifier le milieu par quelques gouttes de HCL et ajouter gouttes de réactif de Mayer dans le premier tube et quelques gouttes de réactif de Wagner dans le second tube. L'apparition d'un précipité blanc ou brun respectivement révèle la présence d'alcaloïdes.

#### ✓ **Terpénoïdes**

Dans un tube à essai, ajouter à 5ml d'extrait de plante, 2 ml de chloroforme et 3ml d'acide sulfurique concentré. La formation d'un couleur brun rougeâtre indique la présence des terpénoïdes.

#### ✓ **Saponines : test de mousse**

Dans un tube à essai, introduire 5ml de extrait à analyser, mélangé avec 5ml d'eau distillée dans tube à essai et on agité vigoureusement. La formation d'une mousse de sable a été prise comme une indication de la présence de saponine.

#### ✓ **Flavonoïdes**

Ajouter dans tube à essai, 5ml d'extrait à tester ,5ml de ammoniac dilué et 1ml de acide sulfurique. L'apparition d'une coloration jaune prouve la présence de flavonoïdes.

#### ✓ **Tannins**

Dans un tube à essai, introduire 5ml d'extrait à analyser et ajouter 1ml d'une solution aqueuse de chlorure ferrique à 2 %. La présence des tanins est indiquée par une coloration verdâtre ou bleu- noirâtre.

### 2.1.3. Dosage des composés phénoliques totaux

Dosage des composés phénoliques totaux de notre extrait aqueux a été réalisé selon la méthode de SINGLETON et *al.*,(1999).125  $\mu$ L de l'extrait végétal ajouté à 500  $\mu$ L d'eau distillée, la solution a été introduite dans un tube à essai, puis l'addition de 125  $\mu$ L du réactif de Folin- Ciocalteu. Après 5min ,1250  $\mu$ L de carbonate de sodium à concentration de [7,5 g /l] sont ajoutés pour favoriser le milieu pour déclencher la réaction d'oxydo-réduction, ensuit complété par l'eau distillée jusqu'à 03ml. Le mélange a été agité et maintenu à l'obscurité puis incubé pendant 2h à température ambiante. L'absorbance de chaque solution est

déterminée à 765 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-VIS (JENWAY). Une courbe d'étalonnage standard a été obtenue à partir des solutions d'acide gallique de différentes concentrations (0-200 µg/ml), réalisée par même procédure du dosage. Toutes les mesures sont répétées 03 fois.

#### 2.1.4. Méthode de dosage des Flavonoïdes

1 ml l'extrait aqueux et de standard Quercétine (Préparée dans le méthanol) a été ajouté à 1 ml de la solution de chlorure d'aluminium  $AlCl_3$  (2 % dissous au méthanol). Après 10 minutes, l'absorbance a été mesurée par rapport au blanc au  $\lambda=430$  nanomètres. Les concentrations des flavonoïdes ont été déduites à partir de la gamme de la courbe d'étalonnage établie avec la Quercétine (0.001– 0.005 – 0.009 – 0,01 – 0,03 – 0,05 – 0,07 – 0,09 mg/ml). Toutes les mesures sont répétées 03 fois et les résultats obtenus sont exprimés en mg équivalent en Quercétine / g d'extrait. (AHN et al.,2007).

#### 2.1.5. Préparation de Nanoparticule d'oxyde de zinc

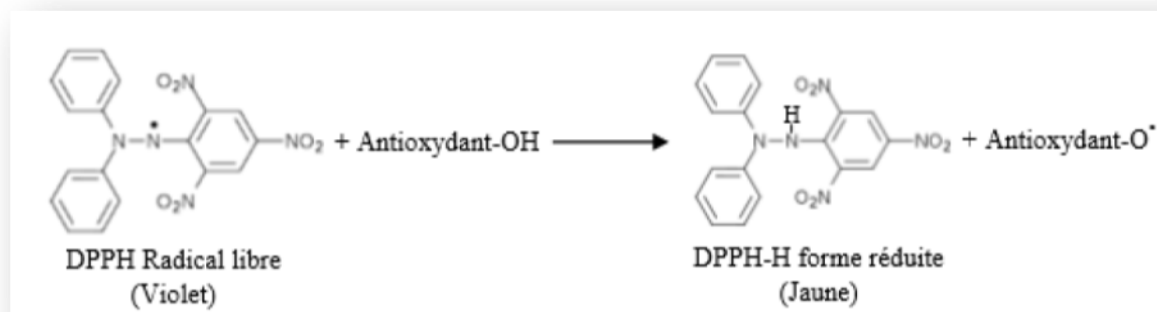
L'acétate de zinc dihydraté et l'hydroxyde de sodium ont été utilisés comme matériau précurseur pour la synthèse de nanoparticules d'oxyde de zinc. 50 ml d'acétate de zinc dihydraté (0,02M) a été préparé avec l'eau distillée. Après 10 minutes d'agitation dans un agitateur magnétique, 1 ml d'extrait aqueux d'*Helianthemum lippii* L. (0,5 mg/ml) a été ajouté, puis on additionne l'hydroxyde de sodium NaOH (2,0M) jusqu'à obtention d'une solution avec un pH 12. Le mélange a été laissé dans l'agitation pendant 2 heures jusqu'à ce que la formation de précipité blanc soit observée. Une centrifugation a été réalisée à 4000 tr/min pendant 10 minutes. Le culot a été retirés et lavés en continu avec de l'eau distillée puis de l'éthanol pour éliminer les impuretés du produit final. La poudre blanche de NPs de ZnO ont été obtenues après séchage à 60 °C dans une étuve pendant une nuit (ANAND and JAYALAKSHMY.,2015; GNANASANGEETHA and THAMBAVANI.,2013).

Enfin, on détermine les propriétés de NPs de ZnO à l'aide de deux techniques : Spectroscopie d'absorption infrarouge (IR) (Une technique a été utilisée afin d'identifier les fonctions des molécules présentes dans l'échantillon) et Microscope Electronique à Balayage (MEB) (Afin d'obtenir des informations pour la taille et la morphologie des particules synthétisées).

## 2.2. Etude antioxydant *In-vitro*

### 2.2.1. Test de 2, 2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH)

Le 2,2-phényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) est un radical libre stable de couleur violacée qui absorbe à 517 nm. En présence de composés anti-radicalaires, le radical DPPH est réduit et change de couleur en vivant au jaune (Figure 09). Les absorbances mesurées à 517 nm servent à calculer le pourcentage d'inhibition du radical DPPH, qui est proportionnel au pouvoir anti radicalaire de l'échantillon (PAREJO et *al.*, 2002). Cette méthode est basée sur la mesure de la capacité des antioxydants à piéger le radical DPPH. L'effet de chaque extrait sur le DPPH est mesuré par la procédure décrite par BENHAMMOU et *al.*, 2007.



**Figure 09:** Mécanisme réactionnel intervenant lors du test DPPH entre l'espèce radicalaire DPPH et un antioxydant (AKROUT et *al.*, 2009).

50 µl des différentes concentrations de chaque extrait est ajouté à 1.950 ml des solutions aqueux du DPPH (0.025 g/l) fraîchement préparée. En ce qui concerne le contrôle négatif est préparé en parallèle, on mélangeant 50 µl d'eau distillée avec 1.950 ml du DPPH à la même concentration utilisée. Après incubation l'obscurité pendant 30 min et à la température ambiante la lecture des absorbances est effectuée à 515nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-VIS de type OPTIZEN POP 1A. Le pourcentage de l'activité anti radicalaire est estimé selon l'équation ci –dessous:

$$I\% = ((A_c - A_t) / A_c) * 100$$

A<sub>c</sub> : absorbance du contrôle.

A<sub>t</sub> : absorbance de test effectué.

La solution antioxydant d'acide ascorbique est également préparée dans les mêmes conditions pour servir de témoin positif. Pour mieux caractériser le pouvoir antioxydant de l'extrait aqueux, nous avons introduit le paramètre IC<sub>50</sub> (Concentration Inhibitrice 50). IC<sub>50</sub> est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50 % du radical DPPH, ils sont

calculés graphiquement par des pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentration de l'extrait testé. Les résultats sont exprimés en mg/ml (TORRES et *al.*,2006). La capacité antioxydant d'un composé est d'autant plus élevée que son IC<sub>50</sub> est petit (POPOVICI et *al.*,2009).

### **2.3. Etude antioxydant *In-vivo***

#### **2.3.1. Préparation de dose de Silymarine**

Les rates de laboratoire sont reçoives une dose de (200 mg/kg/j) de Silymarine.Cette dose est mélangée avec l'eau du boire. (RAMESH et *al.*,2011).

#### **2.3.2. Préparation de la dose de l'extrait végétal**

On a choisi la dose de extraits similaire au la dose de Silymarine (200 mg/kg/j). L'administration de cette dose se fait aussi par le mélange avec l'eau du boire.

#### **2.3.3. Préparation de dose de Tétrachlorure de carbone**

Une dose de l'ordre de (25 µl/kg/2j) a été préparée pour faire l'intoxication hépatique chez les rattes (DJAHRA,2014). Cette dose a été *administrée par voie* intrapéritonéale.

#### **2.3.4. Préparation de dose de Nanoparticule d'oxyde de zinc**

Pour dose de Nanoparticules d'Oxyde de zinc a été fait selon notre étude expérimentale on choisi la dose (100 mg/kg/jour). L'administration de cette dose se fait par le mélange avec l'eau du boire.

### **2.4. Protocol expérimental**

Le principe expérimental de cette étude consiste à provoquer chez les rattes, une intoxication aigue et l'évaluation de l'activité hepatoprotective de l'extrait du *Helianthemum lippii*; Nanoparticules d'Oxyde de zinc et le mélange (Extrait-Nanoparticules d'Oxyde de zinc) vis-à-vis un stress oxydatif provoqué par le Tétrachlorure de carbone. Les rattes sont regroupées en six lots de cinq (n=5) dans des cages pour une période d'adaptation de 15jours. Les 15 jours suivants, les rattes de premier lot ont reçu uniquement l'eau, deuxième lot reçoive régulièrement une dose de (25 µl/kg/2j) de tétrachlorure de carbone (Intrapéritonéale) chaque 48 heures pendant la période de l'expérience (15 jours). Les autres lots (3,4,5,6) sont réceptionnés une dose (25 µl/kg/2j) de CCl<sub>4</sub> et une dose des de l'extrait du *Helianthemum lippii* (200 mg/kg/jours) pour le lot (3), une dose de Nanoparticules d'Oxyde de zinc (100 mg/kg/jour) pour le lot (4), une dose de mélange Extrait- Nanoparticules

d'Oxyde de zinc pour le lot (5), une dose de Silymarine (200 mg/kg/jour) pour le lot (6)  
Tableau 04.

**Tableau 04 :** Résumé du protocole expérimental suivi et concentrations utilisées.

Lots	CCl <sub>4</sub>	<i>H.lippii</i>	NP-ZnO	NP-ZnO+ <i>H.lippii</i>	Sly	Eau
Lot (1)	-	-	-	-	-	+
Lot (2)	+	-	-	-	-	+
Lot (3)	+	+	-	-	-	+
Lot (4)	+	-	+	-	-	+
Lot (5)	+	-	-	+	-	+
Lot (6)	+	-	-	-	+	+

## 2.5. Sacrifice et prélèvement de sang et organe

### 2.5.1. Prélèvement de sang

Les rattes sont sacrifiées au bout du 15<sup>ème</sup> jour, 24 heures après la dernière administration des extraits étaient préparés. Les animaux sont sacrifiés par décapitation après l'anesthésie par chloroforme (94%). Le sang est recueilli dans des tubes héparines puis centrifugés à 3000 tr/min pendant 10 min (Centrifugeuse SIGMA XXX), Le sérum est récupéré puis conserve au froid (4° C) en vue des analyses biochimiques.

### 2.6. Dosage des paramètres biochimiques sériques

Les paramètres analyses sont Glutamate-pyruvate-transaminase (TGP), Glutamate-oxaloacétate-transaminase (TGO), Phosphatase Alcaline (PAL), Glucose, Cholestérol, Triglycère, Urée, Gamma-Glutamyl Transférase ( $\gamma$ -GT), Créatinine, Lipides totaux, protéines totaux, bilirubines. Les mesures sont effectuées dans l'automate Modèle (humarStar600 human) à une longueur d'onde spécifique pour chaque dosage. la glycémie est mesuré pendant la période de sacrifice par une glucomètre.

### 2.7. Etude statistique

Les résultats sont présents sous forme de moyen écart type. Après analyse de la comparaison des moyennes entre les rats témoins et les rats expérimentaux est réalisée deux à deux par le test de student pour les différents paramètres. Les différences sont considérées significatives avec P est égale 0,05 et hautement significatives avec P inférieur à 0.01. Tous les calculs sont réalisés par l'EXCEL (2010) et MINI TAB (version 18).

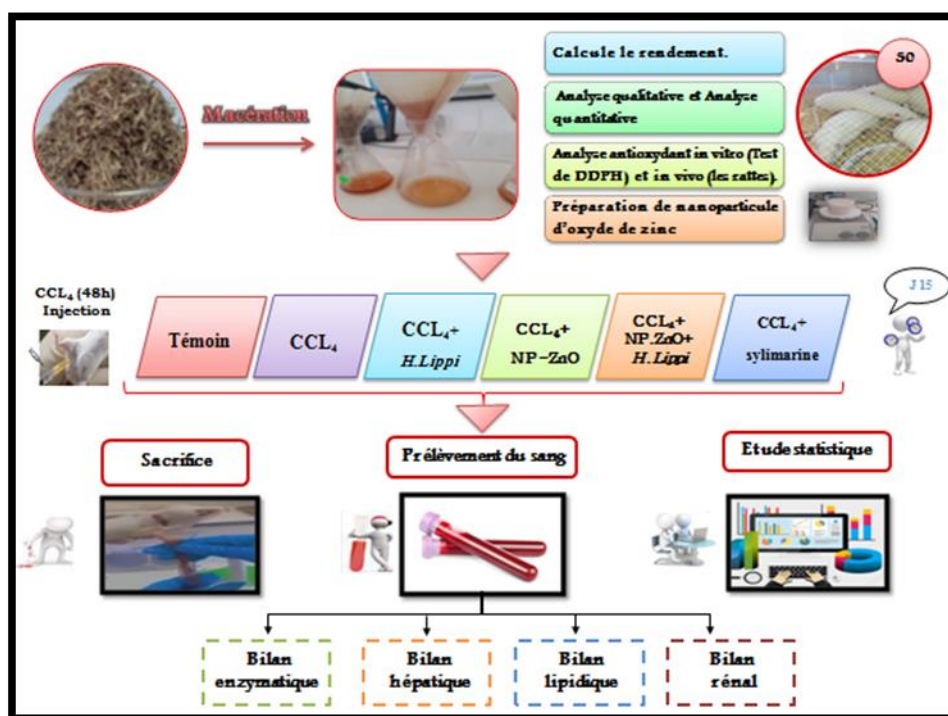


Figure 10 : Plan expérimental d'étude.

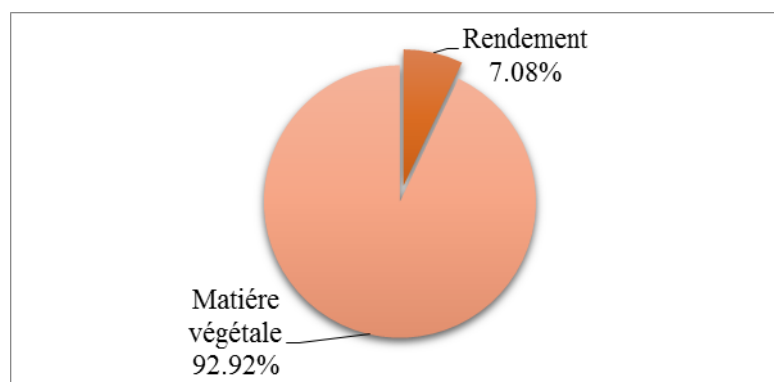
# *Résultats*

## Résultats

### 1. Etude phytochimique

#### 1.1. Rendement de l'extrait brut

La valeur obtenue de rendement (%) de l'extrait brut sont représentée dans la Figure 11 suivante.



**Figure 11:** Rendement de l'extrait brut d'*Helianthemum lippii* L.

#### 1.2. Tests phytochimique

Les résultats des tests phytochimiques (analyse qualitative) de quelques principes actifs existes dans notre espèce végétale *Helianthemum lippii* L. sont regroupés dans le Tableau 05. Ces tests sont en relation avec l'intensité du précipité et de coloration, qui sont proportionnelle à la quantité de la substance recherchée.

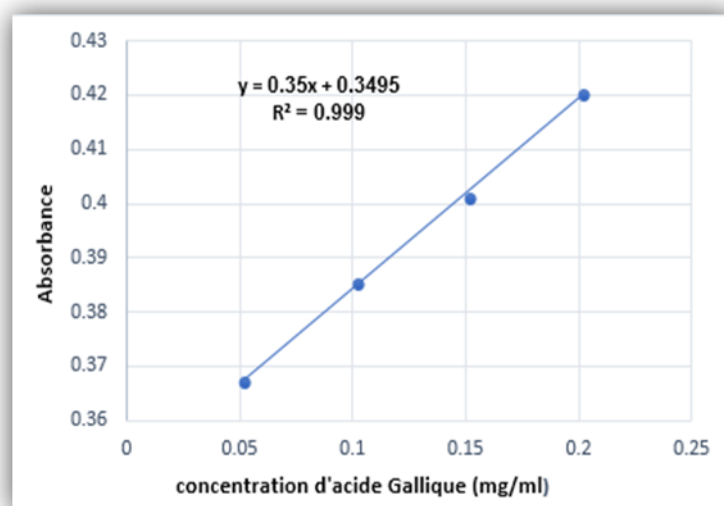
**Tableau 05:** Composants phytochimique de l'extrait aqueux d'*Helianthemum lippii* L.

Composés	Extrait de plante
Flavonoïde	(+)
Tannins	(+)
Alcaloïdes	(+)
Saponines	(+)
Terpénoïdes	(+)

Présent: (+)

### 1.3. Teneur des composés phénoliques totaux

La teneur en composés phénoliques totaux estimée par la méthode de Folin- Ciocalteu à partir d'une gamme d'étalonnage effectuée par l'acide gallique à différentes concentrations (Equation standard de courbe :  $y = 0.35x + 0.3495$ ) (Figure 12). Les résultats obtenus sont ainsi exprimés en milligramme d'acide gallique par gramme d'extrait sec (mg d'EAG/g d'extrait sec). La courbe d'étalonnage est établie avec un coefficient de corrélation  $R^2 = 0,999$ .



**Figure 12** : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

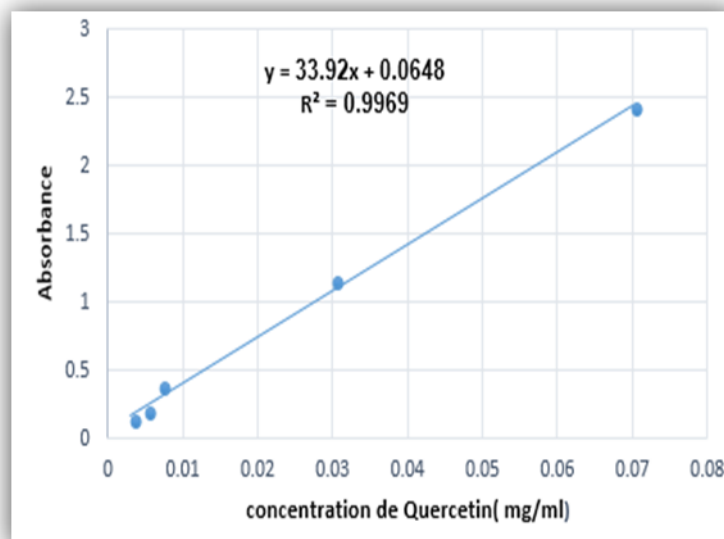
Les résultats de dosage des en composés phénoliques totaux de l'extrait brut d'*Helianthemum lippii* L. sont présentée dans le tableau suivant (Tableau 06).

**Tableau 06** : Teneur en composés phénoliques totaux de l'extrait brut d'*Helianthemum lippii* L.

Paramètres	Teneur en composés phénoliques (mg d'EAG/g d'extrait sec)
Composés phénoliques totaux	175.00 ±0.0226

### 1.4. Teneur en Flavonoïdes

La teneur en Flavonoïdes estimée à partir d'une gamme d'étalonnage effectuée par la quercétine à différentes concentrations (Equation standard de courbe :  $y = 33.92x + 0.0648$ ) (Figure 13). Les résultats obtenus sont ainsi exprimés en milligramme de la quercétine par gramme d'extrait sec (mg d'EQC/g d'extrait sec). La courbe d'étalonnage est établie avec un coefficient de corrélation  $R^2 = 0.9969$



**Figure 13 :** Courbe d'étalonnage de Quercetin.

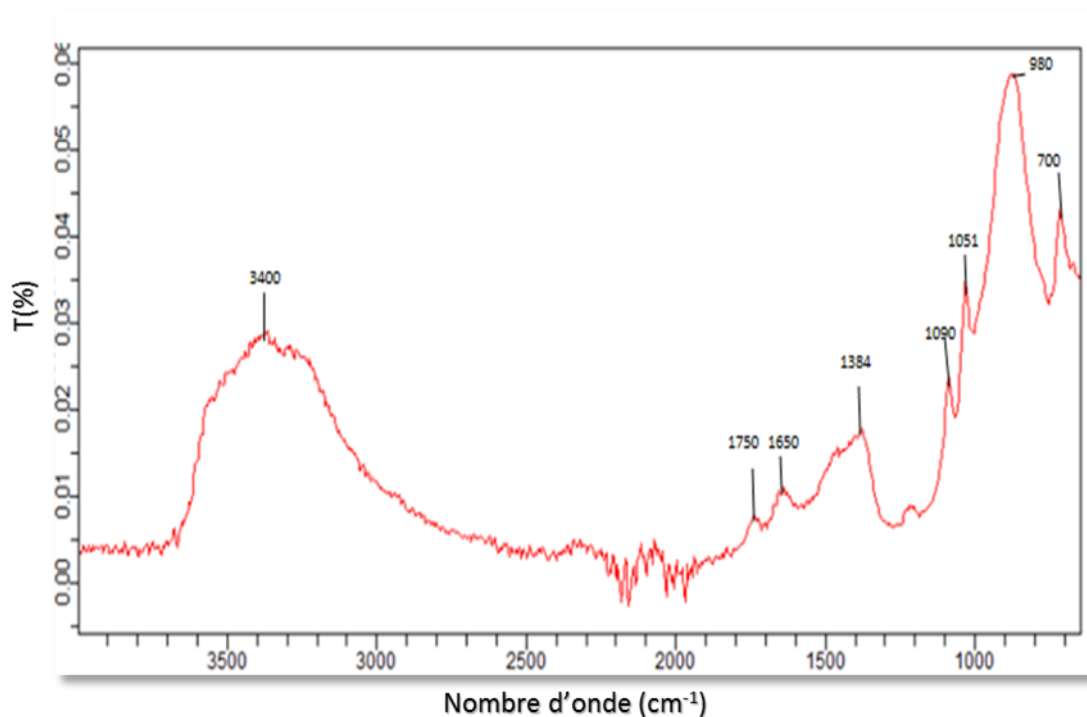
Les résultats de dosage des Flavonoïdes dans l'extrait brut d'*Helianthemum lippii* L. sont présentés dans le tableau suivant (Tableau 07).

**Tableau 07 :** Teneur des Flavonoïdes de l'extrait brut d'*Helianthemum lippii* L.

Paramètres	Teneur en Flavonoïdes (mg d'EQC/g d'extrait sec)
Flavonoïdes	2.09 ±0.039

### 1.5. Caractérisation par spectroscopie Infrarouge (IR)

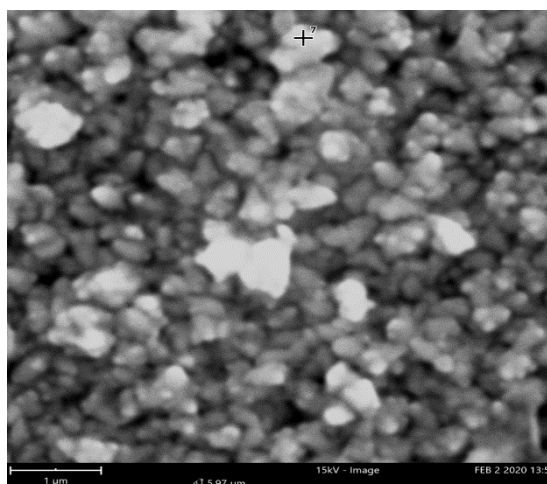
La spectroscopie infrarouge (IR) permet d'obtenir des informations sur la structure des nanoparticules à partir des modes de vibration des liaisons en présence dans l'oxyde de ZnO par les signaux spécifiques obtenus par spectroscopie IR. Résultats de spectroscopie infrarouge sont présentés dans le Figure 14. Le groupe fonctionnel impliqué dans la synthèse de ZnO-NPs a illustré dans les pics 980 et 700  $\text{cm}^{-1}$  qui a représenté la vibration de valence de la liaison Zn-O qu'identifie la présence de nanoparticule de ZnO.



**Figure 14 :** spectroscopie infrarouge des nanoparticules de zinc synthétisé par l'extrait de *Helianthemum lippii* L.

### 1.6. Caractérisation par Microscope Electronique à Balayage (MEB)

Les résultats d'analyse par le microscope électronique à balayage MEB des nanoparticules de zinc synthétisé par l'extrait végétal d'*Helianthemum lippii* L. sont reportés dans la Figure 15. D'après les observations du MEB nous conservons des Nanoparticules en cluster de différentes formes avec une taille de l'ordre de nanomètre.

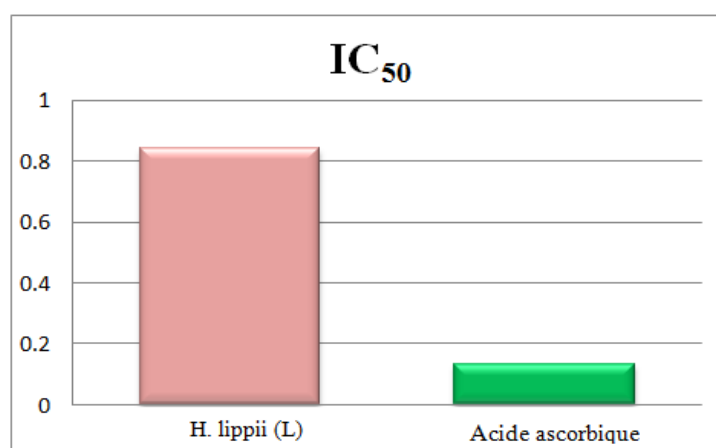


**Figure 15:** Image de Microscope Electronique à Balayage (MEB) des nanoparticules de zinc synthétisé par l'extrait d'*Helianthemum lippii* L.

## 2. Etude antioxydant *In-vitro*

### 2.1. Test de 2, 2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH)

Les résultats de l'activité anti-radicalaire des extraits et de l'étalon (Acide ascorbique) ont été présentés dans Figure 16 nous avons observé la valeur de la IC<sub>50</sub> de Acide ascorbique (IC<sub>50</sub>=0.130 mg/ml) est inférieure que la valeur IC<sub>50</sub> d'extrait aqueux de notre plante *Helianthemum lippii* L. (IC<sub>50</sub> = 0.842mg/ml).



**Figure 16:** Variation de valeurs d'IC<sub>50</sub> de *Helianthemum lippii* L. et l'Acide ascorbique.

## 3. Etude antioxydant *In-vivo*

### 3.1. Effet sur les poids

Le poids corporel et le poids du foie ainsi que le poids relatif du foie (Poids de l'organe X 100/poids de l'animal) des rates traitées et ceux des témoins non traitées sont reportés dans le tableau suivant.

**Tableau 08:** Le poids corporel, poids du foie et poids relatif du foie des différents lots des rats.

Lots	Poids		
	Poids corporels (g)	Poids du foie (g)	Poids relatif du foie (%)
Lot (T0)	214.80±11.92	4.965±0.699	2.265± 0.429
Lot (CCl <sub>4</sub> )	200.2 ±8.93 <sup>*</sup>	6.096±0.333 <sup>***</sup>	3.051±0.257 <sup>**</sup>
Lot (CCl <sub>4</sub> + Ext)	209.20± 4.21 <sup>b</sup>	5.296±4.66 <sup>a</sup>	2.555±0.267 <sup>b</sup>
Lot (CCl <sub>4</sub> + NP-ZnO)	213.2± 24.6 <sup>Ns</sup>	5.400±0.307 <sup>b</sup>	2.558±0.317 <sup>a</sup>
Lot (CCl <sub>4</sub> +Ext+NP-ZnO)	208.80 ±5.81 <sup>a</sup>	5.198±0.584 <sup>a</sup>	2.528±0.361 <sup>a</sup>
Lot (CCl <sub>4</sub> +Sly)	223.4±22.6 <sup>Ns</sup>	5.451±0.680 <sup>Ns</sup>	2.4416±0.2133 <sup>b</sup>

Les valeurs représentent la moyenne  $\pm$  écart type moyen (n=5).

P: probabilité de mettre en évidence des différences significatives.  $P > \alpha = 0,05$  : (NS) différence non significatives.  $P \leq \alpha = 0,05$  : (\*a) différence significatives.  $P \leq \alpha = 0,01$  : (\*\*/b) différence hautement significatives.  $P \leq \alpha = 0,001$  : (\*\*\*/c) différence très hautement significatives.

### 3.2. Effet sur les teneurs en enzymes sériques

L'activité antitoxiques a été évaluée à partir des concentrations sériques de la TGO, TGP, PAL et Gamma GT dans le sang chez les lots intoxiqués par le tétraclorure de carbone et traitées par l'extrait de la plant , NP-ZnO, Extrait+ NP-ZnO et Silymarine , les résultats sont représentés dans les figures suivantes.

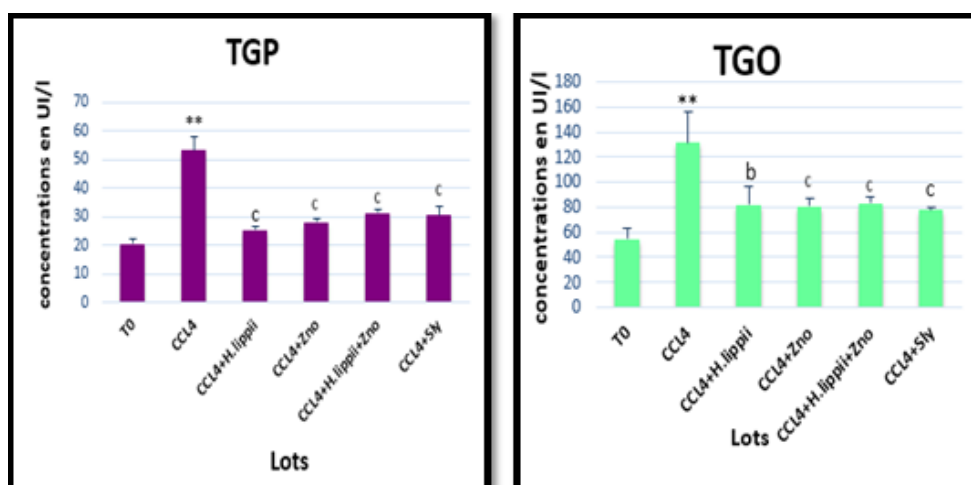


Figure 17: Taux de TGP et TGO chez les rattes intoxiqués et traités.

Comparaison avec groupe témoin  $P > \alpha = 0,05$  : (NS) différence non significatives,  $P \leq \alpha = 0,05$  : (a) différence significative,  $P \leq 0,01$  : (\*\*),  $P \leq 0,001$  : (\*\*\*)

Comparaison avec groupe traités par le  $CCl_4$ :  $P \leq 0,01$  : (b),  $P \leq 0,001$  : (c).

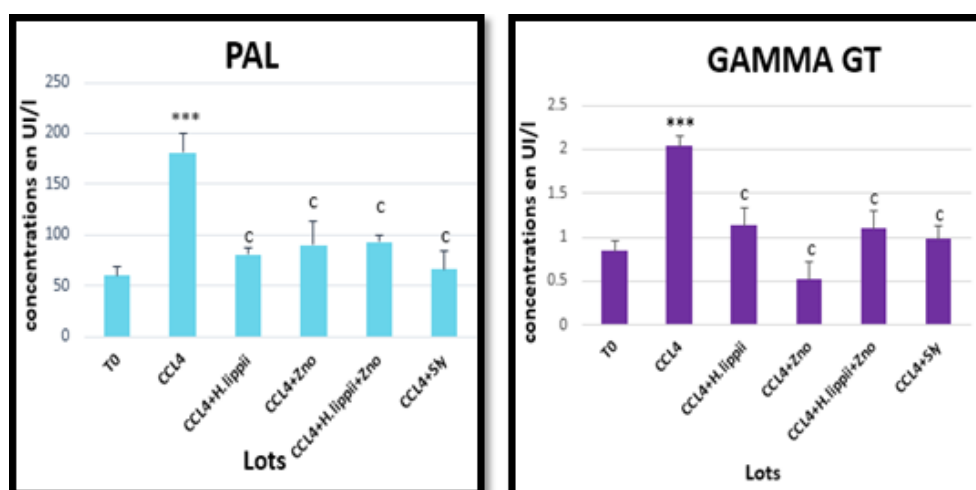


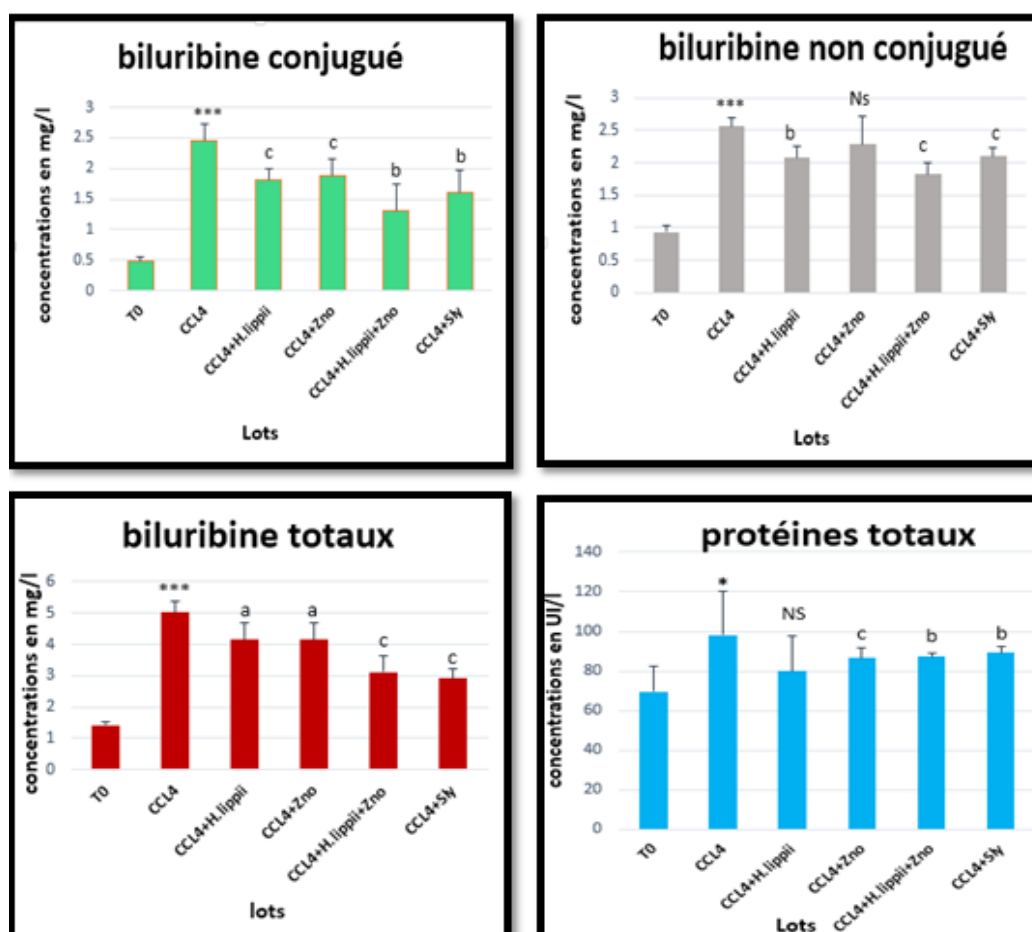
Figure 18: Le taux de PAL et GAMMA GT chez les rattes intoxiqués et traités.

Comparaison avec groupe témoin  $P > \alpha = 0,05$  : (NS) différence non significatives,  $P \leq \alpha = 0,05$  : (a) différence significative,  $P \leq 0,01$  : (\*\*),  $P \leq 0,001$  : (\*\*\*)

Comparaison avec groupe traités par le  $CCl_4$ :  $P \leq 0,01$  : (b),  $P \leq 0,001$  : (c).

### 3.3. Effet sur les paramètres de bilan hépatique

L'influence de l'administration de l'extrait du *Helianthemum lippii* L., Nanoparticules d'Oxyde de zinc, le mélange (Extrait-Nanoparticules d'Oxyde de zinc) et Silymarine sur les paramètres de bilan hépatique dosés après le sacrifice des rates traitées par le CCl<sub>4</sub> est rapportée dans la figure suivante.

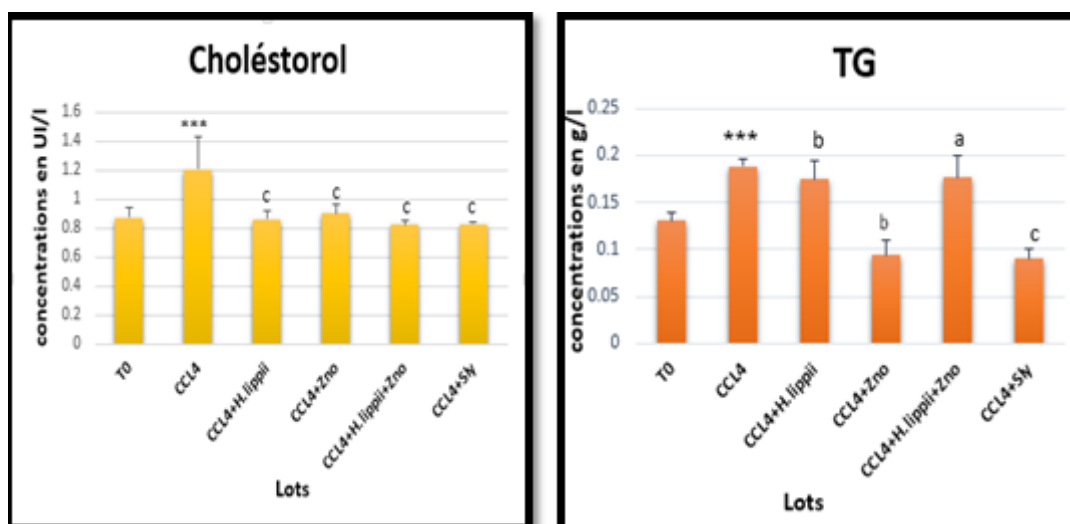


**Figure 19:** Taux de bilan hépatique chez les rattes intoxiqués et traités.

Comparaison avec groupe témoin  $P > \alpha = 0,05$  : (NS) différence non significatives,  $P \leq \alpha = 0,05$  : (a) différence significative,  $P \leq 0,01$  : (\*\*),  $P \leq 0,001$  : (\*\*\*), Comparaison avec groupe traités par le CCl<sub>4</sub>:  $P \leq 0,01$  : (b),  $P \leq 0,001$  : (c).

### 3.4. Effet sur les paramètres de bilan lipidique

On a quantifié le taux de Cholestérol et Triglycérides pour évaluer le métabolisme lipidique chez les rates intoxiqués et traités. Les résultats son déterminées dans la figure suivante.

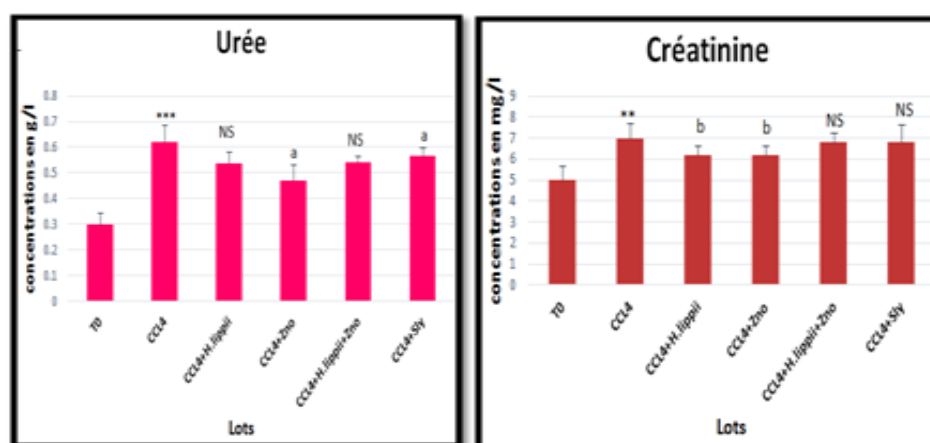


**Figure 20:** Le taux de Cholestérol et Triglycéride chez les rattes intoxiqués et traités.

Comparaison avec groupe témoin  $P > \alpha = 0,05$  : (NS) différence non significatives,  $P \leq \alpha = 0,05$  : (a) différence significative,  $P \leq 0,01$  : (\*\*),  $P \leq 0,001$  : (\*\*\*) , Comparaison avec groupe traités par le  $CCl_4$ :  $P \leq 0,01$  : (b),  $P \leq 0,001$  : (c).

### 3.5. Effet sur les paramètres de bilan rénal

Les résultats de l'activité antitoxique sur le bilan rénal (Urée et créatinine) chez les rats traités et intoxiqués par le  $CCl_4$  sont présentées dans la figure suivante .



**Figure 21:** Le taux d'Urée et Créatinine chez les rattes intoxiqués et traités.

Comparaison avec groupe témoin  $P > \alpha = 0,05$  : (NS) différence non significatives,  $P \leq \alpha = 0,05$  : (a) différence significative,  $P \leq 0,01$  : (\*\*),  $P \leq 0,001$  : (\*\*\*) , Comparaison avec groupe traités par le  $CCl_4$ :  $P \leq 0,01$  : (b),  $P \leq 0,001$  : (c).

# *Discussion*

## Discussion

Les résultats de l'analyse phytochimique effectuée sur l'extrait aqueux *Helianthemum lippii* L. ont montré la présence de plusieurs principes actifs du métabolisme secondaire dans les parties aériennes tels que : les terpénoïdes, les saponines, les alcaloïdes et tanins. De plus, l'existence des tenures importantes des flavonoïdes et polyphénols totaux. On peut dire que ces différents composés du métabolisme secondaire sont probablement responsables des différentes activités biologiques de la plante. ces composés possèdent pour la plupart des activités biologiques intéressantes qui justifié leurs utilisations abondante et variée en médecine traditionnelle (BOUGHRARA,2016). Parmi diverses activités biologiques : les activités anti-inflammatoire, antibactérienne, antivirale, antiallergique, anti-thrombotique et vasodilatatrice qui peuvent être reliées à leur activité anti-oxydante(LI et *al.*,2007).

Les polyphénols,notamment les flavonoïdes et les tanins sont des composés phytochimiques les plus importants car ils possèdent de nombreuses activités biologiques et des bienfaits pour la santé (XIA et *al.*,2010) . Les polyphénols jouent un rôle important dans le corps: ils ont des effets anti-inflammatoires, antioxydants qui agissent contre la peroxydation lipidique par la protection des lipides ciblent contre les initiateurs de l'oxydation (LAGUERRE,2007), abaissent la tension artérielle et renforcent le système immunitaire...etc (HENK et *al.*,2003). Les flavonoïdes sont de puissants antioxydants vis-à-vis des radicaux libres dus à leur propriété de donation d'atomes d'hydrogène et inhibiteurs des enzymes du cytochrome P<sub>450</sub> impliquées dans la production des ERO (DJAHRA,2014).

Les tanins sont responsables des propriétés hémostatiques, La présence de tanins suggéré la capacité de cette plante à jouer un rôle majeur comme un agent anti-diarrhéique et antihémorragique (ASQUITH et BUTLER.,1986). D'autre part, les saponines agissent comme hypotensive et ont des propriétés cardiodépresseive (PRICE et *al.*,1987). De plus, les terpénoïdes ont été largement connue par leurs effets contre des cellules tumorales qui présentent la capacité d'inhiber la croissance des cellules cancéreuses (HIDAYAT et FATMAWATI.,2016). Même Les saponines et les alcaloïdes ont une histoire dans les effets pharmacologiques pour leurs effets analgésiques et antispasmodiques (NJOKU et OBI., 2009). Ainsi, les alcaloïdes jouent un rôle détoxifiant et un antihypertenseur (AWOYINKA et *al.*,2007).

La détermination de la teneur en polyphénols totaux et en flavonoïdes à partir d'extraits à base de plantes est nécessaire pour étudier le potentiel des plantes pour la prévention contre les maladies et est la première étape dans la détermination de l'activité antioxydante des

extraits des plantes (TOSUN et al.,2009). Donc les polyphénols sont des composés fortement hydroxyles que l'on retrouve dans diverses fractions d'extraits végétaux. Ils ont la capacité d'absorber les radicaux libres dans les systèmes biologiques. Ce qui en fait de potentiels agents antioxydants (HAGERMAN et al.,2005).

L'analyse quantitative de la teneur en polyphénols pour l'extraits aqueux du *Helianthemum lippii* L. a été effectuée par des méthodes colorimétriques basées sur l'utilisation du spectrophotomètre UV- visible par la méthode de Folin-Ciocalteu dont le but est la détermination des quantités en polyphénols présente dans l'extrait (HUANG et al.,2005).

Nos résultats révèlent que l'extrait aqueux du *Helianthemum lippii* L est riche en polyphénols, avec un taux de  $175 \pm 0.0226$  mg d'EAG/g d'extrait. Selon Belyagoubi-Benhammou et al., (2014) ont montré que la teneur en polyphénols totaux très faible ( $60.95 \pm 2.55$  mg d'EAG/g d'extrait) sur l'extrait aqueux de la même espèce végétale récoltée dans la région Aïn Ben Khelil (Naâma). En effet, la teneur phénolique d'une plante dépend d'un certain nombre de facteurs intrinsèques (génétiques) et extrinsèques (conditions climatiques, les pratiques culturales, la maturité à la récolte et les conditions de stockage) ; cette composition varie d'une espèce à une autre et parfois au sein d'une même espèce (PODSEDEK,2007).

Concernant la teneur en flavonoïdes a été déterminée par la méthode de trichlorure d'aluminium ( $AlCl_3$ ). Le résultat d'extraits aqueux de la partie aérienne de *Helianthemum lippii* L. montrent que la teneur en flavonoïdes  $2.09 \pm 0.039$  mg d'EQC /g d'extrait.

Diverses études ont déterminé expérimentalement les capacités des extraits naturelles d'origine végétale à piéger les radicaux libres. Cette activité dépend d'un certain nombre de paramètres: Dose, Structure, Substituants et degré de polymérisation de la molécule (MOHAMMEDI, 2013). L'évaluation de l'activité antioxydant c'est portée sur l'application de plusieurs tests parmi lesquels le test de DPPH par la méthode spectrométrique.

Le DPPH est un radical libre stable, accepté un électron ou un proton pour donner une molécule diamagnétique stable.(BOUGANDOURA,2011) il est caractérisé par son adaptation à plusieurs échantillons dans une courte durée, aussi il est assez sensible pour détecter des substances actives à des basses concentrations. A cet effet, il a été employé pour le criblage des activités antiradicalaire des extraits végétaux (YI et al.,2008).

Dans la présente étude, Les résultats obtenus révèlent que, l'extrait aqueux de notre plante *Helianthemum lippii* L. possède une bonne activité antiradicalaire, avec un pourcentage d'inhibition  $IC_{50}$  de l'ordre de  $0.842$  mg/ml. A des fins comparatives un

antioxydant standard a été utilisé : acide ascorbique, qui a montré une activité antiradicalaire puissante avec  $IC_{50}$  est de 0.130 mg/ml. En effet, il a été rapporté par CHUNG et ses collaborateurs (2006), que l'activité antiradicalaire DPPH par les extraits de plantes médicinales, peut être attribuée à la présence de groupement hydroxyle, à la disponibilité de l'hydrogène phénolique et à la possibilité de la stabilisation du radical formé résultant d'un donneur d'hydrogène. Une autre étude menée par KANG *et al.*, (2003), a suggéré que les molécules polaires présentes dans les extraits végétaux contribuent à l'augmentation de l'activité antiradicalaire cela confirme l'augmentation de pourcentage d'inhibition avec l'augmentation de la concentration d'extraits.

L'analyse spectroscopique des nanoparticules de NP-ZnO synthétisées à partir de l'extrait de *Helianthemum lippii* L. par infrarouge (IR), montre des différentes bandes d'absorption de ces molécules, de forts pics apparaissant à 980 et 700  $cm^{-1}$  dans le spectre IR des NP-ZnO sont les pics caractéristiques des molécules ZnO. Le petit pic situé à 1650  $cm^{-1}$  pourrait être attribué à l'étirement C=O dans le carboxyle ou C=C dans le cycle aromatique (SINGHA *et al.*, 2016)

La bande nette à 1090  $cm^{-1}$  indique le groupe C–O–C (GÜLER *et al.*, 2020). Nous avons également observé des pics de transmission vers 1384 concernant le mode d'étirement C–N (ZARGAR *et al.*, 2014) et on a observé également un pic large (O–H) s'étire 3000  $cm^{-1}$  à 3600  $cm^{-1}$  est due à l'étirement des vibrations des groupes O–H dans l'eau, l'alcool et les polyphénols (SENTHILKUMAR *et al.*, 2017).

La caractérisation de NP-ZnO avec MEB a montré que les molécules se combinent en cluster de différentes formes avec une taille de l'ordre de nanomètre, les *résultats obtenus confirment* la capacité de l'extrait de végétale à synthétiser les NP-ZnO. Le mécanisme par lequel ces extraits de sont responsable de la synthèse des nanoparticules peuvent être dus à la coordination des NP-ZnO avec les groupes –OH et C–O. Il est donc justifié de conclure de la référence antérieure (SENTHILKUMAR *et al.*, 2017)

Que la synthèse est due à la présence de composé polyphénolique, de flavonoïdes qui interviennent dans la synthèse des nanoparticules de ZnO. Donc les nanoparticules de ZnO produites à partir de *Helianthemum lippii* L.

Nos résultats montrent que l'injection intrapéritonéale de  $CCl_4$  (25  $\mu$ l/kg/2j) entraîne des perturbations de la croissance physiologique des animaux. En effet, on a remarqué une diminution de la croissance de rates intoxiquées par le tétrachlorure de carbone comparativement aux témoins. Ce résultat permet de suggérer que le  $CCl_4$  présente des effets néfastes sur la croissance corporelle des animaux expérimentaux. La diminution de poids est

accompagnée d'une augmentation de poids relatif de foie, chez les rates traités par le CCl<sub>4</sub>. De ce fait, on peut déduire que le foie représente de tissu cible à l'intoxication au CCl<sub>4</sub>, ce qui augmente leur taille. Nous indiquons une hépatomégalie provoquée par le produit chimique CCl<sub>4</sub>. Ce résultat est en accord avec études (KAMBLE *et al.*, 2008). Par contre les rates traités au CCl<sub>4</sub> puis avec l'extrait de *Helianthemum lippii* L. ont enregistré une augmentation significative du poids corporel pourrait être due à un constituant flavonoïde et phénolique qui peut améliorer les états nutritionnels et sains menant à un corps amélioré gain de poids. (MAQSOOD *et al.*, 2017). De plus, les propriétés hépato-protectrices ont confirmé le rôle des composés phénoliques comme des principes actifs antioxydants. Les terpènes et les composés stéroïdiens contenant dans l'extrait de *Helianthemum lippii* L. agissent comme des antioxydants directs grâce à des mécanismes de piégeage des radicaux libres et/ou des antioxydants indirects en améliorant le statut antioxydant (Enzymatique et non enzymatique) contre les effets indésirables liés à l'oxydation (Yeh et Yen., 2006). Ce qui entraîne la détoxification de tissu hépatique donc la diminution de poids relatif de foie.

Nous avons observé aussi une augmentation du poids corporel d'après l'administration de NP-ZnO suite à la toxicité du CCl<sub>4</sub>, du à la capacité des NP-ZnO à pénétrer plus facilement grâce à leur petite taille et impliqué dans la prolifération, différenciation et croissance cellulaires (KRUG et WICK., 2011). ce qui reflète l'effet protecteur pour protéger les rates contre la toxicité du tétrachlorure de carbone (GAD *et al.*, 2012; MULLER *et al.*, 1974). Cependant, ce n'est que depuis quelques années que son importance dans la prévention des effets toxiques dus aux radicaux libres, a été prise en considération (WANG *et al.*, 2003). Une faible dose de NP-ZnO pourrait améliorer l'activité antioxydante et diminuer les niveaux de radicaux libres. Donc les NP-ZnO pourraient protéger les cellules hépatiques de l'effet néfaste des xénobiotiques (ATEF *et al.*, 2016). ce qui diminue la toxicité hépatique induit par le CCl<sub>4</sub> entraîne la diminution de poids relatif de foie .

Les résultats de l'effet de CCl<sub>4</sub> sur les teneurs en enzymes sériques, on a illustré une augmentation hautement significatives de l'activité de PAL, TGO, TGP,  $\gamma$ -GT chez les rates intoxiquées par rapport au témoin. Les enzymes sériques TGO, TGP, PAL et  $\gamma$ -GT sont des enzymes synthétisés au niveau du cytoplasme de la cellule et déchargées dans la circulation en cas de cellules endommagées (SINGH *et al.*, 1998; OZTURK *et al.*, 2009). CCl<sub>4</sub> est un xénobiotique hautement hépatotoxique, CCl<sub>4</sub> cause des dommages implique la biotransformation de CCl<sub>4</sub> par le système du cytochrome P-450 dans un trichlorométhyle radical libre (CCl<sub>3</sub>·), puis en transformant ce radical libre en un trichlorométhylperoxyde plus réactif radical (CCl<sub>3</sub>O<sub>2</sub>·), qui provoque la peroxydation lipidique. Cette augmentation reflète

généralement la gravité des lésions hépatiques. (WANG et *al.*,2003). Les membranes cellulaires riches en graisses insaturées sont très sensibles aux altérations par les radicaux libres qui peuvent être la cause de leur perte d'intégrité fonctionnelle qui est toujours associée à une nécrose hépatocytaire et une perte de l'intégrité fonctionnelle de l'architecture de la membrane des tissus (WANG et *al.*,2012). Permettant la fuite des enzymes intracellulaires comme les TGO et TGP dans la circulation sanguine (EIDI et *al.*,2012; MAAMERI et *al.*, 2015). Ces derniers sont considérés comme de bons indicateurs de la cytolysse hépatique. (DJAHRA,2014)

Les phosphatases alcalines (PAL) sont des enzymes présents dans l'organisme, mais surtout au niveau du foie, de l'os, de l'intestin, des reins et des globules blancs. (LAZARE et *al.*,2011), PAL est présente dans la membrane plasmique des hépatocytes et le niveau d'ALP dans le sang est directement lié aux dommages dans la membrane des cellules hépatiques (DAHIRU et *al.*,2007;AHMAD et *al.*,2002) ainsi L'élévation du taux sérique de la phosphatase alcaline, qui est normalement libérée dans la bile, peut résulter d'un endommagement (Farida et *al.*,2012) ou d'une obstruction des voies biliaires (GIRISH et PRADHAN.,2012). Les résultats de ROUSSEAU,(1978) confirment l'élévation remarquable chez les rats intoxiqués par le tétrachlorure de carbon et non traités de concentration sérique de  $\gamma$ -GT à cause de l'atteinte des cellules épithéliales des canaux biliaires.

L'élévation de la bilirubine dans la circulation sanguine pourrait être attribuée à une synthèse élevée, l'augmentation de l'hémolyse, la diminution de la conjugaison ou à l'altération du transport (SASIDHARAN et *al.*,2010). Et par conséquent, la bilirubine est utilisée comme indicateur pour évaluer la fonction sécrétoire des hépatocytes (AL-HARBI et *al.*, 2014).Ce qui convient avec (AHSAN et *al.*, 2009;VOGEL,2002;SAMUDRAM et *al.*, 2008). Dans nos conditions expérimentales, les traitements des rates par ZnO-NP, l'extrait du *Helianthemum lippii L* à engendré une diminution de l'activité enzymatique de TGO, TGP, PAL,  $\gamma$ -GT et la bilirubine par rapport aux rattes intoxiqués par le tétrachlorure de carbon ceci peut expliquer par le rôle important de ZnO-NP qui possède un effet hépato protecteur par piégeage des radicaux libres ou par augmentation de l'activité des antioxydants, qui détoxifient ensuite les radicaux libres par effet antihépatotoxique (HAMBIDGE et KREBS., 2007).Ces facteurs protègent les cellules hépatiques des effets néfastes et maintiennent la régulation des enzymes et de la synthèse des protéines essentielles à l'intégrité des membranes Cellulaires (HAMBIDGE et KREBS.,2007).

De plus, les ZnO-NP augmentent le niveau de zinc qui est un élément important pour tous les aspects de l'immunité (SHERMAN,1992) .De plus, les ZnO-NP améliorent

l'immunité des animaux grâce à la supplémentation en nano ZnO (RAJENDRAN,2013). Ces facteurs protègent les cellules hépatiques qui et maintiennent la régulation des enzymes et de la synthèse des protéines essentielles à l'intégrité des membranes Cellulaires (HAMBIDGE et KREBS.,2007).

La diminution des niveaux de transaminases et PAL,  $\gamma$ -GT et la bilirubine indiquent la stabilisation de la membrane plasmique et la protection des hépatocytes et maintenaient une physiologie hépatique normale et entraînaient une stabilisation de la membrane plasmique et une régénération des cellules hépatiques endommagées. Ces résultats suggèrent que l'extrait aqueux *Helianthemum lippii* L. possède des propriétés protectrices contre les lésions hépatiques induites par CCl<sub>4</sub> due à la présence des quantités élevées des flavonoïdes et des composés phénoliques.Ces composés sont connus par des propriétés antioxydantes ( ALSABRI et al.,2013).

Une augmentation significative du taux plasmatique des triglycérides et du cholestérol est observée chez les rats traités avec le CCl<sub>4</sub>. Elle pourrait être expliquée par la présence de perturbations des mécanismes d'association des triglycérides avec l'apoprotéine appropriée pour former la molécule porteuse (lipoprotéine) (TIWARI et al.,2014;SHANMUGAM et al., 2016).D'après HALLIWELL,(1991), cette élévation des taux des lipides serait liée à l'oxydation enzymatique du CCl<sub>4</sub> et sa transformation en CCl<sub>3</sub> libre au niveau de la membrane plasmique. Cette oxydation conduit à l'apparition de radicaux libres ou de formes toxiques de l'oxygène qui induisent une peroxydation lipidique aboutissant à la destruction des membranes cellulaires. (LEE et al.,2011;LEE et al.,2017). D'autre part, l'exposition au CCl<sub>4</sub> peut conduire à une modification covalente de MTP (Protéine résidant dans le RE, qui assure la formation des lipoprotéines en réunissant l'Apo B et les triglycérides) et sa dégradation par les protéasomes, cela conduit à une augmentation du taux des triglycérides (PAN et al., 2007;HUSSAIN et al.,2011).

Nos résultats ont démontré aussi le traitement par l'extraits de *Helianthemum lippii* L. et ZnO-NPS entraine la diminution significatif de l'hyper-lipidémie par la minimisation du taux de Triglycéride et Cholestérol (MANJESHWAR et al.,2010).Ceci indique que cet extrait protègent contre la peroxydation lipidique. du à leur richesse en métabolites secondaire. Les polyphénols et surtout les flavonoïdes sont des antioxydants puissants, susceptibles d'inhiber la formation des radicaux libres et de s'opposer à l'oxydation des macromolécules (VAN et al.,1995).

La quantité considérable des flavonoïdes et des composés phénoliques contenus dans l'extraits de *Helianthemum lippii* L. sont probablement responsables l'activité anti-oxydante.

Les composés phénoliques comme les acides phénoliques sont considérés comme les contributeurs majeurs à la capacité anti-oxydante des plantes (LI *et al.*,2007). Les tanins, les flavonoïdes sont également des piègeurs de radicaux libres. Ils revêtent de ce fait des potentialités dans l'inhibition de la peroxydation lipidique (BRUNETON,1993). Les tanins sont des donneurs de protons aux radicaux libres lipidiques produits au cours de la peroxydation. Des radicaux tanniques plus stables sont alors formés, ce qui a pour conséquences de stopper la réaction en chaîne de l'auto oxydation des lipides. Tandis que les NP-ZnO sont capables de protéger l'intégrité de la membrane cellulaire contre les dommages du stress oxydatif induit par CCl<sub>4</sub> d'augmenter les niveaux d'enzyme antioxydants (DAWEI *et al.*,2009). En plus, Zn est aussi un composant important dans la membrane cellulaire et la fonction, comme un antioxydant et protège contre la peroxydation des lipides (PRASAD, 2014).

Le dosage des protéines totales fait une partie du bilan biologique standard, qui fait lui-même une partie du bilan complet de la santé spécialement la fonction du foie et des reins. Dans le même sens le dosage des protéines totales peut être utilisé pour l'évaluation de statut nutritionnel. La concentration augmentée des protéines peut être trouvée en cas de inflammation par des agents pathogènes comme le CCl<sub>4</sub> qui provoque des perturbations du taux des protéines (MULLER *et al.*,1974;GAD *et al.*,2012). De même, le taux d'urée augmenté sous l'effet de CCl<sub>4</sub> explique un catabolisme accru des protéines et/ou un problème de sécrétion au niveau des hépatocytes (DEANDRADE *et al.*,2012 ; SHAKYA *et al.*,2012). En effet, Saba et ses collaborateurs (2010) ont démontré que l'augmentation du taux de l'urée et de la créatinine est due à l'activation du catabolisme des protéines au cours de l'hépatotoxicité.

Le rein est un organe dynamique qui intervient dans le maintien de l'homéostasie du corps. Le tissu rénal peut être affecté par divers médicaments et produits chimiques, y compris les xénobiotiques (AJITH *et al.*,2007). La néphrotoxicité de CCl<sub>4</sub> a été clairement révélée par l'altération du parenchyme rénal, l'augmentation du taux d'urée, créatinine chez les rats traités avec le CCl<sub>4</sub> par rapport aux témoins. Ces paramètres sont considérés comme des biomarqueurs de la fonction rénale. Nos résultats sont en concordance avec les travaux de OZTURK (2003), AHMED ALI et ses collaborateurs (2010) ainsi que ceux de KESHK et KATARY (2016), qui ont montré que les cellules rénales ne sont plus capables de contrôler le processus d'excrétion urinaire, car les reins sont parmi les organes cibles et les plus sensibles au CCl<sub>4</sub>.L'augmentation du taux d'urée et créatinine peut être expliquée par l'augmentation de la dégradation des composés protéiques en acides aminés puis en urée et créatinine. Ainsi,

ces acides aminés formés peuvent se transformer sous l'action des transaminases plasmatiques en composés carboxyliques tels que l'acide pyruvique (FORÊT,2012). Ceci implique la forte activité enzymatique de TGO et de, TGP chez les rats traités par le CCl<sub>4</sub>.

Concernant les effets protecteurs de la plante. Nous remarquons une amélioration de paramètre rénal par composés doués d'activité antioxydante tels que les flavonoïdes, les polyphénols et les tanins, ces différents constituants exercent leurs actions anti-inflammatoires, en plus leurs actions antioxydantes en inhibant la production de l'anion superoxyde. La diminution de taux de paramètres rénale après l'administration de nanoparticule de oxyde zinc ceci expliqué par leur effet protecteur. Le ZnO-NP est un élément non toxique il possède une capacité antioxydant qui empêche ou ralentit l'oxydation en neutralisant des radicaux libres , donc d'améliorer la puissance de fonctionnement du tissu pour arrêter la perturbation de la membrane cellulaire (SANTHOSHKUMAR., VENKAT et RAJESHKUMAR., 2017).

# *Conclusion et perspectives*

## CONCLUSION

De nos jours, l'utilisation des plantes en phytothérapie a reçu un grand intérêt dans la recherche médicale et devient aussi importante. Cet intérêt de ces plantes médicinales représente d'une part une source inépuisable des principes actifs naturels bioactifs peut utilisées dans la formation des nouvelles substances ont des intérêts médicinale. La biosynthèse verte actuelle montre que le *Helianthemum lippii* L. peut être utilisé comme coiffe efficace ainsi que comme agent pour la synthèse de nanoparticules de ZnO. Par conséquent, la synthèse de NP-ZnO à l'aide de ressources vertes est une meilleure alternative à la synthèse chimique, car cette synthèse verte est sans polluants et respectueuse de l'environnement.

L'analyse qualitative et quantitative de la plante montre que l'extrait aqueux de *Helianthemum lippii* L. est très riche en polyphénols, flavonoïdes, alcaloïdes, terpénoïdes, saponines et tanins, ce qui pourrait représenter une nouvelle source potentielle des molécules bioactives ont un important effet thérapeutique. L'étude MEB révèle que les molécules se combinent en cluster de différentes formes avec une taille de l'ordre de nanomètre. Même les résultats IR sont indicatifs d'une synthèse réussie de nanoparticule de ZnO. Enregistre que l'extrait de *Helianthemum lippii* L. possède un pouvoir antioxydant puissant qu'il est bien déterminé par le test de DPPH avec  $IC_{50} = 0.842 \text{ mg/ml}$ . Ces résultats nous ont impressionnés à l'efficacité d'extraits utilisés vis-à-vis les perturbations oxydatives *in vitro*.

Le traitement des rattes par le NP-ZnO, *Helianthemum lippii* L. diminue l'état de stress oxydant induit par l'exposition au  $\text{CCl}_4$  par une limitation des phénomènes radicalaires et une réparation des dommages oxydantes en diminuant la peroxydation ce qui entraîne l'augmentation du poids corporel des rattes et améliore le poids relatif de foie qui montre l'effet bénéfique de ces systèmes thérapeutiques contre la dysfonction physiologique notamment dans le foie associée au toxicité du  $\text{CCl}_4$ . nos résultats ont montré aussi que l'extrait *Helianthemum lippii* L. était bénéfique pour le traitement des dommages hépatocytaires induits par le  $\text{CCl}_4$ , car il a diminué les concentrations PAL, TGO, TGP,  $\gamma$ -GT dans le sang et aussi la diminution du taux du Cholestérol, Triglycérides et Créatinine. Tous ces résultats suggèrent que l'extrait *Helianthemum lippii* L. et le NP-ZnO présente effectivement des effets hépato-protecteurs puissants sur les lésions hépatiques induites par le  $\text{CCl}_4$  chez les rats, et que ces effets peuvent être dus à la fois à l'inhibition de la peroxydation lipidique et à l'augmentation de l'activité des enzymes anti-oxydantes.

Cette étude nous a permis d'ouvrir plusieurs perspectives :

- Extraction et identification des molécules bioactives responsables de l'effet thérapeutique de *Helianthemum lippii* L.
- Etudier l'effet thérapeutique de nanoparticule de ZnO contre des autres anomalies physiologiques et métaboliques.
- Evaluation de l'effet thérapeutique de nanoparticule de ZnO en modifiant la dose et la voie d'administration.
- Etudier des mécanismes d'action de la nanoparticule de ZnO au niveau moléculaire et cellulaire.

# *Références bibliographique*

## Références Bibliographies

## A

1. ADEWALE O.B., ADEKEYE A.O., AKINTAYO C.O., ONIKANNI A and SABIU S.,(2014).Carbon tetrachloride (CCl<sub>4</sub>)-induced hepatic damage in experimental Sprague Dawley rats: Antioxidant potential of *Xylopiya aethiopica*/ The Journal of Phytopharmacology; 3(2): 118-123.
2. AHN M., KUMAZAWA S., USUI Y., NAKAMURA J., MATSUKA M., ZHU F., NAKAYAMA T., (2007). Antioxidant activity and constituents of propolis collected in various areas of China. *Food Chemistry*, 101(4), 1383–1392. doi : 10.1016/j.foodchem.2006.03.045.
3. AHMAD A., PILLAI KK., NAJMI AK., AHMAD SJ., PAL SN.,(2002) Evaluation of hepatoprotective potential of jigraine poast treatment against thioacetamide induced hepatic damage. *J Ethnopharmacol* 79: 35-41.
4. AHMED ALI S., ZAKI RIZK M., ALI IBRAHIM N., SHAFIK ABDALLAH, S., MOHAMED SHARARA, H., MOHAMED MOUSTAFA M., (2010). Protective role of *Juniperus phoenicea* and *Cupressus sempervirens* against CCl<sub>4</sub>. *World journal of Gastrointetinal Pharmacology and Therapeutics*.1(6): 123-131.
5. AHSAN R., MONIR UL., ISLAM KM., MUSADDIK A., HAQ E., (2009) Hepatoprotective activity of methanol extract of some plants against CCl<sub>4</sub> induced hepatotoxicity in albino rats. *Global J Pharmacol* 3: 116-122.
6. AJITH T.A., NIVITHA V., USHA S. (2007). *Zingiber of ficinale Roscoe* alone and in combination with alpha-tocopherol protect the kidney against cisplatininduced acute renal failure. *Food Chem Toxicol*. 45: 921–927.
7. AKROUT A., HAJLAOUI H., MIGHRI H., NAJJAA H., NEFFATI M., (2009). Antimicrobial and antioxydant activities of *Artemisia herba-alba* essenial oil cultivated in Tunisian arid zone. *Académie Des Sciences*. 24, 1-7.
8. AL-HARBI N.O., IMAM F., NADEEM A., AL-HARBI MM., IQBAL M., AHMAD S.F., (2014). Carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in rat is reversed by treatment with riboflavin. *Int Immunopharmacol*, 21, 383–388.
9. ALSABRI S.G., RMELI N.B., ZETRINI A.A., MOHAMED S.B.,MESHRI M.I., ABURAS K.M., BENSABER SM., MREMA I.A., MOSBAH A.A, ALLAHRESH K.A., HERMANN A., GBAJ A., (2013). Phytochemical, anti-oxidant, anti-microbial, anti-inflammatory and anti-ulcer properties of *Helianthemum lippii*. *Journal of*

Pharmacognosy and Phytochemistry . ISSN 2278- 4136/ ZDB-Number: 2668735-5/ IC Journal No: 8192.

10. ANAND R and JAYALAKSHMY E., (2015). Biosynthesis and Characterization of Zinc Oxide Nanoparticles using Root Extract of *Zingiber officinale*. ORIENTAL JOURNAL OF CHEMISTRY, Vol. 31, No. (1):Pg. 51-56.
11. APOSTOLI P., (2002). Elements in environmental and occupational medicine. J Chromatogr. B 778, 63.
12. ASQUITH T.N., BUTLER L.G., (1986). Interaction of condensed tannins with selected protochemistry. 25(7), 1591-1593.
13. ATEF H.A., MANSOUR M.K., IBRAHIM E.M., et AL., (2016). Efficacy of zinc oxide nanoparticles and curcumin in amelioration the toxic effects in aflatoxicated rabbits. Int J Curr Microbiol Appl Sci; 5(12):795-818. <https://cutt.us/PBEQh>
14. AWOYINKA O.A., BALOGUN I.O et OGUNNOWO A.A., (2007). Phytochemical screening and in vitro bioactivity of *Cnidioscolus aconitifolius* (Euphorbiaceae). Journal Med Plant Res, 1(3), 063-065.

## B

15. BADKOOBEH P., PARIVAR K., KALANTAR S.M., HOSSEINI S.D and SALABAT A., (2013). Effect of nano-zinc oxide on doxorubicin- induced oxidative stress and sperm disorders in adult male Wistar rats. Iran J Reprod Med 2013; 11(5): 355-64, PMID: 24639766.
16. BANNISTER J.V., BANNISTER W.H., ROTILIO G., (1987). Aspects of the structure, function, and applications of superoxide dismutase. CRC Crit. Rev. Biochem. 22 (2), 111–180.
17. BEHZADI S., SERPOOSHAN V., TAO W., HAMALY M.A., ALKAWAREEK M . Y., DREADEN E.C., BROWN D., ALKILANY A.M., FAROKHZAD O.C et MAHMOUDI M., (2018). Cellular Uptake of Nanoparticles: Journey Inside the Cell. Chem Soc Rev, Author manuscript; available in PMC, 46(14): doi:10.1039/c6cs00636, 4218–4244.
18. BELYAGOUBI-BENHAMMOU N., BELYAGOUBI L., ATIK- BEKKARA F., (2014). Phenolic contents and antioxidant activities *in vitro* of some selected Algerian plants. Journal of Medicinal Plant Research. DOI: 10.5897/JMPR2014.5554. <http://www.academicjournals.org/JMPR>.

19. BENHAMMOU N., ATIK BEKKARA F., KADIFKOVA P., (2007). Antiradical capacity of the phenolic compounds of *Pistacia lentiscus* L. and *Pistacia atlantica* Desf. *Advances in Food Sciences*, 29(3), 155-161.
20. BISSON M., HEUZE G., JOACHIM S., LACROIX G., et al., (2005). Tétrachlorure de carbon. INERIS–DRC-01-25590 01DR027.doc , p5-52.
21. BOIGK G., STROEDTER L., HERBST H., WALDSCHMIDT J.R., OTTO RIECKEN E et SCHUPPAN D., (1997). Silymarin Retards Collagen Accumulation in Early and Advanced Biliary Fibrosis Secondary to Complete Bile Duct Obliteration in Rats. *HEPATOLOGY* Vol. 26, No. 3, p-p643-648.
22. BOZETINE H., (2017). Synthèse des nanostructures de ZnO par la méthode hydrothermale et leurs applications. These de doctorat en science chimie des materiaux, universite mouloud mammeri, tizi ousou.
23. BOUAMAMAA H., NOEL T., VILLARD J., BENHARREF A et JANA M., (2006). Antimicrobial activities of the leaf extracts of two Moroccan *Cistus* L. species, *Journal of Ethnopharmacology* ,104–107 (2006).
24. BOUGANDOURA N., (2011). Pouvoir antioxydant et antimicrobien des extraits d'espèces végétales *Satureja calamintha spnepta* (nabta) et *Ajugaiwa* L. (chendgoura) de l'ouest d'Algérie. Mémoire Magister. Université Abou Bakr Belkaid, Tlemcen.
25. BOUGHRARA B., (2016). Inventaire et étude ethnobotanique et chimique des plantes à intérêts thérapeutique et nutritif du Parc national El- kala. These de doctorat en science Chimie, universite badji mokhtar-annaba.
26. BOUZERKOUNE F., (2009). Etude phytochimique de la plante *Helianthemum Kahiricum* .MEMOIRE POUR L'OBTENTION DU DIPLOME DE MAGISTER EN CHIMIE, UNIVERSITE HADJ LAHKDAR-BATNA , FACULTE DES SCIENCES DEPARTEMENT DE CHIMIE, 93p.
27. BOUZID A., CHADLI R., BOUZID K., (2016). Étude ethnobotanique de la plante médicinale *Arbutus unedo* L. dans la région de Sidi Bel Abbés en Algérie occidentale. *Phytothérapie* 15 (6), 373-378.
28. BRAY T.M., BETTGER W.J., (1990). The physiological role of zinc as an antioxidant. *Free Radic Biol Med* 8:281–291.
29. BRUNETON J., (1993). *Pharmacognosie : Phytochimie, plantes médicinales*. 2e Ed. Tec & Doc Lavoisier, Paris, 915 pages.
30. BUZEA C., PACHECO I et ROBBIE K., (2007). Nanomaterials and nanoparticles: sources and toxicity, *Biointerphases*, 2(4):MR17–R71.

## C

31. CAREL Y., (2003). La silymarine, de puissantes propriétés hépatoprotectrices. *Nutranews* ;5: 2-5.
32. CHAO J., LIAO J.W., PENG W.H., LEE M.S., PAO L.H., CHENG H.Y., (2013). Antioxidant, Analgesic, Anti-Inflammatory, and Hepatoprotective Effects of the Ethanol Extract of *Mahonia oiwakensis* Stem/ *Int. J. Mol. Sci.* 2013, 14, 2928-2945. Doi :10.3390/ijms14022928.
33. CHITHRANI B.D., GHAZANI A.A ET CHAN W. C., (2006). Determining the size and shape dependence of gold nanoparticle uptake into mammalian cells. *Nano Lett* 6(4): 662-668.
34. CHOUIKHA.,FERIANIA.,ADJALE et CHEFROUR A ., (2015).PHYTOCHEMICALS STUDY, ANTIOXIDANT AND ANTIMICROBIAL ACTIVITIES OF *HELIANTHEMUM LIPPII* (L.) PERS. IN DIFFERENT STAGES OF GROWTH (SOMATIC, FLOWERING AND FRUITING).*world journal of pharmacy and pharmaceutical sciences*, Impact Factor 5.210,V 4(11), 337-349.
35. CHUNG Y C., CHIEN C T., TENG KY ., CHOU S T., (2006). Antioxidative and mutagenic properties of *Zanthoxylum ailanthoides* Sieb and zucc. *Food chemistry*.97(3) :418-425.
36. CLAIBORNE A., (1985). Catalase activity. *Handbook of methods of oxygen radicals research*, CRC Press, pp. 283-284.
37. CONSO F., RUDLER M., (1978).Dérivés chlorés des hydrocarbures aliphatiques.Paris : Encyclopédie medico-chir.urgicale, Intoxications, fascicule 16046 E 10.

## D

38. DAHIRU D., OBOIDOA O., (2007) Evaluation of the antioxidant effects of *Ziziphus mauritiana* Lam. Leaf extract against chronic ethanol induced hepatotoxicity in rat liver. *Afr J Tradit Complement Alterna Med* 5: 39-45.
39. DAHMOUN A., (2013).ELABORATION ET CARACTERISATION DES NANOSTRUCTURES D'OXYDE DE ZINC PAR LE PROCEDE CHIMIQUE (CBD). These de doctorat en science physique et chimie des matériaux ,université mouloudammeri de tizi ouzou faculte des sciences,p12.
40. DAWEI A.I., ZHISHENG W and ANGU Z.,(2009). Protective effects of Nano-ZnO on the primary culture mice intestinal epithelial cells in in vitro against oxidative injury. *Int J Nanotechnol* 2009; 3:pp1-6.

41. DEHMLOW C., MURAWSKI N et HERBERT G., (1996).SCAVENGING OF REACTIVE OXYGEN SPECIES AND INHIBITION OF ARACHIDONIC ACID METABOLISM BY SILIBININ IN HUMAN CELLS. *Life Sciences*, Vol. 58, No.18, pp1591-1600.
42. DEANDRADE B. MA., SOARES VE., DESOUZA LM., DAROSA SOBREIRA M.F., SILVEIRA CASSOL D.M., TOMA S.B., (2012). Hepatoprotective treatment attenuates oxidative damages induced by carbon tetrachloride in rats. *Experimental and Toxicologic Pathology*. 64: 155-165.
43. DJAHRA A-B.,(2014).Etude phytochimique et activité antimicrobienne, antioxydante, antihépatotoxique du Marrube blanc ou Marrubium vulgare L.These de doctorat en science Biologie végétale,université badji mokhtar - annaba.

**E**

44. EBAID H et al., (2013).Folic acid and melatonin ameliorate carbon tetrachloride-induced hepatic injury, oxidative stress and inflammation in rats.Department of Zoology, College of Science, King Saud University, KSA,University, El-Minia,Egypt,doi:10.1186/1743-7075-10-20.
45. EIDI A., MORTAZAVI P., TEHRANI M.E., ROHANI A.H., SAFI S., (2012). Hepatoprotective Effects Of Pantothenic Acid On Carbon Tetrachloride-Induced Toxicity In Rats. *EXCLI Journal*; 11:748-759.
46. EL-BOSHY M.E., ABDELHAMID B.F., REACHABLE., ASHSHIA A et al., (2017).Attenuation of CCl<sub>4</sub> Induced Oxidative Stress, Immunosuppressive, Hepatorenal Damage by Fucoïdan in Rats.*Journal of Clinical Toxicology*,El-Boshy et al., *J Clin Toxicol*, 7:3 ,DOI: 10.4172/2161-0495.1000348.
47. EL-SHITANY N.A., EL-HAGGAR S et EL-DESOKY K., (2008).Silymarin prevents adriamycin-induced cardiotoxicity and nephrotoxicity in rats.*Food and Chemical Toxicology* 46 ,pp2422–2428.
48. EPA.,(2010).TOXICOLOGICAL REVIEW OF CARBON TETRACHLORIDE.In Support of Summary Information on the Integrated Risk Information System (IRIS),U.S. Environmental Protection Agency,Washington, DC,CAS No. 56-23-5.
49. EVANS WC.,TREASE GE.,1983.Textbook of Pharmacognosy, 12th Edition,Balliere Tindall and CompanyPublisher, London. pp. 343–383.

## F

50. FARHANA S., JAYANTA B., et KALITA M.C., (2017). Biogenic synthesis of ZnO Nanoparticles using Polygonum chinense leaf extract and their Antibacterial activity. International Journal of Nanotechnology and Applications, Research India Publications, ISSN 0973-631X Volume 11, Number 2 , pp155-165.
51. FARIDA T, SALAWU OA, TIJANI AY, EJIOFOR JI, (2012). Pharmacological evaluation of *Ipomoea asarifolia* (Desr.) against carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in rats. J Ethnopharmacol, 142, 642-646.
52. FAVIER A., (1990). Métabolisme du zinc. Encycl, Méd.Chir., Glandes-Nutrition, 10359D10.
53. FEHÉR J et LENGYEL G., (2012). Silymarin in the Prevention and Treatment of Liver Diseases and Primary Liver Cancer. Current Pharmaceutical Biotechnology, 2012, Vol. 13, No.1, pp 210-217.
54. FILIPPIN L.I., BONA S., NASO F.C.D., DAVID C., VALIATTI B et al., (2012). Effect of Antioxidant Treatment on Fibrogenesis in Rats with Carbon Tetrachloride-Induced Cirrhosis/ International Scholarly Research Network ISRN Gastroenterology. Doi :10.5402/2012/762920.
55. FORÊT R., (2012). Dico de Bio. De Boeck Supérieur. pp : 331.
56. FRASCHINI F., DEMARTINI G., ESPOSTI D., (2002). Pharmacology of silymarin. Clinical Drug Investigation, doi: 10.2165/00044011-200222010-00007.22(1), pp51-65.

## G

57. GAD M. M. S., MOHAMMAD Y. S., MOHAMMAD T.G.M., (2012). Acute and Repeated-Doses (28 Days) Toxicity of Thymol Formulation in Male Albino Rats. Australian Journal of Basic and Applied Sciences 7, 915-922.
58. GIRISH C., PRADHAN SC., (2012). Hepatoprotective activities of picroliv, curcumin, and ellagic acid compared to silymarin on carbon tetrachloride-induced liver toxicity in mice. J Pharmacol Pharmacother, 3, 149-155.
59. GNANASANGEETHA and THAMBAVANI S., (2013). Biogenic Production of Zinc Oxide Nanoparticles Using *Acalypha Indica* Journal of Chemical, Biological and Physical Sciences, An International Peer Review E-3 Journal of Sciences, Vol. 4, No. 1; 238-246.

60. GNANASANGEETHA and THAMBAVANI S., (2014).An Assortment of Herbal Plants in the Fabrication of Zinc Oxide Nanoparticles, International Journal of Green and Herbal Chemistry ,Vol.3, No.2, 771-783.
61. GNANASANGEETHA D., SARALATHAMBAVANI D.,(2014) .Biogenic Production of Zinc Oxide Nanoparticles Using Acalypha Indica .Journal of Chemical, Biological and Physical Sciences/ Vol.4, No.1; 238-246.
62. GOYER R.A., (1995).toxic effects of metals .In :Casarett & Doull s toxicologie , 5 ed . New –york , Mc graw-Hill,1995 : 720-721.
63. GORDILLO K-R ., SHAH R and MURIEL P.,(2017).Oxidative Stress and Inflammation in Hepatic Diseases :Current and Future Therapy/ Oxidative Medicine and Cellular Longevity.
64. GÜLER A.,(2020).Structure, Microstructure, and Optical Properties of Tb Doped ZnO Nanorods.Marmara University, Department of Computer and Instructive Technology Teacher, 34722 Goztepe, Istanbul, Turkey, 32(2): 185-191,DOI: 10.7240/jeps.627298.

## H

65. HAGERMAN A., RIEDL K., JONES G., SOVIK K., RITCHARD N., HARTZFELD P., HUANG D., OU B., PRIOR R., (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. J.agri. food Chem. 53(6): 1841-1856.
66. HAMBIDGE K M., KREBS NF., (2007). Zinc deficiency: a special challenge. The Journal of Nutrition . 137 (4),1101 –1105.
67. HALLIWELL G., (1989). Free radicals, reactive oxygen species and human disease: a critical evaluation with special reference to atherosclerosis. Br J Exp Pathol, 70 : 737 - 757.
68. HARBORNE J.B ., (1998). Phytochemical Methods. A Guide to Modern Technology of Plant Analysis, 3rd Edn. Chapman and Hall, New York pp. 88-185.
69. HARVEYBROWN E., (1957). Zinc oxide Rediscovered, The New Jersey Zinc Company,New York, NY .
70. HENK J., ZWIR E et RIK L.,(2003). Caroténoïdes et flavonoïdes contre le stress oxydatif. Arômes Ingrédients Additifs. 44, 42-45.
71. HIDAYAT R et FATMAWATI.,(2016). Anti-cancer activity of Aquilaria malacensis leaves on human cervical cancer cells. European Journal Of Pharmaceutical And Medical Research,3(1), 46-49.
72. <https://cutt.us/nEzjX>

73. HUANG G.J., DENG J.S., CHIU C.S., LIAO J.C., HSIEH W.T., (2012). Hispolon Protects against Acute Liver Damage in the Rat by Inhibiting Lipid Peroxidation, Proinflammatory Cytokine, and Oxidative Stress and Downregulating the Expressions of iNOS, COX-2, and MMP-9/Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. Doi:10.1155/2012/480714.
74. HUSEN A., SIDDIQI K.S., (2014). Plants and microbes assisted selenium nanoparticles: characterization and application .J .Nanobiotechnol. 12, 28,doi.org/10.1186/s12951-014-0028-6.
75. HUSSAIN M., NIJSTAD N., FRANCESCHINI L. (2011). Regulation of microsomal triglyceride transfer protein/ Clin. Lipidol 6(3), 293–303.

## I

76. IARC., (1979). Monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans. Some halogenated hydrocarbons. Lyon : Centre International de recherche sur le cancer. 20, 371-399.
77. IARC., (1982). Monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans. Supplément 4. Lyon : Centre international de recherche sur le cancer. 74-75.
78. INERIS., (2005). Fiche des données toxicologiques et environnementales des substances chimiques « TETRACHLORURE DE CARBONE »France.. Version N° 2-1. p 5-7.

## J

79. JACOBSSON T., (2009).Synthesis and characterization of ZnO nanoparticules, 1, 58-60.
80. JAKUBOVSKI M., (2001).Zinc and cadmium . Patty s'toxicologie 5ed ,New York, 2001, 253-325.
81. JAMDAGNI P ., KHATRI P et RANA J.S., (2016). Green synthesis of zinc oxide nanoparticles using flower extract of Nyctanthes arbor-tristis and their antifungal activity Journal of King Saud University Science: doi.org/10.1016/j.jksus,2016.10.002.
82. JIANG J., JIANG PI AND CAI J., (2018).The Advancing of Zinc Oxide Nanoparticles for Biomedical Applications. Bioinorganic Chemistry and Application,doi.org/10.1155/2018/1062562.
83. JIANG W., KIM B-Y., RUTKA J-T et CHAN W- C., (2008). Nanoparticle-mediated cellular response is sizedependent , Nat Nanotechnol 3(3): 145-150.
84. JOMOVA K., VALKO M., (2011) .Advances in metal-induced oxidative stress and human disease. Toxicology 283:65–87. doi:10.1016/j.tox.2011.03.001.

## K

85. KAMBLE M-B ., DUMBRE R-K. et RANGARI V-D.,(2008). Hepatoprotective activity studies of herbal formulations. *International Journal of Green Pharmacy*, 2(3), 147-150.doi : 10.4103/0973-8258.42731
86. KANG D G ., YUN C K ., LEE H S., (2003). Screening and comparison of antioxidant activity of solvent extracts of herbal medicines used in Korea.*Journal of Ethnopharmacology*.87 :231-236 .
87. KARKANIS A., BILALIS D., IFTHIMIADO A., (2011). Cultivation of milk thistle (*Silybum marianum* L. Gaertn.), a medicinal weed, *Industrial Crops and Products*. 34, 825-830.
88. KAVITHA K.S., SYED B., RAKSHITH D., KAVITHA H.U., YASHWANATHA RAO H.C., HARINI B.P and SATISH S.,2013.Plants as Green Source towards Synthesis of Nanoparticles.*International Research Journal of Biological Sciences*, Vol. 2(6), 66-76,ISSN 2278-3202.
89. KESHK, W.A., KATARY, M.A., (2016). Transforming Growth Factor b1/Smad3 Signaling and Redox Status in Experimentally Induced Nephrotoxicity: Impact of Carnosine. *Ind J ClinBiochem*. DOI 10.1007/s12291-016-0564-y.
90. KRUG H F et WICK P., (2011). *Nanotoxicology: An Interdisciplinary Challenge*. *Angewandte Chemie International Edition in English*, 50(6), doi : 10.1002/anie,201001037.
91. KUBITZKI K., BAYER C.,2003.*The families and genera of vascular plants*. Berlin; Springer-Verlag.

## L

92. LANDOWN A.B., (1991). Interspecies variations in response to topical application of selected zinc compound. *Food & chimicale toxicology*, 29- (1), 57-64.
93. LAZARE T., JACQUES D.Y., MICHEL O. A., (2011). Alcoolisation chronique des rats (*Rattus norvegicus*) de souche Wistar à une eau-de-vie traditionnelle produit en Côte d'Ivoire (Koutoukou). *Journal of Applied Biosciences*. 41: 2772 – 2779.
94. LEE G.H., BHANDARY B., LEE E.M., PARK J.K., JEONG K.S.,( 2011). The roles of ER stress and P450 2E1 in CCl4-induced steatosis/ *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 43 1469– 1482. Doi :10.1016/j.biocel.2011.06.010.

95. LEE H.Y., KIM S.W., LEE G.H., CHOI M.K; CHUNG H.W.,(2017) Curcumin and Curcuma longa L.extract ameliorate lipid accumulation through the regulation of the endoplasmic reticulum redox and ER stress/ Scientific Reports |7:6513|.Doi :10.1038/s41598-017-06872-y.
96. LEE J.Y., PARK J., KIM Y.H., KIM D.H., KIM C.G et KOH J.Y., (2000) .Induction by synaptic zinc of heat shock protein-70 in hippocampus after kainate seizures. Exp, Neurol,161, 433–441.
97. LEFEVRE S.O.M ., (2002).Alimentation en zinc chez les equides et implications dans les affections osteo-articulaires juveniles du poulain. faculté de médecine de créteil, These de doctorat, Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort .
98. LAGUERRE M., LECOMTE J et VILLENEUVE P., 2007. Evaluation of the ability of antioxidants to counteract lipid oxidation: Existing methods, new trends and challenges. Progress in Lipid Research, 46: 244-282.
99. LI C., MIAO X., LI F., WANG S., LIU Q., WANG Y., SUN J., (2017). Oxidative Stress-Related Mechanisms and Antioxidant Therapy in Diabetic Retinopathy/ Oxidative Medicine and Cellular Longevity.
100. LI H.B., CHENG K W., WONG C.C., FAN K.W., CHEN F and JIANG Y.,(2007). Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fractions of selected microalgae. Food Chemistry, 102, 771-776.
101. LI Z., WEI W., CHEN B., CAI G., LI X., (2016). The Effect of rhCygb on CCl4-Induced Hepatic Fibrogenesis in Rat/ Scientific RepoRts| 6:23508 |. 2016. Doi: 10.1038/srep23508.
102. LIGOR M., OLSZOWY P.,BUSZEWSKI B., (2011). Application of medical and analytical methods in Lyme borreliosis monitoring. Publication Medicinal Central. Mar. 402(7), 2233–2248.
103. LIN Y., LUO H., WANG X., ZHENG M., JIN Q et al., (2018). Flavanones from Sedum sarmentosum Bunge Alleviate CCl4-Induced Liver Fibrosis in Rats by Targeting TGF- $\beta$ 1/T $\beta$ R/Smad Pathway In Turn Inhibiting Epithelial Mesenchymal Transition/ Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, doi.org/10.1155/2018/3080837.

## M

104. MAAMERI Z., DJERROU Z., HALMI S., DJAALAB H., RIACHI F., HAMDIPACHA Y., (2015). Evaluation of Hepatoprotective Effect of Pistacia lentiscus

- L. Fatty Oil in Rats Intoxicated by Carbon Tetrachloride/ International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research; 7(2); 251-254.
105. MANDEEL Q., AL-LAITH A., (2007). Ethno Mycological aspects of the desert truffle among native Bahraini and non-Bahraini peoples of the Kingdom of Bahrain J.Ethnopharmacol, 110 : 118–129.
106. MANSOURI A., (2014).Détermination du taux des oligoéléments sélénium et zinc dans le cheveu des patients atteints par le psoriasis au moyen de la spectrométrie par fluorescence X et de l'activation neutronique instrumentale. thèse de doctorat en sciences Génie Chimique, Université Ferhat Abbas - Sétif 1.
107. MAQSOOD F., IBRAHIM T., FAROOQI A ., SHEERAZ M.,(2017). Polygonum amplexicaule extract: an effective herbal cure to ccl4 induced liver damage in vivo. journal of rare disorders: diagnosis & therapy issn 2380-7245. DOI: 10.21767/2380-7245.100057.
108. MASON C., VIVEKANANDHAN S., MISRA M et MOHANTY A.K., (2012). Switchgrass (*Panicum virgatum*) extract mediated green synthesis of silver nanoparticles. World J. Nano Sci. Eng. 2, 47–52.
109. MEZZETTI A., PIERDOMENICO S.D., COSTANTINI F., ROMANO F., D.E CESARE D., CUCCURULLO F., IMBASTARO T., RIARIO-SFORZA G., DI GIACOMO F., ZULIANI G., FELLIN R.,(1998) .Copper/zinc ratio and systemic oxidant load: effect of aging and aging-relateddegenerative diseases. Free Radic Biol Med. vol 25(6), p.676-681.
110. MOTAMED S M and NAGHIBI F ., (2010). Antioxidant activity of some edible plants of the Turkmen Sahra region in northern Iran. *Food Chemistry*, 119, 1637-1642.
111. MOUILLÉ-R T.H.M., (2014). Utilisation du chardon-marie (*Silybum marianum*) dans les affections hépatiques chez les oiseaux et le furet: présentation de quelques cas cliniques. These de doctorat vétérinaire ,la faculté de médecine de créteil, These de doctorat, Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort p 69-72.
112. MULLER P., FELLIN R., LAMBRECHT J., AGOSTINI B., WICLAND H., ROST W., SADEL D., (1974). Hypertriglyceridemia, secondary to liver disease, European Journal of Clinical Investigation. 4, 419-428.

## N

113. NABESHI H., YOSHIKAWA T., MATSUYAMA K., NAKAZATO Y., MATSUO K., ARIMORI A., ISOBE M., TOCHIG S., KONDOH S., HIRAI T., AKAS T., YAMASHITA T et NAGANO K., (2010). Size-dependent cytotoxic effects of

amorphous silica nanoparticles on Langerhans cells", *An International Journal of Pharmaceutical Sciences*, 65(3), doi : 10.1691/ph.2010.9268,199-201.

- 114.** NEDJMI A., SOUSSOU A., (2014). Caractérisations biochimiques de quelques plantes spontanées médicinales à travers des différents modes de séchage. Mémoire master académique, UNIVERSITE KASDI MERBAH OUARGLA, 46p.
- 115.** NJOKU O.V., OBI C., (2009). Phytochemical constituents of some selected medicinal plants. *Afr J Pure Appl Chem*. 3(11), 228-233.

## O

- 116.** OTEIZA P.I., OLIN K.L., FRAGA C.G et KEEN C.L., (1995). Zinc deficiency causes oxidative damage to proteins, lipids and DNA in rat testes. *Journal of Nutrition*, 1995; 25: 823-829.
- 117.** OUATTARA Y., (1999). Etude de l'activité des extraits aqueux de souris soumises à une intoxication aiguë au tétrachlorure de carbone, thèse de 3<sup>ème</sup> cycle, Université de Ouagadougou, p 117.
- 118.** OZTURK I.C., OZTURK F., GUL M., ATES B., CETIN A., (2009). Protective effects of ascorbic acid on hepatotoxicity and oxidative stress caused by carbon tetrachloride in the liver of Wistar rats. *Cell Biochemistry and Function*. 27: 309–315.
- 119.** OZTURK, F., UCAR, M., OZTURK, I.C., VARDI, N., BATCIOGLU, K., (2003). Carbon tetrachloride-induced nephrotoxicity and protective effect of betaine in Sprague-Dawley rats. *Urology*. 62 (2) : 353-6.

## P

- 120.** PAN X., HUSSAIN F.N., IQBAL J., FEUERMAN M.H., HUSSAIN M.M., (2007). Inhibiting Proteasomal Degradation of Microsomal Triglyceride Transfer Protein Prevents CCl<sub>4</sub>-induced Steatosis/ *The Journal Of Biological Chemistry* Vol. 282, pp. 17078–17089.
- 121.** PAREJO I., VILADOMAT F., BASTIDA J., ROSAS R.A., FLERLAGE N., BURILLO J., CODINA C., (2002). Comparison between the radical scavenging activity and antioxidant activity of six distilled and nondistilled Mediterranean herbs and aromatic plants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50, 6882–90.
- 122.** PARKER M., WILICE M., (1994). Structure and function of Glutathione S Transferase. *Biochem Biophys. Acta*. 1205, 1-18.

123. PELLIEUX N., (2009).Fiche toxicologique (Tétrachlorométhane).Institut national de recherche et de sécurité pour la prévention des accidents du travail et des maladies professionnelles. Paris.p 2-3.
124. PEPPING J., MILK T., (1999). Silybum marianum. Am J Health Syst Pharm. 15; 56(12), 1195-7.
125. PETROS R.A et DESIMONE J.M., (2010).Strategies in the design of nanoparticles for therapeutic applications." Nat Rev Drug Discov 9(8): 615-627.
126. PIERRE AD., (2010). La silymarine dans l'intoxication aux amatoxines. 26 (2), 2-7.
127. POISSON C., (2014). Rôle du stress oxydant au niveau hépatique et rénal dans la toxicité de l'uranium après exposition chronique. Thèse de doctorat en sciences toxicologie. université paris-sud 11.
128. POPOVICI C., SAYKOVA I., TYLKOWSKI B., (2009). Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. Revue de génie industriel, 4, 25-39.
129. PORIES W.J et MANSOUR E.G., (1976).Trace Elements in Human Health and Diseases. Acad. Press, New York, pp. 115–142.
130. POWELL S.R ., (2000). The Antioxidant Properties of Zinc. The Journal of Nutrition, 130(5), 1447S–1454S. doi:10.1093/jn/130.5.1447s.
131. PRASAD A.S.,(2014) . Zinc is an antioxidant and anti-inflammatory agent: its role in human health. Fronteirs in nutrition. 1(24):370-71 .doi: 10.3389/fnut.2014.00014.
132. PREINING O., (1998) .The physical nature of very, very small particles and its impact on their behaviour. Journal of Aerosol Science, Vol.29. ;5(6):481–495.
133. PRICE K.R., JOHNSON T.I., et FENWICK G.R.,(1987). The chemistry and biological significance of saponins in food and feeding stuffs. Crit Rev Food Sci Nutr,26,22-48.
134. PSOTOVA J., CHLOPCIKOVA S., GRAMBAL F., SIMANEK V E.T ULRICHOVA J., (2002).Influence of Silymarin and its Flavonolignans on Doxorubicin-iron Induced Lipid Peroxidation in Rat Heart Microsomes and Mitochondria in Comparison with Quercetin. PHYTOTHERAPY RESEARCH, Phytother. Res. 16, S63–S67, DOI: 10.1002/ptr.811.

## R

135. RAMESH K.G., TALIB H., PANIGRAHI G., AVIK D., GIREESH N.S., SWEETY K., FAIYAZUDDIN M.D., CHANDANA V.R.,(2011). Hepatoprotective effect of Solanum xanthocarpum fruit extract against CCl4 induced acute liver toxicity in experemental animals. Asian Pacific Journal of Tropical Medicine.4, 964-968.

136. RAŠKOVIĆ A., STILINOVIĆ N., KOLAROVIĆ J., VASOVIĆ V., VUKMIROVIĆ S et MIKOV M., (2011). The Protective Effects of Silymarin against Doxorubicin-Induced Cardiotoxicity and Hepatotoxicity in Rats. ISSN1420-3049, *Molecules*, 16, 8601-8613; doi:10.3390/molecules16108601.
137. RASMUSSEN W.J., MARTINEZ E., LOUKA P et WINGETT D.G., (2010). Zinc oxide nanoparticles for selective destruction of tumor cells and potential for drug delivery applications, *Expert Opinion on Drug Delivery*, vol 7, nu 9, pp1063–1077.
138. REHANA D., MAHENDIRAN D., SENTHIL KUMAR R., KALILUR RAHIMAN A., (2017), In vitro antioxidant and antidiabetic activities of zinc oxide nanoparticles synthesized using different plant extracts. *Bioproc. Biosyst. Eng.* 4: 943-957.
139. RITESH K.R., SUGANYA A., DILEEPKUMAR H.V et al., (2015). A single acute hepatotoxic dose of CCl<sub>4</sub> causes oxidative stress in the rat brain. *Toxicology Reports* 2 (2015) 891–895.
140. ROSA D.P., BONA S., SIMONETTO D., ZETTLER C., MARRONI C.A., MARRONI N.P., (2010). Melatonin Protects The Liver And Erythrocytes Against Oxidative Stress In Cirrhotic Rats/ v. 47 – no.1 –jan./mar.
141. ROUMILI M.A., (2016). Élaboration et caractérisations des couches minces d'oxyde de zinc déposées par voies chimique et physique. These de doctorat en science chimie, Université Abderrahmane Mira - Béjaia, p1.
142. ROUSSEAU PAJ., (1978). Intérêt diagnostique du dosage de certains enzymes plasmatiques en pathologie hépatique binaire : Etude bibliographique expérimentale. Université Paris-Est Créteil. P 89.

**S**

143. SABA AB., OYAGBEMI AA., AZEEZ OI., (2010). Amelioration of carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity and haemotoxicity by aqueous leaf extract of *Cnidioscolus aconitifolius* in rats. *Nigerian Journal of Physiological Sciences*. 25: 139 .
144. SAKAI N., MATSUI Y., NAKAYAMA A., TSUDA A et YONEDA M., (2011). Functional-dependent and size-dependent uptake of nanoparticles in PC 12. *Journal of Physics Conference Series* 304(1), 1-10. doi : 10.1088/1742-6596/304/1/012049.
145. SAMBAMURTY A., (2005). Taxonomy of angiosperms. New Delhi; Chand and Company Ltd.
146. SAMUDRAM P., RAJESHWARI H., VASUKI R., GEETA A., SATHIYA MP., (2008). Hepatoprotective activity of bi herbal ethanolic extract on CCl<sub>4</sub> induced hepatic damage in rats. *J Afr Biochem Res* 2: 61-65.

147. SANGARE M.M ., SING H, BAYALA B., BABA-M L.S., ATEGBO J.M., SENOU M., DRAMANE K.L., (2014). Evaluation de la dose efficace de l'extrait aqueux de gomphrena celosioides face à une hépatopathie induite par le tétrachlorure de carbone, Springer – Verlag France. 6 ,1-1.
148. SANTHOSHKUMAR S., RAJESHKUMAR & VENKAT KUMAR, S .(2017).Phyto-assisted synthesis, characterization and applications of nanoparticles – A review, Biochemistry and Biophysics Reports, <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbrep.2017.06.004>.
149. SASIDHARAN S., ARAVINDRAN S., LATHA LY., VIJENTHI R., SARAVANAN D., AMUTHA S., (2010). in vitro antioxidant activity and hepatoprotective effects of lentinula edodes against paracetamol induced hepatotoxicity *Molecules*, 15, 44784489.
150. SCHOLTEN D., TREBICKA J., LIEDTKE C., WEISKIRCHEN R., (2015). The carbon tetrachloride model in mice/Laboratory Animals, Vol. 49 (S1) 4–11. Doi : 10.1177/0023677215571192.
151. SENTHILKUMAR N., NANDHAKUMAR E., PRIYA P., SONI D., VIMALANE M and POTHEHER I.V.,(2017).Synthesis of ZnO nanoparticles using leaf extract of *Tectona grandis* (L.) and their anti-bacterial, anti-arthritic, anti-oxidant and in vitro cytotoxicity activities.*Annamalai University*,41, 10347,DOI: 10.1039/c7nj02664a.
152. SEVE M., FAVIER A., 2002.Métabolisme du zinc. *Encyclopedie Medico-chirurgicale*, 10-359-D-10, , p19 .
153. SEZNEC H., (2014). nanoparticules et sant : des applications aux risques potentiels l'exemple du tio2. these de doctorat ,universit de bordeaux u.f.r des sciences pharmaceutiques.
154. SHAKYA AK., SHARMA N., SAXENA M., SHRIVASTAVA S., SHUKLA S., (2012). Evaluation of the antioxidant and hepatoprotective effect of Majoon-e-Dabeed-ul-ward against carbon tetrachloride induced liver injury. *Experimental and Toxicologic Pathology*. 64: 767-773.
155. SHAMAMA J., KANCHAN K., MUSHIR A., (2011).Reassessing Bioavailability of Silymarin.*Alternative Medicine Review* 2011;16(3):239-249.
156. SINGH P., KIM Y.J., ZHANG D., YANG D-C., (2016). Biological synthesis of nanoparticles from plants and microorganisms. *Trends Biotech-nol*. 34 (7),588–599,[doi.org/10.1016/j.tibtech.2016.02.006](http://doi.org/10.1016/j.tibtech.2016.02.006).
157. SINGHA A., SINGHA N.B., HUSSAINA I., SINGHA H ., YADAVA V and SINGH S.C.,(2016).Green synthesis of nano zinc oxide and evaluation of its impact

ongermination and metabolic activity of *Solanum lycopersicum*. *Journal of Biotechnology*, 233, 84–94.

- 158.** SINGH B., SAXENA A.K., CHANDAN B.K., ANAND K.K., SURI O.P., SURISATTI K.A., SURISATTI N.K., 1998. Hepatoprotective activity of verbenaquin on experimental liver damage in rodents. *Fitoterapia*. 69: 134–140.
- 159.** SINGLETON V.L., ORTHOFER R., LAMUELA-RAVENTÓS R.M., Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*. Orlando Academic Press: 1999; 152-178.
- 160.** SIRELKHATIM A., MAHMUD S., SEENI A., KAUS N. H. M., ANN L. C., BAKHORI S. K. M., (2015), Review on zinc oxide nanoparticles: Antibacterial activity and toxicity mechanism. *Nano-Micro Lett.* 7: 219–242.
- 161.** SUNDRARAJAN M and GOWRI S., 2011. Green synthesis of titanium dioxide nanoparticles by *Nyctanthes arbor-tristis* leaves extract. *Chalcogenide Letters*, Vol. 8, No. 8, p 447-451.

## T

- 162.** TEEGUARDEN J.G., MIKHEEV V.B., MINARD K.R., FORSYTHE W.C., WANG W., SHARMA G., KARIN N., TILTON S.C., WATERS K.M., ASGHARIAN B., PRICE O.R., POUNDS J.G., THRALL B.D., (2014). Comparative iron oxide nanoparticle cellular dosimetry and response in mice by the inhalation and liquid cell culture exposure routes. *Particle and Fibre Toxicology*, 11(46), 1-18. doi: 10.1186/s12989-014-0046-4.
- 163.** TIWARI S C., HUSAIN N., (2017). Biological Activities And Role Of Flavonoids In Human Health—A Review/ *Indian J.Sci.Res.* 12 (2): 193-196.
- 164.** TORRES R., FAINI F., MODAK B., URBINA F., LABBE´ C., Guerrero J., (2006). Antioxidant activity of coumarins and flavonols from the resinous exudate of *Haplopappus multifolius*. *Phytochemistry*. 67, 984–987.
- 165.** TOSUN, M., ERCISLI, S., SENGUL, M., OZER, H., POLAT, T. & OZTURK, E., (2009). Antioxidant properties and total phenolic content of eight *Salvia* species from Turkey. *Biological Research*, 42(2), 175-181. doi: /S0716-97602009000200005
- 166.** TRIBOULET S., (2013). Etude des effets de deux types de nanoparticules métalliques sur des macrophages murins par une approche protéomique, thèse de doctorat, université de Grenoble.

## V

167. VAN A S., TROMP M., HAENEN G. R. M. M., VAN D.,VIJGH W. & BAST A., (1995). Flavonoids as scavengers of nitric oxide Radical. *Biochemical and Biophysical Research*, 214 (3),755-9. En ligne : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7575540>.
168. VALENZUELA A and GARRIDO A., (1994). Biochemical bases of the pharmacological action of the flavonoid silymarin and of its structural isomer silibinin. *Biol Res*; 27: 105-12.
169. VOGEL HG., (2002) .CCl4 induced liver fibrosis in rats. In: Vogel HG, Vogel WH (eds.) *Drug delivery and evaluation, Pharmacological assays (2<sup>nd</sup> edn.)*, Berlin: Springer Verlag: p: 942.

## W

170. WANG B.J., LIU C.T., TSENG C.Y., WU C.P., YU Z.R.,( 2003)., Hepatoprotective and antioxidant effects of Bupleurum kaoi Liu (Chao et Chuang) extract and its fractions fractionated using supercritical CO2 on CCl4-induced liver damage. *Food and Chemical Toxicology* 609–617. doi:10.1016/j.fct.2003.11.011.
171. WANG J., YANG Z., LIN L., ZHAO Z., LIU Z & LIU X., (2012). Protective effect of Naringenin against lead-induced oxidative stress in rats. *Biological trace element research*, 146(3), 354-359. doi: 10.1007/s12011-011-9268-6.
172. WANG B.J.,LIU C.T.,TSENG C.Y., WU C.P.,YU Z.R., (2004).Hepatoprotective and antioxidant effects of Bupleurum kaoi Liu (Chao et Chuang) extract and its fractions fractionated using supercritical CO2 on CCl4-induced liver damage.*Food and Chemical Toxicology* 42 (2004) 609–617.
173. WIESNER M and BOTTERO J-Y., 2007.Chapter 1 Nanotechnology and nanomaterials.Volume 23, Pages 1-69,doi.org/10.1016/S1383-7303(06)80002-5.
174. WILLIS M.S., MONAGHAN S.A., MILLER M.L., MCKENNA R.W., PERKINS W.D et LEVINSON B.S., (2005).Carence en cuivre zinc-induite: un rapport de trois cas initialement comptabilisés à l'examen de la moelle osseuse. *American Journal of Clinical Pathology*, 123(5), 125-31.
175. WITSCHGER O., FABRIES J.F.,(2005).Particules ultra-fines et santé au travail. 2- Sources et caractérisation de l'exposition,Cahiers de notes documentaires – INRS, p177.

## X

176. XIA E.Q., DENG G.F., GUO Y.J et LI H.B.,(2010). Biological activities of polyphenols from grapes. *International Journal of Molecular Sciences*,11, 622-646.

177. XIAOYUE P ., FARAH N.H ., JAHANGIR I et al., (2007). Inhibiting Proteasomal Degradation of Microsomal Triglyceride Transfer Protein Prevents CCl<sub>4</sub>-induced Steatosis. *The Journal Of Biological Chemistry* Vol. 282, pp. 17078–17089.
178. XU J., MA H.Y., LIANG S., SUN M., KARIN G., (2017). The Role of Human Cytochrome P450 2E1 in Liver Inflammation and Fibrosis/ *Hepatology Communications*, Vol. 1, NO. 10. 2017. Doi:10.1002/hep4.1115.

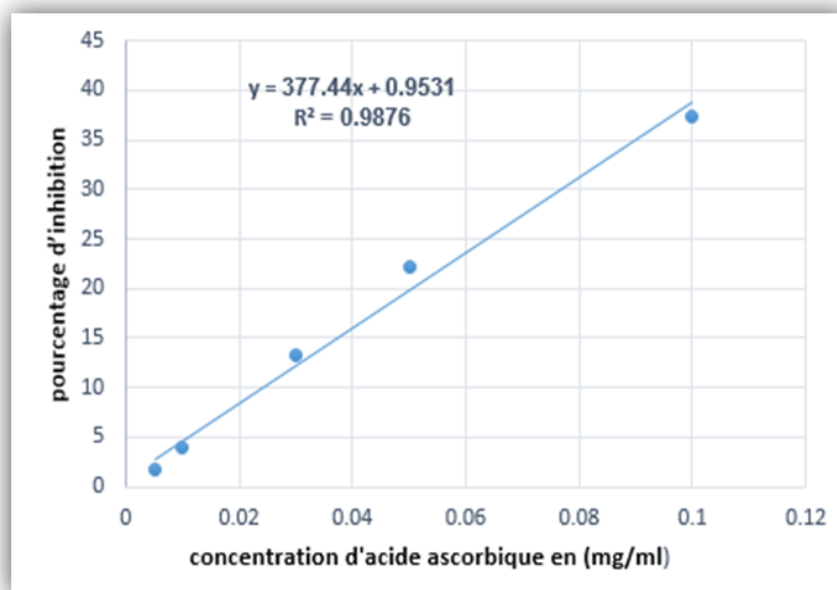
## Y

179. YAGI K., (1976). Simple fluorimetric assay for lipoperoxide in blood plasma. *Biochemical. Medicine*. 15, 212-216.
180. YI Z.B., YAN Y., LIANG Y ., ZENG B.,(2008). *In vitro* antioxidant and antimicrobial activities of Pericarpium Citri Reticulatae of a new Citrus Cultivar and its main flavonoids. *LWT-Food science and technology*. 41: 597-603.
181. YE H, C.T. & YEN, G. C. (2006). Induction of hepatic antioxidant enzymes by phenolic acids in rats is accompanied by increased levels of multidrug resistance–associated protein 3 mRNA expression. *The Journal of Nutrition*, 136(1), 11-15. doi : 10.1093/jn/136.1.11

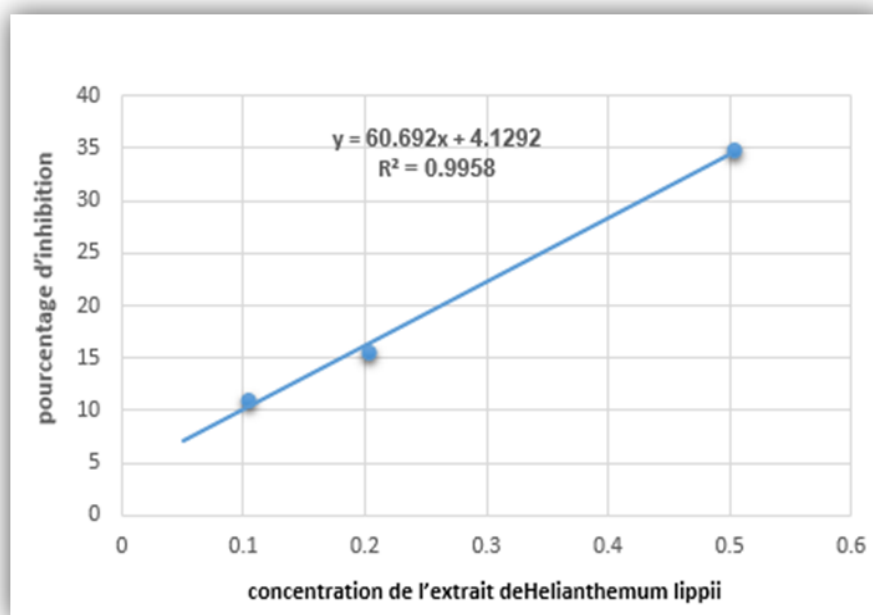
## Z

182. ZARGAR R.A., KHAN S.D., KHAN M.SH., ARORA M and HAFIZ A.K.,(2014). Synthesis and Characterization of Screen Printed Zn<sub>0.97</sub>Cu<sub>0.03</sub>O. *Physics Research International* Volume 2014, Article ID 464809, 5 pages. doi.org/10.1155/2014/464809.
183. ZIMMERMAN S.W., NORBACH D.H., POWERS K., (1983). Carbon tetrachloride nephrotoxicity in rats with reduced renal mass. *Archives of pathology & laboratory medicine* ; 107, 264-269.
184. ZAMAN S., ( 2012), Synthesis of ZnO, CuO and their composite nanostructures for optoelectronics, sensing and catalytic applications. *Linköping Studies in Science and Technology Dissertations*. No. 1467 .

*Annexe*



**Figure :** courbe de pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction de la concentration d'acide ascorbique en (mg/ml).



**Figure :** courbe de pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction de la concentration de l'extrait d'*Helianthemum lippii* en (mg/ml).

