



Université Mohamed Khider de Biskra  
Faculté des sciences exactes et sciences de la nature et de la vie  
Département des sciences de la nature et de la vie

## MÉMOIRE DE MASTER

Domaine : Sciences de la nature et de la vie  
Filière : Sciences biologiques  
Spécialité : Biochimie appliquée

Réf. : .....

---

Présenté et soutenu par :  
**Hana BOUABDALLAH et Ikram AKADI**

Le : mardi 9 juillet 2019

### **Thème**

# **Evaluation de l'effet protecteur des huiles essentielles des graines de *Silybium marianum* contre la toxicité induite par l'Ethylène glycol monométhyl éther**

---

#### **Jury :**

Mme. Mouna GUEROUI	MCB	Université de Biskra	Président
Mme. Asma Boucif	MCB	Université de Biskra	Rapporteur
M. Ahmed ATHEMENA	MCB	Université de Biskra	Examineur

Année universitaire : 2018 - 2019

## **Remerciements**

*Avant toute chose, nous remercions Dieu, le tout puissant, de nous avoir donné la force et la patience pour achever ce travail.*

*Nous adressons nos sincères remerciements à Madame « BOUCIF Asma » Docteur à la faculté SNV, Université Mohamed Khidek - Biskra, d'avoir acceptée de nous encadrer, nous le remercions pour sa gentillesse, pour sa disponibilité et son aide tout le long de ce modeste travail, qu'il trouve ici toutes nos gratitude.*

*Nous tenons à remercier tout particulièrement Mme «Mouna GUEROUI» maître à la faculté des sciences de la nature et de la vie, Université Mohamed Khidek – Biskra, d'avoir accepté de présider le jury.*

*Nous exprimons mes vifs remerciements à monsieur «Ahmed ATHEMNA» maître à la faculté des sciences de la nature et de la vie, Université Mohamed Khidek – Biskra, d'avoir accepté d'examiner et de juger ce travail.*

*Un grand merci aux membres des Labo (faculté SNV) surtout Madame Moufida et aux membres des Labo d'hôpital Hakim Saadane surtout Doctor Khlile, Doctor Tofahi, Sawsane, Hadjer et Lilya.*

*Et aussi aux membres des labo d'hôpital Bachir Benacer (Laboratoire de anatomie pathologie et laboratoire de Biochimie) et surtout Docteur Seghiri, Nadjat, Zineb, Asma, Khadra et Amel.*

*Ainsi que toutes nos amies de la promotion, pour leur aide, leur amitié, leur gentillesse et leur soutien moral.*

*Nous remercions également toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*

*Un grand merci à toutes et à tous.*

## *Dédicace*

*Je dédie ce modeste travail à:*

*À l'homme de ma vie, mon exemple éternel, mon soutien moral et source de joie et de bonheur, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir  
à toi mon père Aïssa*

*À la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon cœur, ma vie et mon bonheur ; maman Bouabdallah Ourda que j'adore.*

*Sans eux je ne suis pas pu être ce que je suis, qui ont œuvrés pour ma réussite, de par leurs amour, leurs soutiens, tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils, pour toute assistantes et leurs présences dans ma vie, reçois à travers ce travail aussi modeste soient-ils, l'expression de mes sentiments et de mon éternelle gratitude.*

*À mes chères sœurs : Mounira, Sarah et sons maris "Adel" et « Nabil » et à ma petite sœur Rayane.*

*À mes frères : Abderrahmane et sa femme Maram, à Adel et Salah*

*À mes princesses: Douaa, Tasneem et à mon prince Iyade.*

*À mes chères amies plutôt mes sœurs : Oumhani, Safia, Asma et Zineb*

*À mes collègues de travail : Meriem, Ibtissem, Aïcha, Amani, Rania, Roumaila, Safa, Rbiha, Noussiba et Salima et tout l'équipement de Laboratoire surtout Md. Moufida*

*À toute ma famille Bouabdallah et à tous ceux que j'aime.*

*Et mon encadreur Asma Boucif*

*Sans oublier mon binôme qui partagé avec moi les moments difficiles de ce travail  
Ikram et sa famille.*

*Hana*

## **Dédicaces**

*Avec ma gratitude et tout mon amour, je dédie ce travail :*

*Avant tout, merci ALLAH de m'avoir donné la patience et le courage durant ces années d'études.*

*J'aimerais dédier ce travail à mon cher père « Mohamed », qui a été toujours à mes côtés. Sans ta confiance, ta compréhension, ton soutien et surtout la bonne éducation que tu nous as donnée, je ne serais jamais ce que je suis aujourd'hui. Trouve à travers ce modeste travail tout mon respect et mon affection.*

*j'adresse ma plus profonde gratitude et tout mon amour à ma très chère mère « Soltane Hada », qui a su me faire confiance et me soutenir en toutes circonstances, qui n'a pas cessé de m'encourager durant toutes mes années d'études et en me prodiguant de ses précieux conseils, les mots ne suffiront pas et n'exprimeront pas tout ce que j'aimerais te dire. J'espère pouvoir te rendre une petite partie de ton amour, tu es la personne la plus chère du monde.*

*A deux meilleurs frères du monde : Salah et Amir et à ma chères sœurs Ouisseme qui ont toujours cru en moi même dans les moments de doute.*

*A mes tantes, oncles et toute ma famille « AKADI »*

*A mes cousines : Samira, Rima, Imane, Abire, Imane, Sihem, Souhila, Leila, Oumaima, Mounire , Aymene*

*A ma chère binôme et sœur Hana et sa famille « Bouabdallah ».*

*A mes meilleurs amis(es) : Djihane, Safia, Oumaima , Rania, Asma , Zineb, Roumila, Ome hani, Aicha , Amani, Rania, Rebiha, Noussiba, Meriem, Ibtissem., salima et safa .J'ai passé avec vous des moments inoubliables, continuons dans la voie de la consolidation de nos liens d'amitié. Bonne chance à nous tous ;*

*A mon encadreur Boucif Asma*

*A toute la promotion de master biochimie appliquée 2018-2019*

***Ikram. A***

# Table de matières

Remerciements

Dédicace

Liste des Tableaux.....	I
Liste des Figures.....	II
Liste des abréviations .....	III
Introduction .....	1

## Étude bibliographique

### Chapitre 1. La plante et les méthodes d'extraction des huiles essentielles

1.1. Silybum marianum .....	3
1.1.1. Présentation de la plante .....	3
1.1.2. Noms de la plante.....	3
1.1.3. Classification botanique.....	3
1.1.4. La morphologie de la plante.....	3
1.1.5. Partie de la plante médicinale utilisée et sa composition chimique.....	4
1.2. Les huiles essentielles.....	4
1.2.1. Définition .....	4
1.2.2. Composition chimique .....	5
1.2.3. Répartition des huiles essentielles .....	5
1.2.4. La biosynthèse des huiles essentielles .....	5
1.2.5. Propriétés physico-chimiques .....	5
1.2.6. Méthodes d'extraction des huiles essentielles .....	6
1.2.6.1. Hydrodistillation.....	6
1.2.6.2. Hydrodiffusion.....	6
1.2.6.3. Extraction par solvants.....	6
1.2.6.4. Hydrodistillation-Extraction simultanée.....	6

### Chapitre 2. Généralité sur les solvants

2.1. Solvant.....	7
2.1.1. Définition .....	7
2.1.2. Classification des solvants .....	7
2.2. Les éthers de glycol .....	7
2.2.1. Définition .....	7
2.2.2. Synthèse et propriétés physico-chimiques des éthers de glycol .....	8

2.2.3. Principales caractéristiques des éthers de glycol .....	8
2.3. Ethylène glycol monométhyl éther (EGME).....	8
2.3.1. Définition .....	8
2.3.2. Les propriétés physico-chimiques d'EGME .....	8
2.3.3. Métabolisme de l'éthylène glycol monométhyl éther (EGME) .....	9
2.3.4. La toxicité .....	10

## **Étude expérimentale**

### **Chapitre 3 : Matériel et méthode**

3.1. Matériel.....	11
3.1.1. Préparation de matériel végétale .....	11
3.1.1.1. Récolte de la plante.....	11
3.1.1.2. Séchage et broyage .....	11
3.2. Méthodes .....	12
3.2.1. Extraction des huiles essentielles .....	12
3.3. Toxicité aiguë .....	15
3.3.1. Matériels biologiques et conditions d'élevage.....	15
3.3.2. Protocole expérimental .....	15
3.3.3. Description de la méthode (OCDE, 2010) .....	16
3.4. Toxicité sub-chronique .....	17
3.4.1. Matériel biologique et condition d'élevage .....	17
3.4.2. Matériel chimiques.....	18
3.4.3. Protocole expérimental .....	18
3.5. Bilan biochimique sanguin .....	21
3.5.1. Paramètres hépatiques.....	21
3.5.1.1. Dosage des transaminases ALAT et ASAT.....	21
a) Transaminase ALAT (TGP) .....	21
b) Transaminase ASAT (TGO) .....	22
3.5.2. Paramètres néphrétiques .....	23
3.5.2.1. Dosage de l'urée .....	23
3.5.2.2. Dosage de la créatinine .....	24
3.6. Etude histopathologique.....	24

3.6.1. Prélèvement d'organe .....	24
3.6.2. Fixation .....	24
3.6.3. Déshydratation des prélèvements(Circulation).....	25
3.6.4. Enrobage à la paraffine .....	25
3.6.5. Réalisation des coupes au microtome .....	25
3.6.6. Coloration .....	25
3.6.7. Montage .....	25
3.6.8. Lecture .....	26
3.7. Etudes statistiques.....	26

#### **Chapitre 4: Résultats et discussion**

4.1. <i>In vitro</i> .....	27
4.1.1. Rendement d'extraction .....	27
4.2. <i>In vivo</i> .....	28
4.2.1. Toxicité aigue.....	28
4.2.1.1. Effet toxique des huiles essentielles de <i>Silybum marianum</i> .....	28
a) Observation cliniques et détermination de la DL50.....	28
b) Variations moyennes du poids corporel.....	28
4.2.2. La toxicité subchronique.....	30
4.2.2.1. Evaluation de l'effet protecteur de l'huile essentielle <i>Silybium marianum</i> contre la toxicité sub-chronique induit par l'EGME.....	30
a) Variations moyennes du poids du foie.....	30
b) Variations moyennes du poids du rein.....	31
4.2.2.2. Evaluation de l'effet thérapeutique de l'huile de <i>Silybium marianum</i> contre la toxicité d'EGME sur les paramètres biochimiques hépatiques.....	32
a) Variations moyenne de taux du l'alanine aminotransférase (ALAT/TGP).....	32
b) Variations moyenne de taux du l'aspartate aminotransférase (ASAT/TGO).....	33
4.2.2.3.Évaluation de l'effet thérapeutique d'huile de <i>S. marianum</i> contre la toxicité induite par l'EGME sur les paramètres biochimiques néphrétiques.....	35
a) Variations moyennes du taux plasmatique de créatinine.....	35
b) Variations moyennes du taux plasmatique d'urée.....	36
4.2.2.4. Etude histologique du foie.....	37
4.2.2.5. Etude histologique du rein.....	39

Conclusion.....	41
Bibliographie.....	43
Annexes	
Résumé	

## Liste des Tableaux

<b>Tableau 1.</b> Classification de <i>Silybum marianum</i> (Bonnier, 1990) .....	3
<b>Tableau 2.</b> Les principales caractéristiques physico-chimiques de l'EGME.....	9
<b>Tableau 3.</b> Effets toxique de l'huile essentielle de <i>Silybium marianum</i> sur le taux de mortalité. ....	28
<b>Tableau 4.</b> Variation de poids corporel PC(g) chez les souris traités par l'huile essentielle des graines de <i>Silybium marianum</i> durant 14 jours. ....	28

## Liste des Figures

<b>Figure 1.</b> Formule développée et métabolisme de l'éthylène glycol monométhyléther (2-méthoxyéthanol)(Paul <i>et al.</i> , 1986; Lemazurier <i>et al.</i> , 2003) .....	10
<b>Figure 2.</b> Photo originale des graines de <i>Silybum marianum</i> .....	11
<b>Figure 3.</b> Montage d'extraction par l'appareil de Soxhlet.....	12
<b>Figure 4.</b> Schéma récapitulatif du protocole expérimentale d'extraction de l'huile essentielle .....	14
<b>Figure 5.</b> Photo originale d'élevage des souris blanches (Swiss albinos).....	15
<b>Figure 6.</b> Photo originale d'administration de solution mère.....	16
<b>Figure 7.</b> Schéma récapitulatif du protocole expérimental suivi durant l'étude de la toxicité aigue. ....	17
<b>Figure 8.</b> Rats Wistar albinos avec marquage. ....	18
<b>Figure 9.</b> Schéma récapitulatif de protocole expérimental suivi durant l'étude de la toxicité sub-chronique. ....	20
<b>Figure 10.</b> Photos qui représentent tous l'étape de l'étude histopathologique.....	26
<b>Figure 11.</b> Histogramme du rendement d'huile essentielle de <i>Silybium marianum</i> . ....	27
<b>Figure 12.</b> Evolution du poids chez les souris traitées par l'huile essentielle des graines de <i>Silybium marianum</i> durant 14 jours. (E : élevage, J : jour, D2 : 2g/kg, D5 :5g/kg). ....	29
<b>Figure 13.</b> Variations moyennes ( $X \pm SD$ ; n=7) du poids du foie(g) chez les rats témoins et traitée par gavage. ....	30
<b>Figure 14.</b> Variations moyennes ( $X \pm SD$ ; n=7) du poids du rein (g) chez les rats témoins et traitée par gavage. ....	32
<b>Figure 15.</b> Variations moyennes ( $X \pm SD$ ; n=7) du taux de TGP chez les rats témoins et traitées par gavage. ....	33
<b>Figure 16.</b> Variations moyennes ( $X \pm SD$ ; n=7) du taux de TGO (mg/l) chez les rats témoins et traitée par gavage.....	34
<b>Figure 17.</b> Variation moyennes ( $X \pm SD$ ; n=7) du taux de créatinine (mg/l) chez les rats témoins et traitée par gavage. ....	36
<b>Figure 18.</b> Variation moyennes ( $X \pm SD$ ; n=7) du taux de l'urée (g/l) chez les rats témoins et traitée par gavage. ....	37
<b>Figure 19.</b> Photos originales des coupes histologiques du foie chez les rats males de groupe témoin et groupe traité par l'EGME(X40).....	38
<b>Figure 20.</b> Photos originales des coupes histologiques du foie chez rat mal des groupes 3, 4,5 et 6 traitées par l'huile essentielle et l'EGME (X 40). ....	39
<b>Figure 21.</b> Photos originales des coupes histologiques du rien chez les rat mal de groupe témoins et des groupes traitées par l'huile essentielle et l'EGME (X 40).....	40

## Liste des abréviations

- ✓ **AFNOR** : Association Françaises de Normalisation
- ✓ **ALAT** : alanine-aminotransférase
- ✓ **ASAT** : aspartate-aminotransférase
- ✓ **CN** : cellules nécrosées
- ✓ **CO<sub>2</sub>** : dioxyde de carbone
- ✓ **CS** : cellules sain
- ✓ **DL50** : dose létale de 50% de population testée
- ✓ **EG** :Ether de glycol
- ✓ **EGME** : éthylène glycol monométhyl éther
- ✓ **EP** : espace porte
- ✓ **HE** : Huile essentielle
- ✓ **HP** : hépatocytes
- ✓ **INRS** : Institut National de Recherché et de Sécurité
- ✓ **INSERM** : Institut National de Santé et de la Recherché Médicale
- ✓ **IPA** : Institut de Pasteur d'El-Kouba Alger
- ✓ **L** : lobule
- ✓ **LDH** : lactate-déshydrogénase
- ✓ **MDH** : Malate-déshydrogénase
- ✓ **MAA** : acide méthoxyacétique
- ✓ **Na CIO** :hypochlorite de sodium
- ✓ **NAD<sup>+</sup>** :nicotinamide adénine dinucléotide (forme oxydée)
- ✓ **NADH** :nicotinamide adénine dinucléotide (forme réduit)
- ✓ **NH<sub>4</sub> +** : ammonium
- ✓ **OCDE** : Organisation et Coopération de Développement Economique
- ✓ **PC** : poids corporel

- ✓ **ppm** : partie par million
- ✓ **PT** : parenchyme travée
- ✓ **R (%)** : Rendement en %
- ✓ **SD** : écart type
- ✓ ***S. marianum*** : *Silybium marianum*
- ✓ **TCA** : acide trichloroacétique
- ✓ **TGO** : Transaminase Glutamo-Oxaloacétique
- ✓ **TGP** : Transaminase Glutamo-pyruvique
- ✓ **VCL** : veine Centro-lobulaire

# **Introduction**

## Introduction

L'un des problèmes majeurs de ce siècle est la préservation de la qualité de l'environnement face à la croissance industrielle exceptionnelle et à la pollution engendrée par le développement économique. (Lagadic *et al.*, 1997). La pollution est une modification défavorable du milieu naturel, elle peut affecter l'homme soit directement dans sa santé ou son environnement plus lointain (Francois, 2002). Les substances xénobiotiques responsable de cette pollution sont nombreuses et diverses en raison d'activité humaine multiples qui peuvent en être la source, mais l'attention est particulièrement portée sur les engrais, les pesticides, métaux lourds, et certains produits pétrochimiques de grande consommation tel que les solvants (Derosa *et al.*, 2004).

Les éthers de glycol (EG) sont des solvants oxygénés dont l'usage c'est largement développé ces trente dernières années. Plus d'une trentaine d'éthers de glycol sont synthétisés aujourd'hui par l'industrie chimique (INRS, 2004), ils sont directement ou indirectement omniprésents dans notre monde moderne, au travail, chez soi, etc. (Eckel *et al.*, 1996). Les éthers de glycol peuvent être regroupés en 2 grandes familles de caractéristiques toxicologiques différentes, les plus toxiques, dérivés de l'éthylène glycol (série E) et les moins toxiques, dérivés du propylène glycol (série P) (Sylvaine, 2005). Tel que l'éthylène glycol monométhyl éther (EGME); qu'est parmi les 3 éthers de glycol les plus utilisés (20,1%). C'est un dérivé actif puissant, souvent appelé 2- Méthoxyéthanol (INSERM, 1999).

L'EGME est un composé d'éther de glycol présent dans divers produits domestique et industriels, notamment les peintures, produit de nettoyages, les encres, vernis, teintures, colles, les fluides hydrauliques et les carburateurs (Stemmler *et al.*, 1997, Johanson, 1998) et un dérivé puissant actif .Il possède une fonction alcool primaire qui se métabolise dans l'organisme par voie de l'alcool déshydrogénase puis de l'aldéhyde déshydrogénase en acides alcoxyacétiques (Etiemble, 2003). IL présente des effets adverses sur la santé; des études antérieures ont démontré que l'administration répétée d'EGME produites des altérations fonctionnelles et/ou histologiques hépatiques. Ce solvant est considéré comme produit hémato-immunotoxique (INSERM, 1999) et neurotoxiques (Brashear, 1996) et reprotoxiques(Lorente *et al.*, 2000; Ku *et al.*, 1995).

Les plantes médicinales sont utilisées depuis des siècles comme remède à diverses maladies humaines et face aux limites thérapeutiques des médicaments chimiques de synthèse, qu'est actuellement remise en cause, en raison des risques toxicologiques potentiels

de ces molécules. Le développement de la recherche sur les plantes médicinales a été orienté vers l'obtention de nouvelles sources végétales d'antioxydants naturels (Mehammedizohra, 2013).

Le chardon-Marie, également appelé *chardon de Notre Dame* « *Silybium marianum* » est une plante annuelle ou bisannuelle de la famille des Asteraceae, endémique de la région méditerranéenne. En Algérie, *Silybium marianum* est particulièrement répandue dans les hauts plateaux, la steppe, le sud de l'atlas saharien, les pâturages sablonneux et les lieux un peu humides. Parmi les métabolites secondaires extensivement étudiés figurent les huiles essentielles qui possèdent de nombreuses propriétés pharmacologiques telle que la propriété antioxydant (Lemaoui, 2011), soit en bien-être, il est de plus en plus fréquent que les industries ajoutent ces huiles essentielles pour parfumer leurs produits : savons, détergent..., ces huiles essentielles sont aussi des composés puissants, qui nécessitent des précautions et des recommandations d'usage (Pibiri, 2005).

Ce travail entre dans le cadre générale de la valorisation des plantes médicinales, son objectif vise à mise en évidence de l'effet thérapeutique de l'huile essentielle des grain de *Silybium Marianum* contre la toxicité induit par des dose toxique répétées par de l'Ethylène glycol mono méthyle éther (EGME),

- Toxicité aigue
  - ✓ La détermination de la DL50 et la recherche des effets généraux de l'huile essentielle de cette plante chez les souris femelles:
  - ✓ poids corporel
- Toxicité sub-chronique
  - ✓ Examen de surveillance biochimique de la fonction hépatique (TGO et TGP) et rénale (Créatinine et urée).
  - ✓ étude histologique des foies et de reins .

**Partie I**  
**Étude bibliographique**

**Chapitre 1**  
**La plante et les**  
**méthodes d'extraction**  
**des huiles essentielles**

## 1.1. *Silybum marianum*

### 1.1.1. Présentation de la plante

Le terme *marianum* se réfère à la Vierge Marie (Morazzoni et Bombardelli, 1995). *Silybium marianum*, appelé couramment Marie est une plante annuelle ou bisannuelle appartenant à la famille Astéracées, endémique de la région méditerranéenne notamment en Algérie (Lahlah, 2008).

*Silybium marianum* est une plante identifiée depuis deux mille ans par sa valeur estimable en thérapeutique. Elle à été utilisée comme médicament populaire et traditionnel en Europe et en Asie (Morazzoni *et al.*, 1993).

### 1.1.2. Noms de la plante

Noms communs : Chardon-Marie, Chardon argenté ou marbré, Chardon de Notre-Dame, artichaut sauvage, silybe de Marie (Rodzko, 2000). Nom botanique: *Silybum marianum* Gaerthn. Nom anglais: Milk thistle. Nom italien : Cardo mariano ou Santa Maria (Bonnier ,1990). Sa nomenclature en Arabe est : Chouk el Djemel (Niger, 1961 ; Belkheda, 1997 ; Beloued, 1998) ; Hharshaf barri (Qavami. N *et al.*, 2013).

### 1.1.3. Classification botanique

**Tableau 1.** Classification de *Silybium marianum*(Bonnier, 1990)

Phylum	Phanérogames
Sous-phylum	Angiospermes
Classe	Magnoliopsida
Ordre	Astrales
Famille	Asteraceae (Composées)
Sous-famille	Tubuliflores
Genre	<i>Silybium</i>
Espèces	<i>Silybium marianum</i> (L).Gaerthn ,1791

### 1.1.4. La morphologie de la plante

Les différents organes de la plante *silybium marianum* sont: les racines, la tige, les feuilles, les fleurs et les graines.

**Racines:** La tige du *Silybium marianum* s'appuie sur une épaisse racine principale développée, fibreuse, pivotante, forte, longue et épaisse.

**Tige:** De plus d'un mètre d'hauteur, c'est une tige cannelée, dressée et rameuse.

**Feuilles :** Elles sont vertes, luisantes et en général largement tachetées de blanc le long des nervures bordées de dents épineuses dont l'épine est jaune et très puissante. Les feuilles moyennes et inférieures sont allongées. Les feuilles inférieures ont un pétiole, elles sont relativement très grandes (Morazzoni *et al.*, 1993).

**Fleurs :** les capitules de fleurs sont violets. Les fleurs sont à 5 étamines qui forment un tube autour du style. Elles fleurissent depuis le mois de juin jusqu'au mois d'août.

**Fruits :** sont sous forme de graines noires, luisantes, légèrement aplaties, plus ou moins marbrées de jaune. Elles sont lisses ou finement ridées, couronnées avec les touffes plumeuses ; chacune d'elles est insérée sur une sorte de disque (formé par le pédoncule très réduit), d'apparence cornée et portant au centre une sorte de cylindre court qui présente à son sommet 3 à 5 petits mamelons (Morazzoni *et al.*, 1993).

### **1.1.5. Partie de la plante médicinale utilisée et sa composition chimique**

Le *Silybium 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 *Silybium marianum* contient un taux élevé de silymarine (Karkanis *et al.*, 2001).

Les principaux constituants chimiques des graines sont : les lipides à 20-30%, les protéines (albumine) à 25-30%, des minéraux dont les teneurs variant selon l'organe étudié (Saller, 1995 ; Meschy et Guenguen, 1995).

La silymarine est le principe actif du fruit du Chardon marie, graine qui représente une concentration varie environ 4 à 6% (Saller, 1995) dont 70-80 % de flavonolignanes et 20-30 % de composés polyphénoliques oxydés non identifiés (Svobodova *et al.*, 2006).

## **1.2. Les huiles essentielles**

### **1.2.1. Définition**

Les huiles essentielles (essences: huiles volatiles) sont des produits de composition généralement assez complexe renfermant les principes volatils contenus dans les végétaux et plus ou moins modifiés au cours de la préparation (Brunton, 1993).

L'AFNOR (Association Française de la normalisation) définit l'huile essentiel comme : « Produit obtenu à partir d'une matière première végétale, soit par entraînement à la vapeur d'eau soit par des procédés mécaniques, l'huile est ensuite séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques » (AFNOR, 1986).

### **1.2.2. Composition chimique**

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes pouvant contenir plus de 300 composés différents (Sell, 2006).

Les constituants des huiles essentielles appartiennent de façon quasi exclusive à deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques distinctes, le groupe des terpènes d'une part et le groupe des composés aromatiques dérivés de phényle propane beaucoup moins fréquents d'autre part (Lemaoui, 2011 ; Lakhdar, 2015).

### **1.2.3. Répartition des huiles essentielles**

Parmi les espèces végétales 800.000 à 1.500.000 selon les botanistes, 10 % seulement sont dites aromatiques. Les huiles essentielles n'existent quasiment que chez les végétaux supérieurs, elles sont presque exclusivement de l'embranchement des Spermaphytes, les genres qui sont capables de les élaborer sont rassemblés dans un nombre restreint de familles comme les : Lamiaceae, Lauraceae, Asteraceae, Rutaceae, Myrtaceae, Poaceae, Cupressaceae, Piperaceae (Bruneton, 1999).

### **1.2.4. La biosynthèse des huiles essentielles**

La synthèse et l'accumulation d'une huile essentielle sont généralement associées à la présence des structures histologiques spécialisées (poils sécréteurs, poches sécrétrices, canaux sécréteurs, et trichomes glandulaires) localisées sur ou à proximité de la surface de la plante (Lemaoui, 2011).

### **1.2.5. Propriétés physico-chimiques**

Leurs principales caractéristiques sont :

- ✓ Liquide à température ambiante.
- ✓ Elles n'ont pas le toucher gras et onctueux des huiles fixes.
- ✓ Volatiles et très rarement colorées.
- ✓ Une densité faible pour les huiles essentielles à forte teneur en monoterpènes.
- ✓ Solubles dans les alcools à titre alcoométrique élevé et dans la plupart des solvants organiques mais peu solubles dans l'eau.
- ✓ Très altérables, sensibles à l'oxydation et ont tendance à se polymériser donnant lieu à la formation de produits résineux, il convient alors de les conserver à

l'abri de la lumière et de l'air (Bernard *et al.*, 1988; Bruneton, 2009).

### **1.2.6. Méthodes d'extraction des huiles essentielles**

En général le choix de la méthode d'extraction dépend de la nature du matériel végétal à traiter, le rendement en l'huile et la fragilité de certains constituants des huiles aux températures élevées (Hellal, 2011).

#### **1.2.6.1. Hydrodistillation**

Selon (Hajji *et al.*, 1989) elle consiste à immerger la matière première dans un bain d'eau. L'ensemble est porté à ébullition et l'opération est généralement conduite à pression atmosphérique. La distillation peut s'effectuer avec ou sans recyclage communément appelé cohobage. Lors de la distillation des huiles essentielles, plusieurs phénomènes sont à la base d'échanges de matière entre les phases solide, liquide et vapeur, d'où l'influence d'un grand nombre de paramètres sur la qualité et le rendement et la production.

#### **1.2.6.2. Hydrodiffusion**

D'après (Acquaronne *et al.*, 1998) le terme hydrodiffusion est attribué au type de transport contrôlé par la polarité des constituants. Elle serait responsable de la vitesse relative de la distillation des différents composants aromatique dépendants d'avantage de leurs solubilités dans l'eau que de leur point d'ébullition.

#### **1.2.6.3. Extraction par solvants**

(Raynaud, 2006) souligne que l'extraction par solvants est une technique qui utilise des solvants comme l'hexane, le toluène ou les dérivés colorés. Le solvant est ensuite éliminé par distillation. Elle ne doit pas être employée si l'huile essentielle préparée est à usage thérapeutique, car il pourrait y rester des traces de solvant. Elle est parfois utilisée dans l'industrie des parfumes.

#### **1.2.6.4. Hydrodistillation-Extraction simultanée**

(Pollien *et al.*, 1998) note que la distillation à la vapeur combine les avantages de l'hydrodistillation et l'extraction par solvant. L'hydrodistillation permet d'éviter l'extraction des composées non volatiles, et l'utilisation d'une faible quantité d'un solvant non miscible à l'eau facilite l'extraction organique des composées.

# **Chapitre 2**

## **Généralité sur les solvants**

## 2.1. Solvant

### 2.1.1. Définition

Un solvant, de point de vue chimique, est un liquide qui a la propriété de dissoudre, de diluer ou d'extraire d'autres substances sans provoquer de modification chimique de ces substances et sans lui-même se modifier. Les solvants permettent de mettre en œuvre, d'appliquer, de nettoyer ou de séparer des produits (INSERM, 1999).

### 2.1.2. Classification des solvants

Les solvants se classent principalement en trois grands groupes auxquels s'ajoute un groupe de solvants particuliers (Mahieu et Boust, 2007).

- **Solvants oxygénés:** contiennent au moins un atome d'oxygène, ils comprennent: les alcools, les cétones, les éthers de glycol, les éthers et les esters.
- **Solvants hydrocarbonés:** contiennent de l'hydrogène et du carbone, ils comprennent: les hydrocarbures aromatiques et les solvants pétroliers non aromatiques.
- **Hydrocarbures halogénés:** contiennent un atome d'halogène (chlore, fluor, iode et brome), ils comprennent: trichloroéthylène, tetrachloroéthylène ou perchloroéthylène, dichlorométhane ou chlorure de méthylène et le chlorobenzène.

**Les solvants particuliers:** comprennent les hydrocarbures nitrés, les composés azotés, les dérivés soufrés et les hydrocarbures complexes (familles des terpènes: essence de térébenthine...).

## 2.2. Les éthers de glycol

### 2.2.1. Définition

Les éthers de glycol sont des solvants oxygénés présent dans de nombreux produit industriels et domestiques. Ils sont connus depuis les années 1930 et leur utilisation s'est développée au cours des années 70 avec l'apparition des produits dit « à l'eau », du fait de leur caractère amphiphile mais aussi car ils sont peu volatils, peu inflammable, ils peuvent être regroupés en 2 grandes familles (Sylvaine, 2005).

- Dérivés de l'éthylène glycol (Série E) :  $R-O-CH_2-CH_2-OH$
- Dérivés du propylène glycol (Série P) :  $(R-O-CH_2-CH(CH_3)-OH)$ .

### 2.2.2. Synthèse et propriétés physico-chimiques des éthers de glycol

Leur synthèse s'effectue principalement par l'action d'un alcool sur l'oxyde d'éthylène ou de propylène. On obtient alors un éther monoalkylé (méthyl, éthyl, propyl, butyl...) qui, par réaction avec un acide organique, donnera un éther-ester (acétate d'éther de glycol) (Edwards *et al.*, 2001).

Les éthers de glycol sont des composés liquides, incolores, à odeur légèrement éthérée (Simonet, 2005).

Les éthers de glycol ont comme principale propriété d'être solubles dans l'eau et dans de nombreux solvants organiques (alcool, esters, hydrocarbures aromatiques): ils sont amphiphiles. (INSERM, 1999).

### 2.2.3. Principales caractéristiques des éthers de glycol

- Amphiphiles.
- Stabilité à long terme des formulations.
- Bonnes performances techniques de petites quantités suffisent (peintures à l'eau par exemple).
- Evaporation lente.
- Absence d'odeur résiduelle (Sylvaine, 2005).

## 2.3. Ethylène glycol monométhyl éther (EGME)

### 2.3.1. Définition

L'éthylène glycol monométhyl éther (EGME) c'est un dérivé de l'éthylène glycol et appartient à la série E :  $R-O-CH_2-CH_2-OH$  (Etiemble, 2003).

L'EGME entre dans la fabrication des peintures, des enduits, des encres, des nettoyeurs, des produits à polir, des fluides hydrauliques de frein et du carburéacteur. Il trouve de nombreuses applications comme solvant, produit intermédiaire et coupleur de solvant dans les mélanges et les préparations à base d'eau (Stemmler *et al.*, 1997).

### 2.3.2. Les propriétés physico-chimiques d'EGME

Les principales caractéristiques physico-chimiques de l'EGME sont rassemblées dans le tableau ci-dessous :

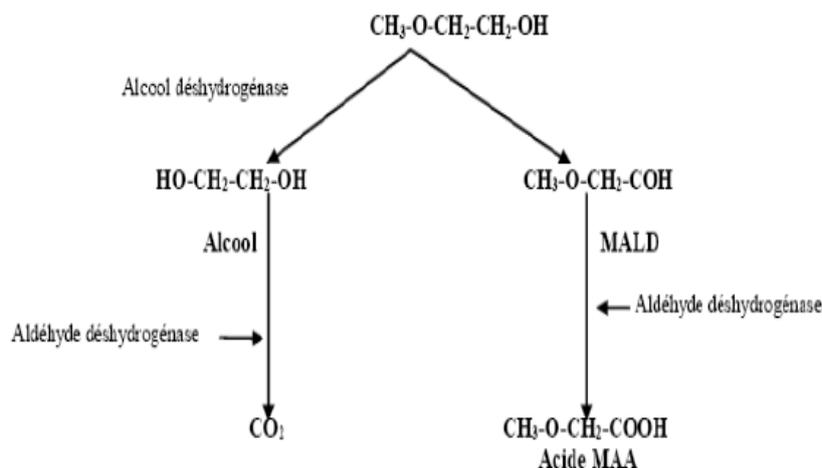
**Tableau 2.** Les principales caractéristiques physico-chimiques de l'EGME

Paramètre	Valeur/ description	Référence
Nom chimique	2- méthoxyéthanol (ou Ethylène glycol méthyl éther ou Ethylène glycol monométhyl éther)	INRS, 1999
Numéro CAS	109-86-4	INRS, 1999
Formule chimique	C <sub>3</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub>	INRS, 1999
Etat physique	Liquide incolore	INRS, 1999
Poids moléculaire	76,09 g.mol <sup>-1</sup>	INRS, 1999
Solubilité	Complètement soluble dans l'eau	ECETOC 1994
Limites d'explosibilité	Limite inférieur : 2,4 % Limite supérieur : 20%	INRS, 1999
Facteurs de conversion à 20°C et 1013 h Pa	1 ppm = 3.11 mg/m <sup>3</sup> 1mg/m <sup>3</sup> = 0.32 ppm	INRS, 1999

### 2.3.3. Métabolisme de l'éthylène glycol monométhyl éther (EGME)

Les différents éthers de glycol, dérivés de l'éthylène glycol, sont facilement absorbés par voie orale, cutanée ou pulmonaire. L'absorption est favorisée par dilution des composés dans l'eau, les alcools ou les solvants organiques. (INSERM, 1999).

L'EGME fait partie des dérivés de l'éthylène glycol (série E) : R-O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-OH: possède une fonction alcool primaire qui se métabolise dans l'organisme par voie de l'alcool déshydrogénase puis de l'aldéhyde déshydrogénase en acides alkoxyacétiques (Etiemble, 2003).



**Figure 1.** Formule développée et métabolisme de l'éthylène glycol monométhyléther (2-méthoxyéthanol) (Paul *et al.*, 1986; Lemazurier *et al.*, 2003)

### 2.3.4. La toxicité

Selon la dose, la voie d'absorption, la durée et la répétition de l'exposition ou l'administration de toxique, on peut distinguer plusieurs formes de toxicités parmi lesquels :

#### 2.3.4.1. Toxicité aiguë

L'EGME se caractérise par une toxicité aiguë faible à moyenne chez les animaux de laboratoire exposés par voie orale, par inhalation ou par pénétration cutanée. (Smyth *et al.*, 1941; Carpenter *et al.*, 1956; ECETOC, 1995).

#### 2.3.4.2. Toxicité à court terme

Le thymus, les testicules et le sang du rat restent les organes les plus sensibles à l'EGME ou à l'acétate de l'EGME lors d'expositions répétées à court terme, par ingestion, par inhalation ou par application sur la peau (Miller *et al.*, 1981; Grant *et al.*, 1985; Fairhurst *et al.*, 1989; Feuston *et al.*, 1989; Kawamoto *et al.*, 1990; Exon *et al.*, 1991; Smialowicz *et al.*, 1991; NTP, 1993; Butterworth *et al.*, 1995; Williams *et al.*, 1995).

**Partie II**  
**Étude expérimentale**

# **Chapitre 3**

## **Matériel et méthode**

### 3.1. Matériel

#### 3.1.1. Préparation de matériel végétale

##### 3.1.1.1. Récolte de la plante

L'échantillonnage n'a été réalisé qu'après le passage de la plante par les phases de croissance: phase végétative, phase de floraison, phase de maturation et phase de récolte. La récolte a été réalisée dès le mois de mai jusqu'au mois de Juin 2018 de la région ASSAHL (Delles, Wilaya de Boumardes).

##### 3.1.1.2. Séchage et broyage

Les gaines, de taille 7 à 8 mm en moyenne sont séchées à l'aire libre sous le soleil puis sont conservé à l'ombre dans un endroit sec pendant six semaines afin de garder les graines sèches. (Figure2).

Ensuite les graines sont broyées à l'aide d'un broyeur électronique jusqu'à l'obtention d'une poudre fine.



**Figure 2.** Photo originale des graines de *Silybium marianum*.

### 3.2. Méthodes

#### 3.2.1. Extraction des huiles essentielles

##### a) Extraction par un solvant

La méthode normée du Soxhlet (figure 4). C'est un appareil qui porte le nom de son inventeur Franz Von Soxhlet, il permet l'extraction à chaud d'un solide par un solvant. Les extraits prélevés seront traités avec un évaporateur rotatif pour éliminer toutes les traces des solvants d'extraction. Les solvants utilisés sont le chloroforme, l'hexane, l'éther de pétrole.



**Figure 3.** Montage d'extraction par l'appareil de Soxhlet

##### b) Mode opératoire

20 g des graines de *Silybium marianum* broyées sont disposées dans une cartouche, et elles sont introduites dans un extracteur de type Soxhlet, équipé à sa base d'un ballon de 250 mL dans lequel 150 mL d'hexane sont introduits. Le solvant est mis en ébullition dans le ballon, sa vapeur passe par le tube latéral et se condense au niveau du réfrigérant. Le solvant remplit progressivement la chambre d'extraction contenant le solide, se charge d'une partie du produit à extraire et la solution est ensuite siphonnée automatiquement dans le ballon dès que la chambre d'extraction est pleine.

La durée d'extraction est mesurée à partir de l'ébullition du solvant. Le mélange recueilli est soumis à une évaporation du solvant par un évaporateur rotatif. Ce traitement s'effectue à température modérée (40°C). A son issue, on récupère la fraction concrète.

**c) Calcule de rendement**

Le rendement de HE est défini comme étant le rapport entre la masse de l'extrait sec obtenue et la masse du matériel végétal traité. Ce rendement est calculé via l'équation (Boubekri, 2014).

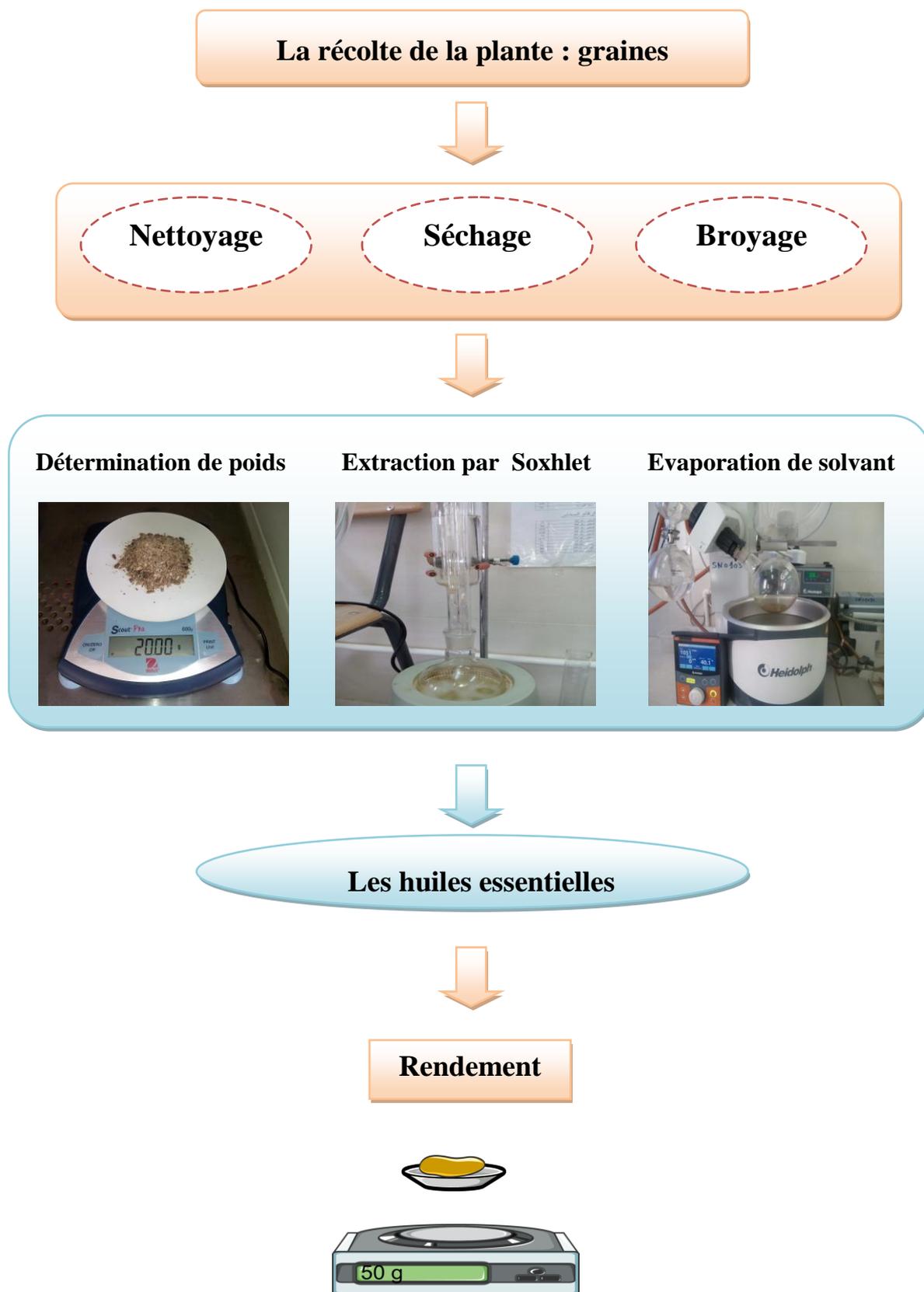
$$\mathbf{R(\%) = (Me / Mv) *100}$$

Où :

**R (%)** : Rendement en pourcentage.

**Me**: masse de l'extrait après l'évaporation du solvant.

**Mv**: masse de la matière végétale utilisée pour l'extraction.



**Figure 4.** Schéma récapitulatif du protocole expérimentale d'extraction de l'huile essentielle

### 3.3. Toxicité aiguë

#### 3.3.1. Matériels biologiques et conditions d'élevage

Pour cette étude nous avons récéptionne 10 souris Swiss albinos femelles de l'institut de Pasteur d'El-Kouba Alger (IPA). Tous les animaux de l'expérimentation étaient adulte âgés de 12 semaines, de poids corporel moyen de 27g à 30g. Dès leurs arrivées au laboratoire, les souris ont été soumises à une période d'adaptation à les conditions de laboratoire pendant 20 jours suivis d'une période de traitement de 14 jours dans la salle d'élevage de campus el Hadjeb.

Toutes les expérimentations se sont déroulé entre le mois Octobre et le mois Novembre. Les souris sont logées dans des cages en plastique (figure 5) transparent à une température ambiante de 25 à 30°C, le nettoyage des cages est assuré régulièrement jusqu'à la fin de l'expérimentation et disposé de granules d'aliment standards. L'eau est fournie par des biberons spéciaux. Les animaux sont pesés jour après jour durant toute l'expérience.



**Figure 5.** Photo originale d'élevage des souris blanches (Swiss albinos).

#### 3.3.2. Protocole expérimental

Afin d'évaluer l'effet thérapeutique de l'extrait d'huile essentielle de *Silybium marianum*, une détermination de l'effet toxique aiguë (mesurant la dose létale 50 « DL50 ») est nécessaire. Selon la méthode d'OCDE, 2010

### 3.3.3. Description de la méthode (OCDE, 2010)

#### Principe

L'évaluation de la toxicité aiguë de l'extrait de *Silybium marianum* été estimée en utilisant la méthode décrite par OCDE (2010), qui consiste à répartir les souris, en 2 lots de 5 animaux (femelles). L'expérimentation consiste à traités les souris par différentes dose de la solution mère 'huile essentielle'(figure 6), (essai limite 2000 mg/kg et essai principale 5000 mg/kg du poids corporel), solubilisé dans l'eau physiologie et ajusté à 1ml/100g par dose par gavage à l'aide d'une sonde gastrique.



**Figure 6.** Photo originale d'administration de solution mère.

#### Mode opératoire

##### a) Administration des doses et l'observation

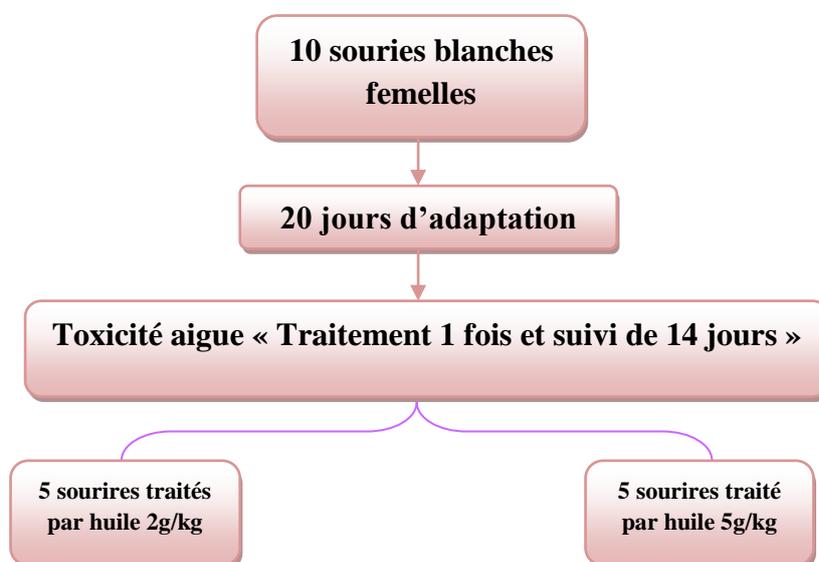
L'étude a été conduite suivant les réglementations de la ligne directrice de l'OCDE (OCDE, 2008)

Il faut supprimer la nourriture et l'eau, pendant 1 à 2 heures. Avant l'administration de traitement après la période de jeûne, les animaux sont observés au cours des 30 premières minutes, pour toute mortalité ou changement de comportement. Ces signes de toxicité ont été suivis quotidiennement pendant 14 jours. Le poids de chaque animal doit être déterminé peu de temps avant l'administration de la substance d'essai et ensuite au moins une fois par semaine. Dans le 15<sup>ème</sup> jour, le nombre des animaux morts est calculé et transformé en pourcentage.

### b) Essai limite

**-Essai limite à 2 000 mg/kg :** La dose expérimentale est administrée à un animal. S'il meurt, on réalise l'essai principal afin de déterminer la DL50. Si l'animal survit, on traite quatre animaux supplémentaires suivant une séquence, de telle sorte qu'un total de cinq animaux soit testé. Cependant, si trois animaux meurent, l'essai limite s'achève et on entame l'essai principal. La DL50 est supérieure à 2 000 mg/kg si au moins trois animaux survivent.

**-Essai principale à 5 000 mg/kg :** est le même principe de la dose 2 000 mg/kg. La DL50 est supérieure à 2 000 mg/kg si au moins trois animaux survivent.



**Figure 7.**Schéma récapitulatif du protocole expérimental suivi durant l'étude de la toxicité aigue.

### 3.4. Toxicité sub-chronique

#### 3.4.1. Matériel biologique et condition d'élevage

Dans le cadre de cette étude, nous avons utilisé 40 rats adultes, de l'espèce albinos (*Rattus norvegicus*) variété Wistar largement utilisé dans divers domaines de recherche.

Les animaux d'expérience de sexe mâle âgés de 2 à 3 mois ayant un poids supérieur à 120 g. L'élevage des animaux ainsi que les différents tests ont été réalisés au sein de salle d'élevage de campus El-Hadjeb. L'identification individuelle des rats se fait par numérotation au niveau de la queue à l'aide d'un marqueur (figure 8).



**Figure 8.** Rats Wistar albinos avec marquage.

Toutes les expérimentations se sont déroulé entre le mois Octobre et le mois Décembre. Les rats sont logées dans des cages en plastique transparent à une température ambiante de 25 à 30°C, le nettoyage des cages est assuré régulièrement jusqu'à la fin de l'expérimentation (la litière est renouvelée chaque jours)et disposé de granules d'aliment standards. L'eau est fournie par de biberons spéciaux. Les animaux sont pesés chaque semaine durant toute l'expérience.

#### **3.4.2. Matériel chimiques**

Le solvant utilisé dans cette expérimentation est l'éthylène glycol monomethyl éther (EGME).

Plusieurs études ont démontré que ce produit chimique qui appartient à la famille des solvants a des effets très toxiques sur la santé (la dose sans effet de l'EGME est 5 ppm). La dose choisi été la dose 200mg/kg selon plusieurs étude intérieurs (INRS., 2004) c'est une dose toxique qui provoque des effets néfaste, hépato-toxicité, néphro-toxicité, répro-toxicité (à partir de 50mg/kg).

#### **3.4.3. Protocole expérimental**

##### **a) Préparations des différentes concentrations de l'extrait**

La quantité d'extrait bien définie selon le poids corporel d'animal, puis se dissout dans l'eau tiède.

- Dose1 : 25 mg d'extrait équivalent à 1kg de poids corporel.
- Dose 2 : 50 mg d'extrait équivalent à 1kg de poids corporel.
- Dose3 :100 mg d'extrait équivalent à 1kg de poids corporel.
- Dose4 :150 mg d'extrait équivalent à 1kg de poids corporel.

#### **b) Répartition des rats en groupes**

Les rats ont été répartis sur 6 lots, chaque lot contient 7 rats. L'adaptation a été faite pendant une durée de sept jours.

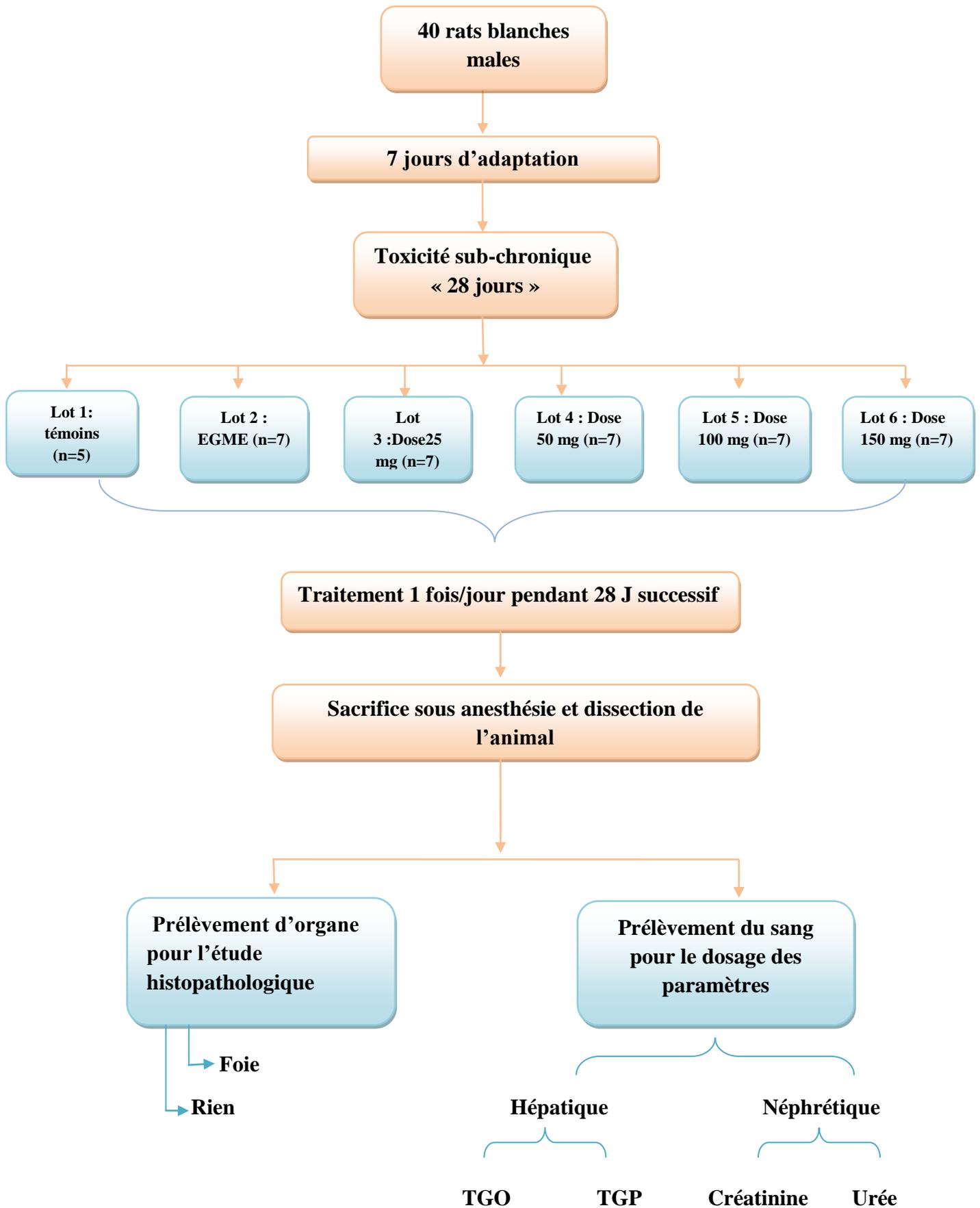
- Groupe 1: groupes témoin non traité (G1 → TNT).
- Groupe 2: traités par l'EGME (G2 → E).
- Groupe 3: traités par l'extrait de la plante de dose 1+ 200 mg/kg d'EGME (G3 → H1).
- Groupe 4: traités par l'extrait de la plante de dose 2+ 200 mg/kg d'EGME (G4 → H2).
- Groupe 5: traités par l'extrait de la plante de dose 3+ 200 mg/kg d'EGME (G5 → H3).
- Groupe 6 : traités par l'extrait de la plante de dose 4+ 200 mg/kg d'EGME(G6 → H4).

#### **c) Administration de traitement selon l'OCDE (OCDE, 2008)**

Les animaux doivent être à jeun avant l'administration de la substance; on supprime la nourriture, mais pas l'eau, pendant la nuit et on supprime la nourriture et l'eau, pendant 2 heures. Avant l'administration de traitement.

Après la période de jeun, les animaux doivent être pesés et puis la substance d'essai leur est administrée (G3 → H1), (G4 → H2), (G5 → H3), (G6 → H4).

Et puis tous les groupes des animaux (G2, G3, G4, G5, G6). Doivent être administrée l'EGME par gavage.



**Figure 9.** Schéma récapitulatif de protocole expérimental suivi durant l'étude de la toxicité sub-chronique.

### 3.5. Bilan biochimique sanguin

Au 29<sup>ème</sup> jour de l'étude, les rats ont été mis à jeun durant la nuit avant la collection de sang et puis sacrifiés sous anesthésie. Le prélèvement du sang est effectué au niveau de la veine jugulaire. Le recueil de sang a été effectué sur des tubes secs au cours de chaque prélèvement. Les tubes secs sont centrifugés à 3000 tours/min pendant 15min. Le plasma obtenu est dosé pour les paramètres biochimiques suivants, Créatinine, Urée, Aspartate transaminase (ASAT), Alanine aminotransférase (ALAT) au niveau des laboratoires de biochimie d'hôpital Hakim Saadane et d'hôpital Bachir Benacer.

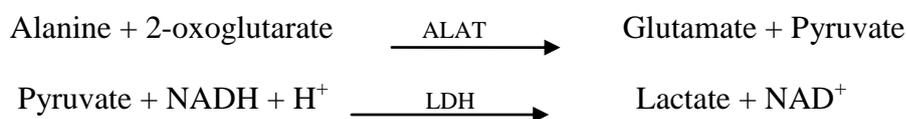
#### 3.5.1. Paramètres hépatiques

##### 3.5.1.1. Dosage des transaminases ALAT et ASAT

###### a) Transaminase ALAT (TGP)

#### Principe

L'alanine-aminotransférase (ALAT ou TGP) catalyse le transfert du groupement amino de l'alanine au 2-oxoglutarate, en formant le pyruvate et le glutamate. La concentration catalytique est déterminée en utilisant la réaction couplée de la lactate-déshydrogénase (LDH), à partir de la vitesse de disparition du NADH, mesuré à 340 nm.



La diminution dans la concentration de NADH mesurée photométriquement, est proportionnelle à la concentration catalytique de GPT (ALAT) dans l'échantillon (BioSystems, Spain 2010).

#### Réactifs utilisés :

<b>R1</b>	Tris PH 7,3	150 mmol/L
	L-alanine	750 mmol/L
	lactate-déshydrogénase	> 1350 U/L
<b>R2</b>	NADH	1,3 mmol/L
	2-oxoglutarate	75 mmol/L
	hydroxyde de sodium	148 mmol/L
	sodium azide	9,5 g/L

#### Mode opératoire

On verse dans chaque tube (blanc et les échantillons) 240µl de réactif R1, ajouter 25µl de plasma pour chaque échantillon et ne rien ajouter au blanc, mélanger et incuber pendant 3

minutes. Puis ajouter 60µl de réactif R2. Mélanger, incuber 1 minute, lire l'absorbance initiale à 340nm et effectuer des lectures périodiques pendant 3 minutes.

**Calcul :** la  $\Delta DO$  du TGP de l'échantillon est calculée par la formule suivante :

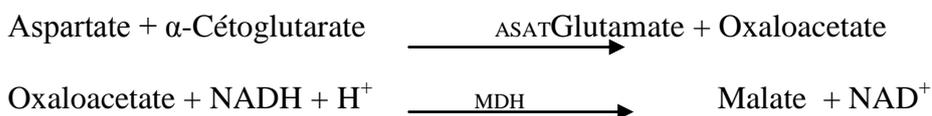
$$\text{Activité (ASAT/TGP) UI/l} = \Delta DO \times 175$$

**$\Delta DO$  :** C'est la valeur moyenne des trois lectures.

### b) Transaminase ASAT (TGO)

#### Principe

L'aspartate-aminotransférase (ASAT) catalyse le transfert du groupement amino de l'aspartate au 2-oxoglutarate, en formant l'oxaloacétate et le glutamate. La concentration catalytique est déterminée, en utilisant la réaction couplée de la malate-déshydrogénase (MDH), à partir de la vitesse de disparition du NADH, mesuré à 340 nm.



La diminution dans la concentration de NADH mesurée photométriquement, est proportionnelle à la concentration catalytique de GOT (ASAT) dans l'échantillon (BioSystems, Spain 2010).

#### Réactifs utilisés :

<b>R1</b>	Tris PH 7,8	121 mmol/L
	L-aspartate	362 mmol/L
	Malate-déshydrogénase	> 460 U/L
	lactate-déshydrogénase	> 660 U/L
<b>R2</b>	. NADH	1,3 mmol/L
	2-oxoglutarate	75 mmol/L
	hydroxyde de sodium	148 mmol/L
	sodium azide	9,5 g/L

#### Mode opératoire

On verse dans chaque tube (blanc et les échantillons) 240µl de réactif R1, ajouter 25µl de plasma pour chaque échantillon et ne rien ajouter au blanc, mélanger et incuber pendant 3 minutes. Puis ajouter 60µl de réactif R2. Mélanger, incuber 1 minute, lire l'absorbance initiale à 340nm et effectuer des lectures périodiques pendant 3 minutes.

**Calcul :** la  $\Delta DO$  du TGO de l'échantillon est calculée par la formule suivante :

$$\text{Activité (ASAT/TGO) UI/l} = \Delta DO \times 175$$

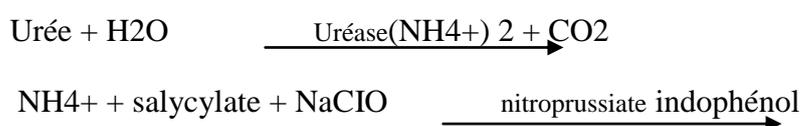
$\Delta DO$  : C'est la valeur moyenne des trois lectures.

### 3.5.2. Paramètres néphrétiques

#### 3.5.2.1. Dosage de l'urée

##### Principe

L'hydrolyse enzymatique de l'urée donne l'ammonium ( $NH_4^+$ ) et le dioxyde de carbone ( $CO_2$ ). Les ions d'ammonium réagissent avec le salicylate et l'hypochlorite de sodium ( $NaClO$ ), en présence d'un catalyseur le nitroprussiate de sodium pour former un indophénol vert.



L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration de l'urée présente dans l'échantillon (SPINREACT, Spain 2012).

##### Réactifs utilisés :

<b>R 1 Buffer</b>	Phosphate pH 6.7	50 mmol/L
	EDTA	2 mmol/L
	Sodium salicylate	400 mmol/L
	Sodium nitroprusside	10 mmol/L
<b>R 2 NaClO</b>	Sodium hypochlorite ( $NaClO$ )	140 mmol/L
	Sodium hydroxide	150 mmol/L
<b>R 3 Enzymes</b>	Uréase	30000 U/L
<b>UREA CAL</b>	Urée standard primaire aqueux	50 mg/dL

##### Mode opératoire

On verse dans chaque tube (blanc, standard et échantillons) 1.0 ml du mélange, ne rien ajouter au blanc. Puis on ajoute 10 $\mu$ l d'UREA CAL dans le tube standard, et 10 $\mu$ l de plasma pour chaque échantillon, et après incubation à (15-25) pendant 10mn, on ajoute 1,0 ml de R2 dans chaque tube. Après on mélange et on incube pendant 10mn à la même température, et enfin on lit l'absorbance (A) du standard et les différents échantillons à 580nm. La quantité de l'urée dans le plasma est exprimée en mmol/L selon la formule suivante :

Calculer les différentes valeurs	Facteur de conversion
<b>(A)Echantillon</b>	mg/ dL x 0.1665 = mmol/L
<b>(A)Standard x 50 = mg/dL</b>	D'urée dans le plasma.

### 3.5.2.2. Dosage de la créatinine

#### Principe

L'analyse est basée sur la réaction de la créatinine avec le picrate de sodium, la créatinine réagit avec le picrate alcalin, formant ainsi un complexe rouge. L'intensité de la couleur formé est proportionnelle à la concentration de la créatinine présente dans l'échantillon (SPINREACT, Spain 2012).

#### Réactifs utilisés :

<b>R1 Tampon</b>	<b>Acide picrique</b>	<b>17.5 mmol/L</b>
<b>R2 Réactif picrique</b>	Hydroxyde de sodium	0.29 mol/L
<b>CREATININE CAL</b>	Créatinine standard primaire aqueuse	2mg/dL

#### Mode opératoire

On verse dans chaque tube (blanc, standard et échantillons) 1,0 ml du mélange, ne rien ajouter au blanc. Puis on ajoute 100µl de CREATININE CAL dans le tube standard, et 100µl de plasma pour chaque échantillon, par la suite on mélange et on lit l'absorbance (A1) après 30 sec, et l'absorbance (A2) après 90 sec de l'ajout à 492 nm. La quantité de la créatinine dans le plasma est exprimée en µmol/L selon la formule suivante :

Calculer les différentes	valeurs	Facteur de conversion
<b>A Echantillon- A Blanc</b>		mg/dL x 88.4 = µmol/L
<b>A Standard- A Blanc</b>	<b>x 2 = mg/Dl</b>	de créatinine dans le plasma

## 3.6. Etude histopathologique

### 3.6.1. Prélèvement d'organe

Après collection de sang, le cadavre est fixé en décubitus dorsal, sur une plaque en liège, en fixant solidement les quatre pattes à l'aide d'aiguilles de fixation. Une petite incision au niveau du périnée est pratiquée. Elle permet l'introduction d'une sonde d'incision. Suite à ça, on procède à l'autopsie de la cavité abdominale. Le rein et le foie ont été isolés pour observer les changements histopathologiques éventuels (dimension, poids, couleur, consistance, lésions, etc...).

### 3.6.2. Fixation

Le rein et le foie une fois isolés sont pesés puis immédiatement immergés dans une solution de formol (10%). Cette étape appelé fixation a pour but la conservation des structures et le durcissement des tissus. Laisser incuber dans le fixateur à température ambiante, Après découpage, ils sont déposés dans des cassettes en plastique.

### 3.6.3. Déshydratation des prélèvements(Circulation)

C'est une série de manipulations comporte le transfert des organes dans paniers; d'un solvant à l'autre, contiennent :

- 01 bacs de formol
- 06 bacs d'éthanol de concentration croissante (60%, 70%, 80%, 100% ,100%,100%).
- 03 bacs de xylène.
- 02 bacs de paraffine chauffée à 70 C°.

### 3.6.4. Enrobage à la paraffine

Les cassettes sont immergées dans deux bains successifs de paraffine (deux bains de 1.5 heures chacun) pour que cette dernière s'infiltré dans les échantillons (l'opération est automatisée à l'aide d'un automate TISSUE-TEK® II). L'inclusion définitive est ensuite réalisée dans des moules métalliques (Shandon [O] HistoCentre).

Après leur enrobage, les cassettes sont incubées à basse température jusqu'à refroidissement de la paraffine. Le refroidissement permet l'obtention d'un bloc pour chaque prélèvement en orientant convenablement le fragment dans le sens de la coupe.

### 3.6.5. Réalisation des coupes au microtome

Installation du rasoir - réglage de l'ongle - installation du bloc - rabotage >5um - confection de rubans - on dépose la coupe sur une surface d'eau chaude. La coupe est déposée et collée sur une lame en verre puis on la laisse sécher dans l'étuve à température 57 °C.

### 3.6.6. Coloration

Les lames sont baignées dans 02 bains successifs de Xylène pendant 3 min chacun, suivi de 03 bains successifs d'éthanol à 90% et pendant 02 mn chacun. Puis rincées à l'eau.

Cette étape permet de mettre en évidence spécifiquement les différentes structures tissulaires et cellulaires et pour cela, on met les lames dans un bain d'hématoxyline pendant 01 min, puis rincer et suivi d'un bain d'éosine pendant 1 :30 min et rince par l'eau de robinet puis on laisse sécher.

### 3.6.7. Montage

Consiste à fixer une lamelle de verre sur des échantillons histologiques, après la coloration coller lame et lamelle.

### 3.6.8. Lecture



**Figure 10.** Photos qui représentent tous l'étape de l'étude histopathologique.

### 3.7. Etudes statistiques

Les données ont été entrées dans une feuille Excel (Microsoft office 2007, USA). Les résultats sont exprimés en moyenne plus ou moins l'écart type moyenne ( $M \pm SD$ ).

L'analyse statistique des données à été effectuée par le test-t de STUDENT, deux à deux entre le groupe témoin et chaque groupe traité grâce au logiciel MINITAB avec P (seuil de signification). Les différences sont considérées comme :

- Significatives lorsque comparant au témoin :  $P < 0.05$ .
- Hautement significatives comparant au témoin :  $P < 0.01$ .
- Très hautement significatives comparant au témoin :  $P < 0.001$ .

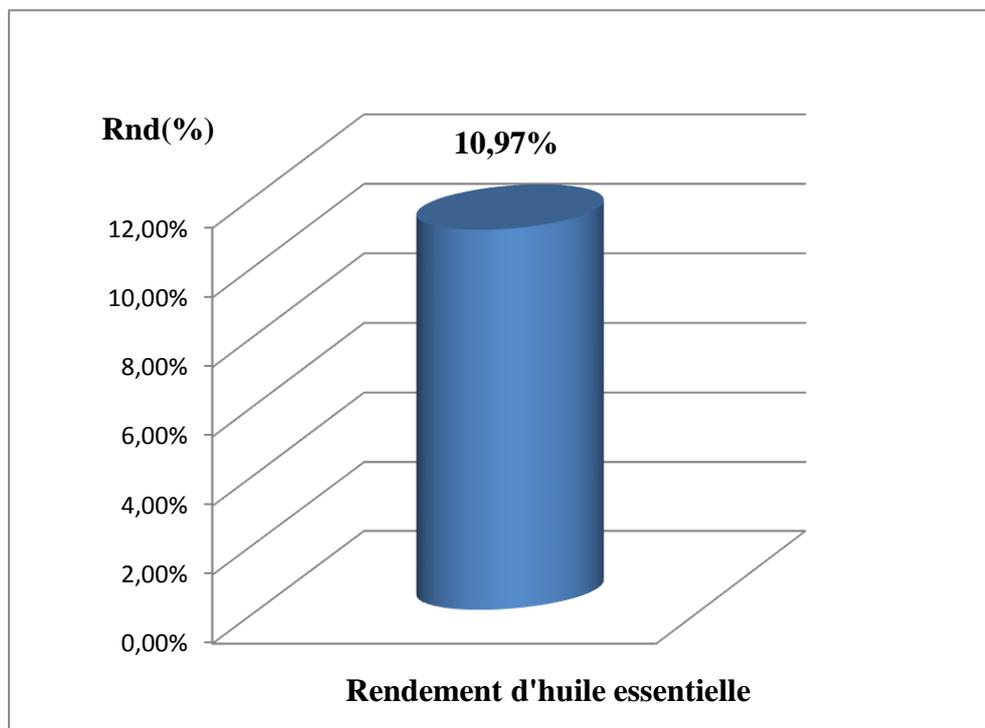
# **Chapitre 4**

## **Résultats et discussion**

#### 4.1. In vitro

##### 4.1.1. Rendement d'extraction

L'extraction d'huile essentielle de 100g de poudre graines de *Silybium marianum* a donnée le rendement résumé dans la figure(11).



**Figure 11.** Histogramme du rendement d'huile essentielle de *Silybium marianum*.

Le rendement d'huile essentielle des graines de la plante *Silybium marianum* est de l'ordre (10.97%) (figure11), de couleur jaune claire et d'une odeur aromatique.

Dans une autre étude, Ikhtiar Khan *et al.* (2007) a trouvé que la plante de *Silybium marianum* a un rendement de (26.05%), ce rendement est double par rapport à notre résultat.

Cette différence dans le rendement peut être expliquée par les conditions environnementales, climatiques et période de collecte ainsi que par les facteurs génétiques et les conditions expérimentales.

## 4.2. In vivo

### 4.2.1. Toxicité aigue

#### 4.2.1.1. Effet toxique des huiles essentielles de *Silybium marianum*

##### a) Observation cliniques et détermination de la DL50

L'observation des effets toxiques d'huile essentielle de *Silybium marianum* durant 14 jours de la toxicité aigue a amené d'obtenir les résultats représentés dans le tableau 3.

**Tableau 3.** Effets toxique de l'huile essentielle de *Silybium marianum* sur le taux de mortalité.

Dose (g/ kg)	Sexe	Mort D/T	Signes de toxicité
2	Femelle	0/5	Normal
5	Femelle	0/5	Normal

F: femelle ; T: totale :D : Décès : g ; gramme :Kg ; kilogramme

L'observation des signes cliniques (vertige, somnolence ..... ) et la mortalité chez les souris de chaque groupe, ont été suivis continuellement pendant une heure après l'administration orale d'huile essentielle. Cette observation a été étendue le long de la durée d'étude de la toxicité aiguë (14 jours), pour déceler les effets retardés d'huile essentielle.

Et selon les résultats obtenus dans le tableau précédent (Tableau 3), les deux doses (2 g/kg et 5 g/kg) d'huile essentielle des graines de *Silybium marianum* ne provoquent pas des changements graves dans l'activité physique, et les souris ne sont pas mortes.

Et donc selon **OCDE, 2008**:

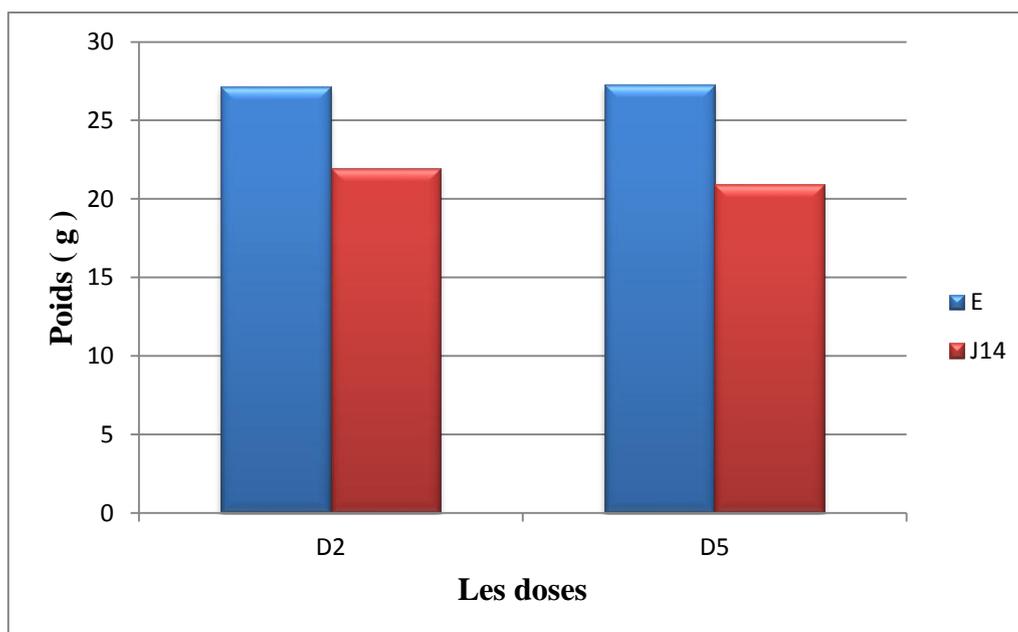
- La DL50 d'huile essentielle de la plante est supérieure à 5g /kg parce que tous les animaux ont survécu : **la DL50 = 0.**

##### b) Variations moyennes du poids corporel

Le suivi régulier du poids corporel des souris traitées par les différentes doses de l'huile essentielle (2g/kg et 5g/kg), nous a amené d'obtenir les résultats représentés dans la (figure 12) et (tableau 4).

**Tableau 4.** Variation de poids corporel PC(g) chez les souris traitées par l'huile essentielle des graines de *Silybium marianum* durant 14 jours.

	E	J4	J6	J8	J10	J12	J14
D2	27,14	25,02	24,36	23,32	24,22	25,08	21,98
D5	27,28	23,98	26,14	22,56	23,06	23,68	20,92



**Figure 12.** Evolution du poids chez les souris traitées par l'huile essentielle des graines de *Silybium marianum* durant 14 jours. (E : élevage, J : jour, D2 : 2g/kg, D5 : 5g/kg).

Le suivi de la variation de la masse corporelle des souris au cours de l'expérience de la toxicité aiguë par l'huile essentielle de *Silybium marianum* a démontré que pendant l'essai limite de 2g/kg une diminution du poids corporel jusqu'à 19% et de 25.62% pour la dose de 5g/kg.

Cette réduction du poids peut être expliquée par une réduction de la consommation des aliments. Ceci est en accord avec les constatations de (Sidhu *et al.*, 2004) et (Dahdouh *et al.*, 2013). Mais aussi par les possibilités d'interactions dose/absorption et par la diminution de la quantité de nourriture absorbée. (Hilaly *et al.*, 2004).

On ne peut pas considérer les huiles essentielles comme sans danger puisque naturelle, car l'utilisation au hasard des plantes présente un vrai danger pour la santé. Elle peut provoquer des intoxications si la dose est dépassée (posologie), c'est la relation entre efficacité-tolérance ou bénéfice-risque. Des plantes ont une action grave ou des effets négatifs à cause de leur principe actif : hypoglycémiant, hyper/hypotenseur comme la *Silybium marianum* qui est une plante anti-hyperlipidémique, ce qui explique la diminution du poids des souris.

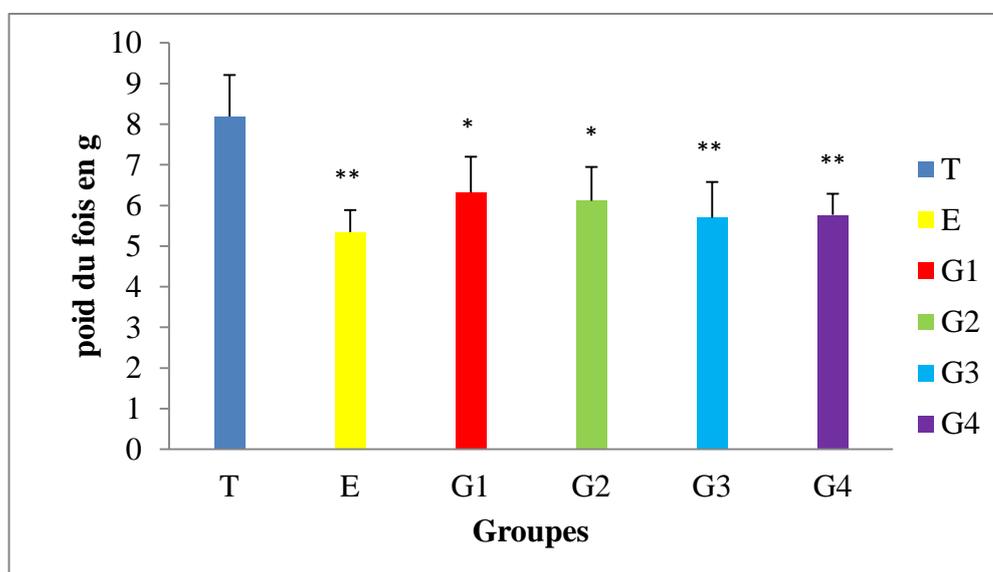
### 4.2.2. La toxicité subchronique

#### 4.2.2.1. Evaluation de l'effet protecteur de l'huile essentielle *Silybium marianum* contre la toxicité sub-chronique induit par l'EGME

##### a) Variations moyennes du poids du foie:

Les principales voies d'élimination des toxiques sont les voies hépatobiliaires et les voies rénales. Le foie transforme les toxiques en métabolites eux par fois très agressifs pour l'organisme (Bard, 1997).

Dans notre expérimentation on a observé une diminution hautement significative de poids du foie des rats traités par l'EGME «E» et les groupes «G3»et « G4» traités par (EGME +huile essentielle) par rapport au témoin et une diminution significative ( $P \leq 0,05$ ) chez le groupe «G1» et le groupe «G2»traité par 25mg/kg et 50mg/kg de l'huile essentielle respectivement avec 200 mg/kg d'EGME comparé au groupe témoin.(Figure 13)



**Figure 13.** Variations moyennes ( $X \pm SD$  ;  $n=7$ ) du poids du foie(g) chez les rats témoins et traitée par gavage.

Due à leur rôle important dans le métabolisme des xénobiotiques environnementaux, le foie est en grand risque au dommage et à l'hépatotoxicité. Les résultats de notre expérimentation suggèrent que l'administration d'EGME comme agent toxique provoque une diminution hautement significative de poids du foie par rapport à celle de témoin.

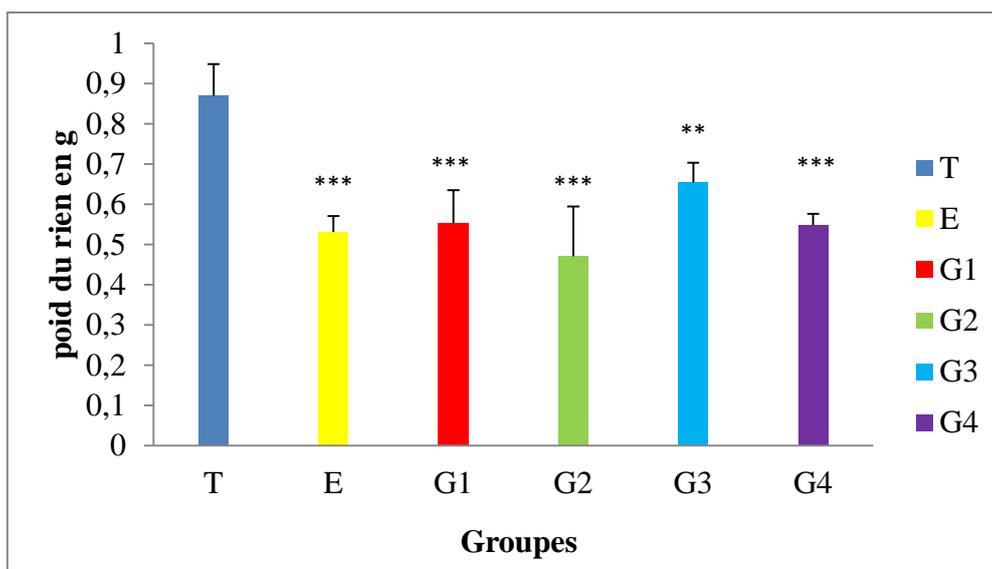
La diminution du poids du foie peut être expliquée par la diminution de la prise alimentaire suite à l'intoxication par l'EGME. Nos résultats sont en accord avec les études de (Boucif *et al.*, 2015; et Djebballi, 2009) qui ont montré que la croissance corporelle est le poids des organes des rats est affectée suite à l'intoxication par l'EGME. L'administration d'EGME provoque aussi l'apparition d'une atrophie hépatique (P. Ichai *et al.*, 2009), ce que

nous avons confirmé dans notre étude anatomo-pathologique des foies des rats traités par l'EGME. L'atrophie hépatique est une nécrose (dégénérescence) soudaine et généralisée des cellules hépatiques qui s'accompagne rapidement d'un arrêt des fonctions hépatiques, elle est corrélée avec un niveau bas du cholestérol.

Mais aussi on a enregistré que l'administration de l'huile essentielle de *Silybium marianum* (très riche en flavonoïdes) corrige la perte de poids par rapport au groupe traité par l'EGME. Ces résultats peuvent être expliqués par les effets bénéfiques des antioxydants de la plante chez tous les groupes «G1/G2/G3 et G4». La silymarine a été utilisée comme hépato protecteur. Ces effets ont été attribués à la capacité antioxydante directe et / ou indirecte de la silymarine, comme étant un piègeur de radicaux cétyle phénylglyoxylique, antioxydant de rupture de chaîne (Qavami. N *et al.*, 2013). La *Silybium marianum* est considéré comme une plante médicinale utilisé pour stimuler la protection des cellules hépatiques lors de la chimiothérapie anticancéreuse (Venkataraman *et al.*, 2000 ; Anderson *et al.*, 2002).

#### **b) Variations moyennes du poids du rien**

Dans notre expérimentation on a observe une diminution très hautement significative ( $P \leq 0,001$ ) de poids du rien des rats traités par l'EGME «E» et chez les groupes « G1 », « G2 », « G4 » qui ont reçu différentes doses d'huile essentielle avec l'EGME par rapport au témoin. Mais cette diminution est hautement significative chez le groupe «G3» traité par 100mg/kg de l'huile essentielle avec l'EGME comparés au groupe témoin. (Figure14)



**Figure 14.** Variations moyennes ( $X \pm SD$  ;  $n=7$ ) du poids du rein (g) chez les rats témoins et traitée par gavage.

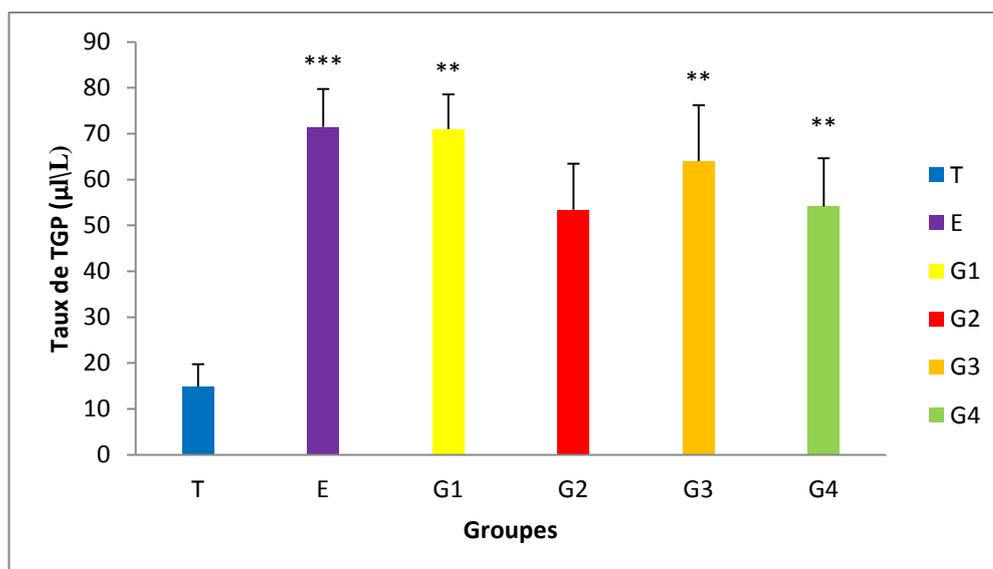
On remarque que la Co-administration de l'huile avec l'EGME peut régler la perte du poids des reins. (Venkataraman *et al.*, 2000 ; Anderson *et al.*, 2002) ont considéré que *Silybium marianum* est une plante médicinale antique employée pour traiter les congestions du foie, de la vésicule biliaire et les reins. Au niveau du rein, les composés de *marianum* réduisent les dommages oxydants des cellules rénales contre la toxicité induite par notre produit chimique.

#### 4.2.2.2. Evaluation de l'effet thérapeutique de l'huile de *Silybium marianum* contre la toxicité d'EGME sur les paramètres biochimiques hépatiques

##### a) Variations moyenne de taux de l'alanine aminotransférase (ALAT/TGP)

Nous avons constaté une augmentation très hautement significative ( $P \leq 0.001$ ) de taux de l'alanine aminotransférase « TGP » chez le groupe traité par l'EGME par rapport au témoin.

Par contre nous avons enregistré une diminution non significative lors de l'administration de 50mg/kg d'huile essentielle avec l'EGME pour le groupe «G2» par rapport au groupe traité par l'EGME. Alors que chez les groupes «G1», «G3», «G4» nous avons noté une augmentation hautement significative comparé au groupe témoin. (Figure 15)



**Figure 15.** Variations moyennes ( $X \pm SD$  ;  $n=7$ ) du taux de TGP chez les rats témoins et traités par gavage.

L'alanine aminotransférase c'est le bio-marqueurs le plus couramment employés pour déceler les lésions au foie (lésions hépatocellulaires), cet enzyme normalement présente dans les cellules du foie. Lorsque les hépatocytes sont endommagées, les enzymes s'en échappent et se retrouvent dans le sang. TGP est considéré comme un indicateur plus spécifique de l'inflammation du foie que TGO, car ce dernier est aussi présent dans d'autre organes, par exemple le cœur ou les muscles squelettiques (Klaassen et Watkin, 1984; Ronald et koretz, 2001).

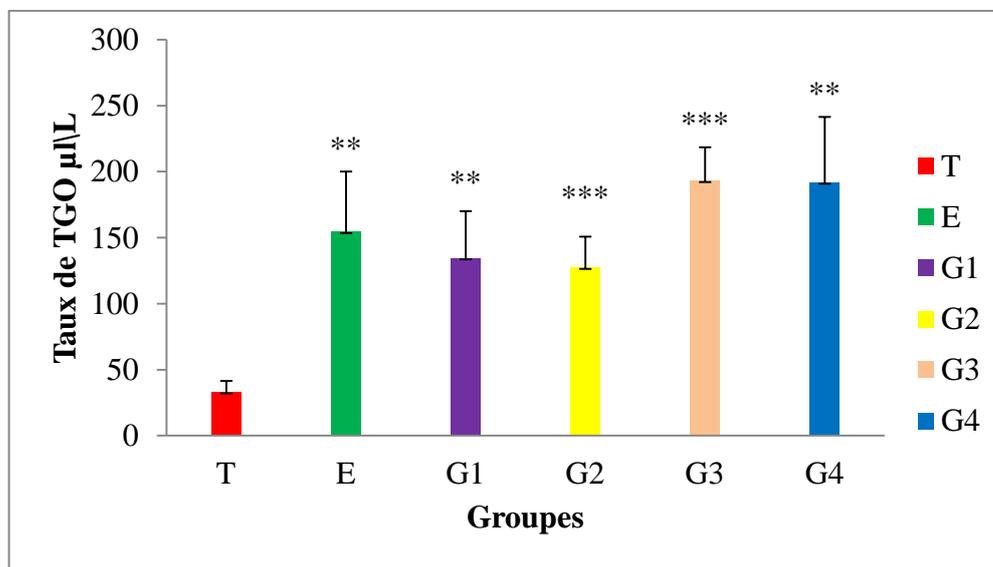
L'augmentation très hautement significative ( $P \leq 0.001$ ) de taux du l'alanine aminotransférase « TGP » chez tous les groupes exposé par voie orale à l'EGME peuvent être expliqués par l'effet que l'EGME à endommager les cellules hépatiques. C'est résultats sont d'accord avec les résultats de (INRS, 2006).

Tandis que le rétablissement non significatif de taux sérique de TGP par rapport au groupe traité par l'EGME notamment chez le groupe G2 traité par 50mg/kg. Ce rétablissement dû à l'effet protecteur de l'huile essentielle des grains de *S. marianum*. Le chardon-Marie est une plante extraordinaire dans le traitement des maladies du foie. Il n'existe probablement aucune plante offrant de telles propriétés et aucun médicament actuel n'est en mesure d'obtenir les résultats produits par un traitement au chardon-Marie

#### **b) Variations moyenne de taux du l'aspartate aminotransférase (ASAT/TGO)**

Les résultats de notre expérimentation (figure 16) suggèrent que l'administration de l'EGME avec l'huile essentiel à différentes doses aux groupes «E, G1 et G4» provoque une

augmentation hautement significative de taux de l'aspartate aminotransférase. Alors que nous avons noté que la combinaison de 50mg/kg et 100mg/kg de *S. Marianum* avec 200 mg/kg d'EGME chez les deux groupes « G2 et G3 » respectivement provoque une augmentation très hautement significative ( $P \leq 0.001$ ) comparé au témoin.



**Figure 16.** Variations moyennes ( $X \pm SD$  ;  $n=7$ ) du taux de TGO (mg/l) chez les rats témoins et traitée par gavage.

L'augmentation de taux d'enzyme aspartate aminotransférase «TGO» reflète en générale une lésion cellulaire, en particulier au niveau du foie. (Jesus Cardenas, 2017).

En outre, ils ont rapporté que l'augmentation de leurs activités dans le sérum peut être due à la nécrose des tissus mous.

L'analyse de nos résultats, montrent que l'administration de EGME provoque une augmentation de taux sérique de TGO, ces résultats sont confirmés par Boucif *et al.* (2018 et 2017), qui ont déterminé que le taux de TGO va augmenter chez les lapins et les souris traités par l'EGME. Cette augmentation est confirmée par INSREM (1999) qui ont montré que l'ensemble de ces perturbations sont dues à l'altération fonctionnelle et/ou histologique hépatiques. Ces résultats peuvent être expliqués aussi par les effets toxiques d'EGME et de son métabolite (Heinonen et Vainio, 1981).

Nos résultats ont aussi démontré le rôle bénéfique et protecteur de l'huile essentielle de *Silybium marianum* (très riche en flavonoïdes) sur la fonction hépatique. Nous avons enregistré une diminution non significative chez le groupe « G1 et G2 » traité par 25mg/kg et 50mg/kg d'huile essentielle de notre plante comparé au groupe d'EGME. *S. marianum* est cultivé pour ses akènes, qui contiennent des flavonoïdes bénéfiques pour la santé. Les

principaux composés les plus actifs étaient les flavonolignanes (silibinine, silybine, isosilybine, silydianine et silychristine), également connus sous le nom de silymarine, principalement utilisés pour leur activité hépato-protectrice (Flora *et al.*, 1998 ; Sersen *et al.*, 2006 ; Engelberth *et al.*, 2008 ; Habanet *et al.*, 2009).

Alors que nous avons remarqué une augmentation non significative chez les groupes « G3 et G4 » traité par 100mg/kg et 150mg/kg d'huile essentielle comparé au groupe d'EGME et au groupe témoin. On peut expliquer ce résultat par l'effet synergique opposé de la dose élevée d'huile avec l'EGME.

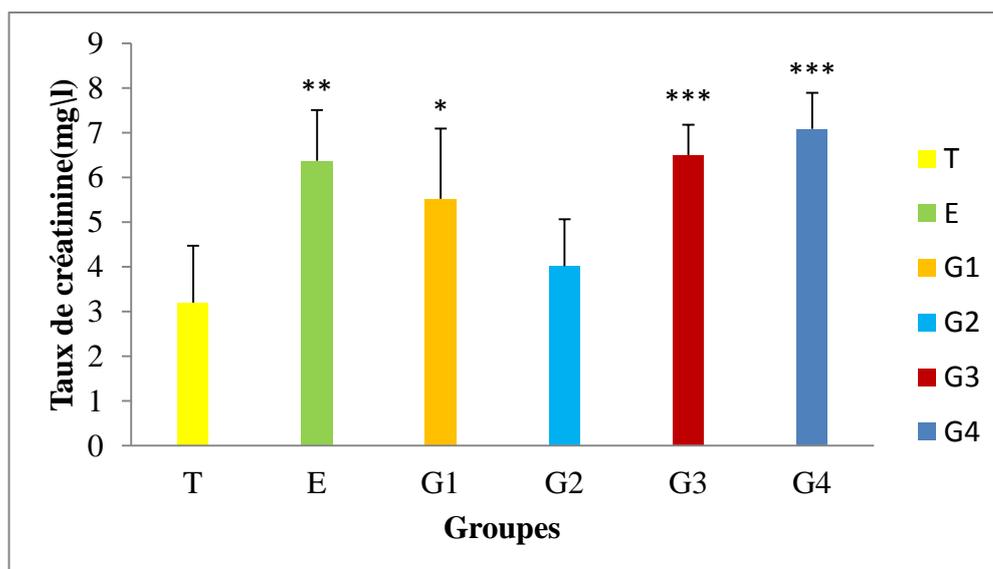
#### **4.2.2.3.Évaluation de l'effet thérapeutique d'huile de *S. marianum* contre la toxicité induite par l'EGME sur les paramètres biochimiques néphrétiques**

Pendant ces dix dernières années, la perturbation rénale a été l'une des principales préoccupations de la santé humaine. Alors les reins sont l'un des principaux organes cibles de la toxicité induite par les xénobiotiques. Dans le but d'évaluer l'effet protecteur de notre plante contre la toxicité induit par l'EGME sur les reins: L'urée et la créatinine sériques sont considérées comme les principaux marqueurs de la néphrotoxicité, bien que l'urée sérique soit souvent considérée comme un prédicteur de la fonction rénale plus fiable que la créatinine sérique (Palani *et al.*, 2009).

##### **a) Variations moyennes du taux plasmatique de créatinine**

La concentration en créatinine est utilisée principalement pour l'évaluation de la fonction rénale (perfusion rénale détériorée, perte de fonction du néphron) et le contrôle des dialyses rénales (Friedman et Young, 2001; Burtis *et al.*, 2005).

Les résultats de la variation de la créatinine sont schématisés dans (figure 17). Nous avons enregistré une augmentation hautement significative de taux sérique en créatinine chez le groupe traité par l'EGME par rapport aux témoins. A noter que le groupe traité par la dose 25mg/kg «G1» a révélé une augmentation significative ( $P \leq 0.005$ ) comparé au témoin. et le groupe administré par la dose 50mg/kg de l'huile essentielle avec EGME enregistré une augmentation non significative, une augmentation mais cette augmentation est très hautement significative pour les groupes traité par la dose 100mg/kg et la dose 150mg/kg.



**Figure 17.** Variation moyennes ( $X \pm SD$ ;  $n=7$ ) du taux de créatinine (mg/l) chez les rats témoins et traitée par gavage.

Plusieurs études ont montré que l'éthylène glycol monométhyl éther provoque un dysfonctionnement de la filtration rénale (Francois, 2006).

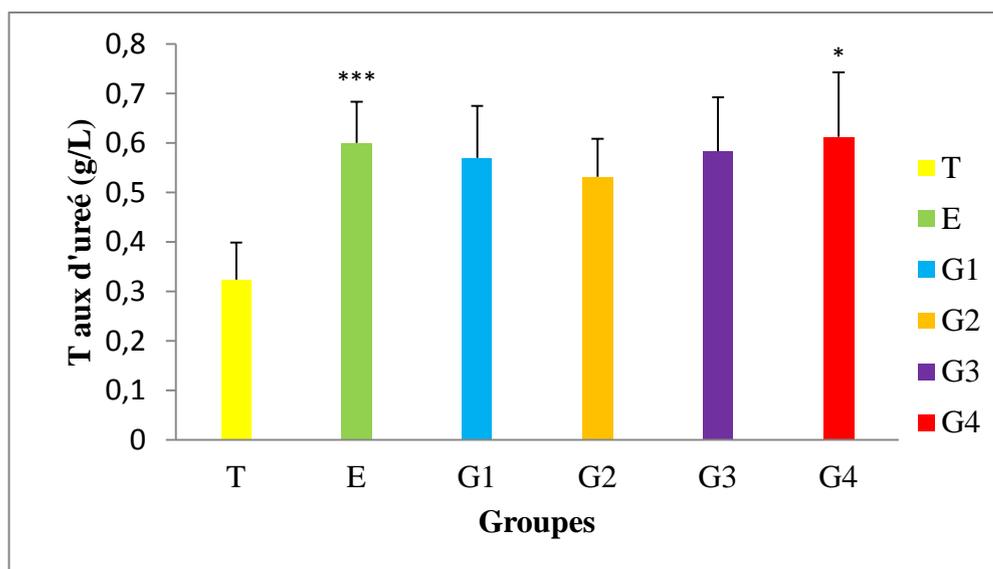
Les résultats d'évolution de la créatinine montre bien l'effet toxique de notre produit chimique sur la fonction rénale des rats et des groupes à une dose de 200mg/kg.

Chardon-Marie est utilisé en médecine traditionnelle depuis plus de 2000 ans notamment dans le traitement de la jaunisse. L'Organisation Mondiale de la Santé reconnaît comme « traditionnel » l'usage de la plante dans le traitement des troubles digestifs et des calculs biliaires. Il a été employé pour des problèmes du foie, du rein, de la rate; des problèmes de grossesse et de menstruation (Meschy et Guenguen, 1995).

Tandis que nous avons enregistré une diminution non significative de la créatinine chez le groupe G1 traité par la combinaison EGME/huile par rapport au groupe EGME« GE ».Noté que la dose G2 est plus efficace.

#### **b) Variations moyennes du taux plasmatique d'urée**

Les résultats obtenus (figure 18) montrent l'existence d'une augmentation très hautement significative dans le taux de l'urée chez le groupe traités par l'EGME ( $P \leq 0.001$ ) comparés aux témoins. Une augmentation mais cette augmentation est non significative entre le groupe témoin et les groupes « G1 » « G2 » et « G3 » traités par la combinaison EGME/huile essentielle du plant *Silybium marianum*. A noter que le groupe traité par la dose 150mg/kg «G4» a révélé une augmentation significative ( $P \leq 0.005$ ) comparé au témoin.



**Figure 18.** Variation moyennes ( $X \pm SD$ ;  $n=7$ ) du taux de l'urée (g/l) chez les rats témoins et traitée par gavage.

Le gavage oral des rats par l'EGME à raison de 200 mg/kg a entraîné un trouble du métabolisme biochimique caractérisé par une augmentation très significative ( $p < 0.01$ ) du taux de l'urée. Peut être expliquée par une augmentation du catabolisme, d'insuffisance rénale quelle que soit son origine (Sidisiby, 2008). La signification d'une augmentation du taux d'urée plasmatique peut être due aussi à l'absence d'hydratation, altérant la fonction rénale (Horde, 2013).

Nos résultats ont également mis en évidence une perturbation non significative dans le taux de l'urée chez les deux groupes « G2 » traités par l'huile essentielle de la plante contre la toxicité induit par l'EGME. L'ajustement de l'effet toxique est dû à l'effet bénéfique des polyphénols de la plante chez les deux groupes. Où les effets néphroprotecteurs de la silymarine sont accomplis via plusieurs mécanismes, dont l'anti oxydation (Wagner, 1981).

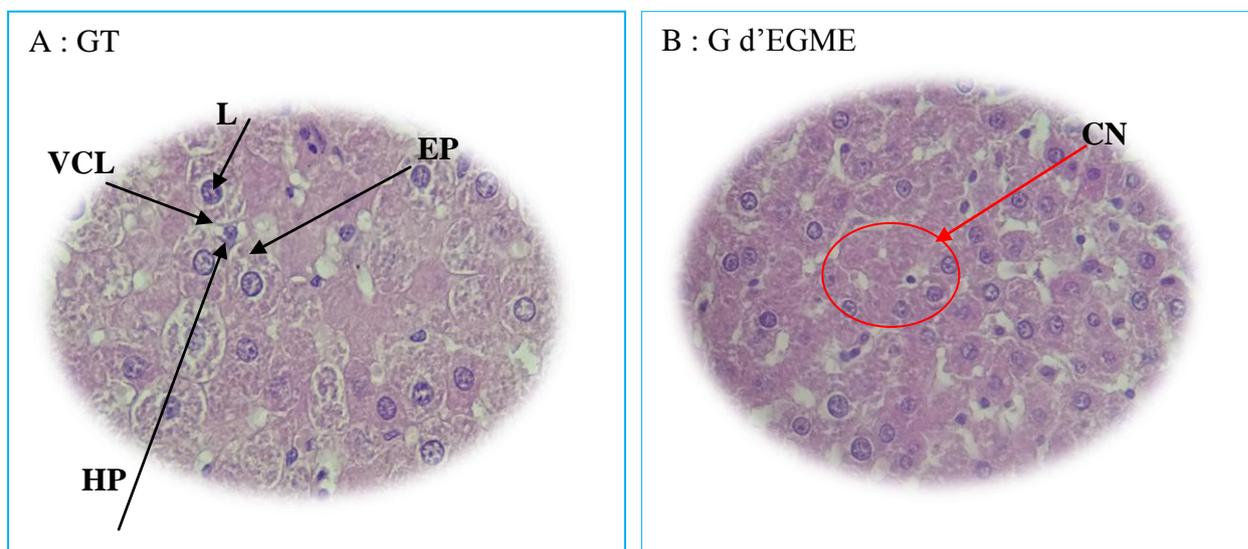
#### 4.2.2.4. Etude histologique du foie

Les résultats observés par les échantillons dans la figure (19 A) est l'examen histologique du foie du groupe témoin montré que :

Le parenchyme hépatique est bien conservé fait des lobules centrés par une veine Centro-lobulaire et une diminution renferment de hépatocytes. Et on distingue la présence des vaisseaux congestifs et aussi d'un espace port (une veine, une artère et canaux biliaires.) Et donc le témoin est sain.

L'observation microscopique de notre étude, montre des changements histologiques du foie chez les rats traités par l'EGME (Figure19 B) caractérisés par :

Une Nécrose cellulaire, des hépatocytes augment de volume (ballonisation) avec un cytoplasme clarifié et en remarque l'absence de fibrose et la présence de cellules inflammatoire lymphocytes et plasmocytes dispersés et intro lobulaire ainsi de rares polynucléaires et la présence des cellules binucléés peu nombreux. Ce changement pourrait être dû essentiellement à un effet toxique d'EGME qui touche la structure des hépatocytes.



**Figure 19.** Photos originales des coupes histologiques du foie chez les rats males de groupe témoin et groupe traité par l'EGME(X40)

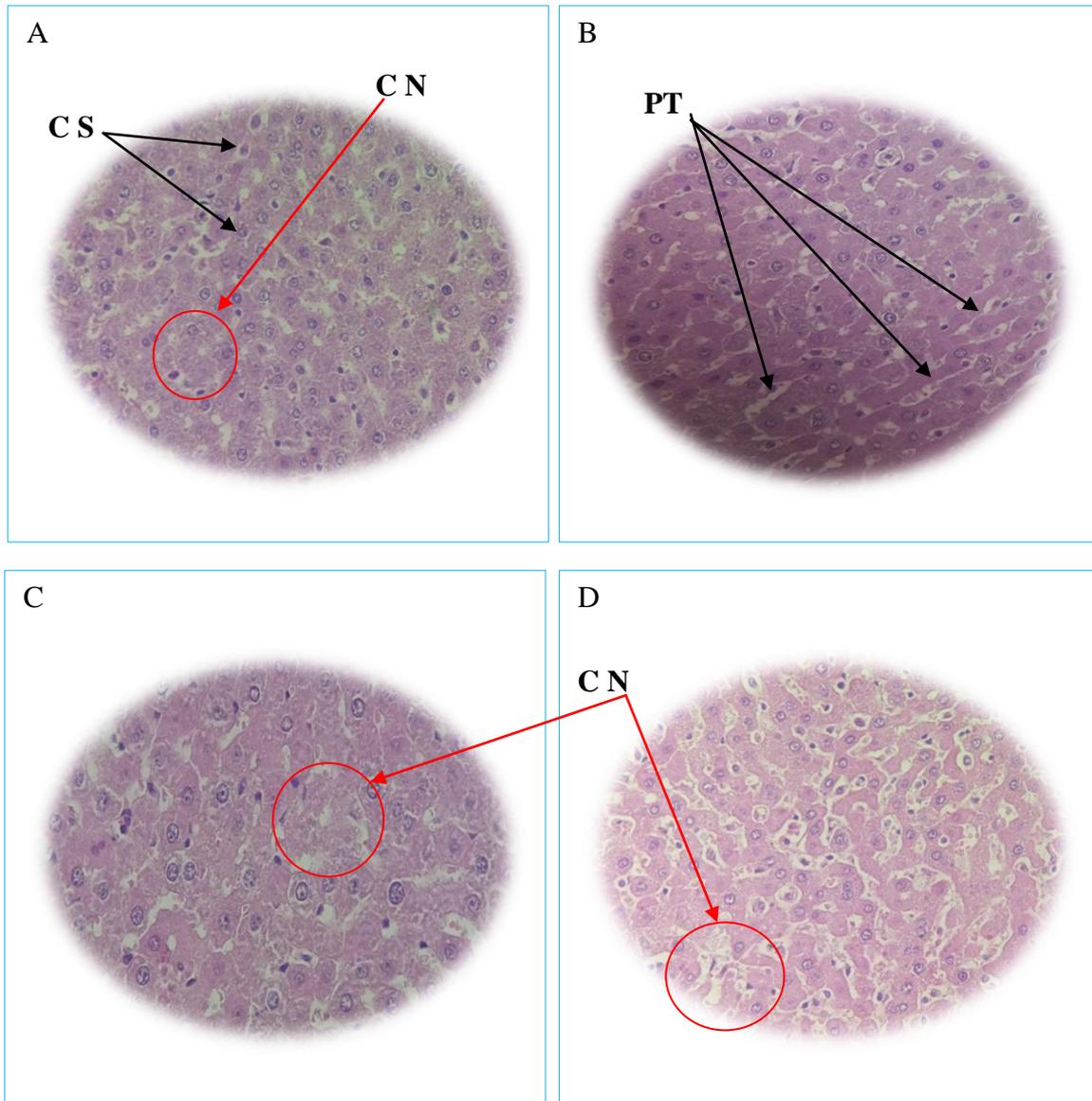
**VCL** : veine Centro lobulaire, **HP** : hépatocyte , **L** : lobule ,**EP** :espace porte ,**CN** : cellule nécrosées

Pour les groupes 3, 4,5 et 6 qui sont traités par la plante puis l'EGME, les résultats observés sont :

L'examen microscopique du foie des rats traitées par 25mg/kg montre la présence des grand nombre des cellules nécrosés avec clarification de cytoplasme c'est un signe de souffrance cellulaire avec l'apparition de nécrose cellulaire pour des cellules disparais, et il y'a des zones des cellules normales (parenchyme sain). (Figure 20 A).

Le foie des rats traité par 50mg/kg permet de visualisé une amélioration très significatif que le groupe de 25mg/kg caractérisé par :la présence de rarement des cellules discrètement inflammatoires et des grand nombre des cellules sain (Discrètement inflammatoire des lymphocytes c'est-à-dire signes de souffrance marquée) aussi que la plus part des cellules à un parenchyme travée, et la présence des cellules augmenté de taille avec de cytoplasme clarifié et ballonné par des endroits(figure 20 B), et donc on note que cette architecture est presque similaire aux rats témoins.

L'analyse histologique des foies des rats traités par 100 mg/kg et 150 mg/kg montre une amélioration moins significative par rapport au groupe traité par 50 mg/kg et par 25 g/kg, elles présentent des cellules nécrosées avec la clarification de cytoplasme (c'est un signe de souffrance cellulaire). (Figure 20 C et D)

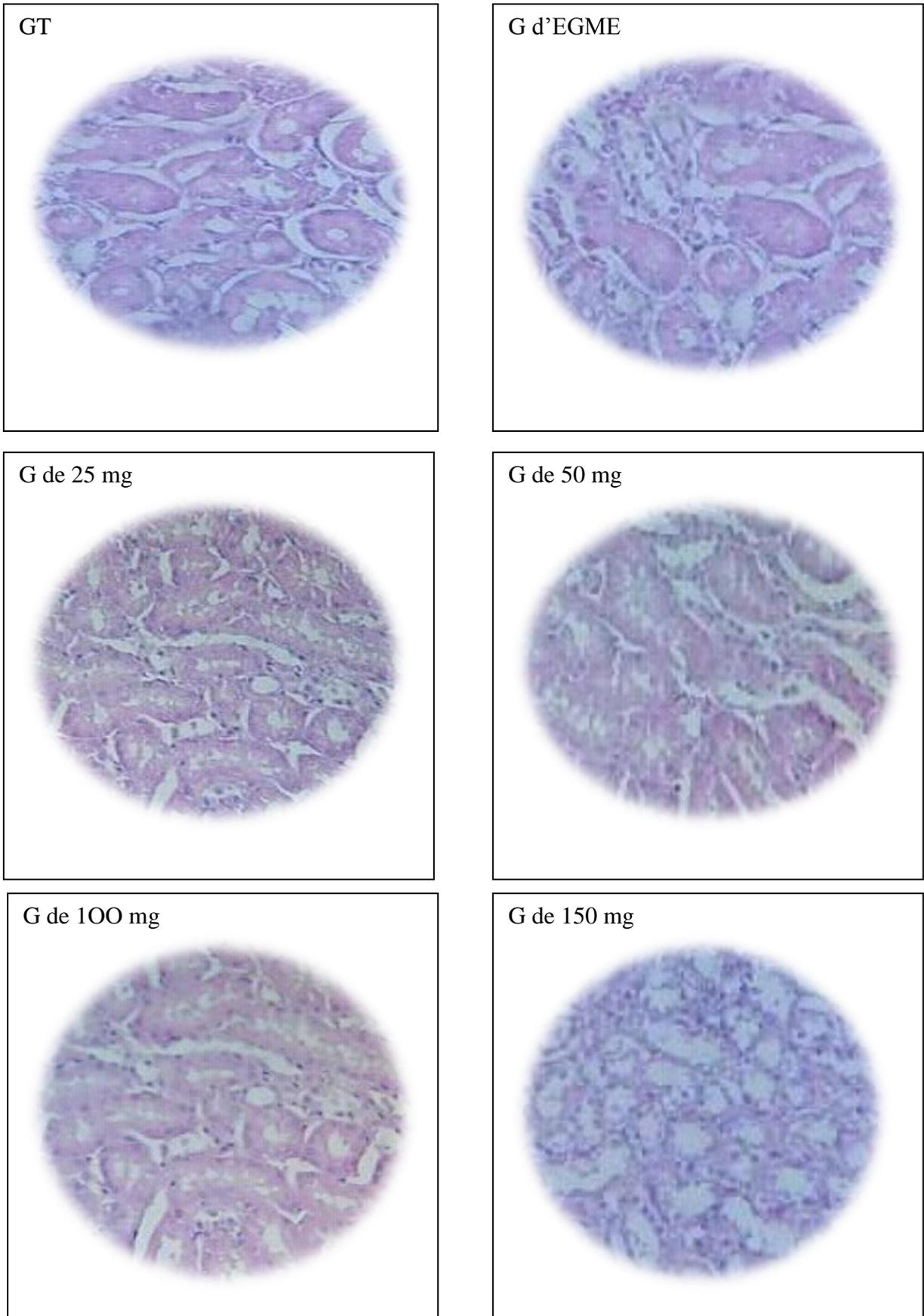


**Figure 20.** Photos originales des coupes histologiques du foie chez rat mal des groupes 3, 4,5 et 6 traitées par l'huile essentielle et l'EGME (X 40).

**CN** : cellule nécrosées, **PT** : parenchyme travée , **CS** : cellule sain

#### 4.2.2.3. Etude histologique du rein

Cependant les paramètres biochimiques sur l'étude anatomopathologique montrent d'un parenchyme rénal sensiblement normal sans particularité lésionnelles.



**Figure 21.** Photos originales des coupes histologiques du rien chez les rat mal de groupe témoins et des groupes traitées par l'huile essentielle et l'EGME (X 40)

# **Conclusion**

---

## Conclusion

Les plantes médicinales ont été utilisées pendant longtemps par les populations pour le traitement de diverse maladie (Singh *et al.*, 2014).

La *Silybium marianum* est l'une des plantes médicinales qui est utilisée traditionnellement en phytothérapie comme agent hépato protecteur ; protège et régénère les fonctions hépatiques.

*In vitro* : nous résultats montrent que le rendement des huiles essentielles des graines de la plante est de 10.97%.

*In vivo* : l'évaluation de la toxicité aigue qui nous avons suivi pendant 14 jour par voie orale pour déterminé la dose létal (DL 50) selon le protocole d'OCDE sur des souris femelles (Swiss albinos) montrent que la plante est non toxique (DL50 = 0) mais l'administration de 2 et 5 mg/kg de l'huile de *Silybium marianum* à des effets sur la croissance des souris.

Et pour l'évaluation de la toxicité subchronique que nous avons suivie pendant 28 jours avec différentes concentrations de l'huile essentielle des graines de *Silybium marianum* administrés par voie orale chez les rats males contre la toxicité induite par l'EGME montrent que :

- L'administration de la dose 200mg/kg d'EGME a provoquée des perturbationssur le poids de foie et reins.
- Une augmentation de concentration de créatinine et d'urée qui explique l'effet néphrotoxique d'EGME.
- Une augmentation de concentration des activités des enzymes sériques (TGO et TGP) qui confirme l'effet hépatotoxique d'EGME.
- Un changement histologique de parenchyme hépatique qui indique l'effet toxique d'EGME sur les hépatocytes.
- Les résultats obtenus chez les groupes traités avec des doses différentes des huiles essentielles lors de l'administration d'EGME montrent la présence d'une amélioration du parenchyme hépatique qui est accordé avec les résultats de TGO et TGP surtout pour la dose de 50 g/kg, mais pour le parenchyme rénal l'étude anatomopathologique montre d'un parenchyme rénal sensiblement normal sans particularité lésionnelles.

La somme de ces résultats montre que l'huile de la *Silybium marianum* provoque une amélioration des paramètres biochimique hépatique et rénale et histologique.

# **Références bibliographiques**

- **Acquaronne L., Corticchiato M., Ramzohi J., Raoul J L.1998.**Growing of monardafistulosta in *france* and getting of essential oils by hydrodiffusion.tRivista Italian app 761-765.
- **AFNOR, 1986.** Recueil des Normes Françaises « huiles essentielles » , AFNOR. Paris.57p.
- **Anderson., P.L., Brundage., R.C., kakuda ., T N. and Fletcher., C.V. 2002.** Response iscorrelated with peak plasma concentrations of indinavir in adults with undetectablehuman immunodeficiency virus ribonucleic acid. Clinicalpharmacokinetics. 71: 280.
- **Belkhada J. 1997.** La Pharmacopée marocaine traditionnelle. Ed. IBIS Press. P. 202.
- **Beloued A. 1998.** Plantes médicinales d'Algérie. Ed. Office des publications.
- **Bernard HREC, Johnsen PD, Killworth et Robinson S. (1989).** Estimating the size of an average personal network and of an event population. In: *The Small World*, M. Kochen, Ed., 159–175.
- **Bijoy, M., Jayati, S. & Prabir, K.S. (2008).** Antioxidant activities of soybean as affected by Bacillus-fermentation to kinema. *Food Research International*, 41: 586 - 593.
- **Boizot, N. & Charpentier, J.P. (2006).** Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. *INRA - Amélioration, Génétique et Physiologie Forestières, Laboratoire d'Analyses Biochimiques*.
- **Bonnier G.,La Grande Flore en couleurs.** Edition Belin Paris. 4 ; 1990, 582-589
- **Boubekri C. 2014.** Etude de l'activité antioxydante des polyphénols extraits de solanum melongena par des techniques électrochimiques. Thèse de doctorat, université Mohamed kheider, Biskra, 160 p.
- **Boucif A., Bouhaf kherkhachi Z.2018.** Evaluation de l'effet protecteur de l'extrait d'acétate d'éthyle des grains de la Silybum marianum contre la toxicité induite par l'éthylène glycol monométhyle éther chez les lapins mâle Cuniculus.
- **Boucif A., Tabbi A.2017.** Evaluation de l'effet toxique d'EGME et DPGME sur quelques paramètres biochimiques des riens chez les lapins adultes Cuniculus lepus.

- **Brashear, A. (1996).** Ethylene oxide neurotoxicity: a cluster of 12 nurses with peripheral and central nervous system toxicity. *Neurology.*, 46(4) : 992-998.
- **Bruneton J.1993.** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. *Paris*, Lavoisier. 623p.
- **Bruneton J. 1999.** Pharmacognosie. Phytochimie. Plantes médicinales.3e édition. Ed. Tecet doc. *Paris*.
- **Bruneton J.2009.**Pharmacognosie, photochimie, plantes médicinales, 3eme éd. Paris : Edition médicales internationales. Edition *Tec & Doc* Lavoisier 1120p.
- **Butterworth, M., Creasy, D., Timbrell, J.A. (1995).** The detection of subchronic testicular damage using urinary creatine: studies with 2-methoxyethanol, *Arch. Toxicol.*, **69**: 209-211.
- **Carpenter, C.P., Pozzani, U.C., Weil, C.S., Nair, J.H., Keck, G.A., Smyth, H.F. Jr. (1956).** The toxicity of butyl Cellosolve solvent, *Arch. Ind. Health.*, 14: 114-131.
- **Dahdouh F, Kechrid Z, Djebbar MR (2013).** Beneficial Effects of Vitamins (C + E) Supplementation against Nickel-induced Hepatotoxicity in Mice. *Adv. Biores.* 4(2), 67-71.
- **Derosa, G., Cicero, AF., Murdolo, G., Ciccarelli, L., Fogari, R. (2004).** Comparison of metabolic effects of orlistat and sibutramine treatment in Type 2 diabetic obese patients, *Diabetes. Nutr Metab.*, 17 : 222-229.
- **Djebbali N.2009.** Effets d'un solvant : Ethylène Glycol Monométhyl Éther EGME sur la fertilité masculine et quelques paramètres biochimiques et cellulaires du sang chez le lapin *Oryctolagus Cuniculus*. Thèse doctorat. Annaba. Spécialité physiologie animale
- **Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P. & Vidal, N. (2006).** Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compound. *Food Chemistry*, 97: 654 - 660.
- **ECETOC (Centre d'écologie et de toxicologie de l'industrie chimique européenne). (1995).** The toxicology of glycol ethers and its relevance to man, Bruxelles (Belgique), 350p. (ECETOC Rapport technique n° 64)

- **Eckel, W., Foster, G., Ross, B. (1996).** Glycol ethers as ground water contaminants. *Occup. Hyg.*, 2 : 97-104.
- **Edwards RD, Jurvelin J & Koistinen K (2001).** Source identification from personal and residential concentrations indoor, outdoor and workplace microenvironments samples in Expolis-Helsinki, Finland. *Atmospheric Environment*. **35**: 4829-4841.
- **Etiemble, J., 2003.** Les éthers de glycol : une toxicité variable selon les composés. *Actu, Chim. Chimie et Santé Publique.*, 1 : 145-149.
- **Exon, J.H., Mather, G.G., Bussiere, J.L., Olson, D.P., Talcott, P.A. (1991).** Effects of subchronic exposure of rats to 2-methoxyethanol or 2-butoxyethanol: thymic atrophy and immunotoxicity, *Fundam. Appl. Toxicol.*, **16**: 830-840.
- **Fairhurst, S., Knight, R., Marrs, T.C., Scawin, J.W., Spurlock, M.S., Swanston, D.W. (1989).** Percutaneous toxicity of ethylene glycol monomethyl ether and of dipropylene glycol monomethyl ether in the rat, *Toxicology.*, **57**: 209-215.
- **Ferreira, I.C.F.R., Baptista, P., Vilas-Boas, M. & Barros, L. (2007).** Free-radical scavenging capacity and reducing power of wild edible mushrooms from northeast Portugal: Individual cap and stipe activity. *Food Chemistry*, *100*: 1511 - 1516.
- **Feuston, M.H., Bodnar, K.R., Kerstetter, S.L., Grink, C.P., Belcak, M.J., Singer, J. (1989).** Reproductive toxicity of 2-methoxyethanol applied dermally to occluded and nonoccluded sites in male rats, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **100**: 145-161.
- **Flora ., Hahn M ., rosen H., Benner K. (1998).** Milk thistle (*Silybium marianum*) for the therapy of liver disease. *Am.J.Gastroenterol.* 93 (2): 139 – 43.
- **Francois, R .(2002).** Dictionnaire encyclopédique d'écologie et de science de l'environnement, 2ème édition DUNOD. Paris. 704.
- **Grant, D., Sulsh, S., Jones, H.B., Gangolli, S.D., Butler, W.H. (1985).** Acute toxicity and recovery in the hemopoietic system of rats after treatment with ethylene glycol monomethyl and monobutyl ethers, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **77**: 187-200.
- **Hajji F., El Idrissi A., Fkih-Tetouani S., Bellakhdar J. 1989.** Étude des compositions chimiques de quelques espèces d'Eucalyptus du Maroc. *Al Biruniya, Rev. Mar. Pharm.* 5 (2): 125-132.
- **Heinonen, T., Vaino, H. (1981).** Dose-dependent toxicity of ethylene glycol monomethyl ether vapour in the rat. *Eur. J. Drug. Metab. Pharmacokinet.*, 6 : 275-280.

- **Hellal Z. (2011).** Contribution à l'étude des propriétés antibactériennes et antioxydantes de certaines huiles essentielles extraites p134.
- **Hilaly, J.E., Israili, Z.H., Lyouss, B., 2004.** Acute and chronic toxicological studies of *Ajuva Iva* in experimental animals. *Journal of Ethnopharmacology*, 91: 43–50.
- **Horde, P. 2013.** Clairance de la créatinine, Définition, le journal des femmes avec santé médecine.
- **INRS :Institut National de Recherche et de Sécurité (2004).** Les éthers de glycol. *Fic. Sol. Ed. 4222* : 1-6.
- **INRS: Institut National de Recherche et de Sécurité (2006).** Ethers de glycol.
- **INSERM. (2006).** Ethers de glycol : nouvelles données toxicologiques. [En ligne] [Consulté le 15 / 11/ 2008]. Disponible sur : <http://ist.inserm.fr/baisirapports/ethers2006.html>.
- **INSERM: Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale (1999).**Ethers de glycol: quels risques pour la santé ?
- **Johanson, G., Fernstrom P. (1998).** Influence of water on the percutaneous absorption of 2- butoxyethanol in guinea pigs. *Scand J Work Environ Health* ., 14: 95-100.
- **Karkanis A., Dimitrios B., Efthimiadou A.**Cultivation of milk thistle (*Silybummarianum* L.Gaertn.), a medicinal weed. (2011) *Industrial Crops and Products*, Volume 34, Issue 1, 825–830
- **Kawamoto, T., Matsuno, K., Kayama, F., Hirai, M., Arashidani, K., Yoshikawa, M., Kodama, Y. (1990).** Acute oral toxicity of ethylene glycol monomethyl ether and diethylene glycol monomethyl ether, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, **44**: 602-608.
- **Khan I, Khattak H, IhsanUllah I and Bangash F K.,** *Jour Chem. Soc. Pak.*, 29, 6 (2007) 545-548.
- **Ku, W.W., Win, R.N., Chae, B.Y., Ghanayem, B.I., Chapin, R.E. (1995).** Spermatocyte toxicity of 2 methoxyethanol (ME) in rats and guinea pigs: evidence for the induction of apoptosis. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 134: 100-110.
- **Lagadic, L., Caquet, T., Amiard, J.C., Ramade, F. (1997).** Utilisation de biomarqueurs pour la surveillance de l'environnement. Lavoisier, Tec Doc.

- **Lahlah F. Z. 2008.** Extraction des flavonoïdes par Butanol et le Chloroforme a partir de *Silybum marianum* et étude de leur activité antimicrobienne. Mémoire pour l'obtention du Diplôme de magister en microbiologie appliquée, Université Mentouri, Constantine, 32 p.
- **Lakhdar L. 2015.** Evaluation de l'activité antibactérienne d'huiles essentielles marocaines *sue aggregatibacter antinomycetemcomitans* : étude in vitro, Doctora Sciences Odontologiques équipe de recherche en écosystème buccal, Faculté de médecine dentaire de rabat, Maroc, p. 32.
- **Lemaoui A. 2011.** Activités antioxydants et anticoagulante des essentielles des graines de *Nigella sativa*, Magister en biochimie appliquée, Université Ferhat Abbas, Setif, Algérie, pp 28-31.
- **Lemazurier E, Lecomte A & Robidel F (2003).** Etude de la toxicité des éthers de glycol sur la reproduction et le développement de rongeurs en administration réitérée dans l'eau de boisson. *Toxicol. Rep.* **102**: 8-27.
- **Lorente, C., Cordier, S., Bergeret, A., Walle, H.E., Goujard, J., Ayme, S., Knill-Jones, R., Calzolari, E. & Bianchi, F. (2000).** Maternal occupational risk factors for oral clefts. Occupational Exposure and Congenital Malformation Working Group. *Scand. J. Work Environ. Health.*, 26 : 137-145.
- **Lucchesi ME. (2005).** Extraction sans solvant assisté par micro-onde conception et application à l'extraction des huiles essentielles. Thèse de doctorat en science, discipline : Chimie. Université de la Réunion, Faculté des Sciences et Technologie. Antioxidant status in premature neonates. *Clin Sci*, 84: 407–412.
- **Mahieu JC & Boust C (2007).** Dégraissage des métaux. Choix des techniques et des produits, *Fiche pratique de sécurité. Ed. 48.* 4.
- **Mehammedizohra (2013).** Etude phytochimique et Activités Biologiques de quelques Plantes médicinales de la Région Nord et Sud Ouest de l'Algérie. 20. 26.
- **Meschy F., Guenguen L., 1995.** Ingestion et absorption des éléments minéraux majeurs : nutrition des ruminants domestiques ; ingestion et digestion. Ed. INRA, 721-758.
- **Miller, R.R., Ayres, J.A., Calhoun, L.L., Young, J.T., McKenna, M.J. (1981).** Comparative short-term inhalation toxicity of ethylene glycol monomethyl ether and

- propylene glycol monomethyl ether in rats and mice, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **61**: 368-377.
- **Morazzoni P., Montalbetti A., Malandrino S., Pifferi G.1993.** Comparative pharmacokinetics of silipide and silymarin in rats. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet*, *18*,289-97.
  - **Morazzoni P., Bombardelli E.** *Silybum marianum (Carduus marianus)*. (1995) *Fitoterapia*, *66*, 3–42.
  - **Niger. 1961.** *Silybummarianum* : an other host for *Pucciniapunctiformis*. 221.
  - **NTP (National Toxicology Program).** (1993). *NTP technical report on toxicity studies of ethyleneglycol ethers 2-methoxyethanol, 2-ethoxyethanol, 2-butoxyethanol (CAS Nos.109-864,110-80-5, 111-76-2) administered in drinking water to F344/N rats and B6C3F1 mice*,U.S.Department of Health and Human Services, 122 . et annexes. (NTP Toxicity Report Series No.26; NIH Publication No. 93-3349).
  - **Oyaizu, M. (1986).** Studies on products of browning reactions: antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *Japanese Journal of Nutrition*, *44*: 307 - 315.
  - **Paul MD, Foster S, Diane M & Moore C (1986).** Testicular toxicity of 2- methox-acetaldehyde, A possible metabolite of ethylene glycol monomethyl ether in the rat. *Toxicol. Lett.* **32**: 73-80.
  - **Pibiri P. (2005).** Assainissement microbiologique de l'air et de systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles. Thèse de doctorat : Faculté Environnement Naturel, Architectural et Construit, EPFL (Suisse).
  - **Pollien P., OTT A., FayL B., Maignial L et Chainteau A.1998.** Simutaaneous distillation-extraction : preparative recovry of volatiles under mild conditions in batch or continnous operation, flavour and fragrance.*Journal* *13*, pp 413-423.
  - **Qavami .N; NaghdiBadi. H; Labbafi. MR; Mehrafarin. A. (2013).***A Review on Pharmacological, Cultivation and Biotechnology Aspects of Milk Thistle (Silybum marianum (L.) Gaertn.)*, *12* : 20, 25,28-29-30-31.
  - **Quenzel P, Santa S. (1963).** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques Méridionale. Tome 2 Ed CNRS. p1011.
  - **Rayaud J.2006.**Prescription et conseil en aromathérapie. Ed.Tec, Tavoisier. 96p

- **Rodzko V.** *Abécédaire de phytothérapie*, 1999-2000
- **Saller R., 1995.** *Phytothérapie*. Haug, Heidelberg, 267-274.
- **Sell, C.S. 2006.** *The Chemistry of Fragrance. From Perfumer to Consumer*. 2nd edition. The Royal Society of Chemistry. Cambridge. 329 p.
- **Sidhu P, Garg ML, Dhawan DK (2004).** Protective role of zinc in nickel induced hepatotoxicity in rats *Chem. Biol. Interact.* 150(2), 199-209.
- **Simonet N., 2005.** Evaluation et prévention des risques liés à l'utilisation de produits contenant des éthers de glycol. Thèse doctorat. Spécialité pharmacie. Nancy.
- **Singh, S., Thomas, M., Singh, S.P., Bhowmik, D. (2014).** Plants used in hepatoprotective remedies in traditional indian medicine. *Indian Journal of Research in Pharmacy and Biotechnology*, 1 : 58-63.
- **Skottova N, Vece ra R, Urbanek K, Va na P, Walterova D and Cvak L., 2003.** Effets of polyphenolic fraction of silymarin on lipoprotein profile in rats fed cholesterol rich diets. *Pharmacol Res.*, **47** : 17-26.
- **Smialowicz, R.J., Riddle, M.M., Luebke, R.W., Copeland, C.B., Andrews, D., Rogers, R.R., Gray, L.E., Laskey, J.W. (1991a).** Immunotoxicity of 2-methoxyethanol following oral administration in Fischer 344 rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **109**: 494-506.
- **Smyth, H.F., Jr., Seaton, J., Fischer, L. (1941).** The single dose toxicity of some glycols and derivatives, *J. Ind. Hyg. Toxicol.*, 23: 259-268.
- **Stemmler, K., Mengon, W., Kinnison, D.J., Kerr, J.A., (1997).** OH radical-initiated oxidation of 2-butoxyethanol under laboratory conditions related to the troposphere: product studies and proposed mechanism, *Environ. Sci. Technol.*, **31**: 1496-1504.
- **Svobodova A., Walterova D., Psotova J., 2006.** Influence of silymarin and its flavonolignans on H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced oxidative stress in human keratinocytes and mouse fibroblasts, *Burns* 32, 973-979.
- **Sylvaine R., 2005.** Evaluation de l'exposition professionnelle à l'Éthylène glycol n Butyl Ether et son acetate. Thèse de doctorat d'état, Grenoble, 156p.
- **Venkataraman et al., (2000). R., Ramachandran R., Komoroshi B. (2000).** Milk thistle, an herbal supplement, decrease the activity of CYP3A4 and uridine

diphosphoglucuronosyl transférase in human hepatocyte cultures. Drug metabolism and disposition. 28 (11): 1270-1273.

- **Wagner H, 1981.** Hepatoprotective activity of *Colocasia antiquorum* against experimentally induced liver injury in rats .India specialist pharmacology.
- **Williams, W.C., Riddle, M.M. , Copeland, C.B., Andrews, D.L., Smialowicz, R.J.** (1995). Immunological effects of 2-methoxyethanol administered dermally or orally to Fischer 344 rats, *Toxicology.*, **98**: 215-223.
- <http://www.doctissimo.fr/equipe/auteurs/dr-jesus-cardenas>
- [http://sante-medecine.journaldesfemmes.com/contents/2523-chardon-marie-vertus\(sante-medecine.journaldesfemmes.com\)/2016](http://sante-medecine.journaldesfemmes.com/contents/2523-chardon-marie-vertus(sante-medecine.journaldesfemmes.com)/2016).
- [http://www.masantenaturelle.com/chroniques/herbier/chardon\\_marie.php](http://www.masantenaturelle.com/chroniques/herbier/chardon_marie.php)

# **Annexes**

**Annexe n°I : Logicielle de l'OCDE****La dose létale 50 (DL50) :**

- Dose unique d'une substance d'essai, obtenue par calcul statistique, susceptible d'entraîner la mort de 50 pour cent des animaux lorsqu'elle est administrée par voie orale. La valeur de la DL50 est exprimée en poids de la substance par unité de poids corporel de l'animal d'expérience (mg/kg). (OECD, 2001).
- Arrêt de l'expérience de la DL 50 selon le logiciel de l'OCDE.

Test Seq.	Animal ID	Dose mg/kg	Short-term Outcome	Long-term Outcome	Program's Data Entry Messages
1	1	2000	0	0	
2	2	2000	0	0	
3	3	2000	0	0	
4	4	2000	0	0	
5	5	2000	0	0	
6	6	5000	0	0	
7	7	5000	0	0	
8	8	5000	0	0	
9	9	5000	0	0	
10	10	5000	0	0	
11					
12					
13					
14					
15					

Complete data or correct the data entry problems to obtain dose recommendations and results.

**Annexe n°II : Matériel utilisé**

- Appareil de Soxhlet
- Évaporateur rotatif
- Balance analytique
- Balance de précision.
- Bain-marie
- Spectrophotomètre
- pH mètre.
- Barreaux magnétiques.



## المخلص

نبته شوك الجمل إحدى أهم النباتات المستعملة في الطب التقليدي لكن بطريقه عشوائية غير مدروسة و هو نبات عشبي من العائلة النجمية و ينمو أصلا في منطقة البحر الأبيض المتوسط.

حاولنا في هذه الدراسة أن نساهم في تقييم النشاط الوقائي للزيت الأساسي لبذور شوك الجمل ضد التسمم الناجم من التعرض للثايلين غليكول أحادي المثيل الأثير :لذلك قمنا بمعايرة الأثر السمي الحاد للزيت الأساسي لهذه البذور على مجموعة فئران إناثيبيضاء و متابعتها لمدة 14 يوم .حيث أظهرتالنتائج أن هناك حدوث اضطرابات على الوزن الصافي لها بدون موت أي حيوان ,و من الناحية التجريبية في المختبر اثبتت الدراسة أن بذور شوك الجمل تحتوي على نسبة معتبرة من الزيت بقيمة (10.76%) ، و قد قمنا أيضا بأجراء دراسة لتقييم القيمة العلاجية لهذا الزيت ضد السمية الناتجة عن الاثايلين غليكول أحادي المثيل الأثير خلال 28 يوم عن طريق الفم بجرعات متكررة لمجموعة من الجرذان ذكور:مما تسبب في اضطرابات كيميائية نجم عنه زيادة كبيرة في المعايير البيوكيميائية للكلى و الكبد و على النسيج الكبدي خاصة. حيث تناولاثايلين غليكول أحادي المثيل الأثير مع مستخلص الزيت بجرعات مختلفة (25.50.100 و 150 ملغ/كغ ) .للمجموعات 3.4.5.6 على التوالي ساهمت في انتعاش ملحوظ للمعايير البيوكيميائية إلى قيمتها الطبيعية و حماية أنسجة الخلايا الكبدية و عدم التأثير على أنسجة الخلايا الكلوية

**الكلمات المفتاحية:** الاثايلين غليكول أحادي المثيل الأثير,شوك الجمل , زيت أساسي, فئران ,جرذان

## Résumé

*Silybum marianum* est une plante largement utilisée dans la médecine traditionnelle mais de manière aléatoire et non réfléchie et une plante herbacée de la famille des Asteraceae et pousse nativement dans la région méditerranéenne.

Nous avons tenté dans la cadre de cette étude l'évaluation de l'effet protecteur de l'huile essentielle des grains de la *Silybum marianum* contre la toxicité induit par l'éthylène glycol monométhyl éther. Donc nous avons calibré l'effet toxique aigu de l'huile de graine sur un groupe de souris femelles blanches et suivies pendant 14 jours. les résultats obtenus montrés qu'il ya des perturbations sur le poids corporel sans la mort d'aucun animal , d'une part une étude expérimentale in vitro prouvé que les grains de *Silybum marianum* contient une proportion importante de l'huile(10.76%).Nous avons également mené une étude pour évaluer l'intérêt thérapeutique de cette huile contre la toxicité de l'éthylène glycol monométhyl éther pendant 28 jours administré par voie orale des doses répétée chez les rats males a provoquée des perturbations sur le plan biochimique entraînant une augmentation significative du paramètre biochimique rénale et hépatique et sur le tissu hépatique en particulier. la consommation l'éthylène glycol monométhyl éther avec l'extrait de l'huile a déférentes doses (25 ,50,100 et 150mg/kg) respectivement pour les groupes (1,2,3,et 4) a contribué à un rétablissement des paramètres biochimiques à leur valeur normale, Protège les tissus des cellules du foie et ne pas affecter le tissu cellulaire rénal.

**Mots clés :** EGME, *Silybum marianum*, Rats, Sourires blanche, huile essentielle

## Abstract

*Silybum marianum* is a plant widely used in traditional medicine but randomly and unreflected and a herbaceous plant of the family Asteraceae and grows natively in the Mediterranean region.

In this study, we have attempted to evaluate the protective effect of the essential oil of the grains of *Silybum marianum* against the toxicity induced by ethylene glycol mono methyl ether. So we calibrated the acute toxic effect of seed oil on a group of white female mice and followed for 14 days. The results obtained showed that there are disturbances on the body weight without the death of any animal On one hand, an experimental in vitro study prove that the grains of *Silybum marianum* contain a significant proportion of the oil (10.76%). We also conducted a study to evaluate the therapeutic interest of this oil against the toxicity of ethylene glycol monomethyl ether for 28 days administration orally repeated doses in male rats has caused biochemical disturbances marked by a significant increase in the renal and hepatic biochemical parameter and on liver tissue in particular . Consumption ethylene glycol mono methyl ether with oil has various doses(25 ,50,100 et 150mg/kg) espectively for groups (1,2,3, and 4) has contributed to a recovery of biochemical parameters to their normal value, Protects tissues of liver cells and does not affect renal cell tissue.

**Key words :** EGME, *Silybum marianum*, Rats, white mice, Essential oil