



N° de série :

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة الشهيد حمه لخضر الوادي
Université Echahid Hamma Lakhdar -El OUED
كلية علوم الطبيعة والحياة
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
قسم البيولوجيا الجزيئية والخلوية
Département de biologie Cellulaire et Moléculaire

MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

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

Spécialité : Biochimie Appliquée

THEME

**Etude phytochimique et activités biologiques des
extraits aqueux et hydroéthanolique des feuilles
d'*Ajuga iva* L chez les rats rendus diabétiques**

Présenté par:

Mr. Oudini Abdelatif

Mr. Maaloul Youcef

Devant le jury composé de:

Président : KHELEF Yahia M.C.B

Université d'El Oued.

Examinatrice : BOUKHARI Dalal M.A.A

Université d'El Oued.

Promotrice : TOUMI Ikram M.C.A

Université d'El Oued.

- Année universitaire 2020/2021

A decorative scroll with a cream-colored background and a scalloped edge. The scroll is set against a green background with colorful confetti. The scroll is adorned with a floral border of purple and yellow pansies and green vines. The text is centered on the scroll.

Dédicace

Une dédicace particulière et sincère notre
enseignement a Dr Toumi Ikram

Je dédie ce modeste travail :

A ma chère mère Baha Leila et a mon cher père
Oudini Lasshad pour leur endurance et leurs
sacrifices sans limites

A tous mes proches, mes amis, mes camarades
de promotion.

ABDELATIF

A decorative scroll with a cream-colored background and a scalloped edge. The scroll is surrounded by a vibrant floral border featuring purple and yellow pansies, green leaves, and small colorful confetti. The scroll is unrolled at the top and bottom, with the text centered on the main body.

Dédicace

Une dédicace particulière et sincère notre
enseignement a Dr Toumi Ikram

Je dédie ce modeste travail :

A ma chère mère Bared Rachida et a mon cher
père Maaloul Noureddine pour leur endurance et
leurs sacrifices sans limites

A mes frères Fares, Oussama, Mouhamed et
Radhouane.

Et ma sœurs: Chahrazad et Sara reconnaissance
de leurs affection toujours constante.

A tous mes proches, mes amis, mes camarades
de promotion.

YOUCEF

Remerciements

Nous remercions Dieu de nous avoir donné la force et le courage pour réaliser ce modeste travail.

Nous remercions Mme "**TOUMI Ikram**" qui a suivi ce travail, pour son aide, ses orientations pédagogiques dans l'élaboration de ce mémoire, et tous les conseils qu'il nous a prodigués pendant toute la durée de ce travail malgré ses nombreuses occupations.

Nous adressons nos plus vifs remerciements aux membres du jury **khelef yahia** et **boukhari dalal** pour l'honneur qu'ils nous font en acceptant la charge de juger ce travail.

Nous sommes reconnaissantes envers nos enseignants **khelef yahia**, **laib ibtissam**, **djawadi anfal**, **gharaisa noura**, Dr **hamida atmane**, laboratoire de recherche VTRS et le laboratoire des analyses **ibn roched**.

auxquels nous devons notre formation pour cette mémoire.

Enfin, nous ne pourrions terminer ces remerciements sans oublier nos familles pour leur aide, compréhension, encouragement et soutien, qu'elles nous ont apportées durant nos études et à tous nos amis

Résumé

Ajuga iva ou Chendgoura, est une lamiacées caractérisée par diverses propriétés thérapeutiques. L'objectif de ce travail est d'étudier l'effet antidiabétique des extraits *Ajuga Iva* chez le rat *Wistar*. Vingt rats males (n= 20) pesant entre 160 g et 240 g ont été divisé en quatre (4) groupes de 5 rats chacun ; groupe (A) : rats témoins sains. Groupe (B) : rats témoins diabétiques. Groupe (C) : rats diabétiques traités par l'extrait aqueux d'*Ajuga iva* 10 mg/kg/j. Groupe (D) : rats diabétiques traités par l'extrait hydro alcoolique d'*Ajuga iva* 10 mg/kg/j. les résultats obtenus ont montré la richesse de la plante en flavonoïdes, alcaloïdes, tannins, quinones, terpénoïdes, composées réducteurs et en saponines. L'étude quantitative à révéler que l'extrait hydroéthanolique possède les teneurs les plus élevées en polyphénols totaux (112.3 ± 6.082763 mg EC/g) et en flavonoïdes (73.875 ± 13.52082 mg EC/g). les valeurs d'IC₅₀ sont (94.62165 ± 9.143191 µg/ml) et (107.0948 ± 10.47679 µg/m) pour l'extrait hydroéthanolique et aqueux respectivement. La chromatographie liquide des extraits d'*Ajuga Iva* à révéler l'existence de trois composées phénoliques: l'acide gallique, l'acide chlorogenique et la vanilline. Les résultats ont montré une diminution significative de la glycémie ($p < 0.001$) et une amélioration des paramètres biochimique hépatiques et rénaux. La plante a montré un pouvoir antioxydant en réduisant la peroxydation lipidique (MDA hépatique et rénale) et améliore l'état de stress oxydatif par l'augmentation du taux de GSH. L'étude histopathologique a révélé une régénération cellulaire des cellules beta pancréatiques. En conclusion les deux extrait de la plante *Ajuga iva* ont montré une activité antidiabétique et antioxydante grâce a la richesse des extraits en flavonoïdes en composés phénoliques.

Mots clés: *Ajuga iva*, antidiabétique, extrait hydro-éthanolique, induction du diabète, stress oxydatif,

Abstract

Abstract:

Ajuga iva or Chendgoura, is a laminaceae characterized by diverse therapeutic properties, this work aims to study the anti-diabetic effect of *Ajuga iva* extracts on *Wistar* rats. Twenty male rats (n=20) weighting between 160g and 240g were divided into four (4) groups with 5 rats each ; group (A) : healthy control rats. Group (B) : diabetic control rats. Group (C) : diabetic rats treated with 10mg/kg/d of *Ajuga iva*'s aqueous extract. Group (D) diabetic rats treated with 10mg/kg/d of *Ajuga iva*'s hydro-alcoholic extract. The results obtained revealed *Ajuga iva*'s abundance in flavonoids , alkaloids, tannins, quinones, terpenoids, reductant compounds and in saponins. The quantitative assay revealed that the hydro-ethanolic extract contains the highest total polyphenolic tenors (112.3±6.082763 mg EC/g) and in flavonoids (73.875± 13.52082 mg EC/g) . The IC₅₀ values are (94.62165 ± 9.143191 µg/ml) and (107.0948±10.47679 µg/m) for the hydro-ethanolic and aqueous extracts respectively. The liquid chromatography on the *Ajuga iva*'s extracts revealed the presence of three phenolic compounds : gallic acid, chlorogenic acid and vanilin. The results also revealed a significant blood glucose level reduction (p<0.001) and an enhancements in both biochemical hepatic and renal parameters. The plant additionally revealed an anti-oxidant capacity in both reducing the lipid peroxidation (hepatic and renal MDA) and improving the oxidative stress's state by increasing the GSH's levels. The histopathological analysis revealed a beta pancreatic cellular regeneration. In conclusion both extracts of *Ajuga iva* plant showed an anti-diabetic and an anti-oxidant capacities thanks to the extracts' abundance in both polyphenolic and flavonoid compounds.

Keywords: *Ajuga iva*, anti-diabetic, hydro-ethanolic extract, diabetic induction, oxidative stress.

الملخص:

Ajuga iva المعروفة بالشندقورة هي نبتة تنتمي للعائلة الشفوية تتميز بخصائص علاجية عديدة ، تهدف هاته التجربة لدراسة التأثير المضاد للسكري لمستخلصات نبتة *Ajuga iva* على جرذان *Wistar*. تم احظار عدد يتكون من عشرين (20) جرذاً (n=20) يتراوح وزنها من 160 غ الى 240 غ حيث تم تقسيمها الى اربعة (4) مجموعات تحتوي كل منها على 5 جرذان؛ المجموعة (A) : مجموعة الجرذان الشواهد. المجموعة (B) : مجموعة الجرذان المصابة بالسكري. المجموعة (C) : مجموعة الجرذان المصابة بالسكري التي تمت معالجتها بواسطة المستخلص المائي للنبته بمقدار 10ملغ/كلغ/ي. المجموعة (D) : مجموعة الجرذان المصابة بالسكري التي تمت معالجتها بواسطة المستخلص الكحولي-المائي للنبته بمقدار 10ملغ/كلغ/ي. اظهرت النتائج المتحصل عليها على ان نبتة *Ajuga iva* تتميز بوفرتها على الفلافونويدات، القلويدات، التانينات، الكينونات، التربينات، المركبات المرجعة و الصابونيات. اظهرت المعاييرة الكمية للنبته بان المستخلص الكحولي-المائي يحتوي على النسبة الاعلى من الفينولات بنسبة (112.3 ± 6.082763 ملغ/غ من المادة الجافة) و بالنسبة للفلافونويدات (73.875 ± 13.52082 ملغ/غ من المادة الجافة). اظهرت النتائج بالنسبة IC_{50} على وجود قيمة ($94.62165 \pm$) و (9.143191 ميكرو غ/ مل) و (107.0948 ± 10.47679 ميكرو غ/مل) بالنسبة للمستخلص الكحولي-المائي و المستخلص المائي على الترتيب. اظهرت التقنية الكروماتوغرافية السائلة المطبقة على مستخلصات *Ajuga iva* وجود ثلاثة مركبات فينولية هي : حمض الغاليك، حمض الكلوروجينيك و الفانيلين. كما اظهرت النتائج كذلك على ان مستخلصات النبتة لها تأثير قوي في خفض نسبة الغلوكوز في الدم ($p < 0.001$)، اضافة الى ذلك فان مستخلصات *Ajuga iva* لها تأثير محسن للمعايير الكبدية و الكلوية و تأثير مضاد للاكسدة يتمثل في خفض نسبة فوق اكسدة الدهون (خفض نسبة MDA الكبدية و الكلوية) و تحسين حالة الاجهاد التاكسدي عبر تحسين مستويات انزيم GSH . اظهرت نتائج التحاليل النسيجية على وجود تجدد خلوي للخلايا بيتا البنكرياسية. و اخيرا يمكن ان نستنتج بان مستخلصات نبتة *Ajuga iva* تتميز بخصائص مضادة للسكري و خصائص مضادة للاكسدة نظرا لاحتواءها على نسب عالية من المركبات الفينولية المتعددة و الفلافونويدات.

الكلمات المفتاحية: *Ajuga iva* ، مضادة للسكري، المستخلص الكحولي-المائي، حث مرض السكري، الاجهاد التاكسدي.

Liste des abréviations

Liste des abréviations

A.iva	Ajuga iva
DPPH	Diphenyl picryl hydrazy
EDTA	Ethléne diamine tétraacétique
GSH	Glutathion réduit
MDA	Malondialéthude
H₂O₂	Peroxyde d'hydrogène
NADPH	Nicotinamide dinucleotide phosphate
O₂[*]	Radical superoxyde (anion superoxyde)
TGO	Glutamate oxalo acétate-transaminase
TGP	Transaminase glutamique pyruvique
FNS	Formule numerique sanguine
RBC	Globules rouges (red blood cells)
WBC	Globules blanches (white blood cells)
PLT	Plaquettes (platelets)
HCT	Hematocrite
HGB	Hemoglobine
LYMPH	Lymphocytes
TG	Triglycerides
HDL	High density lipoprotein
LDL	Low density lipoproteine
g	Gramme
mg	Milligramme
l	Litre
ml	Millilitre
µg	Microgramme
EC	Extrait sec
H+E	Hematoxyline + Eosine
X40	Magnification par 400 fois
IC₅₀	Concentration nécessaire pour neutraliser 50% des radicaux libres
PAR	Puissance des radicaux libres

LISTE DES TABLEAUX

LISTE DES TABLEAUX

TABLEAU 1: <i>METHODE DE DOSAGE DES POLY PHENOLS TOTAUX</i>	22
TABLEAU 2: <i>METHODE DE DOSAGE DES FLAVONOÏDES</i>	23
TABLEAU 3: <i>LES CONDITIONS EXPERIMENTALES POUR L'APPAREIL D'HPLC POUR LA SEPARATION DES COMPOSEES PHENOLIQUES</i>	24
TABLEAU 4: <i>POURCENTAGES DES VARIATIONS DES PHASES MOBILES (A) ET (B) EN FONCTION DE TEMPS</i>	24
TABLEAU 5: <i>LA BASE DES DONNEES POUR LES ACIDES PHENOLIQUES IDENTIFIABLE PAR L'HPLC</i>	25
TABLEAU 6: <i>SCREENING PHYTOCHIMIQUES DE L'EXTRAIT D'A. IVA</i>	34
TABLEAU 7: <i>LES VALEURS D'IC₅₀ DE L'ACIDE ASCORBIQUE</i>	39
TABLEAU 8: <i>LES VALEURS D'IC₅₀ DE L'EXTRAIT HYDROETHANOLIQUE D'A.IVA</i>	39
TABLEAU 9: <i>LES VALEURS D'IC₅₀ DE L'EXTRAIT AQUEUX D'A.IVA</i>	39
TABLEAU 10: <i>REVELATION DE L'ACIDE GALLIQUE ET LEUR CONCENTRATION</i>	40
TABLEAU 11: <i>REVELATION DE L'ACIDE CHLOROGENIQUE ET LEUR CONCENTRATION</i>	40
TABLEAU 12: <i>REVELATION DE LA VANILLINE ET LEUR CONCENTRATION</i>	40
TABLEAU 13: <i>GAIN DU POIDS CHEZ LE GROUPE TÉMOIN ET LES VALEURS SONT EXPRIMÉES EN MOY ± ES AVEC UN NOMBRE D'ÉCHANTILLON (N =5)</i>	49
TABLEAU 14: <i>VARIATIONS DE GLYCEMIE CHEZ LES GROUPES EXPERIMENTALES EXPRIMEES EN MG/DL AVEC UN NOMBRE D'ECHANTILLON (N =5)</i>	51

LISTE DES FIGURES

LISTE DES FIGURES

FIGURE 1: <i>AJUGA IVA SUBSP. IVA, MONTS TRARA, ALGERIE PHOTO: MEDJAHDI</i>	2
FIGURE 2: <i>ANATOMIE DE LA PLANTE D'AJUGA IVA : A) LA PLANTE D'A.IVA. B BRANCHE FLEURIE; C) FEUILLE ; D) COROLLE; E) STAMEN; F) TETRANUCULA FRUIT; G) NUCULA; H) FRUITING CALYX.</i>	3
FIGURE 3: <i>STRUCTURE CHIMIQUE DE L'ALLOXAN</i>	12
FIGURE 4: <i>MECANISME D'ACTION DE L'ALLOXAN</i>	13
FIGURE 5: <i>LA PARTIE AERIENNE D'A.IVA, SECHE ET BROYEE (PHOTO DE LABORATOIRE)</i>	17
FIGURE 6: <i>FORME LIBRE ET REDUIT DE DPPH .</i>	25
FIGURE 7: <i>COURBE D'ETALONNAGE DE L'ACIDE GALLIQUE POUR LE DOSAGE DES POLYPHENOLS.</i>	35
FIGURE 8: <i>COURBE D'ETALONNAGE DE LA CATECHINE POUR LE DOSAGE DES FLAVONOÏDES.</i>	35
FIGURE 9: <i>LES COURBES DES POURCENTAGES D'INHIBITION DE L'EXTRAIT HYDROETHANOLIQUE D'A.IVA</i>	36
FIGURE 10: <i>LES COURBES DES POURCENTAGES D'INHIBITION DE L'EXTRAIT AQUEUX D'A.IVA REPETEES TROIS FOIS.</i>	37
FIGURE 11: <i>POURCENTAGES D'INHIBITION DE L'ACIDE ASCORBIQUE REPETEES TROIS FOIS.</i>	38
FIGURE 12: <i>LA COURBE DE LA SEPARATION DES DIFFERENTS COMPOSEES CHIMIQUES PAR HPLC COMBINEE AVEC L'UV VISIBLE A LONGUEUR D'ONDE 268NM D'EXTRAIT HYDRO ETHANOLIQUE D'A.IVA SELON LEUR TEMPS DE RETENTION.</i>	40
FIGURE 13: <i>LES VALEURS NUMERIQUES DES CELLULES SANGUINES DIFFERENTES CHEZ LES GROUPES DES RATS EXPERIMENTAUX. (TEMOIN M= TEMOINS MALADE. TEMOINS S= TEMOIN SEIN. E-AQUEUX= GROUPE TRAITEE PAR L'EXTRAIT AQUEUX ET HY-ALCOOL= LA GROUPE TRAITEE PAR L'EXTRAIT HYDRO ALCOOLIQUE)</i> AVEC UN NOMBRE D'ECHANTILLON (N=5).....	42

LISTE DES FIGURES

FIGURE 14: LES CONCENTRATIONS DES ENZYMES DES TGO ET TGP CHEZ LES RATS DES GROUPES EXPERIMENTAUX EXPRIMEES EN UI/L AVEC UN NOMBRE D'ECHANTILLON (N=5).....	43
FIGURE 15: LES TAUX D'UREE ET CREATININE CHEZ LES GROUPES DES RATS EXPERIMENTAUX EXPRIMEES EN MG/L AVEC UN NOMBRE D'ECHANTILLON (N=5).....	44
FIGURE 16: LE TAUX DE L'HDL, LDL, TRIGLYCERIDES ET CHOLESTEROL CHEZ LES GROUPES EXPERIMENTAUX DES RATS EXPRIMEES EN G/L AVEC UN NOMBRE D'ECHANTILLON (N=5).....	45
FIGURE 17: LES CONCENTRATIONS DU MDA DANS LES ORGANES (FOIE, REIN ET CERVEAU) ET LE CONCENTRATION CELLULAIRE (MIXTE) CHEZ TOUT LES GROUPES EXPERIMENTALES RESPECTIVEMENT EXPRIMEES EN UMOL/MG AVEC UN NOMBRE D'ECHANTILLON (N=5).....	46
FIGURE 18: LES CONCENTRATIONS DU GSH DANS LES ORGANES (FOIE, REIN ET CERVEAU) ET LE CONCENTRATION CELLULAIRE (MIXTE) CHEZ TOUT LES GROUPES EXPERIMENTALES PAR ORDRE EXPRIMEES EN U MOL/MG AVEC UN NOMBRE D'ECHANTILLON (N=5).....	48
FIGURE 19: LE CROISSANCE CORPORELLE DES ORGANES CHEZ LES GROUPES DES RATS EXPERIMENTAUX AVEC UN NOMBRE D'ECHANTILLON (N =5).....	50
FIGURE 20: LES TAUX DE GLYCEMIE CHEZ LES DIFFERENTES GROUPES EXPERIMENTALES DES RATS COMPAREES AVEC LES TEMOINS SEINS (PENDANT 15 JOURS DE TRAITEMENT) EXPRIMEES EN MG/DL AVEC UN NOMBRE D'ECHANTILLON (N =5).....	52
FIGURE 21: COUPES HISTOLOGIQUES DU PANCREAS DES RATS DE LA GROUPE DES TEMOINS SEINS COLOREES PAR H+E, PHOTOGRAPHIEES EN UTILISANT R CRIMAGE SOUS MAGNIFICATION DE X40 (PHOTO ORIGINALE). (A) : ILOTS DE LANGHERANS, (B) : CELLULES ACINAIRES, (C) : CONDUIT INTER-TUBULAIRE.	54
FIGURE 22: COUPES HISTOLOGIQUES DU PANCREAS DES RATS DE LA GROUPE DES TEMOINS MALADES DIABETIQUES PAR L'ALLOXAN COLOREES PAR H+E, PHOTOGRAPHIEES EN UTILISANT R CR IMAGE SOUS MAGNIFICATION DE X40 (PHOTO ORIGINALE). (A) : DESTRUCTION DES ILOTS DE LANGHERANS, (B) : DEGRANULATION DES CELLULES BETA, (C) : NECROSE CELLULAIRE.	54

LISTE DES FIGURES

FIGURE 23: COUPES HISTOLOGIQUES DU PANCREAS DES RATS DE LA GROUPE TRAITÉE PAR L'EXTRAIT HYDROETHANOLIQUE D'A.IVA (10 MG/KG) COLOREES PAR H+E, PHOTOGRAPHIEES EN UTILISANT LE R CR IMAGE SOUS MAGNIFICATION DE X40 (PHOTO ORIGINALE). (A) : ILOTS DE LANGHERANS, (B) : REGENERATION DES CELLULES BETA, (C) : ACINI..... 55

FIGURE 24: COUPES HISTOLOGIQUES DU PANCREAS DES RATS DE LA GROUPE TRAITÉE PAR L'EXTRAIT AQUEUX D'A.IVA (10 MG/KG) COLOREES PAR H+E, PHOTOGRAPHIEES EN UTILISANT LE R CRIMAGE SOUS MAGNIFICATION DE X40 (PHOTO ORIGINALE). (A) : REGENERATION DES ILOTS, (B) : ACINI, (C) CONDUIT INTER-TUBULAIRE..... 55

SOMMAIRE

Sommaire

DEDICACE
REMERCIEMENTS
RESUME
LISTE DES ABREVIATIONS
LISTE DES TABLEAUX
LISTE DES FIGURES
SOMMAIRE
INTRODUCTION

Première Partie: Synthèse bibliographique

CHAPITRE I: *Ajuga iva*

I.1. Définition et description	2
I.1.1. Définition	2
I.1.2. Description	2
I.2 .Nomenclature de la plante	3
I.2.1. Nomenclature	3
2.2. Taxonomie	3
I.3. Distribution géographique.....	4
I.4.Phytochimie d` <i>Ajuga iva</i>	4
I.5.Les utilisations ethnobotaniques d`A.iva.....	5

CHAPITRE II: Diabète

II.1. Définition.....	8
II.2. Rôle de l'insuline	8
II.2.1. L'insuline chez la personne non-diabétique.....	8
II.2.2. L'insuline chez la personne diabétique	8
II.3. Les différents types des diabètes	9
II.3.1. Diabète de type 1:.....	9
II.3.2. Diabète de type 2.....	9
II.3.3. Différences entre le diabète de type 1 et 2.....	10
II.3.4. Diabète insipide.....	11
II.3.5. caractérisations de diabète insipide.....	11
II.3.6. Diabète et l'alloxan	11
II.3.6.1. Alloxan.....	11
II.3.6.2. Diabète induit par alloxan	12
II.3.6.3. Mécanisme d`induction de diabète par alloxan	12

Deuxième Partie : Matériels et méthodes

SOMMAIRE

I. Matérielles.....	17
I.1. Matérielles végétales.....	17
I.2. Matériels de laboratoire.....	17
I.3. Matériels animales.....	18
II. Méthodes.....	18
II.1. Etude phytochimique.....	18
II.1.1. Préparation de l'extrait aqueux d'A.iva.....	18
II.1.2. Préparation de l'extrait hydro alcoolique d' Ajuga Iva.....	18
II.1.3.1. Méthode d'induction de diabète.....	19
II.1.3.2. Traitement antidiabétique par l'extrait.....	19
II.1.4. Tests phytochimiques (screening phytochimiques).....	19
II.1.4.1. Alcaloïdes.....	20
II.1.4.2. Tannins.....	20
II.1.4.3. Flavonoïdes.....	20
II.1.4.4. Quinones.....	20
II.1.4.5. Saponines: test de mousse.....	21
II.1.4.6. Terpénoïdes : Test de Slakowski.....	21
II.1.4.7. Composés réducteurs.....	21
II.1.5. Dosage des polyphénols.....	21
II.1.5.1. Préparation des extraits.....	21
II.1.6. Séparation par la chromatographie liquide a haute performance (HPLC).....	24
II.1.7. Activité anti radicalaire.....	25
II.1.7.1. Test de piégeage du radical libre DPPH' (2,2 diphényle-1- Picrylhydrazyl).....	25
II.1.7.2. Calcul des IC50.....	26
II-1-7-3-calcul du pouvoir anti radicalaire.....	26
II.2. Analyses biochimiques.....	27
II.2.1. Analyse de formule numérique sanguine (FNS).....	27
II.2.2. Bilan hépatique.....	28
II.2.2.1. Alanine Aminotransférase (ALAT).....	28
II.2.2.2. Aspartate Aminotransférase (ASAT).....	28
II.2.3. Bilan lipidique.....	28
II.2.3.1. Triglycérides (TG).....	29
II.2.3.2. lipoprotéines à haute densité (HDL).....	29
II.2.3.3. Lipoprotéines a basse densité (LDL).....	29
II.2.3.4. Cholestérol.....	29
II.2.4. Bilan rénale.....	29
II.2.4.1. Dosage de la créatinine dans le sang.....	29
II.2.4.2. Dosage de l'urée dans le sang.....	30
II.2.5. Tests de stress oxydatif.....	30
II.2.5.1. Méthode de dosage du Malondialdhyde (MDA).....	30
II.2.5.1.1. Principe.....	30
II.2.5.1.2. Réactif.....	30
II.2.5.1.3. Mode opératoire.....	30
II.2.5.1.4. Expression des résultats.....	31
II.2.5.2. Méthode de dosage de glutathion réduit (GSH).....	31

SOMMAIRE

II.2.5.2.1. Principe	31
II.2.5.2.2. Mode opératoire	31
II.2.5.2.3. Expression des résultats	31
II.2.6. Poids.....	31
II.2.7. Glycémie.....	32
II.2.8. Etude histologique	32
II.2.9. Analyses statistiques.....	32

Troisième Partie : Résultats et discussion

I. Résultats.....	34
I.1. Screening phytochimiques.....	34
I.2. Dosage des poly phénols totaux et flavonoïdes.....	35
I.3. Test de piégeage du radical libre DPPH' (2,2 diphényle-1- Picrylhydrazyl)	36
I.1.4. La chromatographie liquide à haute performance HPLC.....	40
I.2. tests biologiques.....	41
I.2.1. Formule numérique sanguine (FNS) : les résultats obtenus sont représenté dans la figure 13.....	41
I.2.1.1. globules rouges (RBC).....	42
I.2.1.2. WBC (globules blanches).....	42
I.2.1.3. PLT (plaquettes).....	43
I.2.1.4. LYMPH (lymphocytes).....	43
I.2.1.5. HCT (hématocrites).....	43
I.2.1.6. HGB (hémoglobine).....	43
I.2.2. Bilan hépatique :	43
I.2.2.1. TGO.....	44
I.2.2.2. TGP	44
I.2.3.1. Urée	44
I.2.3.2. Créatinine	44
I.2.4. Bilan lipidique	45
I.2.4.1. HDL.....	45
I.2.4.2. LDL	45
I.2.4.3. Triglycérides (TG).....	46
I.2.4.4. Cholestérol	46
I.2.5. les tests de stress oxydatif (GSH et MDA).....	46
I.2.5.1. Méthode de dosage du Malondialdhyde (MDA).....	46
I.2.5.1.1. Foie.....	47
I.2.5.1.2. Reins.....	47
I.2.5.1.3. Cerveau.....	47
I.2.5.1.4. MDA cellulaire (mixte).....	47
I.2.5.2. Méthode de dosage de glutathion réduit (GSH).....	47
I.2.5.2.1. foie.....	48
I.2.5.2.2. reins	48
I.2.5.2.3. cerveau	48

SOMMAIRE

I.2.5.2.4.GSH cellulaire (mixte)	50
I.3.Glycémie et poids	50
I.3.1.Étude de la croissance corporelle et le poids relatif des organes	50
I.3.1.1.Foie.....	50
I.3.1.2.Reins.....	51
I.3.1.3.Cerveau.....	51
I.3.2.Glycémie.....	51
I.3.2.1. Jour 1	53
I.3.2.2. Jour 3	53
I.3.2.3. Jour 6	53
I.3.2.4. Jour 9	53
I.3.2.5. Jour 12	53
I.3.2.6. Jour 15	53
I.4.Etude histologique :.....	54
II. Discussion:.....	56
CONCLUSION ET PERSPECTIVES	65
REFERENCE ET BIBLIOGRAPHIQUE	67
ANNEXES	75



INTRODUCTION

INTRODUCTION

Le diabète sucré est une maladie chronique endocrinienne, est devenu un problème de santé publique (**Haribabu et al.,2013**), des données récentes révèlent qu'il y'a environ plus de 150 millions de diabétiques dans le monde et que leur nombre pourrait doubler d'ici 2025 (**Tanko Et al.,2008**). C'est une maladie métabolique caractérisée par une hyperglycémie résultante d'un défaut de sécrétion, d'action de l'insuline, ou de ces deux anomalies associées (**Hajzadeh Et al., 2011**). L'hyperglycémie chronique chez les diabétique est associée à long terme a des dommages ; un dysfonctionnement et finalement l'incapacité des organes, en particulier les yeux, les reins, les nerfs et le système cardiovasculaire (**Hajzadeh Et al., 2011**).

En général, le diabète sucré se développe en réponse à une altération des cellules β des îlots du pancréas sécrétant de l'insuline. Cette altération peut provenir d'un diabète sucré essentiel pour lequel les cellules β des îlots sont détruites par le système auto-immunitaire ou en tant que réponse diabétique secondaire à d'autres maladies essentielles telle qu'une maladie pancréatique, à des excès d'hormones anti-insuline, à des états provoqués par des médicaments ou à des anomalies génétiques autres que celles associés au diabète essentiel. Dans chaque cas, les cellules β des îlots ne peuvent pas produire l'insuline en quantité suffisante pour transporter de manière adéquate le glucose sanguin du sang vers les tissus sensibles à l'insuline. (**Hajzadeh Et al., 2011**).

Le diabète sucré expérimental a été induit chez les animaux de laboratoire par plusieurs méthodes : chimique, chirurgicale ou génétique (immunologique). La plupart des expériences sur le diabète est effectuée chez les rongeurs, bien que certaines études sont encore effectuées sur les plus grands mammifères (**Etuk Et al., 2010**).

Deux agents sont couramment utilisés pour induire une pancréatectomie chimique, tous deux des analogues du glucose : l'alloxane (ALX), dérivé pyrimidique (synthétisé en 1938) et la streptozocine (STZ), agent antimicrobien et alkylant. Les propriétés chimiques de ces composés sont cruciales pour leur diabetogenecité. Tous deux sont hydrophiles et ne franchissent pas la membrane plasmique. Ils empruntent le transporteur du glucose GLUT2 de la membrane des cellules bêta du pancréas qui les transporte dans le cytosol. Ainsi, les cellules bêta n'exprimant pas ce transporteur sont résistantes à la STZ et à l'ALX (**Wattiez Et al., 2012**).

INTRODUCTION

Les effets cytotoxiques de l'ALX sont dus à son produit de réaction réduit, l'acide dialurique, et à la production d'espèces oxygénées réactives (EOR) (génération de radicaux superoxydes, peroxydes d'hydrogène et hydroxyles (Wattiez *Et al.*, 2012).

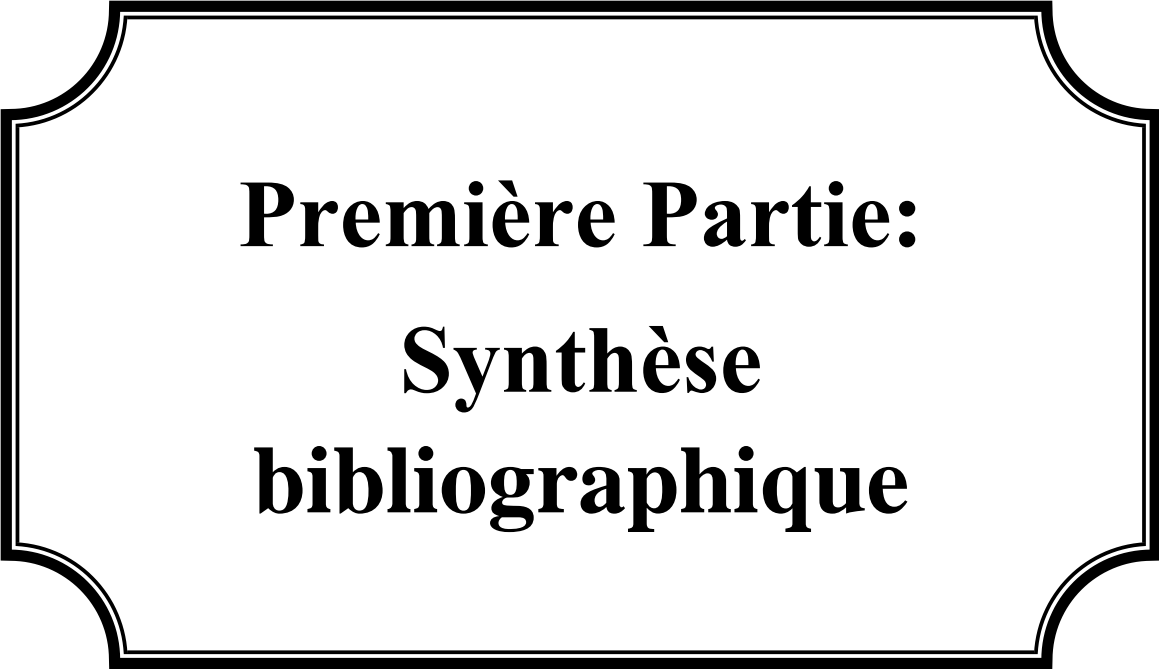
La médecine traditionnelle basée sur l'utilisation des plantes médicinales pour le traitement de nombreuses maladies, dont le diabète sucré, continue à être utilisée et au cours de ces dix dernières années sa popularité n'a fait qu'augmenter. Les pratiques de la médecine traditionnelle varient grandement d'un pays à l'autre et d'une région à l'autre (Singh *Et al.*, 2012).

L'Algérie, riche par sa biodiversité et son climat, est une plate-forme géographique très importante qui mérite d'être explorée dans le domaine de la recherche de molécules hypoglycémiantes et/ ou antioxydants originaires de plantes qui ont pour longtemps servi à une grande tranche de population comme moyen incontournable de médication.

Le présent travail consiste à effectuer l'extraction et l'identification des métabolites secondaires ainsi que l'activité hypoglycémiant et antioxydante d'une plante médicinale algérienne de la famille des *Laminaceae* appelée *Ajuga iva*.

Notre travail sera réparti en deux parties ; la première partie est consacrée à une synthèse bibliographique, dans laquelle le sujet de la plante d'*Ajuga iva* est évoqué avec la composition chimique et utilisations ethnobotaniques, suivi par la présentation de diabètes sucrés, leur types et mécanisme d'induction par l'alloxane.

Quant à la deuxième partie est expérimentale, elle est réservée à l'ensemble des matériels et méthodes utilisées pour l'évaluation de l'activité antidiabétique d'*Ajuga Iva* chez des rats rendus diabétiques par l'alloxane. Enfin la discussion des résultats obtenus suivi par une conclusion.



Première Partie:
Synthèse
bibliographique

CHAPITRE I:

Ajuga iva

I.1. Définition et description

I.1.1. Définition

Ajuga Iva (L.) Schreber. connu par leur nom commun de 'Chendgoura' ou 'shendghoura' dans plusieurs pays dans l'Europe et le nord d'Afrique et en particulière les régions d'Algérie et la Maroc est fait parti de la famille des LAMIACEAE, il est un espèce hermaphrodite (possède les organes mâles et femelles aux même temps) et de genre de *Ajuga*. c'est une petite plante herbacées avec une hauteur de 5 à 20 cm généralement utilisée comme un remède antidiabétique. (El Hilaly *Et al.*, 2004).



Figure 1: *Ajuga iva* subsp. *iva*, Monts Trara, Algérie Photo: Medjahdi

I.1.2. Description

Ajuga Iva est une plante vivace caractérisée par un goût amer et une odeur de musc. base ligneuse, tiges vertes rampantes, Fleurs jaunes, roses ou blanches. Feuilles linéaires ou longuement trifides, a une longueur de 20 mm, denses et couvertes de duvets. Pas d'épis florifères individualisés, la lèvre supérieure de la corolle est réduite ou absente et la lèvre inférieure est divisée en trois lobes velus, les petits lobes latéraux, un plus large (relativement) lobe centrale avec une base décoré par un axe central jaunâtre avec des spots de la même couleur de la fleur, violets en plupart, il existe quatre (4) étamines liées à quatre carpelles noirs à l'intérieur de la fleur. les graines sont caractérisées par une couleur marron. (Taleb-Senouci *Et al.*, 2009)

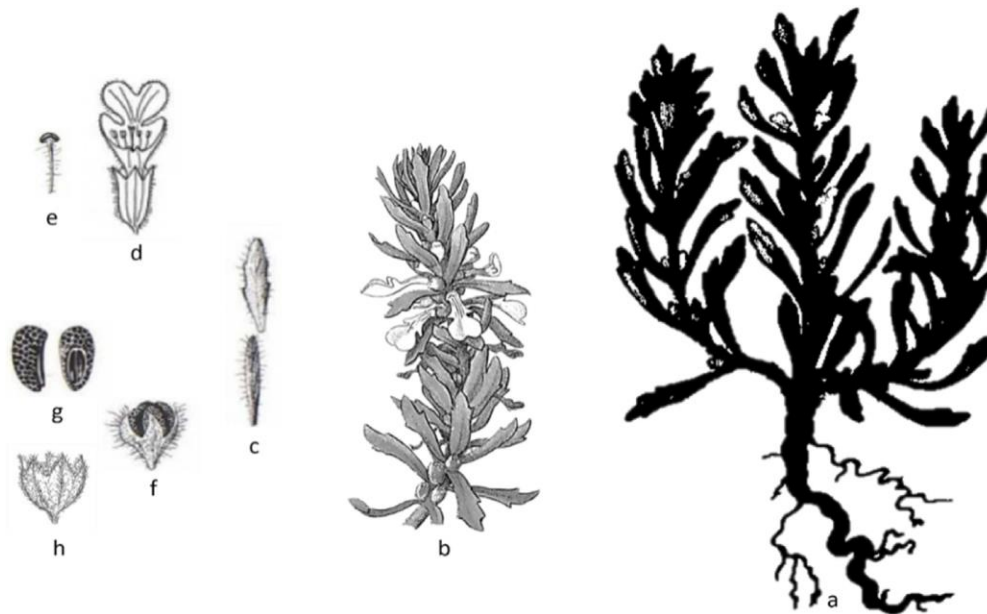


Figure 2: Anatomie de la plante d'*Ajuga Iva* : a) la plante d`*A.iva*. b) branche fleurie; c) Feuille ; d) Corolle; e) Stamen; f) Tetranucula fruit; g) Nucula; h) Fruiting calyx.

I.2 .Nomenclature de la plante

I.2.1. Nomenclature

Nom français: Bugle, Ivette

Nom vernaculaire: Chendgûra, Tûf tolba

2.2. Taxonomie

Ajuga Iva (L.) Schreb

Sous-règne : Viridiaeplantae

Classe : Equisetopsida

Sous-classe : Magnoliidae

Ordre : Lamiales

Sous-famille : Ajugoideae

Espèce : *Ajuga Iva* (L.) Schreb

- **Variété :** *Ajuga Iva* (L.) Schreb.

Règne : Plantae

Infra-Règne : Streptophyta

Clade : Tracheophyta

Superordre : Asteranae

Famille : Laminaceae

Genre : *Ajuga* L.

- **Variété :** *Ajuga Iva* var. *pseudoiva*

I.3. Distribution géographique

A. Iva se fait parti de la famille de Laminaceae, qui se contiens 266 genres compromissent approximativement de 301 espèces (**Israili et Lyoussi, 2009**). *Ajuga Iva* est une plante moyennement présente dans l'Afrique: dans le nord il s'existe en Algérie, Égypte, Libye, Maroc, Tunisie et la Sahara western. dans la Macaronésie il se repartir dans les îles Canaries, Cap-Vert et bois. En Europe: dans le sud-ouest A.iva existe dans les pays des Baléares, Corse, France, Portugal, Sardaigne et Espagne. dans le sud-est la plante se repartir dans la Grèce, Italie, Crète, Sicile et Yougoslavie. En Asie-tempérée en particulier la partie occidentale la plante est distribué en chypre, Îles de la mer Égée orientale, Palestine, Sinaï et dans la pays de turque. la plante est généralement suitable pour les sols: légères (sable), moyennes (sols limoneux) et lourde (argileux). elle est capable de persister dans une PH acide, neutre et alcalin(basique). A.iva peut être aussi capable de la croissance dans une milieu mi-ombre(bois Clair) ou pas d'ombre par tout. elle se préférer une sol humide. (**Baba Aissa, 2000**)

I.4.Phytochimie d'*Ajuga iva*

Ajuga Iva contient une grande quantité des composés phénoliques ; les flavonoïdes et les tannins (**El Hilaly Et al., 2004 ; Baghiani Et al., 2011**). Elle contient aussi les anthocyanes, les acides phénoliques et d'autres substances en particulier l'ajugarine (**Halimi, 2004**). Les études ont montres que l'ivette musquée contient les trois majeurs ecdystéroïdes (makisterone A, 20-hydroxyecdysone et cyasterone), en plus du 24,28-dehydromakisterone A et les deux nouveau phytoecdystéroïdes (22-oxocyasterone et 24,25-dehydroprecyasterone), Elle contient aussi le 2-deoxy-20-hydroxyecdysone, le polypodine B et le 14,15- dihydroajugapitine (**Wessner et al., 1992 ; Bondi et al., 2000**). **Ben Jannet Et al. (1999)** ont isolés les ivaïdes A, B et C d'*Ajuga Iva*. Les cicatrisants (externes), les diterpénoides (clérodane), les iridoïdes et saponosides acides sont aussi des composés chimiques que les chercheurs ont trouvés dans l'*Ajuga Iva*. **Bennaghmouch Et al. (2001)**, ont isolé à partir de l'espèce *Ajuga Iva* sept flavoniques aglycones (Quercetine, lutéoline, chrysoériol, 5,5'- dihydroxy 7,4'-diméthoxyflavone, 5,7- dihydroxy 4',5' diméthoxyflavone, apigénine, naringénine),

I.5. Les utilisations ethnobotaniques d`A.iva

A.iva est utilisée comme une plante médicinale depuis les temps anciens contre plusieurs maladies, la Survey ethnobotanique sur la plante d`A.iva (**Bouyahya, Et al. 2020**) indique que la plante possède une potentielle dans le domaine médicale pour traitement des désordres variées; elle possède une potentielle des propriétés notamment que la pouvoir carminative, stomatique, antidiabétique, antiallergique, anticancéreuse, anti hypertensive et effets protectives pour les maladies et désordres cardiovasculaires, métabolique, rénale, digestive et respiratoires (**Bellakhdar Et al., 1991.....; El Amrani Et al., 2010**)

En Algérie, elle est employée, après macération aqueuse de plusieurs jours ou en poudre, pour traiter le diabète et l`hypertension. Elle est aussi consommée en poudre sec ou avec du miel pour surmonter son goût amer, pour traiter les troubles gastro-intestinales et contre l`ulcère de l`estomac. L`infusion de 20 à 30g de Chendgoura dans un litre d`eau; 2 ou 3 tasses par jour est indiquée contre la fièvre, la diarrhée et les gaz. aussi en Algérie A.iva est utilisée pour la traitement des cas de l`hypertension(anti hypertensive), leishmanicide (anti leishmaniose) , contre les désordres digestives, eczéma et les maladies de la foie. (**Allali Et al., 2008; Boudjela Et al., 2013; Rabizadeh, 2019**). en plus les parties aériennes sont utilisées sous forme de décoction et tisane pour faciliter le dialyse rénale et comme une médicament antiseptique (**Madani Et al., 2014**).

en Tunisie, A.iva est reporté pour leur utilisation dans la traitement des cas des maladies respiratoires (**Leporatti et Ghedira, 2009**).

en Maroc, une Survey indique que la plante d`A.iva est utilisée pour la traitement des diabètes (**Ziyyat Et al. (1997)**). après deux années une autre Survey conduit par (**Jouad Et al., 2001**). révéler que les parties aériennes sont utilisées pour la traitement des diabètes, maladie cardiaques et rénales dans la région de Fez Boulemane(région dans le nord de Maroc). en 2007, une autre Survey aussi sur les utilisations ethno pharmacologique de la plante d`A.iva dans la région de sud-est de la Maroc(province d`Er-Rachidia) révéler que les parties aériennes d`A.iva sont aussi administrées comme une décoction pour traiter la diabète dans Chtouka Ait Baha et Tiznit(l`anti-Atlas western de Maroc) et la Sahara marocaine (**El Amrani Et al. (2010) ; Ghourri Et al., 2013; Benkhniqou Et al. (2014); et Orch Et al. (2015) Barkaoui Et al., 2017**).

en plus , , reportent que les parties aériennes d`A.iva sont utilisées pour la traitement de la diabète dans Meknes-Tafilalet, Al Haouz-Rhamna, et Izarene région (Maroc).

dans les autres pays d`Afrique (Kenya par exemple) A. Iva est utilisée pour la traitement des diabètes et désordres respiratoires (**Mohammed *Et al.*, 2014; Keter et Mutiso, 2012**)

En Italie , les feuilles de la plante sont utilisées pour l`infusion diurétiques et antispasmodiques (**Guarino *Et al.*, 2008**).

Les études de **Pascual et Robledo (1998; 1999)** ont montré que l`extrait aqueux de *Ajuga Iva* inhibe la croissance de la larve *Tribolium castaneum* (70-100% de mortalité).

Son effet insecticide est aussi étudié par **Simmonds et Blaney (1992)** contre *Spodoptera frugiperda* et *S. littoralis*.

L`ivette a une activité antibactérienne contre *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium* et *Pseudomonas aeruginosa* (**Ben Jannet *Et al.*, 1999**).

CHAPITRE II:

Diabète

II.1. Définition

Le diabète est un trouble de l'assimilation, de l'utilisation et du stockage des sucres apportés par l'alimentation. Cela se traduit par un taux de glucose dans le sang (aussi appelé glycémie) élevé : on parle d'hyperglycémie. Il est causé par un manque ou un défaut d'utilisation d'une hormone appelée insuline.

À noter : la glycémie normale est inférieure à 1,10g/l à jeun et inférieure à 1,40 g/l après un repas. Le diabète est défini par une glycémie à jeun supérieure à 1,26 g/l à deux reprises (Fousseiny *Et al.*,2009).

II.2. Rôle de l'insuline

L'insuline, fabriquée par le pancréas, est présente en permanence dans le sang. Son rôle est de maintenir la glycémie autour de 1 g/l lorsque les apports de sucre sont importants. Lorsque le taux de sucre s'élève, par exemple après un repas, le pancréas produit plus d'insuline pour ramener le taux de sucre dans le sang à un niveau normal.

Si l'insuline est en quantité insuffisante ou si elle est inefficace, le sucre s'accumule dans le sang et la glycémie augmente de façon excessive (hyperglycémie).

II.2.1. L'insuline chez la personne non-diabétique

Libérée par le pancréas, l'insuline permet l'absorption du glucose par les cellules. Pour ce faire, elle se lie à un récepteur spécifique de la cellule qui active une protéine de surface dont le rôle est le transport du glucose vers l'intérieur ;

Via ce transporteur activé, le glucose pénètre dans la cellule où il est converti en énergie ;

Le taux de glucose sanguin (glycémie) reste ainsi stable.

II.2.2. L'insuline chez la personne diabétique

L'insuline est produite en quantité insuffisante (diabète de type 1) ou ne peut se lier à son récepteur (diabète de type 2) laissant le transporteur inactif.

Le glucose ne pénètre pas dans la cellule et reste dans la circulation sanguine. Le taux de glucose n'est pas régulé.

II.3. Les différents types des diabètes

il existe plusieurs types des diabètes mais les plus dominant en terme de la répartition sont: diabètes de type 1, diabètes de type 2 et gestationnelle.

II.3.1. Diabète de type 1:

appelée Le diabète insulino-dépendant (DID), ce type de diabète est caractérisé par une incapacité de synthèse de l'hormone de l'insuline par le corps; cette incapacité est due a plusieurs raisons qui inclus mais pas limitées pour; les entérovirus (notamment que le Coxsackievirus B (CVB)), les nitrosamines (**Zahra, Parvin *Et al*, 2016**) et des causes immunitaires (maladies auto-immunes). dans le cas dernière (un des occurrences les plus communes), le système immunitaire s'attaque et détruit les cellules responsable a la synthèse d'insuline (cellules Beta de la pancréas).

la diabète de type 1 est généralement diagnostiqué chez les adultes jeunes et enfants mais capable d'une apparence dans virtuellement tous les âges.

les individus avec une diabète de type 1 (DID) besoin une dose d'insuline chaque jour pour assurez leur survivre.

II.3.2. Diabète de type 2

appelée Le diabète non insulino-dépendant (DNID), ce type de diabète est caractérisé par une mauvaise synthèse et/ou utilisation de l'insuline, elle est capable d'être développé dans tous les âges (inclus l'enfance). mais ce type de diabète est souvent manifeste dans les âges ures moyens (plus de 40 ans) et les plus vieille. ce type est le plus commun de tous les diabètes (**Amadou *Et al.*, 2006**).

II.3.3. Différences entre le diabète de type 1 et 2

Le diabète de type1, insulino dépendant (DID)	Le diabète de type 2, non insulino dépendant (DNID)
<p>-Aussi appelé diabète "maigre" car l'un des premiers symptômes est l'amaigrissement, ou diabète "juvénile" parce qu'il touche des sujets jeunes.</p> <p>-Il compte pour environ 10 % des cas et il est traité obligatoirement par l'insuline.</p> <p>-Il résulte de la disparition des cellules bêta du pancréas entraînant une carence totale en insuline.</p> <p>-Les symptômes sont généralement une soif intense, des urines abondantes, un amaigrissement rapide.</p> <p>-L'unique traitement est l'apport d'insuline : soit sous forme d'injections (avec une seringue ou un stylo), soit avec une pompe à insuline destinée à administrer l'insuline en continu.</p>	<p>-Aussi décrit sous le nom de diabète "gras" ou diabète de la maturité, puisqu'il survient souvent autour de la cinquantaine chez des personnes en surpoids.</p> <p>-Il compte pour environ 90 % des cas</p> <p>-Deux anomalies sont responsables de l'hyperglycémie : soit le pancréas fabrique toujours de l'insuline mais pas assez, par rapport à la glycémie : c'est l'insulinopénie ; soit cette insuline agit mal, c'est l'insulinorésistance.</p> <p>-Indolore, le développement peut passer longtemps inaperçu : on estime qu'il s'écoule en moyenne 5 à 10 ans entre l'apparition des premières hyperglycémies et le diagnostic.</p> <p>-Il est traité par régime, plus médicaments pris par voie orale si nécessaire, et éventuellement insuline, après quelques années d'évolution.</p>

II.3.4. Diabètes insipide

Contrairement aux diabètes de type 1 et 2 qui entraînent un taux de sucre sanguin trop élevé, le diabète insipide se caractérise par des urines trop importantes et une soif intense.

y compris la nuit. Les reins sont en effet incapables de retenir les urines, ce qui cause l'envie fréquente de faire pipi et de boire sans cesse pour compenser la perte. Il existe deux types de diabète insipides : le diabète insipide central (DIC), le plus fréquent, et le diabète insipide néphrogénique. Le diabète insipide central est provoqué par la carence en hormone antidiurétique (ADH ou vasopressine). Les causes de ce dysfonctionnement sont : Une hérédité, La grossesse, Un traumatisme crânien etc. (Balanescu et al., 2010).

Le diabète insipide néphrogénique est le plus souvent "idiopathique" c'est à dire à dire que l'on n'en connaît pas l'origine : elle peut être parfois héréditaire et familiale, isolée ou associée à d'autres dysfonctions du rein. Dans ces cas, l'ADH est bien présente dans le sang mais inefficace (Balanescu et al., 2010).

II.3.5. caractérisations de diabète insipide

- Une envie fréquente d'uriner. Les urines sont claires comme de l'eau.
- Un volume d'urine important : parfois près de 10 litres par jour.
- Une soif permanente et impérieuse.

Ces symptômes majeurs s'accompagnent également d'une perte de poids, de maux de tête et d'une fatigue généralisée (Balanescu *Et al.*, 2010).

II.3.6. Diabètes et l'alloxan

II.3.6.1. Alloxan

L'alloxan est un composé connu chimiquement par 5,5-dihydroxyl pyrimidine-2,4,6-trione. c'est un composé organique dérivée de l'urée, carcinogène et une analogue de glucose cytotoxique. le composé ayant la formule moléculaire de $C_4H_2N_2O_4$ et une masse moléculaire relative de 142,06.

L'alloxan est un des plusieurs composés chimiques diabetogeniques commun souvent utilisée pour l'assessment de la pouvoir potentielle antidiabétique des composés pure et l'extraits des plantes dans les études qui involve la diabète. les autres composés utilisés sont :

dithizone, mono sodium glutamate, thioglucose d`or, charge élevée de fructose, charge élevée de glucose avec sérum anti-insuline et le streptozotocine.

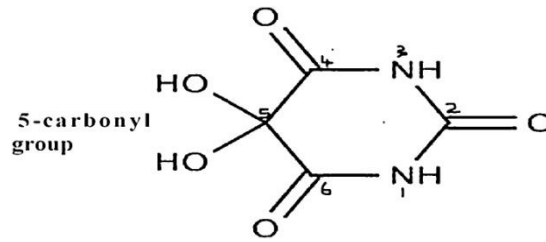


Figure 3: structure chimique de l`alloxan

II.3.6.2. Diabète induit par alloxan

La diabète induit par l`alloxan est une forme de diabète insulino-dépendante qui se manifeste lorsque l`administration de l`alloxan ou leur injection. elle est induit par succès chez plusieurs espèces animales ; rats, lapins, singes, chats et chiens. l`alloxan est introduit et administre par une seule ou plusieurs doses par des voies variées (intra péritonéale, intraveineuse et sous cutanée) apparemment une seule dose intra péritonéale est la plus fréquent employée. le dosage de la drogue est très variées dans les études, il est souvent estimée entre 90 et 200 mg/kg de poids corporelle, la dose de 150 mg/kg est la plus souvent utilisée, la voie d`administration, l`espèce animale et la cas nutritionnelle sont les grande effecteurs pour la détermination de la dose d`alloxan pour l`induction de diabète approprié.

Mais une dose singulier entre 170 et 200 mg/kg de la drogue par voie intra péritonéale révéler qu`elle est la plus effective (Osasenaga *Et al.*,2017).

II.3.6.3. Mécanisme d`induction de diabète par alloxan

L`alloxan est une composée chimique très instable, cette propriété permet l`alloxan pour facilement entrer une cycle réductionnelle. En présence des thiols intracellulaires surtout le glutathion (GSH) l`alloxan subit une réaction cyclique persistente continue qui résulte a la génération des espèces d`oxygène réactifs (ROS) comme l`anion radical superoxide ($O_2^{\cdot-}$) et les radicaux hydroxyle de ($\cdot OH$) via l`auto oxydation de leur produit de réduction l`acide dialurique.

La processus implique la réduction de l'alloxan vers l'acide dialurique et la ré-oxydation de l'acide dialurique pour former l'alloxan.

La ré-oxydation de l'alloxan vers l'acide dialurique causer la libération d'un radical qui en présence d'oxygène générer $O_2 \cdot^-$. ce dernier est usuellement dismuté vers une composée de pyrovide d'hydrogène relativement sans danger par le superoxide dismutase(SOD), une enzyme présente chez virtuellement tous les tissus. Le catalase, une autre enzyme antioxydant est nécessaire pour la prévention de l'accumulation de l' H_2O_2 et leur conversion conséquente vers le radicale hydroxyle par leur dégradation rapide pour former l'eau et oxygène moléculaire. mais l'activité de catalase est très faible dans le pancréas et par conséquent l' H_2O_2 s'accumule, menant a leur conversion vers le radicale hydroxyle réactif par le réaction de fenton (Fig.4).

Le radical de l'hydroxyle est apparemment le plus dangereux dans la cellule et considéré le coupable principale de la toxicité dans les cellules de beta et l'alloxan diabetogenecité.

Le dommage des cellules de beta de pancréas par les ROS est liée avec le fragmentation de l'ADN de ces cellules qui par conséquent mène a la stimulation de poly ADP-ribose polymérase 1, un enzyme qui joue une rôle essentielle dans la processus de réparation nucléaire d'ADN (Osasenaga *Et al.*,2017)

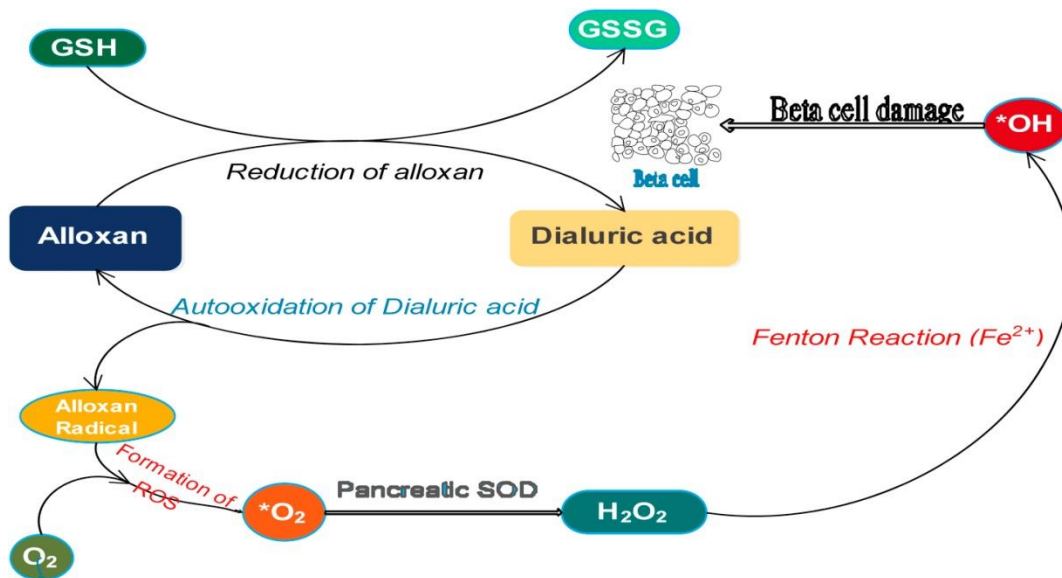
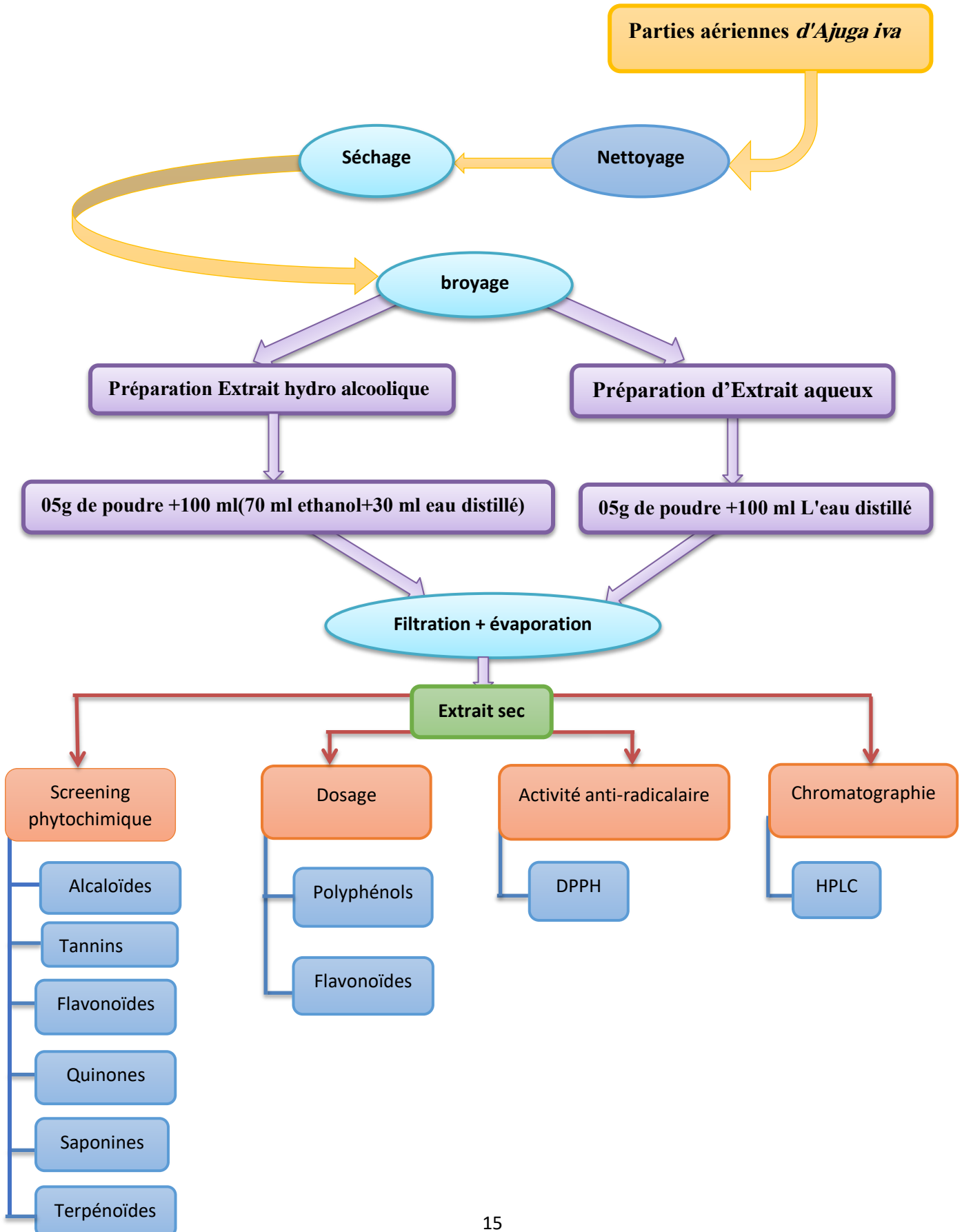


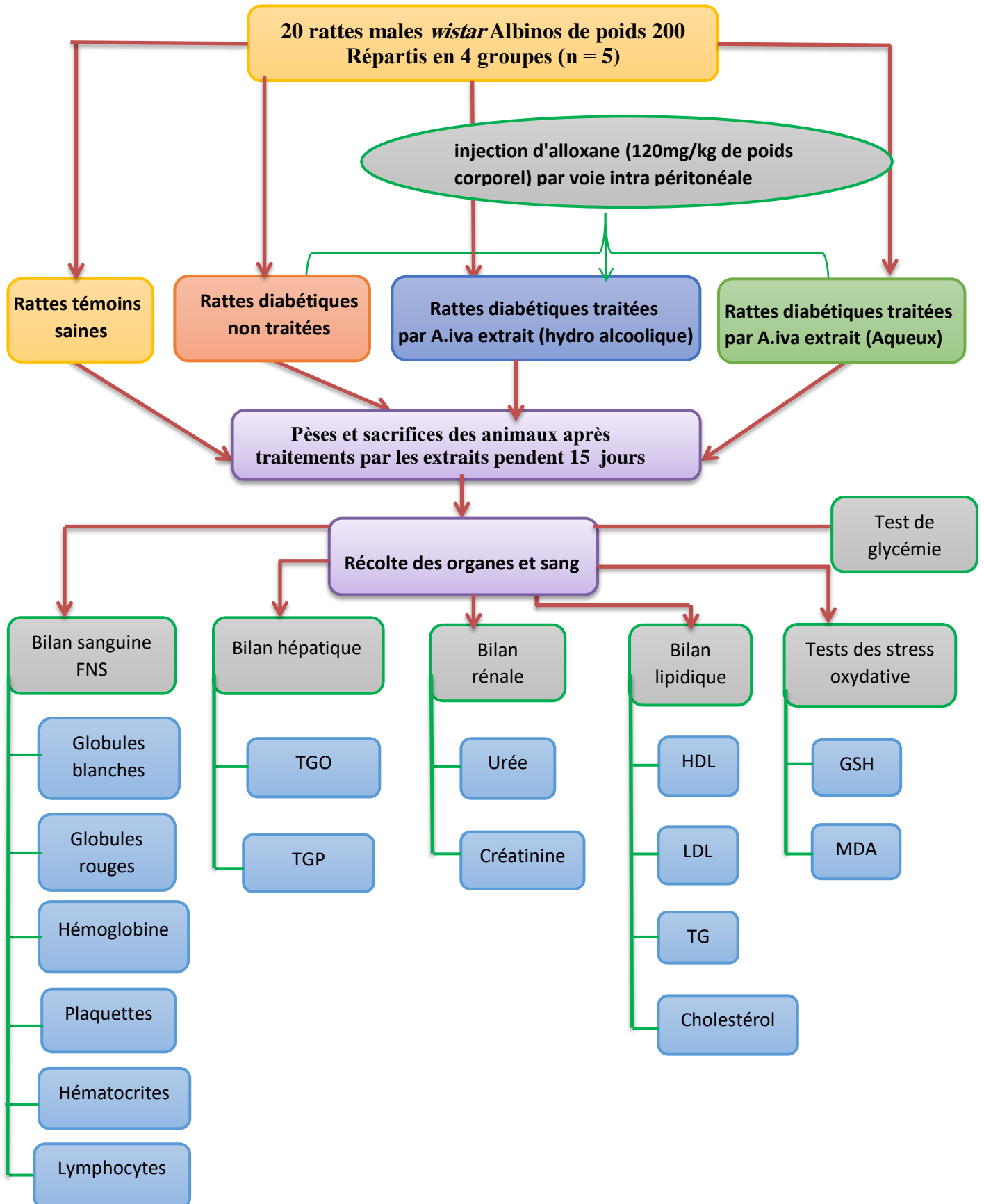
Figure 4: Mécanisme d'action de l'alloxan



Deuxième Partie :
Matériels et méthodes



Matériels et méthodes



Matériels et méthodes

I. Matérielles

L'objectif de cette étude d'évaluer l'activité antidiabétique de la plante d'*A.iva* chez les rats diabétiques de type 1 (induit par l'alloxan). cette étude expérimentale est effectuée dans le laboratoire de recherche << Valorisation et Technologie des Ressources Sahariennes >> VTRS, le laboratoire des analyses ibn Roched et la faculté des sciences de la nature et de vie , Université Echahid Hamma Lakhdar d'EL Oued.

I.1. Matérielles végétales

Récolte d'*Ajuga Iva* : La plante utilisée dans ce travail (figure 1) a été récoltée à la région de Sétif (nord-est d'Algérie)entre avril et mai 2020. Les feuilles sont nettoyées, puis mis à sécher à une température ambiante. Ensuite elles sont finement broyées.



Figure 5: La partie aérienne d'*A.iva*, séché et broyée (photo de laboratoire)

1.2. Matériels de laboratoire

Les matérielles de laboratoire utilisées dans cette étude sont des combinaison des verreries, autres matérielles de mesure , appareils des analyses et produits chimiques:

- Micropipettes réglables (100-1000uL, 5-50uL), tubes d'essai sèches, tubes coniques, Erlenmeyer, bécher, balance analytique, plaque chauffante/agitateur, balance portable, vortex, réfrigérateur, étuve, bain marie, évaporateur rotatif, mortiers-têts-terre, entonnoir

Matériels et méthodes

conique(verre),papier filtre, centrifugeuse, PH mètre, lames chirurgicales (G24), lames et lamelles, cristallisoirs, flacons, Eprouvettes graduées , fioles jaugées, Portoir pour tubes, verre de montre, spectrophotomètre, HPLC.

I.3. Matériels animales

Des rats wistar males vingt (n=20) , pesant entre 170 g et 240 g sont utilisées dans cette étude. Les animaux sont maintenu dans une animalerie dans des conditions standard environnementales (23±1 °C, 55±5% d'humidité et une cycle de lumière de 12 h jour/nuit) et sont soumis a un régime standard de laboratoire riche en protéines et lipides avec une accès *Ad libitum* (disponible tous le temps) d'eau potable et l'alimentation. les conseils d'utilisation et protection des animaux des laboratoires et leur réglementations sont suivis (**Council of european communities,1987**).

II. Méthodes

II.1. Etude phytochimique

II.1.1. Préparation de l'extrait aqueux d'A.iva

La partie aérienne d'*Ajuga iva* a été nettoyée puis finement broyées. 50g de la plante (poudre) sont solubilisés dans une solution aqueux de 1000 ml et soumis a une macération sous agitation magnétique pendant 24h au température ambiante. le macérât obtenu est séché avec le rotavapeur (Buchi R-200, Medellin, Colombia) .

II.1.2. Préparation de l'extrait hydro alcoolique d'Ajuga Iva

les parties aériennes d'*Ajuga Iva* ont été nettoyées puis finement broyées. 50g de la plante (poudre) sont solubilisés dans une solution hydro alcoolique de 1000 ml (éthanol+eau) à une concentration de 70% (700 ml éthanol + 300 ml eau distillé) et soumis a une macération sous agitation magnétique pendant 24h à la température ambiante. Le macérât obtenu est séché avec le rotavapor (Buchi R-200, Medellin, Colombia).

Calcul des rendements en extraits secs

Nous pouvons déterminer le rendement de la plante en extrait sec en calculant le rapport suivant :

Matériels et méthodes

$$R (\%) = P1/ P2 \times 100$$

P1: Poids de l'extrait après l'évaporation du solvant

P2: Poids de la matière végétale utilisée pour l'extraction (Falleh *Et al.*, 2008).

II.1.3. Méthode d'induction de diabète et de traitement antidiabétique par l'extrait

II.1.3.1. Méthode d'induction de diabète

Les rats de wistar males seins pesant entre 160g et 240 g sont utilisées pour cette étude, l'induction de diabète est fait à l'aide d'un produit chimique d'alloxan. Le choix d'alloxane est due à leur disponibilité et leur cout réduit en comparaison avec le streptozotocine. L'alloxane est le composé chimique le plus commun pour l'induction de diabète de type 1 selon le nombre des études conduit qui s'utilise cette agent toxique.

une dose unique est utilisée pour cette expérimentation avec une concentration de 150 mg/kg par voie intra péritonéale après l'anesthésie, une solution sucré de glucose avec une concentration de 20% est administré par voie orale dans l'eau potable pour trois jours après l'injection intra péritonéale d'alloxane pour éviter le choc hypoglycémique mortelle. Le taux de glucose sanguine est mesuré en utilisant l'appareil de glucomètre (one call extra). Les rats qui révèle une taux de glucose sanguine supérieure a 160 mg/dl sont considérées diabétiques.

II.1.3.2. Traitement antidiabétique par l'extrait

Après la période d'adaptation, les rats (n=20) sont divisées en quatre groupes de 5 rats chacun ; groupe (A) : rats témoins sains recevant l'eau de robinet. Groupe (B) : rats témoins diabétiques recevant l'eau de robinet. Groupe (C) : rats diabétiques traités par l'extrait aqueux d'*Ajuga iva* 10 mg/kg/j. Groupe (D) : rats diabétiques traités par l'extrait hydro alcoolique d'*Ajuga iva* 10 mg/kg/j la période de traitement a duré 15 jours.

II.1.4. Tests phytochimiques (screening phytochimiques)

Techniques qui permettent de déterminer les différents groupes chimiques contenus dans un organe végétal. Ce sont des réactions physicochimiques qui permettent d'identifier la présence des substances chimiques. Les groupes phytochimiques sont nombreux, y compris les flavonoïdes, les anthocyanes, les tannins, les coumarines, les alcaloïdes, les saponosides, les stéroïdes, les stérols, les terpènes...etc. L'interprétation des résultats des criblages s'est faite

Matériels et méthodes

selon les qualificatifs suivants : Présence notable +++, Présence modérée ++, Traces +, Absence -

L'extrait hydro éthanolique obtenu a été soumis à divers tests phytochimiques en vue de mettre en évidence les différents métabolites secondaires présents dans la partie aérienne de la plante par des réactions de coloration, de précipitation et des observations sous lumière ultra-violette.

L'extrait d'A.iva serviront à la caractérisation des réactions de criblage chimique suivantes, Ces tests ont été menés selon les techniques de caractérisation qualitatives suivants sont:

II.1.4.1. Alcaloïdes

Dans deux tubes à essai, introduire 0,5 ml de l'extrait . Acidifier le milieu par quelques gouttes de HCl (1%) et ajouter 0,5 ml de réactif de Mayer dans le premier tube et 0,5ml de réactif de Wagner dans le second tube. L'apparition d'un précipité blanc ou brun, respectivement, révèle la présence d'alcaloïdes. (Trease et Evans, (1989) Harborne (1998)).

II.1.4.2. Tannins

Dans un tube à essai, introduire 1 ml d'extrait et ajouter 0,25 ml d'une solution aqueuse de FeCl₃ (1%), le mélange est incubé pendant 15 min à température ambiante. les tanins sont indiquées par une coloration verdâtre ou bleu-noirâtre.(Trease et Evans, (1989) Harborne (1998)).

II.1.4.3. Flavonoïdes

Dans un tube à essai, introduire 1 ml d'extrait et ajouter 1 ml de HCl concentré et quelques copeaux de magnésium. L'apparition d'une coloration rose ou rouge ou jaune prouve la présence des flavonoïdes.(Trease et Evans, (1989) Harborne (1998)).

II.1.4.4. Quinones

Dans un tube à essai, introduire 1 ml d'extrait et ajouter 0,1 ml d'hydroxyde de sodium (NaOH à 1%). L'apparition d'une couleur qui vire au jaune, rouge ou violet indique la présence des quinones libres.

Matériels et méthodes

II.1.4.5. Saponines: test de mousse

Dans un tube à essai, introduire 10 ml de l'extrait, agiter pendant 15 secondes et laisser le mélange au repos pendant 15 min. Une hauteur supérieure à 1 cm de mousse indique la présence de saponines. (Trease et Evans, (1989) Harborne (1998)).

II.1.4.6. Terpénoïdes : Test de Slakowski

Dans un tube à essai, introduire 1 ml de l'extrait, ajouter 0,4 ml de chloroforme et 0,6 ml d'acide sulfurique concentré. La formation de deux phases et une couleur marron à l'interphase indique la présence des terpénoïdes. (Trease et Evans, (1989) Harborne (1998)).

II.1.4.7. Composés réducteurs

Dans un tube à essai, ajouter 1 ml de liqueur de Fehling (0,5 ml réactif A et 0,5 ml réactif B) à 1 ml d'extrait et incuber l'ensemble 08 min dans un bain marie bouillant. L'apparition d'un précipité rouge brique indique la présence des composés réducteurs. (Trease et Evans, (1989) Harborne (1998)).

II.1.5. Dosage des polyphénols

II.1.5.1. Préparation des extraits

Les extraits hydro éthanoïques obtenus par macération sont évaporés dans une étuve à 37 °C.

Le réactif utilisé est le Folin-Ciocalteu, qui est un mélange de complexes d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$) de couleur jaune. Le principe de la méthode est basé sur l'oxydation des composés phénoliques par ce réactif. Elle entraîne la formation d'un nouveau complexe molybdène-tungstène de couleur bleu qui absorbe à 765 nm.

Le dosage des poly phénols totaux a été effectué selon une méthode colorimétrique décrite par Nickvar *Et al.* (2008) :

50 μ l de l'échantillon ou l'une des concentrations de la gamme de l'étalon (0 à 400 μ g/ml d'acide gallique) sont mélangés à 1ml du réactif Folin-Ciocalteu (0,2 N) et incubés à température ambiante. Après 10 min, 0,8 ml de solution de carbonate de sodium (Na_2CO_3) (75%) sont ajoutés. La solution finale est bien mélangée et gardée à l'obscurité pendant 30 min, l'absorbance

Matériels et méthodes

est lue à 765 nm (Tableau). La teneur en composés phénoliques est déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue avec l'acide gallique.

Les résultats sont exprimés en microgramme équivalent acide gallique par milligramme de matière sèche de l'extrait obtenu ($\mu\text{g EAG/mg MS}$).

Tableau 1: Méthode de dosage des poly phénols totaux

	Gamme de l'étalon (acide gallique $\mu\text{g / ml}$)							Extraits (1mg/ml)
	0	50	100	200	300	350	400	Macération
Acide gallique (μl)		50	50	50	50	50	50	
Eau distillée (μl)	50	-	-	-	-	-	-	
Extraits (μl)	-	-	-	-	-	-	-	50
Folin - Ciocalteu 0,2 N (μl)	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000
1^{ère} incubation pendant 10 min à température ambiante								
Na_2CO_3 (75%) (μl)	800	800	800	800	800	800	800	800
2^{ème} incubation à l'obscurité pendant 30 min								
Mesure de l'absorbance à 765 nm								

Les réactifs utilisés sont les solutions incolores de nitrite de sodium (NaNO_2) et de chlorure d'aluminium (AlCl_3). Le principe de la méthode est basé sur l'oxydation des flavonoïdes par ces réactifs. Elle entraîne la formation d'un complexe rose qui absorbe à 510 nm.

Le dosage des flavonoïdes a été effectué selon une méthode colorimétrique décrite par **Zhishen *Et al.*, (1999)** :

250 μl de l'échantillon ou l'une des concentrations de la gamme de l'étalon (20 à 260 $\mu\text{g/ml}$ de catéchine) sont mélangés avec 1 ml d'eau distillée, puis 75 μl d'une solution NaNO_2 (15%) sont

Matériels et méthodes

ajoutés. Après 6 min d'incubation à température ambiante, 75 µl de chlorure d'aluminium AlCl₃ (10%) sont ajoutés. Après 6 min de repos à température ambiante 1 ml d'hydroxyde de sodium NaOH (4%) est apporté au mélange. Le volume total est complété à 2,5 ml d'eau distillée.

La solution finale est bien mélangée et gardée à l'obscurité pendant 30 min, l'absorbance est lue à 510 nm (Tableau). La teneur en flavonoïdes est déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue avec la catéchine.

Les résultats obtenus sont exprimés en microgramme équivalent catéchine par milligramme de la matière sèche de l'extrait obtenu (µg EC /mg MS).

Tableau 2: Méthode de dosage des flavonoïdes.

	Gamme de l'étalon (catéchine µg / ml)						Extraits (1mg/ml)
	0	20	60	100	220	260	Macération
Catéchine (µl)	-	250	250	250	250	250	-
Extrait (µl)	-	-	-	-	-	-	250
Eau distillé (µl)	1250	1000	1000	1000	1000	1000	1000
NaNO₂ (15%) (µl)	75	75	75	75	75	75	75
1^{ère} incubation pendant 6 min à température ambiante							
AlCl₃ (10%) (µl)	75	75	75	75	75	75	75
2^{ème} incubation pendant 6 min à température ambiante							
NaOH (4%) (µl)	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000
Eau distillée (µl)	100	100	100	100	100	100	100
3^{ème} Incubation à l'obscurité pendant 30 min							
Mesure de l'absorbance à 510 nm							

Matériels et méthodes

II.1.6. Séparation par la chromatographie liquide a haute performance (HPLC)

La mesure de quelques composées phénoliques a été réalisée par la méthode de la chromatographie liquide à haute performance (HPLC) selon les conditions standard expliquées dans le tableau. Le dosage et la séparation ont été montrées à l'aide des courbes standards obtenue par l'amélioration des conditions expérimentales.

Tableau 3: les conditions expérimentales pour l'appareil d'HPLC pour la séparation des composées phénoliques

Facteurs	Conditions
Système	RP-HPLC (HPLC inverse)
Colonne	(25 cm x 46 nm) C18
Volume d'injecteur	20µl
Débit	1ml/min
Longueur d'onde	$\lambda = 268 \text{ nm}$
Temps	50 min
Température	25 C °
Phase mobile	- (A) acetonitrile - (B) (acide acétique 0.2%) H2O

Le tableau 4 indique les pourcentages des variations des deux phases mobiles (A) et (B) par rapport le temps.

Tableau 4: pourcentages des variations des phases mobiles (A) et (B) en fonction de temps

Temps	Pourcentage de (A)	Pourcentage de (B)
0.01	10	90
0.02	10	90
6.00	14	86
16.00	17	83
23.00	19	81
28.00	23	77
30.00	10	90
50.00	10	90

Le tableau 5 indique la base des données associées avec le colonne pour les différentes temps des rétentions chez des composées phénoliques identifiable et spécifique par cette méthode de séparation d'HPLC. L'identification est fait par la comparaison des temps des

Matériels et méthodes

retentions de la base de données avec les composées séparées par l'HPLC sous une gamme de \pm 0.1 min.

Tableau 5: la base des données pour les acides phénoliques identifiable par l'HPLC

Composée	Tr (temps de rétention)
Acide gallique	5.29
Acide chlorogénique	13.392
Acide vanilique	15.531
Acide caféique	16.277
Vanilline	21.46
Acide p-coumarique	23.817
Rutine	28.37
Naringine	37.788
Quercétine	45.047

II.1.7. Activité anti radicalaire

II.1.7.1. Test de piégeage du radical libre DPPH' (2,2 diphényle-1- Picrylhydrazyl)

Le DPPH' est généralement le substrat le plus utilisé avec le FRAP pour l'évaluation rapide et directe de l'activité antioxydant en raison de sa stabilité en forme radical libre et sa simplicité de l'analyse, au contact d'une substance donneuse de proton le DPPH'(2,2 diphényle-1- Picrylhydrazyl) de couleur violette se réduit en 2,2 diphényle-1-Picrylhydrazine de couleur jaune (Figure). Cette décoloration met en évidence le pouvoir antioxydant d'un échantillon par sa capacité à piéger le radical libre et se traduit par une diminution de l'absorbance à 517 nm (Parejo *Et al.*, 2003 ; Maataoui *Et al.*, 2006)

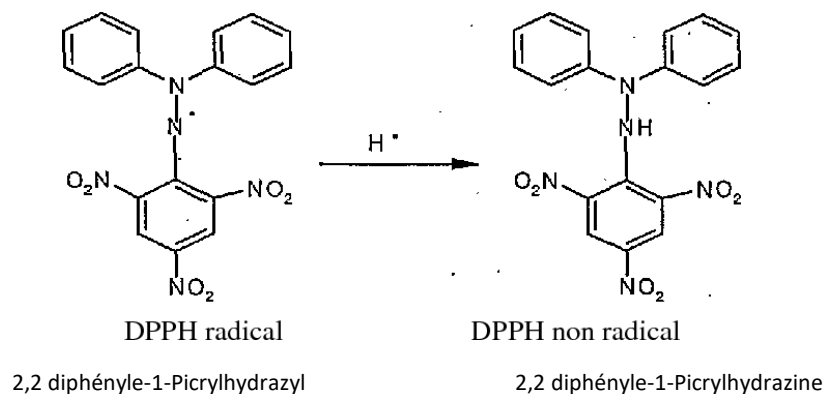


Figure 6: Forme libre et réduit de DPPH .

Matériels et méthodes

l'effet de chaque extrait sur le DPPH' est mesuré par la procédure décrite par **Benhammou *Et al.*, (2007)** :

Un volume de 50 µl de différentes concentrations de chaque extrait est ajouté à 1,95 ml de la solution méthanolique du DPPH (0,025g/l) fraîchement préparée. Le contrôle négatif, est préparé en parallèle en mélangeant 50 µl du méthanol avec 1,95 ml d'une solution méthanolique de DPPH. Après incubation à l'obscurité pendant 30 min et à température ambiante la lecture des absorbances est effectuée à 515 nm à l'aide d'un spectrophotomètre, contre un blanc pour chaque concentration qui contient 50 µl de l'extrait et 1,95 ml du méthanol. L'antioxydant de référence utilisé est l'acide ascorbique (2 à 10 µg/ml)

Les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition (%), calculés suite à la diminution de l'intensité de la coloration du mélange, selon la formule :

$$\text{PI (\%)} = (\text{A témoin} - \text{A extrait} / \text{A témoin}) \times 100$$

indices:

PI(%): pourcentage d'inhibition.

A témoin: absorbance du témoin négatif.

A extrait: absorbance de l'extrait

Pour mieux caractériser le pouvoir antioxydant, nous avons introduit les valeurs des deux paramètres :

II.1.7.2. Calcul des IC₅₀

IC₅₀ (aussi appelée EC₅₀ pour Efficient concentration 50), permet de déterminer la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50% du radical DPPH, une faible valeur de IC₅₀ correspondant à une grande efficacité de l'extrait. Elle est calculée graphiquement à partir des graphes tracés « pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations » de nos extraits en utilisant le logiciel de Microsoft Excel (**Bertoncelj *Et al.*, 2007 ; Marxen *Et al.*, 2007 ; Scherer et Godoy, 2009 ; Fabri *Et al.*, 2009**).

II-1-7-3-calcul du pouvoir anti radicalaire

Les résultats peuvent être aussi exprimés en pouvoir anti radicalaire (PAR) déterminés par le calcul de l'inverse des IC₅₀ qui est inversement proportionnelle à la concentration (**Maisuthisakul *Et al.*, 2007**).

$$PAR = 1/IC_{50}$$

Indices:

PAR : Puissance anti radicalaire

IC₅₀ : Concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50% du radical DPPH.

II.2. Analyses biochimiques

II.2.1. Analyse de formule numérique sanguine (FNS)

La NFS (ou FNS) est utilisée comme test général de dépistage pour rechercher des troubles tels que l'anémie, l'infection, ou de nombreuses autres maladies (problème de coagulation ou consommation des plaquettes). Il s'agit en fait d'un ensemble de tests qui analyse les différentes composantes du sang et comprend les éléments suivants:

La numération des globules blancs (GB); ou leucocytes permet de compter le nombre de globules blancs par volume de sang. L'augmentation ou la diminution de ce paramètre peuvent être interprétées, La formule sanguine (FS) analyse les différents types de GB présents dans le

sang. Il y a cinq différents types de globules blancs, chacun ayant sa propre fonction, dont le rôle est de protéger contre l'infection. Les différents types de globules blancs rencontrés chez un sujet sont les suivants: polynucléaires neutrophiles (également connu sous le nom de PN ou neutros), lymphocytes, monocytes, éosinophiles, et basophiles.

La numération des globules rouges (GR): c'est la détermination du nombre réel de globules rouges par volume de sang. L'augmentation et la diminution de ce paramètre peuvent signaler des conditions anormales. La mesure de l'hémoglobine détermine la quantité de protéines de transport d'oxygène dans le sang. L'hématocrite mesure le volume occupé par les globules rouges dans le sang. Il est rendu en pourcentage (0 à 100) ou en proportion (0 à 1).

La numération plaquettaire détermine le nombre de plaquettes dans un volume donné de sang. L'augmentation et la diminution de ce paramètre peuvent signaler des conditions anormales avec excès de saignement ou de coagulation.

Le volume moyen plaquettaire (VMP) est un paramètre calculé reflétant le volume moyen des plaquettes. Le volume globulaire moyen (VGM) est une mesure du volume moyen des

Matériels et méthodes

globules rouges. La teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine (TCMH) est un calcul de la quantité d'hémoglobine dans les globules rouges.

II.2.2. Bilan hépatique

Les examens de la fonction hépatique plus connus sous le terme de « bilan hépatique » sont utilisés pour mettre en évidence les atteintes ou maladies hépatiques. C'est la combinaison de plusieurs paramètres (jusqu'à 5) mesurés sur un même échantillon de sang.

II.2.2.1. Alanine Aminotransférase (ALAT)

Est une enzyme cytosolique caractéristique du foie. Sa libération dans le milieu extracellulaire est donc le signe d'une atteinte hépatique, plus précoce et plus spécifique que la TGO. La libération de TGP se rencontre principalement dans les affections hépatobiliaires mais aussi dans les maladies cardiaques et les atteintes musculaires. Bien que riche en TGP, le tissu rénal ne libère que rarement cet enzyme au cours d'une lésion.

II.2.2.2. Aspartate Aminotransférase (ASAT)

Est une enzyme glycoprotéique présente dans le cytoplasme et les mitochondries. Son élévation est le reflet d'une lésion cellulaire et se rencontre dans les maladies cardiaques, les affections hépatobiliaires et les atteintes musculaires. Bien que riche en TGO, le tissu rénal ne libère que rarement cet enzyme au cours d'une lésion. La rupture des globules rouges (hémolyse) libère de la TGO dans le plasma.

Ces examens sont demandés quand il y a des signes possibles d'atteinte hépatique. Ce sont l'ictère (jaunisse), des urines foncées et des selles peu colorées ou décolorées; des nausées, vomissements et diarrhées; la perte d'appétit; des vomissements de sang, des selles sanglantes, des douleurs abdominales; un amaigrissement; de la fatigue.

II.2.3. Bilan lipidique

Un bilan lipidique comprend plusieurs examens de biologie qui sont souvent réalisés ensemble pour déterminer le risque de maladie cardio-vasculaire. Les tests concernés sont de bons indicateurs pour savoir si quelqu'un est susceptible d'avoir une maladie cardiaque ou de faire un accident cardiaque causé par un blocage des vaisseaux sanguins (durcissement des artères).

Matériels et méthodes

II.2.3.1. Triglycérides (TG)

Les triglycérides font partie comme le cholestérol des composés lipidiques ou graisses de l'organisme. Ils constituent la principale réserve énergétique de l'organisme et sont donc bénéfiques pour rester en forme, à condition que les taux dans le sang soient dans la normale. Quand les taux de triglycérides sont élevés, le risque cardiovasculaire augmente.

II.2.3.2. Lipoprotéines à haute densité (HDL)

Le cholestérol HDL est composé de lipoprotéines qui transportent le cholestérol des artères vers le foie où il est détruit. Il est connu comme "le bon cholestérol" car il permet d'éviter l'accumulation de cholestérol dans les vaisseaux sanguins, un facteur de risque cardiovasculaire.

II.2.3.3. Lipoprotéines a basse densité (LDL)

Le LDL (Low Density Lipoprotein, ou lipoprotéines de faible densité) est connu comme le "mauvais cholestérol" car il correspond à l'excès de cholestérol qui se dépose sur les parois des vaisseaux sanguins pour former des plaques d'athérome constituant ainsi un facteur de risque cardiovasculaire.

II.2.3.4. Cholestérol

Le cholestérol est un corps gras fabriqué par notre organisme et qui se trouve également dans l'alimentation. C'est un élément indispensable à la synthèse de nombreuses hormones, mais aussi à la structure de la membrane qui entoure les cellules. L'excès de cholestérol n'est pas une maladie en soi mais un facteur de risque pour d'autres maladies du cœur et des vaisseaux.

II.2.4. Bilan rénale

Des simples analyses de laboratoire permettent de vérifier la capacité d'élimination et d'épuration des reins et de détecter ainsi d'éventuels dommages à un stade précoce, pour prévenir le risque d'une plus grande dégradation.

II.2.4.1. Dosage de la créatinine dans le sang

La créatinine est un déchet provenant de la dégradation de la créatine, après qu'elle ait été utilisée par les muscles pour produire de l'énergie. Elle est transportée par le sang, filtrée par les reins et éliminée dans les urines. Le taux de créatinine dépend de la masse musculaire, ce qui explique des valeurs de références différentes pour les femmes et les hommes.

Matériels et méthodes

II.2.4.2. Dosage de l'urée dans le sang

L'urée provient du processus de dégradation des protéines. C'est une combinaison de l'azote des protéines et de molécules produites par le foie. Le dosage de l'urée seule dans le sang ne suffit pas à établir un diagnostic car la quantité d'urée produite chaque jour varie en fonction de l'alimentation (2). Elle est donc toujours associée à d'autres analyses.

II.2.5. Tests de stress oxydatif

les test de stress oxydatif (MDA et GSH) sont performées sur les organes récoltées des rats après la sacrifice, les organes récoltées sont les reins, foie et le cerveau. chaque organe est homogéné en 4.5 ml de solution tampon (PH=7.4 et PH=8.9 pour GSH et MDA respectivement) par prélèvement un 0.5 g de chaque organe. une teste finale est performée après la mélange des 3 homogénats (foie, rein et cerveau) pour la test de stress oxydatif cellulaire.

II.2.5.1. Méthode de dosage du Malondialdhyde (MDA)

II.2.5.1.1. Principe

Le principe de ce dosage est basé sur la condensation de MDA en milieu acide et à chaud avec l'acide thiobarbiturique. La réaction entraîne la formation d'un complexe de couleur rose entre deux molécules d'acide thiobarbiturique qui peut être donc mesuré par spectrophotométrie d'absorption à 532nm (Yagi., 1976).

II.2.5.1.2. Réactif

375mg de TBA, 20g de TCA, 0.01g de BHT, 25 ml de HCL 1 N et 50 ml d'eau distillée ont été introduit dans un bécher. La solution obtenue a été chauffée à 40°C dans un bain Marie jusqu' à dissolution complète du TBA, puis transférée dans une fiole de 100ml et le volume complété à l'eau distillé jusqu'au de jauge.

II.2.5.1.3. Mode opératoire

Pipeter dans les tubes à essai en verre et à vis, 200µl d'échantillon, 800 µl de réactif TBA et fermer hermétiquement. Chauffer le mélange au bain Marie à 100°C pendant 15 minutes. Puis refroidir dans un bain d'eau froide pendant 30 minutes en laissant les tubes ouverts pour permettre l'évacuation des gaz formes lors de la réaction. Centrifuger à 3000 tours/minutes pendant 5 minutes et lire l'absorbance du surnageant à 532 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

Matériels et méthodes

II.2.5.1.4. Expression des résultats

La concentration de TBARS a été déterminée en utilisant le coefficient d'extinction moléculaire du MDA ($\epsilon = 1,53 \cdot 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$). Les résultats ont été exprimés en $\mu\text{mol}/1. \text{MDA}$ ($\mu\text{mol}/\text{mg de prot}$) = $(\text{Do échantillon}/1.53 \times 10^5) / \text{mg de prot}$.

II.2.5.2. Méthode de dosage de glutathion réduit (GSH)

II.2.5.2.1. Principe

Le complexe formé entre le GSH et l'acide 5,5'dithiodis-2-nitrobenzoïque (DTNB), ce qui libère l'acide thionitrobenzoïque (TNB) lequel présente une absorbance à 412nm (**Weckbercker et Cory., 1988**).

II.2.5.2.2. Mode opératoire

A 800 μL d'homogénat sont ajoutés 200 μL de l'acide salicylique (0.25 %). Mélanger avec l'agitateur et laisser 15 minutes dans le réfrigérateur puis centrifuger à 1000 t/min pendant 5 minutes. 500 μL de surnageant sont ensuite mélangés avec 1000 μL de tampon tris (tris 0.4mol, NaCl 0.02mol, PH=8.9) et 25 μL de DTNB (0.01 mol. L^{-1}). Après 5min d'incubation, la lecture de l'absorbance s'effectue $\lambda=412 \text{ nm}$.

II.2.5.2.3. Expression des résultats

On calcule la concentration du GSH exprimée en nano moles par milligramme de protéines (n-mol/mg prot) selon la formule suivante :

$$GSH(nM/Mg \text{ de prot}) = \frac{DO \times 1 \times 1.525}{13133 \times 0.8 \times 0.5 \times mg \text{ de prot}} \times d$$

II.2.6. Poids

Le poids est un paramètre de mesure de la masse totale et ou corporelle qui permet de préciser la dose d'un principe actif et/ou la détermination des changements de la masse surtout dans les cas de diabète ou des expérimentations sur les changements de la profile lipidique. Le poids des rats est mesuré en utilisant une balance.

Matériels et méthodes

II.2.7. Glycémie

Le sang a été prélevé de la queue du rat avant l'administration d'extraits pour la détermination du taux de glucose sanguin en utilisant un glucomètre one call extra. Les résultats ont été exprimés en termes de milligramme par décilitre de sang.

II.2.8. Etude histologique

pour les études histopathologiques, les rats sont anesthésiés avec une dose injectée par voie intramusculaire de ketamine hydrochloride (100 mg/kg) + Xylazine (11 mg/kg) (Sigma-Aldrich; Merck KGaA), et le tissu pancréatique est placé dans 10% de formaldéhyde pour fixation pour 3h en température ambiante et embarqué en paraffine, des sections tissulaire d'une épaisseur de 5 μ m sont préparées et colorées par hématoxyline + Eosine pour 5 min à température ambiante aussi. les images ont été capturées en utilisant un microscope optique avec une magnification de x40 et les analyses sont conduites par le package de R CR Image et analysées par un pathologiste.

II.2.9. Analyses statistiques

Les calculs statistiques sont souvent utiles aux biologistes pour la détermination des valeurs normales ou plus exactement des valeurs de référence. Comme pour l'évaluation de précision et l'exactitude d'analyse.

Les résultats sont présentés sous forme de moyenne et écart-types (ES). La comparaison des moyennes est réalisée par le test « t » de Student pour les deux lots de rats étudiés (témoins et expérimentaux). Cette analyse est réalisée grâce au logiciel *STATISTICA MINITAB* (version 2019) et *MICROSOFT EXCEL* (version 2010) .

La valeur de « t » nous donne le degré de signification « p » lu sur la table de Student (**Schwartz, 1992**), la différence entre deux moyennes est :

Les différences sont considérées:

* : significatives à $p < 0.05$.

** : hautement significatives à $p < 0.01$.

*** : très hautement significative à $P < 0.001$.

NS : Différence non significative à $P > 0.05$.



Troisième Partie :
Résultats et discussion

Résultats et discussion

I. Résultats

I.1. Screening phytochimiques

Les résultats obtenus sont rapportés dans le tableau suivant :

Tableau 6: Screening phytochimiques de l'extrait d'A. Iva.

Tests phytochimiques		Les résultats	
Métabolites secondaires	Réactifs	Macération (Aqueux)	Macération (hydro-alcoolique)
Alcaloïdes	Mayer	-	+
	Wagner	-	++
Tanins	FeCl ₃ 1%	+++	+++
Flavonoïdes	Hcl + Mg ²⁺	++	+++
Quinones	NaOH	+	+
Composés réducteurs	Liqueur de Fehling	++	++
Terpénoïdes	Test de Slakowski	+	+++
Saponines	Test de mousse	+	-

Présence notable +++ , Présence modérée ++ , Traces + , Absence -

Les tests phytochimiques réalisés sur les deux extraits de la partie aérienne d'*A. Iva*. nous ont permis de mettre en évidence la présence de différentes métabolites secondaires.

Les résultats obtenus ont révélé la présence des flavonoïdes, des terpénoïdes dans les extraits obtenus par macération, ainsi que les tanins, les quinones libres et les composés réducteurs.

Par contre les saponines sont absentes dans la préparation hydroéthanolique. La préparation aqueuse a révélé quelque différences en composition chimique notamment l'existence des saponines et l'absence des alcaloïdes.

Résultats et discussion

I.2. Dosage des poly phénols totaux et flavonoïdes

Les résultats obtenus pour le dosage des poly phénols et flavonoïdes totaux sont exprimés en μg équivalent acide gallique par milligramme de matière sèche de l'extrait obtenu (mg EC/g MS), et μg équivalent catéchine par milligramme de matière sèche de l'extrait obtenu (mg EC/g MS) respectivement. En utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée de l'acide gallique et de la catéchine **Figures 7 et 8**.

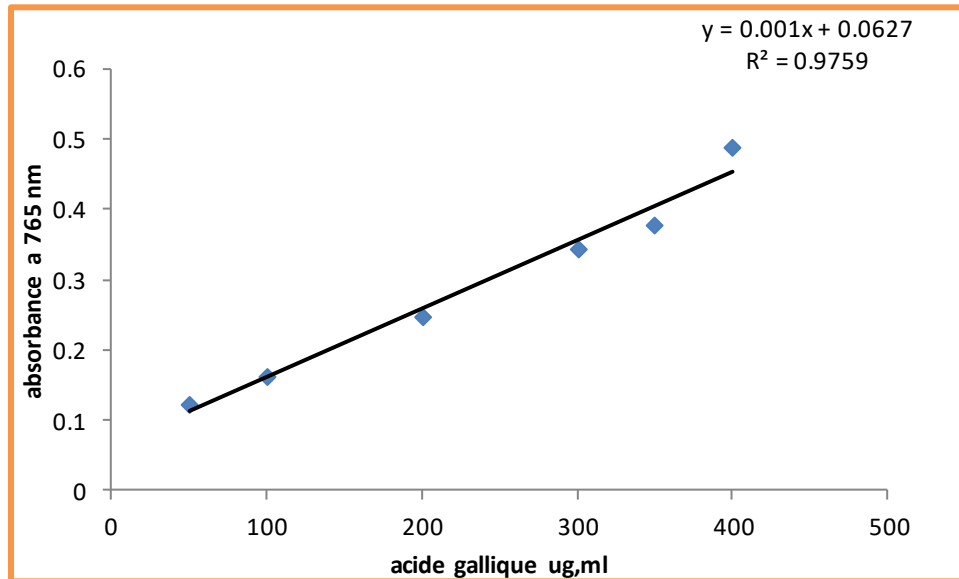


Figure 7: courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des poly phénols.

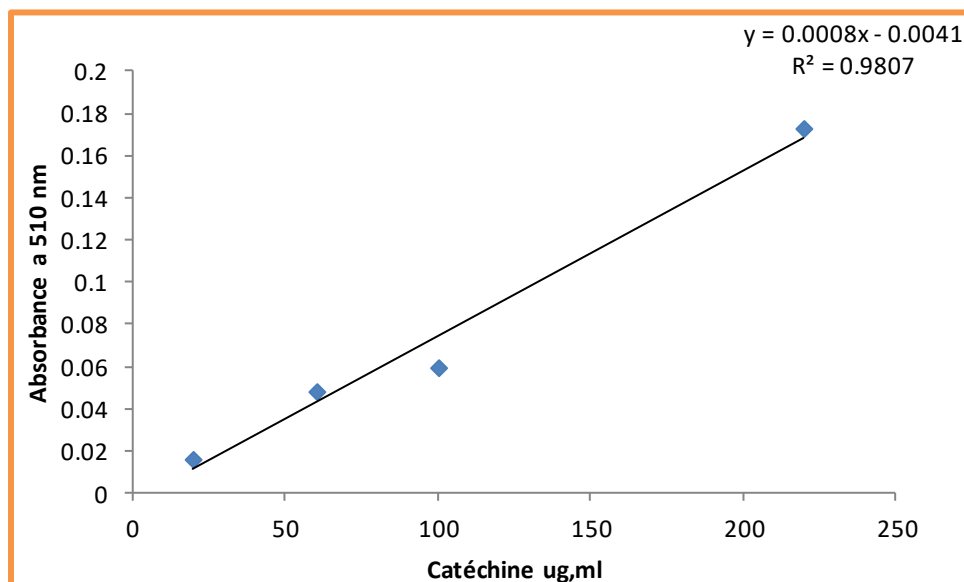


Figure 8: courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des flavonoïdes

Résultats et discussion

Le dosage des poly phénols totaux et des flavonoïdes a montré que l'extrait hydro éthanolique d'*A.iva* possède des quantités élevées en poly phénols (112.3 ± 6.082763 mg EC/g MS) accompagnée d'une valeur moyenne (73.875 ± 13.52082 mg EC/g MS) des flavonoïdes. L'extrait aqueux possède des valeurs proche, inférieure à celles de l'extrait hydro-éthanolique, en polyphénols et en flavonoïdes respectivement (101.4 ± 3.068115 mg EC/g MS) (64.743 ± 6.6696 mg EC/g MS).

I.3. Test de piégeage du radical libre DPPH' (2,2 diphényle-1- Picrylhydrazyl)

L'évaluation des activités anti radicalaires de l'extrait hydro éthanolique de la partie aérienne d'*A.iva* a été réalisée par la méthode de piégeage du radical DPPH. Les résultats obtenus sont exprimés en pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en présence des concentrations de l'acide ascorbique et d'extrait hydro éthanolique de la partie aérienne d'*A.iva* préparés par macération (figure 9 et 10).

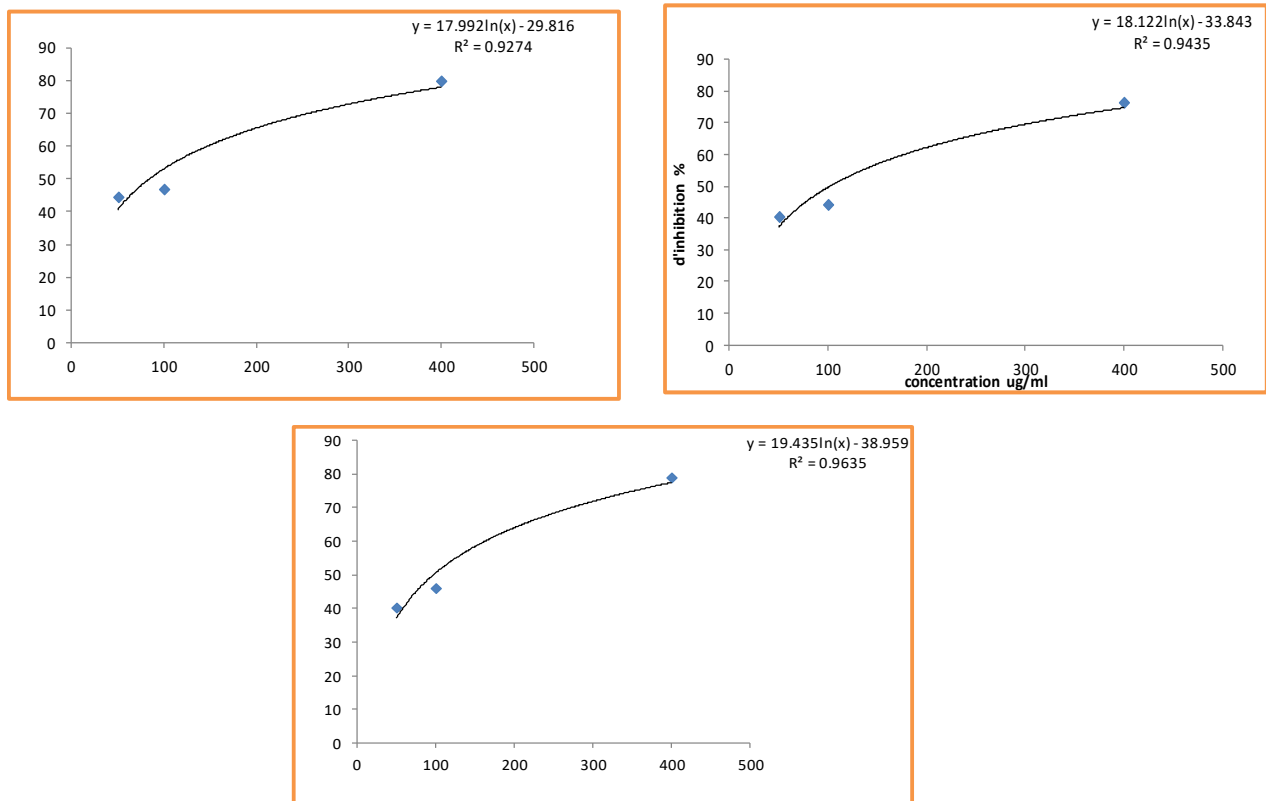


Figure 9: les courbes des pourcentages d'inhibition de l'extrait hydroéthanolique d'*A.iva* répétées trois fois.

Résultats et discussion

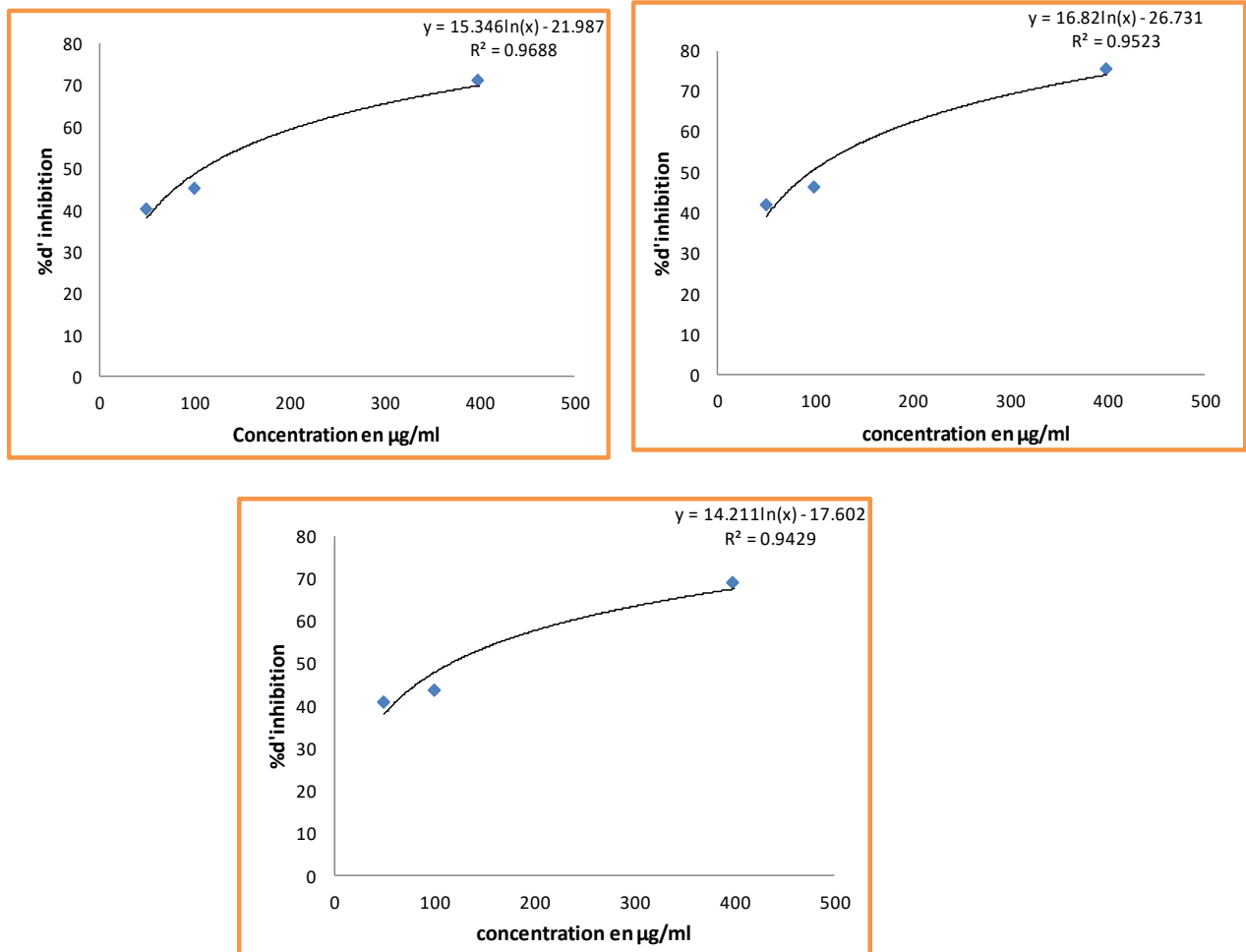


Figure 10: les courbes des pourcentages d'inhibition de l'extrait aqueux d'A.iva répétées trois fois.

Résultats et discussion

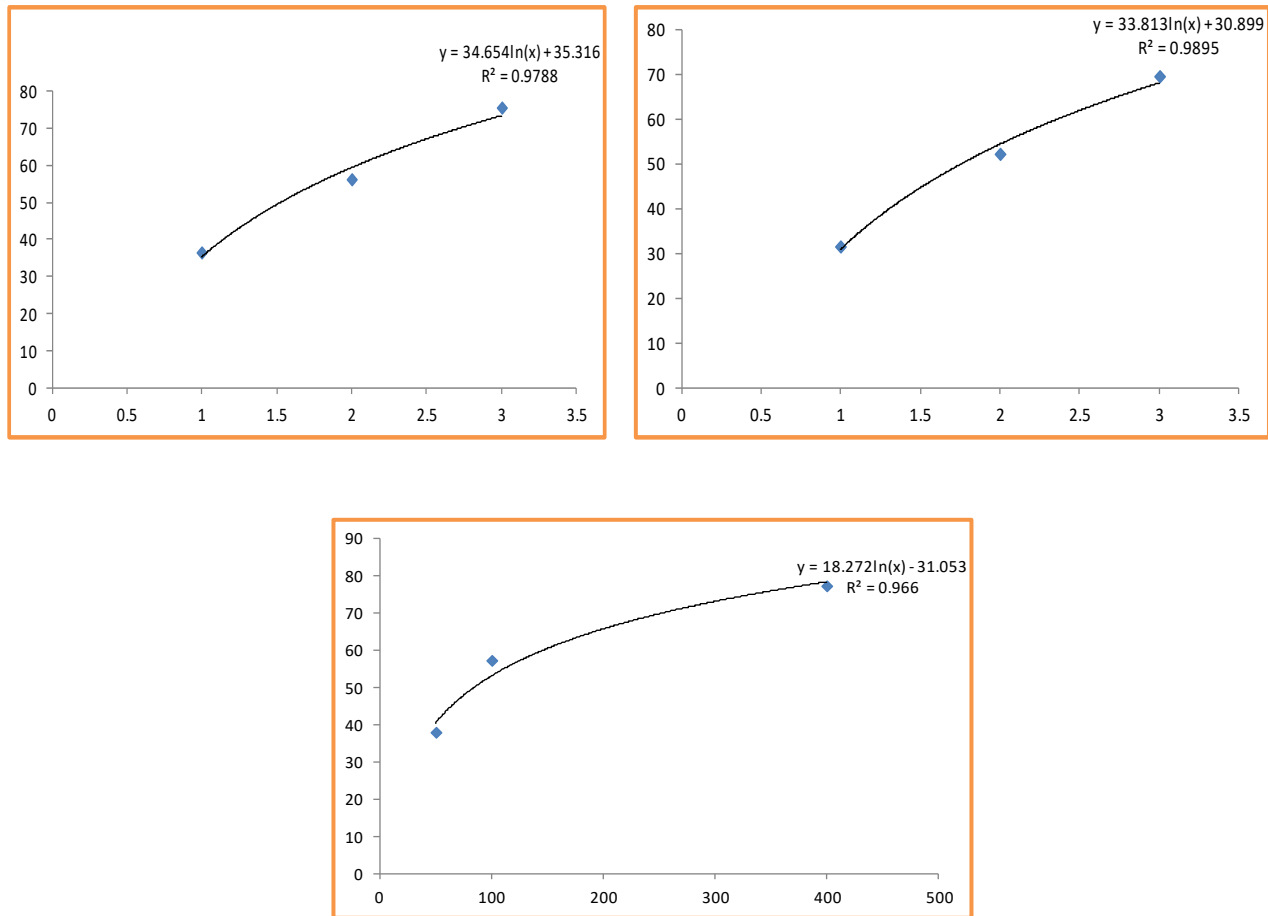


Figure 11: pourcentages d'inhibition de l'acide ascorbique répétées trois fois.

Selon les résultats représentés dans les figure 9 et 10 on remarque que les extraits {hydro éthanolique et l'aqueux} présente des pourcentages d'inhibition élevés avec de faibles concentrations de 400 $\mu\text{g/ml}$ { par moyenne}.

Le rendement de l'extrait hydro éthanolique et aqueux ont montré respectivement les pourcentage suivant (78.50% , 73.18 %).

Ensuite, nous avons déterminé pour l'acide ascorbique et l'extrait hydro éthanolique, la concentration nécessaire pour réduire 50 % du radical libre **DPPH'** (IC_{50}). Les résultats sont représentés dans les tableaux suivants :

Résultats et discussion

Tableau 7: les valeurs d'IC₅₀ de l'acide ascorbique.

	Molécule de référence			moyen	écartype
	Acide ascorbique				
	1 ^{ere} fois	2 ^{eme} fois	3 ^{eme} fois		
IC ₅₀ (µg/ml)	1.0921	1.527	1.759	1.459367	± 0.338555

Tableau 8: les valeurs d'IC₅₀ de l'extrait hydroéthanolique d'A.iva.

	Extrait Hydroéthanolique			moyen	écartype
	1 ^{ere} fois	2 ^{eme} fois	3 ^{eme} fois		
IC ₅₀ (µg/ml)	102.1647	84.45289	97.24733	94.62165	± 9.143191

Tableau 9: les valeurs d'IC₅₀ de l'extrait aqueux d'A.iva.

	Extrait aqueux			moyen	écartype
	1 ^{ere} fois	2 ^{eme} fois	3 ^{eme} fois		
IC ₅₀ (µg/ml)	109.1047	95.75867	116.421	107.0948	±10.47679

D'après les valeurs obtenues, l'extrait hydro éthanolique possède le pouvoir antioxydant le plus élevé avec une valeur d'IC₅₀ de (94.62165 ± 9.143191 µg/ml). Pour l'extrait aqueux, la valeur d'IC₅₀ est inférieure à celle de l'hydro alcoolique (107.0948±10.47679 µg/ml).

Ces valeurs sont largement supérieures par rapport à l'IC₅₀ obtenu pour la moyenne de l'acide ascorbique (1.459367µg/ml) utilisé comme molécule de référence. Nous avons constaté que l'acide ascorbique possède le pouvoir anti radicalaire le plus élevé.

Résultats et discussion

I.1.4. La chromatographie liquide à haute performance HPLC

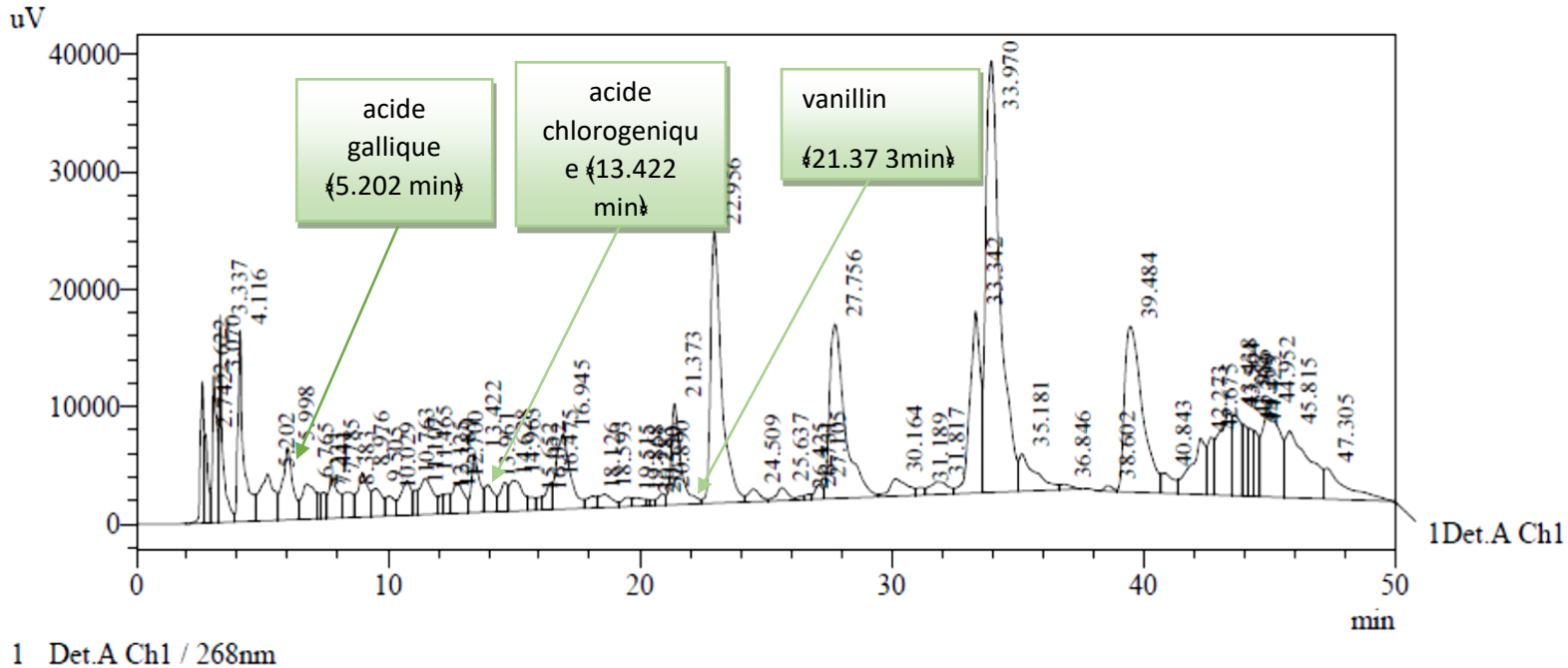


Figure 12: la courbe de la séparation des différents composés chimiques par HPLC combinée avec l'UV visible à longueur d'onde 268nm d'extrait hydro éthanolique d'A.iva selon leur temps de rétention.

1colonne	Area	Gallic Acid (µg/ml)	C1 Extract (mg/ml)	C2 extrait (µg/g)
HL - aque	156877	2.868948995	5	573.789799

Tableau 10: révélation de l'acide gallique et leur concentration.

1colonne	Area	Chlorogenic Acid (µg/ml)	C1 Extract (mg/ml)	C2 extrait (µg/g)
HL - aque	108455	5.006000462	5	1001.200092

Tableau 11: révélation de l'acide chlorogénique et leur concentration.

1colonne	Area	Vanilin (µg/ml)	C1 Extract (mg/ml)	C2 (µg/g)extrait
HL - aque	228570	3.878669608	5	775.7339216

Tableau 12: révélation de la vanilline et leur concentration.

Résultats et discussion

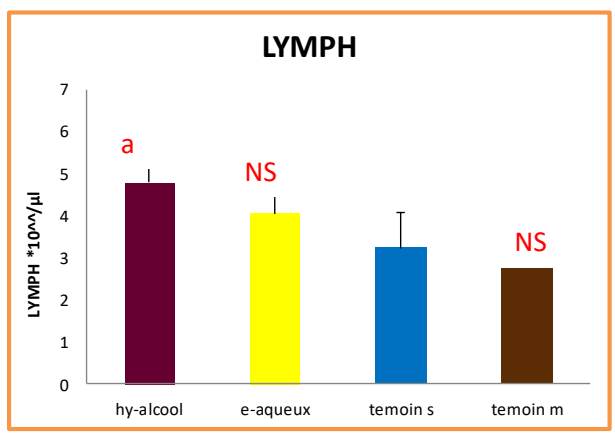
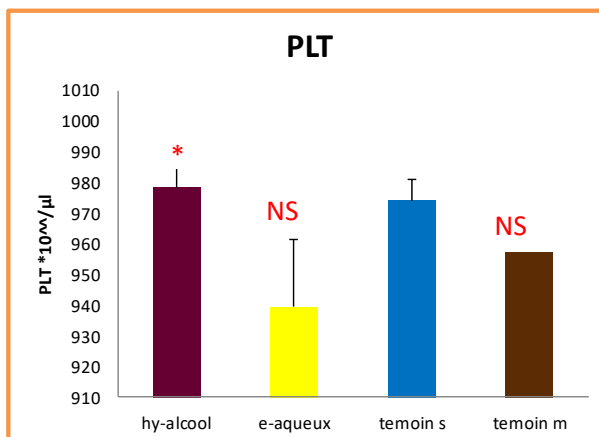
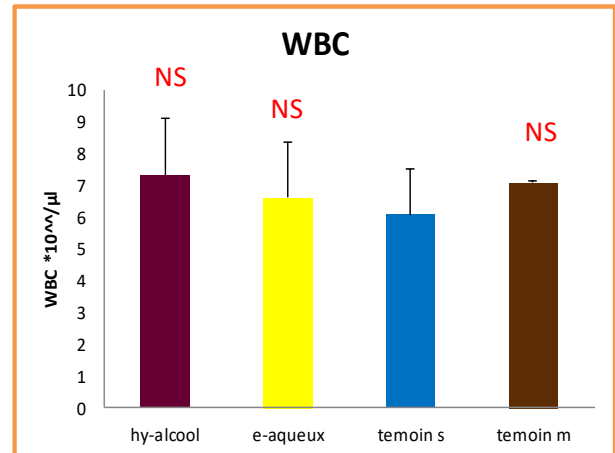
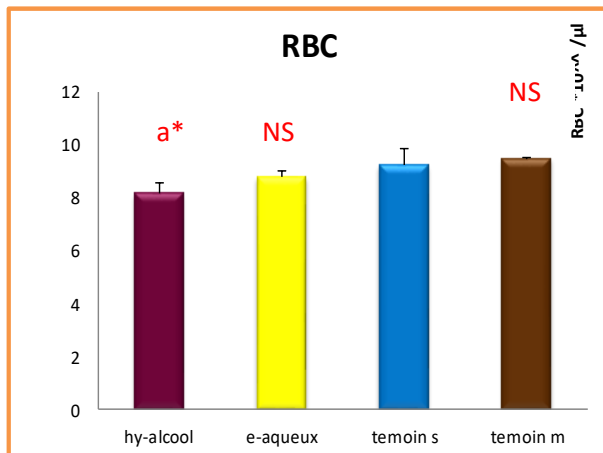
La technique de la chromatographie liquide a haute performance (HPLC) permet la séparation des différentes composées chimiques de l'extrait hydro éthanolique d'*A.iva*. En utilisant une colonne de gel de silice (C:18) et une quantité de 5 ml de l'extrait d'*A.iva*.

L'analyse chromatographique (figure 12) a révélé la présence de trois composées phénoliques par les concentrations suivantes :

- Acide gallique (temps de rétention de 5.202 min) avec une concentration de (2.86 µg / ml) et une concentration totale de (573.78 µg/g) dans l'échantillon.
- Acide chlorogénique (temps de rétention de 13.422 min) avec une concentration de (5.006 µg / ml) et une concentration totale de (1001.2 µg /g) dans l'échantillon.
- Vanilline (temps de rétention de 21.373) avec une concentration de (3.87 µg /ml) et une concentration totale de (775.73 µg/g) dans l'échantillon.

I.2.tests biologiques

I.2.1.Formule numérique sanguine (FNS): les résultats obtenus sont représenté dans la figure 13.



Résultats et discussion

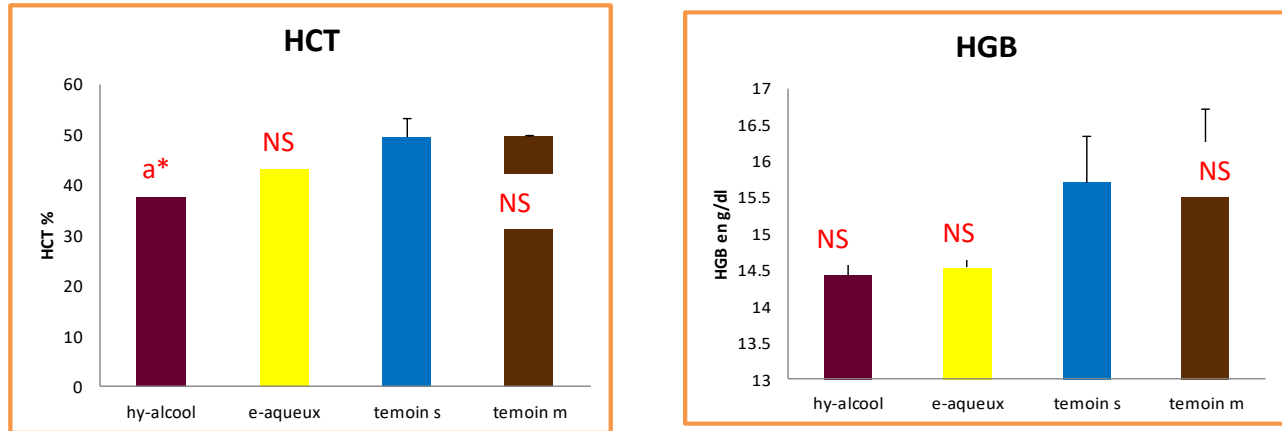


Figure 13: les valeurs numériques des cellules sanguines différentes chez les groupes des rats expérimentaux. { témoin m= témoins malade. témoins s= témoin sein. e-aqueux= groupe traitée par l`extrait aqueux et hydro alcoolique = la groupe traitée par l`extrait hydro alcoolique} avec un nombre d`échantillon {n=5}.

Comparaison avec les témoins seins : * p<0.05 ; ** p<0.01 ; *** p<0.001. comparaison avec les témoins malades: ^a p<0.05 ; ^b p<0.01 ; ^c p<0.001. NS= non significatif.

I.2.1.1.globules rouges (RBC)

les résultats exprimées dans les figures a révélé qu`il y a une diminution significative (p<0.05) du nombre des globules rouges (RBC) chez la groupe traitée par l`extrait hydro alcoolique d`A.iva accompagné par une diminution non significative (p>0.05) des RBC chez le groupe traitée par l`extrait aqueux et une diminution non significative (p>0.05) des RBC chez le groupe des témoins malades. En comparaison avec le témoin sein.

Par contre a une augmentation significatif (p<0.05) pour le groupe hydro éthanolique et une augmentation non significatif (p>0.05) pour le groupe aqueux en comparaison avec le groupe témoins malades.

I.2.1.2.WBC (globules blanches)

Une augmentation non significative (p>0.05) pour la groupes témoins malades et le groupe traitée par l`extrait hydro alcoolique et il existe une diminution non significati ve (p>0.05) pour le groupe traitée par l`extrait aqueux de la plante a été remarqué en comparaison avec le témoin sein. La comparaison avec le témoin diabétique les résultats ne montrent aucune différence significative (p>0.05) pour les deux groupes.

Résultats et discussion

I.2.1.3.PLT (plaquettes)

Une augmentation significative ($p < 0.05$) est notée pour le groupe hydro alcoolique et pour le reste il y a une diminution non significative ($p > 0.05$) pour le nombre des plaquettes par rapport aux témoins sein. Aucune différence significative n'a été remarquée en comparaison avec le témoin malade.

I.2.1.4.LYMPH (lymphocytes)

Aucune différence significative n'a été remarquée par rapport aux témoins sein. En revanche nous avons remarqué une diminution notable ($p < 0.05$) pour le groupe hydro alcoolique et une diminution non significatif pour le groupe aqueux.

I.2.1.5.HCT (hématocrites)

Une diminution significative ($p < 0.05$) pour le groupe hydro alcoolique et non significative pour le groupe traité par l'extrait aqueux et en même temps les deux témoins (malades et seins) présente un taux identique d'hématocrite.

I.2.1.6.HGB (hémoglobine)

Il y'a aucune différence significative pour les deux groupes traités par rapport aux témoins

I.2.2.Bilan hépatique :

La figure 14 révèle les concentrations plasmatiques des transaminases TGO et TGP.

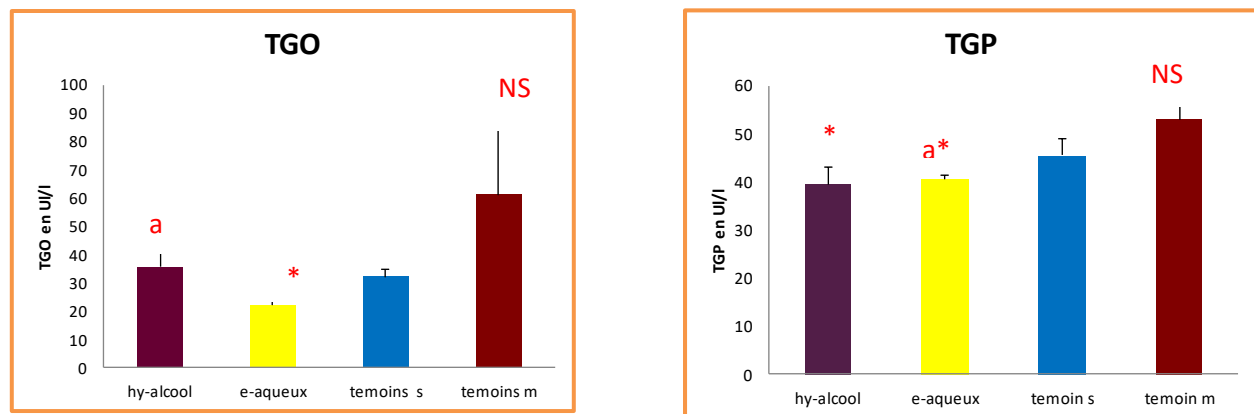


Figure 14: les concentrations des enzymes des TGO et TGP chez les rats des groupes expérimentaux exprimées en UI/l avec un nombre d'échantillon (n=5).

Comparaison avec les témoins seins : * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$.

Comparaison avec les témoins malades : ^a $p < 0.05$; ^b $p < 0.01$; ^c $p < 0.001$. NS= non significatif.

Résultats et discussion

I.2.2.1.TGO

Aucune différence significative n'a été remarquée chez les groupes traités par rapport aux témoins sains. En revanche le groupe aqueux a montré une diminution significative ($p < 0.05$) du taux de la TGO.

I.2.2.2.TGP

Une diminution significative ($p < 0.05$) chez les deux groupes traités par l'extraits d'A.iva, et pour les témoins malades. le groupe aqueux ayant une diminution significatif ($p < 0.05$).

I.2.3.Bilan rénal

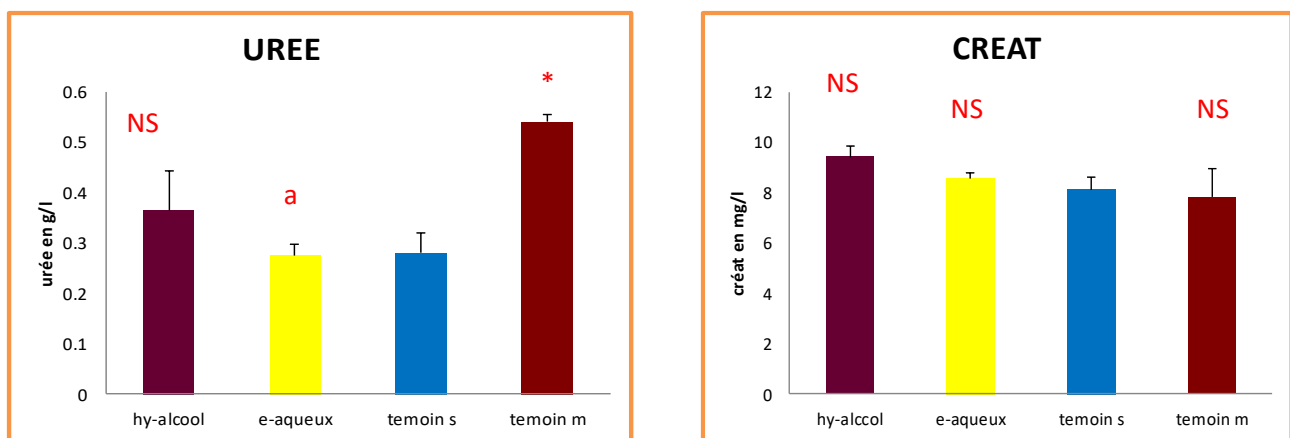


Figure 15: les taux d'urée et créatinine chez les groupes des rats expérimentaux exprimées en mg/l avec un nombre d'échantillon ($n=5$).

Comparaison avec les témoins sains : * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$.

Comparaison avec les témoins malades : ^a $p < 0.05$; ^b $p < 0.01$; ^c $p < 0.001$. NS= non significatif.

I.2.3.1.Urée

Une diminution importante significatif ($p < 0.05$) chez la groupe aqueux et par contre aucune différence significatif ($p > 0.05$) est notée chez la groupe des rats hydro alcoolique.

I.2.3.2.Créatinine

Il existe aucune différence significatif chez toutes les groupes expérimentales en comparaison avec les groupes des témoins.

Résultats et discussion

I.2.4. Bilan lipidique

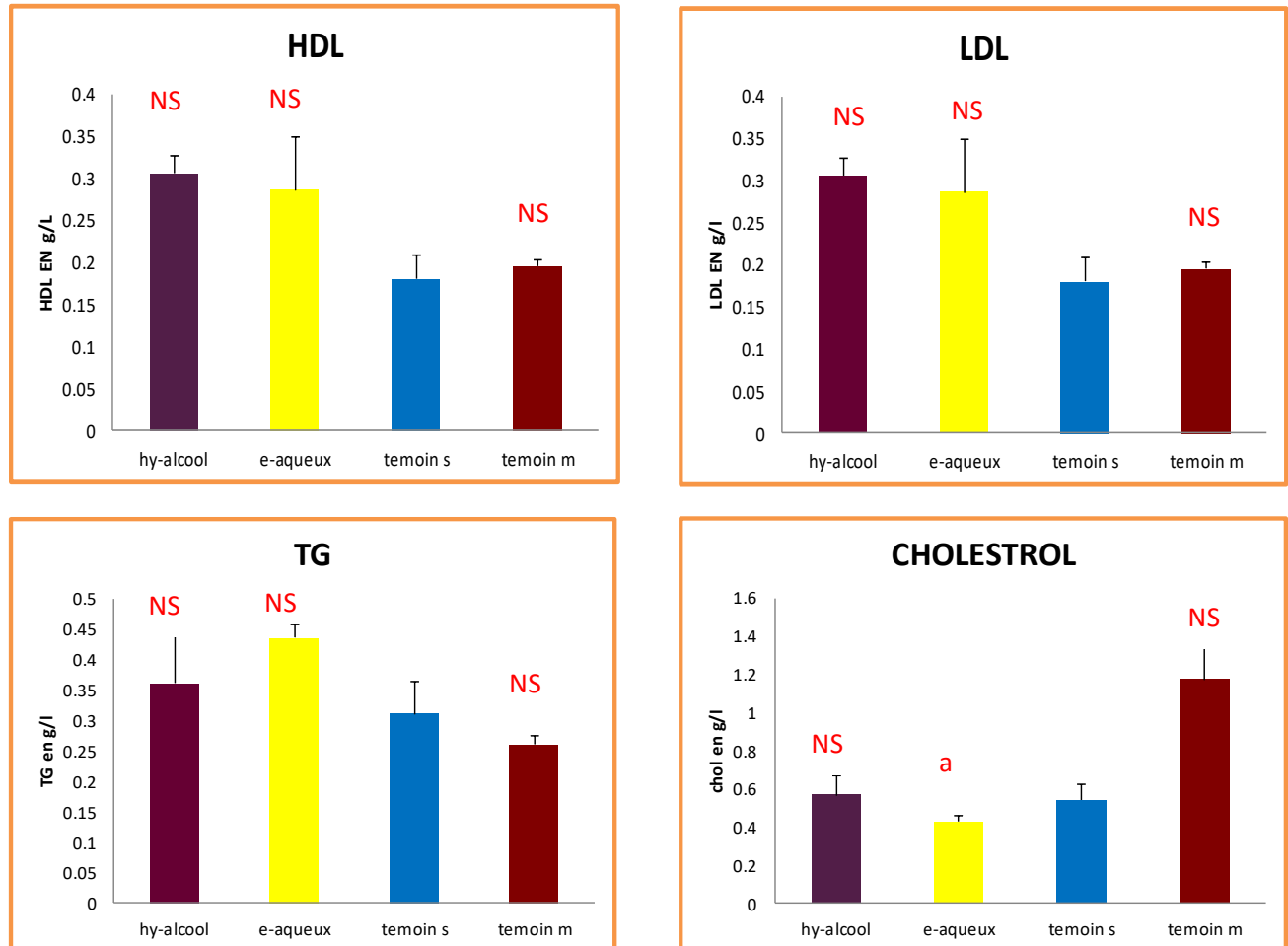


Figure 16: Le taux de l'HDL, LDL, Triglycérides et cholestérol chez les groupes expérimentaux des rats exprimées en g/l avec un nombre d'échantillon (n=5).

Comparaison avec les témoins sains : * p<0.05 ; ** p<0.01 ; *** p<0.001.

Comparaison avec les témoins malades: ^a p<0.05 ; ^b p<0.01 ; ^c p<0.001.

NS= non significatif.

I.2.4.1. HDL

Il ya aucune signifiante (p>0.05) pour les différences de cette paramètre chez les deux groupes expérimentales.

I.2.4.2..LDL

Cette cas est très proche et comparable avec le cas précédente de l'HDL; aucune différences significatif (p>0.05) est notée chez la groupe hydro alcoolique et la groupe aqueux.

Résultats et discussion

I.2.4.3. Triglycérides (TG)

Il ya une augmentation notable de taux des TG non significatif ($p > 0.05$) chez les deux groupes des rats traitées par l'extrait de la plante.

I.2.4.4. Cholestérol

La groupe des rats traites par l'extrait hydro alcoolique remarque aucune changement significatif de cette paramètre (non significatif $p > 0.05$) et il y'a Une diminution significatif ($p < 0.05$) est notée pour la groupe aqueux de cholestérol para port les témoins.

I.2.5. les tests de stress oxydatif (GSH et MDA)

I.2.5.1. Méthode de dosage du Malondialdchye (MDA)

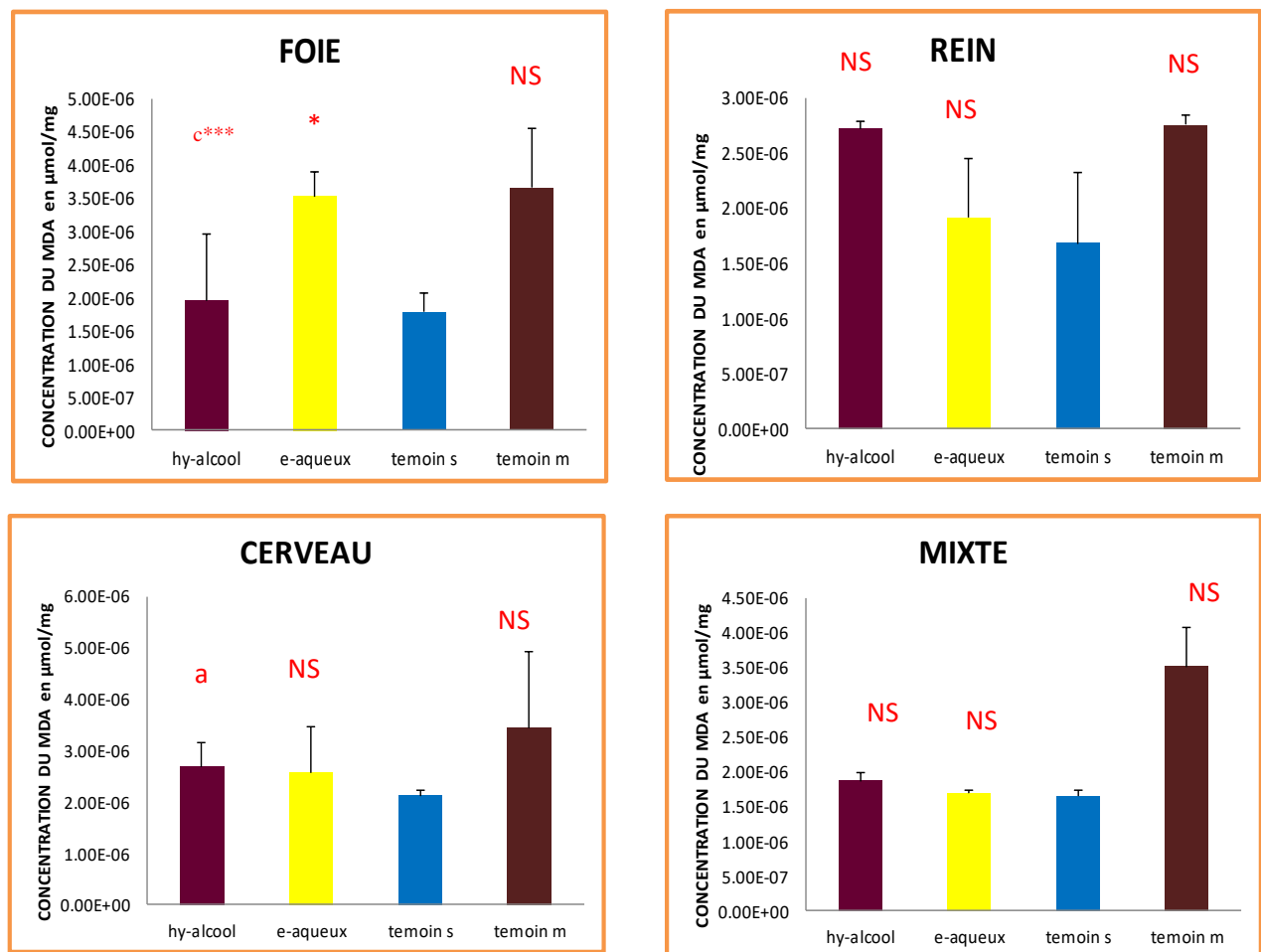


Figure 17: Les concentrations du MDA dans les organes (foie, rein et cerveau) et le concentration cellulaire (mixte) chez tout les groupes expérimentales respectivement exprimées en $\mu\text{mol}/\text{mg}$ avec un nombre d'échantillon ($n=5$).

Résultats et discussion

Comparaison avec les témoins seins : * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$.

Comparaison avec les témoins malades: ^a $p < 0.05$; ^b $p < 0.01$; ^c $p < 0.001$.

NS= non significatif.

I.2.5.1.1.Foie

Les résultats des concentrations de l'MDA chez les différents groupes des rats révéler qu'il y'a dans le foie une augmentation très hautement significatif ($p < 0.001$) de l'activité de la MDA chez la groupe traitée par l'extrait hydro alcoolique et un diminution de même degré (para port les témoins) , la groupe traitée par l'extrait aqueux présente une augmentation significatif ($p < 0.05$) de MDA.

I.2.5.1.2.Reins

Toutes les groupes présente une augmentation non significatif ($p > 0.05$) pour l'activité de MDA.

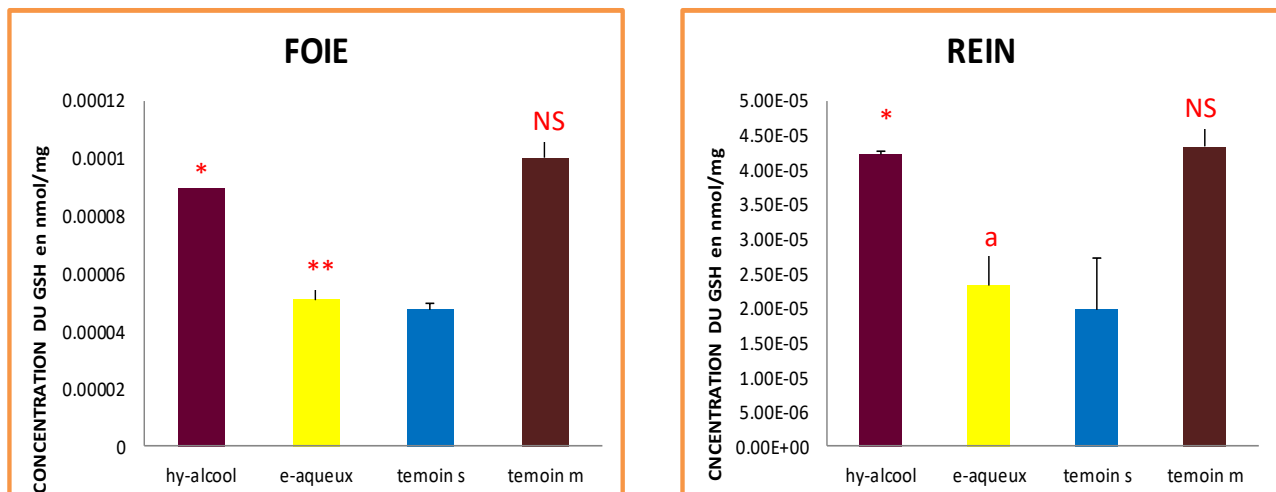
I.2.5.1.3.Cerveau

La groupe traitée par l'extrait hydro alcoolique présente une augmentation significatif ($p < 0.05$) para port les témoins seins et une diminution de même degré en comparaison avec les témoins malades et par contre les autres groupes présente des changements non significatives ($p > 0.05$) pour l'activité de MDA.

I.2.5.1.4.MDA cellulaire (mixte)

Toutes les groupes présente une augmentation non significatif pour l'activité de MDA.

I.2.5.2.Méthode de dosage de glutathion réduit (GSH)



Résultats et discussion

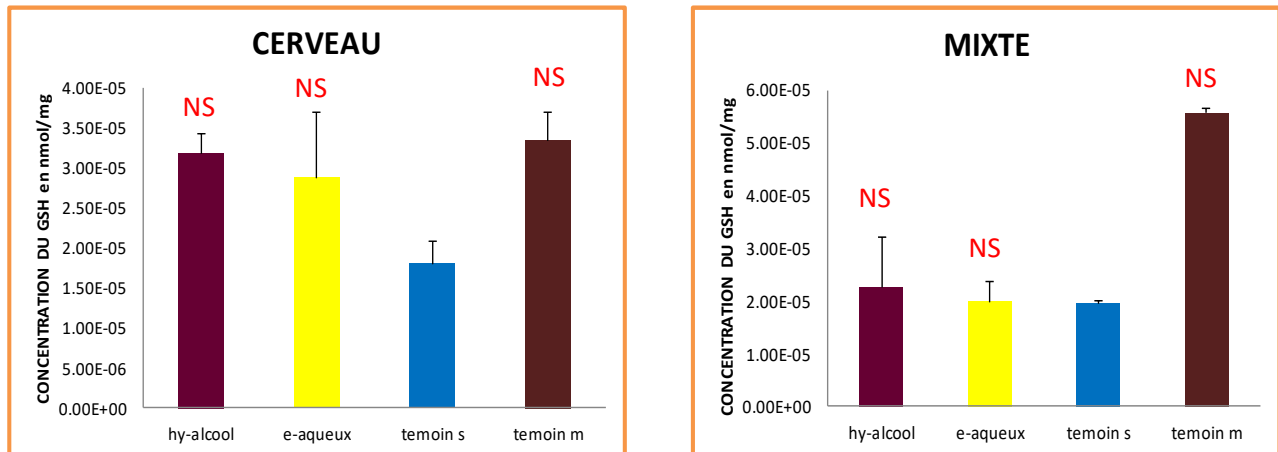


Figure 18: Les concentrations du GSH dans les organes (foie, rein et cerveau) et la concentration cellulaire (mixte) chez tous les groupes expérimentaux par ordre exprimées en $\mu\text{mol}/\text{mg}$ avec un nombre d'échantillon ($n=5$).

comparaison avec les témoins sains : * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$.

comparaison avec les témoins malades: ^a $p < 0.05$; ^b $p < 0.01$; ^c $p < 0.001$.

NS = non significatif.

I.2.5.2.1.foie

Le groupe hydro éthanolique exhibent une diminution notable significative ($p < 0.05$) et l'extrait aqueux ayant une diminution hautement significative ($p < 0.01$) pour la concentration de GSH par rapport aux témoins malades et aucun changement significatif par rapport aux témoins sains.

I.2.5.2.2.reins

Le groupe traité par l'extrait hydro alcoolique présente une augmentation significative ($p < 0.05$) de l'activité de GSH par rapport aux témoins sains et une diminution de même degré par rapport aux témoins malades, les autres groupes présentent une augmentation non significative ($p > 0.05$) pour l'activité de GSH.

I.2.5.2.3.cerveau

Tous les groupes présentent une augmentation non significative ($p > 0.05$) pour l'activité de GSH par rapport aux témoins.

Résultats et discussion

I.2.5.2.4.GSH cellulaire (mixte)

La groupe traitée par l'extrait hydro alcoolique présente une augmentation significatif ($p < 0.05$) pour l'activité de GSH par rapport les témoins sains et le reste des groupes présente une changement non significatif ($p > 0.05$).

I.3.Glycémie et poids

I.3.1.Étude de la croissance corporelle et le poids relatif des organes

	Poids initiale (g)	Gain de poids (g)	Poids relative (g)		
			Foie	Rein	Cerveau
Hy-alcool	202 ± 25.41653	11 ± 3.741657	5.6445 ± 0.92359	1.144 ± 0.08879	1.0395 ± 0.03087
E-aqueux	192.75 ± 18.1360	31.25 ± 19.3111	5.805 ± 0.557288	1.3015 ± 0.18571	0.999 ± 0.055827
Témoin s	194.5 ± 9.327379	0.5 ± 1.914854	4.89825 ± 0.1510	1.1655 ± 0.08485	1.095 ± 0.027289
Témoin m	189 ± 16.51262	13.5 ± 8.544004	5.59775 ± 0.6561	1.0905 ± 0.12813	1.02175 ± 0.05967

Tableau 13: Gain du poids chez le groupe témoin et Les valeurs sont exprimées en Moy ± ES avec un nombre d'échantillon (n =5).

Comparaison avec les témoins sains : * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$.

Comparaison avec les témoins malades: ^a $p < 0.05$; ^b $p < 0.01$; ^c $p < 0.001$.

.NS= non significatif

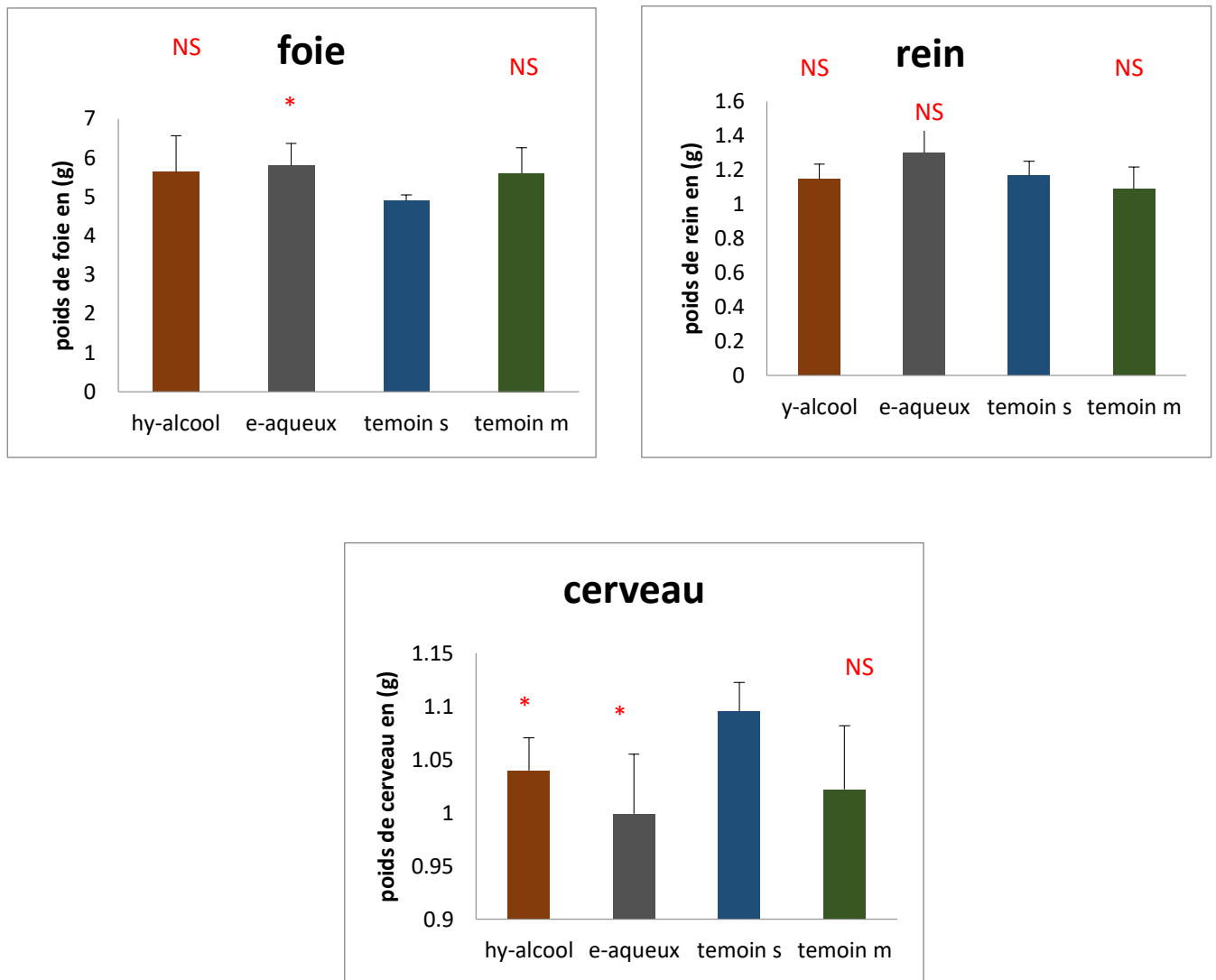


Figure 19: Le croissance corporelle des organes chez les groupes des rats expérimentaux avec un nombre d'échantillon (n =5).

I.3.1.1.Foie

La groupe traite par l'extrait aqueux remarqué une augmentation notable significatif ($p < 0.05$) de poids par rapport les témoins sains, chez les deux groupes hydro alcoolique et témoins malades il existe une différence non significatif ($p > 0.05$) quasiment identique de la poids corporelle de foie.

Résultats et discussion

I.3.1.2.Reins

Le poids des reins des groupes expérimentales est quasiment identique non significativement ($p < 0.05$) par rapport au poids de référence (témoins sains et malades).

I.3.1.3.Cerveau

Une diminution notable chez la groupe hydro alcoolique et la groupe aqueux significatif ($p < 0.05$) respectivement pour les deux cas de la poids cervicale (comparées avec les témoins sains), et par contre il y'a aucune différence significatif en comparaison avec les témoins malades.

1.3.2.Glycémie

Dose mg/kg (pc)	Groupes			
	Témoins sains	Témoins malades	Hydro alcoolique	Aqueux
Nombre	-	-	10	10
1	105.75±7.18	111.25±9.32 ^{NS}	105.50±14.11 ^{NS}	109±10.74 ^{NS}
3	101.25±6.70	431.8±35 ^{***}	323.33±16.50 ^{b**}	353±62 ^{**}
6	107±26.9	469.50±14.53 ^{***}	286±10.68 ^{d***}	300.75±8.30 ^{d***}
9	94.75±11.62	590.75±9.91 ^{***}	268±1.83 ^{c***}	261.75±14.97 ^{c***}
12	134±17.47	589.50±7.42 ^{***}	164.3±34.4 ^c	167.5±29.8 ^c
15	99±7.53	497.25±6.65 ^{***}	110±15.17 ^c	100±6.58 ^c

Tableau 14: variations de glycémie chez les groupes expérimentales exprimées en mg/dl avec un nombre d'échantillon (n =5).

Comparaison avec les témoins sains : * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$.

Comparaison avec les témoins malades : ^a $p < 0.05$; ^b $p < 0.01$; ^c $p < 0.001$.

NS= non significatif.

Résultats et discussion

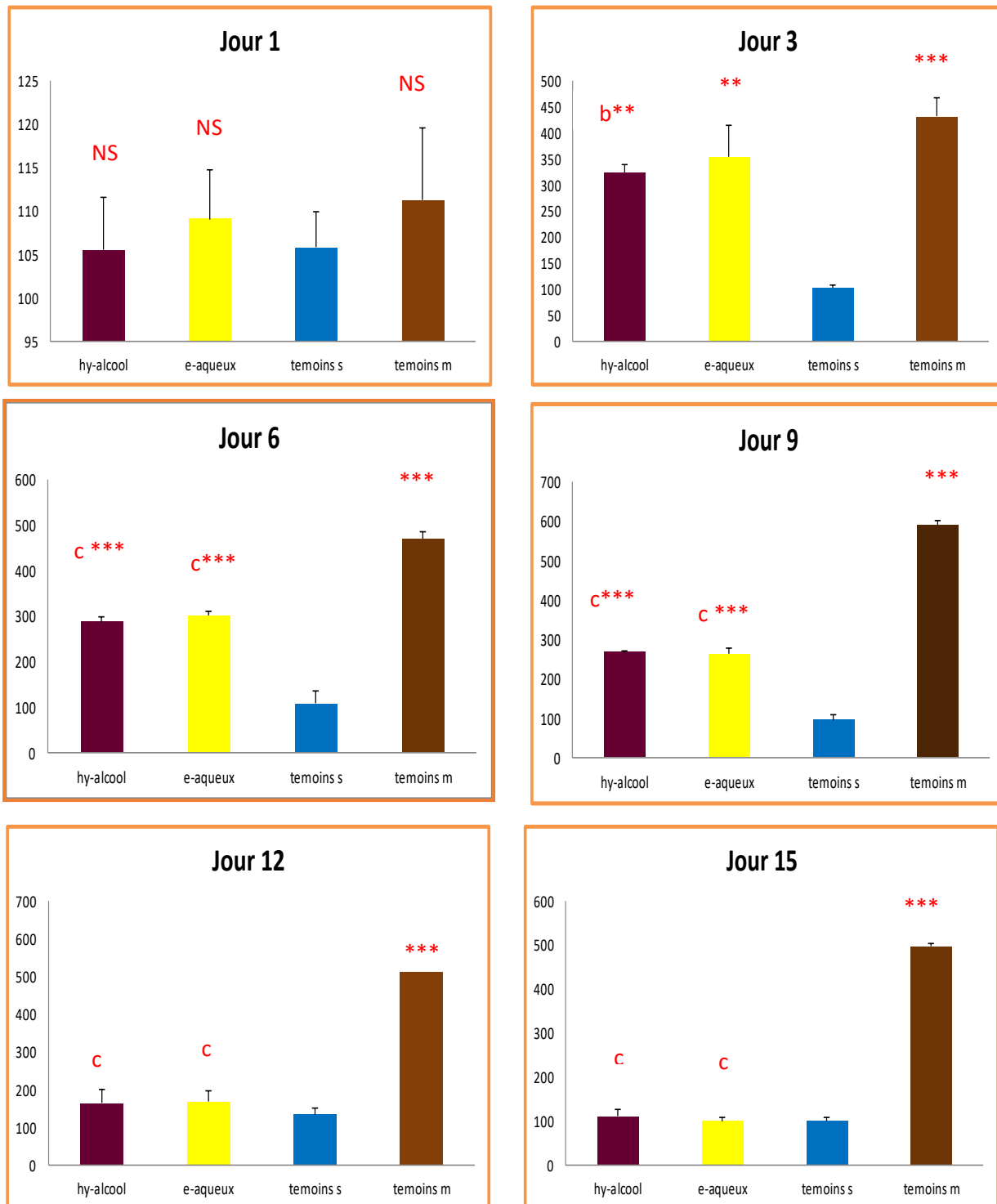


Figure 20: Les taux de glycémie chez les différentes groupes expérimentales des rats comparées avec les témoins seins (pendant 15 jours de traitement) exprimées en mg/dl avec un nombre d'échantillon (n =5).

Résultats et discussion

I.3.2.1. Jour 1

Aucune différence significative chez toutes les groupes des rats.

I.3.2.2. Jour 3

Les témoins malades exhibaient une augmentation très hautement significatif ($p < 0.001$), les deux groupes traitées par l'extrait (hydro alcoolique et aqueux) remarquent aussi une augmentation mais hautement significatif ($p < 0.01$).

I.3.2.3. Jour 6

Une augmentation très hautement significatif ($p < 0.001$) chez la groupe de témoins malades par rapport les témoins sains et Les deux groupes traitées exhibaient une diminution très hautement significatif ($p < 0.001$).

I.3.2.4. Jour 9

Même pour le jour 6 mais l'augmentation est plus inférieure ($p < 0.001$) par rapport les témoins sains et une diminution plus important que jour 6 avec une taux très hautement significatif ($p < 0.001$) en comparaison avec les témoins malades.

I.3.2.5. Jour 12

Les témoins malades remarque une augmentation très hautement significatif ($p < 0.001$) et par contre les deux groupes traitées ayant une augmentation non significatif ($p > 0.05$) par rapport les malades, les deux mêmes groupes traitées exhibaient une différence non significatif en comparaison avec les témoins malades.

I.3.2.6. Jour 15

Le même pour la jour 12 en comparaison avec les témoins sains, et par rapport les autres témoins (malades) Toutes les groupes (témoins sains, hydro alcoolique et aqueux) remarquent une taux de diminution très important et très hautement significatif ($p < 0.001$) de taux de glycémie et les valeurs sont quasiment identiques.

Résultats et discussion

I.4. Etude histologique :

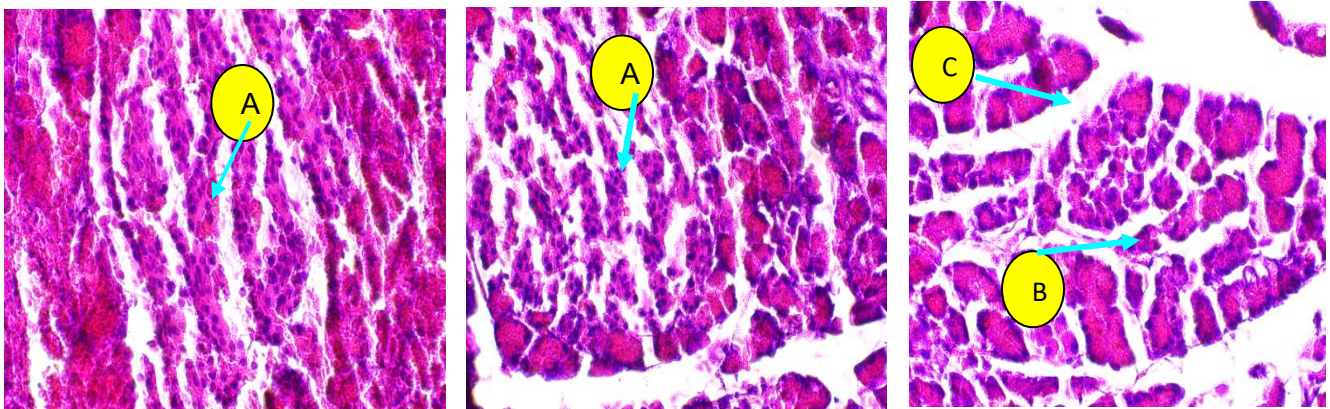


Figure 21: Coupes histologiques du pancréas des rats de la groupe des témoins seins colorées par H+E, photographiées en utilisant R CRImage sous magnification de x40 (photo originale).

{A } : ilots de Langherans, {B} : cellules acinaires, {C } : conduit inter-tubulaire.

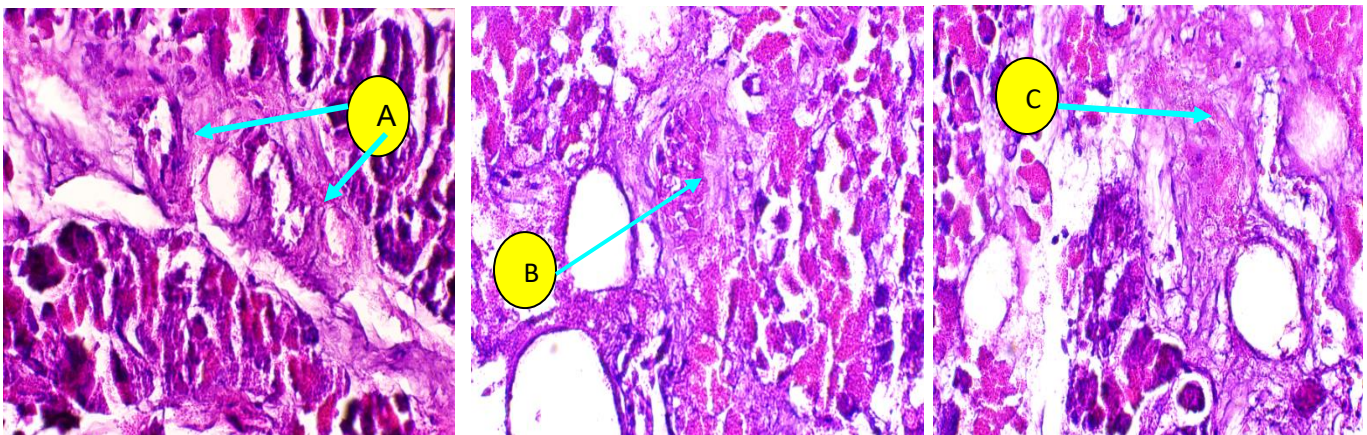


Figure 22: Coupes histologiques du pancréas des rats de la groupe des témoins malades diabétiques par l'alloxan colorées par H+E, photographiées en utilisant R CR Image sous magnification de x40(photo originale). {A} : destruction des ilots de Langherans, {B} : dégranulation des cellules beta, {C} : nécrose cellulaire.

Résultats et discussion

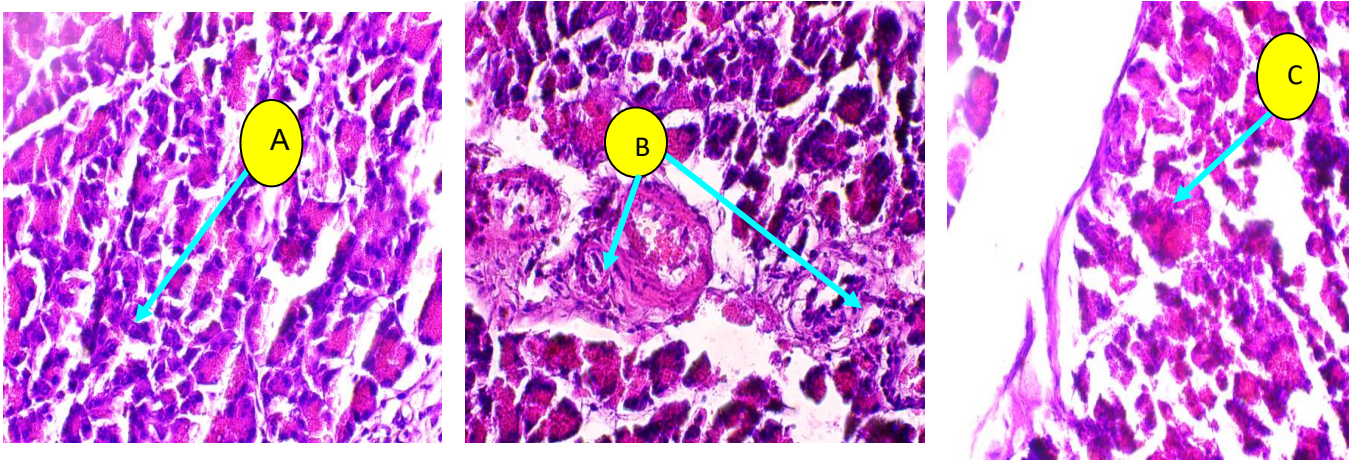


Figure 23: Coupes histologiques du pancréas des rats de la groupe traitée par l'extrait hydroéthanolique d'A.iva (10 mg/kg) colorées par H+E, photographiées en utilisant le R CR Image sous magnification de x40 (photo originale). (A) : ilots de Langherans, (B) : régénération des cellules bêta, (C) : acini.

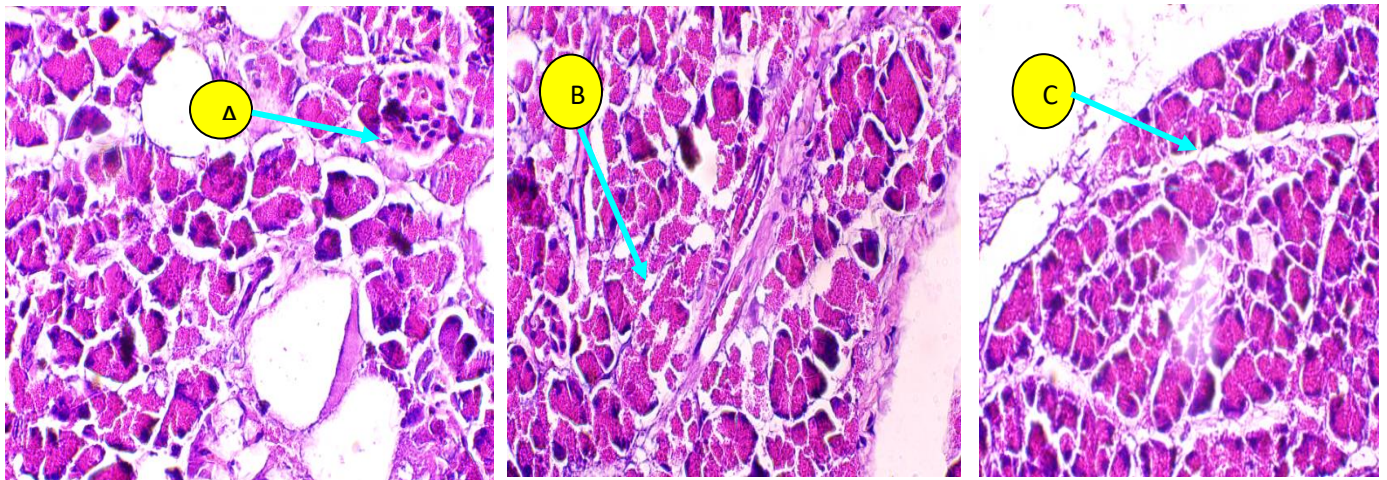


Figure 24: Coupes histologiques du pancréas des rats de la groupe traitée par l'extrait aqueux d'A.iva (10 mg/kg) colorées par H+E, photographiées en utilisant le R CRImage sous magnification de x40 (photo originale). (A) : régénération des ilots, (B) : acini, (C) conduit inter-tubulaire.

Résultats et discussion

II. Discussion:

En Algérie, les plantes médicinales n'ont jamais été totalement abandonnées et les gens n'ont jamais cessé de faire appel à la médecine traditionnelle, ce qui conduit à maintenir une tradition thérapeutique vivante malgré le développement spectaculaire de la médecine moderne (Dellile, 2013).

Des enquêtes ethnobotaniques récentes effectuées dans le but de répertorier les plantes médicinales utilisées par la population de l'Est et l'Ouest Algérien, soulignent l'importance qu'occupe ce patrimoine végétal dans la pharmacopée traditionnelle (Allali *Et al.*, 2008 ; Hamza, 2011 ; Azzi *Et al.*, 2012).

Ajuga Iva ou communément appelée Chendgoura, une plante qui appartient à la famille des lamiacées, est caractérisée par ses propriétés thérapeutiques diverses: antidiabétique, antioxydant, et anti-inflammatoire...etc. (Bellouad, 2001 ; Dellile, 2013 ; Halimi, 2014).

Les tests phytochimiques que nous avons réalisés sur la préparation par macération de la partie aérienne d'*A.iva* ont révélé la présence des flavonoïdes, des alcaloïdes, des tanins, des composés réducteurs, des quinones, et des terpénoïdes. Par contre nous avons constaté l'absence des saponines dans l'extrait chez la préparation hydroéthanolique, pour l'extrait aqueux il ya une résultat très proche chez tout les composées chimique sauf l'absence des alcaloïdes et la présence des saponines.

Les tests phytochimiques réalisés par Reddy *Et al.*, (2016) sur l'extrait éthanolique d'*A.iva*, n'ont montré que la présence des alcaloïdes, des flavonoïdes, des tanins et des terpénoïdes.

L'étude de Bennaghmouch *Et al.* (2002) sur l'extrait méthanolique de la plante entière d'*A.iva* révéler la présence des terpénoïdes et stéroïdes.

Taleb-Senouci *Et al.* (2009) la présence des flavonoïdes et des terpénoïdes dans l'extrait aqueux d'*A.iva* algérienne de la plante entière.

L'analyse quantitative d'extrait hydro éthanolique de la partie aérienne d'*A.iva* a montré que l'extrait préparé par macération possède une teneur élevé en poly phénols totaux (Pt) et en flavonoïdes (Flv) avec des valeurs respectives de $\{112.3 \pm 6.082763 \text{ mg EC/g}\}$ et $\{73.875 \pm 13.52082 \text{ mg EC/g}\}$, l'extrait aqueux présente des valeurs proche que l'extrait hydro

Résultats et discussion

éthanolique des $\{101.4 \pm 3.068115 \text{ mg EC/g}\}$ par moyenne pour les polyphénols et la quantité des flavonoïdes sont par moyenne a $\{64.743 \pm 6.6696 \text{ mg EC/g}\}$.

Les résultats que nous avons obtenus sont supérieures aux travaux réalisés par **Khodja *Et al.*, 2014**), qui ont montré que les teneurs en phénols totaux et en flavonoïdes de l'extrait méthanolique *d'A.iva* sont respectivement de $\{26,86 \text{ } \mu\text{g EAG/mg MS}\}$ et de $\{7,41 \text{ } \mu\text{g EC/mg MS}\}$.

Une étude faite par **Hariri et Ouis (2016)** montre que les teneurs en phénols totaux et en flavonoïdes de l'extrait méthanolique *d'A.iva* est d'ordre de $\{3,49 \text{ } \mu\text{g EAG/mg MS}\}$; et $\{1,23 \text{ } \mu\text{g EC/mg MS}\}$. Ces teneurs restent inférieures à nos résultats qui sont plus élevés dans l'extrait.

Les teneurs en poly phénols totaux et en flavonoïdes varient qualitativement et quantitativement d'une plante à une autre, cela peut être attribué à plusieurs facteurs :

- ✓ Facteurs climatiques et environnementaux ...etc. (**Ebrahimi *Et al.*, 2008**) ;
- ✓ Le patrimoine génétique (**Miliauskas *Et al.*, 2004**) ;
- ✓ la période de la récolte (**Miliauskas *Et al.*, 2004**) ;
- ✓ le stade de développement de l'âge de plante après séchage (**Miliauskas *Et al.*, 2004**) ;
- ✓ la méthode d'extraction et la méthode de quantification peuvent également influencer

l'estimation de la teneur des phénols totaux et flavonoïdes et l'intégrité des molécules en générale (**Lee *Et al.*, 2003**).

Pour l'évaluation de l'activité anti radicalaire, nous avons constaté que l'extrait hydro éthanolique de la partie aérienne *d'A.iva* préparé par macération a la 2^{ème} fois, possède le pouvoir le plus puissant parmi les trois fois testés avec une valeur d'IC₅₀ de $\{84.45289 \text{ } \mu\text{g/ml}\}$, suivi par 3^{ème} fois (IC₅₀ de $97.24733 \text{ } \mu\text{g/ml}$), et enfin la 1^{ère} fois avec une IC₅₀ d'environ $\{102.1647 \text{ } \mu\text{g/ml}\}$. une moyenne totale d'IC₅₀ d'environ $\{94.62165 \pm 9.143191 \text{ } \mu\text{g/ml}\}$ est remarqué pour l'extrait. L'activité anti radicalaire des extraits est donc relativement dépendante de la teneur en poly phénols totaux et en flavonoïdes.

L'étude réalisée par **Hariri et Ouis (2016)** a montré que l'IC₅₀ de l'extrait méthanolique *d'A.iva*, préparé par macération, récoltée à Mascara durant les mois Janvier, Mars et Avril 2014, est de l'ordre de $\{512 \text{ } \mu\text{g/ml}\}$. et une autre étude réalisée par **Khodja *Et al.*, 2014** faite à partir de l'extrait méthanolique *d'A.iva*, préparé aussi par macération, récoltée à Bedjaia durant le mois

Résultats et discussion

de Mars 2008, a donnée une IC_{50} de $(168 \mu\text{g/ml})$. donc notre étude sur l'extrait hydro éthanolique d'A.iva donne une activité et en particulier une pouvoir anti radicalaire la plus importante avec une valeur de $(94.62165 \pm 9.143191 \mu\text{g/ml})$.

La séparation par la technique de l'HPLC combinée avec la spectrométrie d'UV visible révéler que l'extrait hydro alcoolique d'A.iva se contiens trois composées phénoliques:

- **L'acide gallique** : une acide trihydroxybenzoïque soluble dans l'eau connu de leur rôle astringent (resserre et assèche les tissus, et peut faciliter leur cicatrisation), cyclooxygénase 2 inhibiteur (propriété anti-inflammatoire), métabolite végétale, antioxydant, agent antinéoplasique (anti cancéreuse) et un inducteur d'apoptose. l'acide décompose a une température entre 235 et 240 °C et se libérer des fumes acres et irritantes.
- **Lacide chlorogénique** : est un tannin et cinnamate ester et un métabolite intermédiaire dans la biosynthèse de la lignine, dérivé de l'acide trans-caféique et l'acide quinique. connu par leur rôle comme un métabolite végétale et composant alimentaire. l'acide chlorogénique ont été utilise dans les essais d'études de traitement des cas avancées de cancer et l'intolérance de glucose et la diabète.
- **Le vanilline** : est un monométhoxybenzène hautement soluble dans éthanol, diéthyle d'éther et l'acétone. le vanilline est un membre de la famille des benzaldéhydes. connu par leur rôle d'un métabolite végétale, agent aromatique (odeur comme la vanille) antioxydant et anticonvulsivant (anti épileptiques, désordre bipolaire et agent calmant).

Au lumière de ces résultats l'extrait hydro éthanolique d'A.iva se contiens des propriétés cicatrisantes, anti-inflammatoires, antioxydants, anticancéreuses ,antiépileptiques et laxatifs. cette étude est on accord avec les travaux de (**Bondi *Et al.*, 2000**) qui montre une activité anti-inflammatoire de la plante pour les parties aériennes d'A.iva.

Une étude performée par (**Khatteli, *Et al.***) révéler que l'acide chlorogénique de concentration de $(240 \mu\text{g/g})$ est la seule composée phénolique identifié en accord avec notre étude, cette résultat est notablement inférieure de notre résultat de $(1001.200092 \mu\text{g/g})$.

L'étude performé par (**David, Arulmoli, & Parasuraman, 2016; Yakoub *Et al.*, 2018**) sur l'extrait d'A.iva révéler la présence de la propriété anticarcinogénique. cette étude est en accord avec notre étude performe sur l'extrait hydro éthanolique d'A.iva qui révéler la présence de

Résultats et discussion

quelques composées anticarcinogéniques notamment que l'acide gallique et l'acide chlorogénique.

L'étude de (Chenni *Et al*) est en accord avec notre expérimentation qui se montre une activité anti oxydante pour l'extrait aqueux d'A.iva.

Quant aux paramètres hématologiques, les deux extraits (aqueux et hydro éthanolique) d'A.iva ne montre pas une interférence significatif sur la production et les taux des globules blanches, lymphocytes et hémoglobine malgré l'augmentation visible pour l'hémoglobine et diminution pour les globules blanches et lymphocytes.

le taux des globules rouges s'augmente au manière significative pour les rats traitées par l'extrait hydro éthanolique sous une valeur de (9.46 ± 0.05) et l'extrait aqueux n'interfère pas dans cette paramètre. la même est pour le taux des plaquettes, l'hématocrite s'augmente pour la groupe hydroalcoolique dans les deux cas de comparaison (avec les témoins sains et malades) significativement ($p < 0.05$) avec une valeur de (49.5 ± 0.28) , cette augmentation ayant plusieurs explications comme une atteinte de la maladie de Vasquez ou certains maladies pulmonaires et elle nécessite des investigations supplémentaires pour interprétation de la cause exacte de l'augmentation de cette paramètre . Des observations similaires ont été faites par (El Hilaly *Et al.* (2004).

Quant aux paramètres biochimiques, ASAT (ou TGO), ALAT (ou TGP) , sont considérés comme des marqueurs de la fonction hépatique (Henry, 1999; Palmeiro *et al.*, 2003; Hilaly *et al.*, 2004). L'analyse de ces paramètres est important puisqu'il y a plusieurs rapports de la toxicité du foie liés à l'utilisation des produits phytothérapeutiques (Corns, 2003; Pittler et Ernst, 2003). Dans la présente étude, on a observé des augmentations notables non significatives en valeurs d'ASAT ($P > 0.05$) pour les rats traitées par l'extrait hydro alcoolique et une diminution légère non significatif. et pour l'ALAT il existe une diminution notable significatif ($p < 0.05$) pour les rats traitées par l'extrait hydro aqueux d'A.iva par rapport les témoins et une autre diminution proche que l'extrait aqueux non significatif est noté pour la groupe hydro alcoolique ($p > 0.05$). les deux groupes traitées par l'extrait présente une taux de diminution notable des deux paramètres hépatiques (extrait aqueux présente une diminution significatif $p < 0.05$ pour le TGP de 40.5 ± 0.7) par rapport les témoins malades. ces résultats signifie une amélioration de l'intégrité cellulaire des cœur et/ou foie.

Résultats et discussion

Les examens histopathologiques nécessaires dans le cas des augmentations des ASAT et/ou ALAT (Henry, 1999; Palmeiro *Et al.*, 2003; Hilaly *Et al.*, 2004; Kanjanapothi *Et al.*, 2004), n'ont pas confirmé l'atteinte hépatique. L'ALAT est situé principalement dans le cytosol des hépatocytes, cette enzyme est considérée un marqueur plus sensible des dommages des cellules hépatiques que l'ASAT. ASAT est une enzyme trouvée dans le cytoplasme et les mitochondries dans différents tissus, principalement dans le cœur et les muscles squelettiques, le foie, les reins, le pancréas, et les érythrocytes (Chaves et Silva, 1998; Aniagu, *Et al.*, 2004).

Pour les autres paramètres biochimiques comparées avec les témoins sains, le taux de l'urée est quasiment reste inchangé pour les rats traitées par l'extrait aqueux et une augmentation notable pour la groupe hydro alcoolique, les changements des taux sont non significatif ($p>0.05$) pour les deux cas, par contre les rats témoins malades non traitées se présente une augmentation importante significatif ($p<0.05$), et par comparaison la groupe traitée par l'extrait aqueux avec les rats témoins malades il ya une réduction significatif $p<0.05$ (la groupe hydro alcoolique subit une différence non significatif $p>0.05$) est noté pour le taux de l'urée et donc l'extrait aqueux

d'A.iva réduit la toxicité rénale cette résultats est en agreement avec les études de (Wang *Et al.*, 2017). pour le créatinine les deux groupes traitées par l'extrait d'A.iva (aqueux et hydro alcoolique) se présente une élévation légère et peu notable non significatif ($p>0.05$) respectivement. les rats témoins malades diabétiques non traitées exhibèrent une taux d'urée élevée et taux de créatinine le plus bas chez toutes les groupes expérimentales (toutes les valeurs sont non significative $p>0.05$).

En comparaison les groupes traitées par les extraits avec la groupe des témoins malades, les rats traitées par l'extrait aqueux exhibée une diminution significatif de (0.275 ± 0.02 g/l) et les rats hydro éthanolique exprime une taux non significatif de diminution. donc l'extrait aqueux est plus effective a réduirai les complications de l'hyperglycémie chez les paramètres rénales.

L'urée et le créatinine sont des marqueurs spécifiques les plus communs qui sont utilisées dans les diagnostics des troubles rénales, l'urée formée dans le foie est une produit finale de la dégradation des composées azotées notamment que les protéines est diffusée dans le sang puis éliminer dans l'urine comme le créatinine qui est en autre part une déchet métabolique des muscles et comme l'urée il est excrété dans l'urine par les reins. les diagnostics correctes rénales doit être inclus les taux des deux paramètres simultanément sous forme de rapport <<urée:créatinine>> qui serve comme une indice beaucoup plus fiable que les deux paramètres

Résultats et discussion

séparées. il existe des plusieurs conditions qui serve a l'augmentation de la taux de l'urée et le créatinine qui doit être aussi analysées et étudiées pour donner une diagnostique correcte (**Baum, Dichoso et Carlton, 1975**). le taux de l'urée élevée chez les rats diabétiques est due à la néphropathie diabétique qui mène a la dégradation des systèmes de filtration rénale et finalement à une taux d'urée élève (**Shrestha Et al., 2008**) .(**Wang Et al., 2017**) montrent que l'extrait de la plante d'A.iva peut diminuer la taux de l'urée et créatinine.

Quand les paramètres de profile lipidique, le taux de l'HDL et LDL sont quasiment identique pour tous les groupes expérimentales; il ya une augmentation non significative pour les deux groupes traitées par l'extrait d'A.iva (hydro alcoolique et aqueux) et diminution légère pour la groupe des témoins malades, toutes les résultats sont non significatifs ($p > 0.05$) et donc elle indique une absence d'un effet sur le taux des deux valeurs d'HDL et LDL.

Le taux des triglycérides est augmenté au manière notable non significative ($p > 0.05$) chez les deux groupes traitées par l'extrait aqueux et hydro éthanolique d'A.iva et par contre il ya une diminution peu notable sur le taux des triglycérides chez les témoins malades, ces résultats indique que les rats diabétique de type 1 souffrir des troubles métaboliques lipidique a cause de la blocage et l'inactivation de la récepteur de glut 4 et par contre les rats traitées exhibèrent une augmentation notable de taux des TG qui indique une action régulatrice dans la métabolisme lipidique. et finalement les taux de cholestérol diminuées (non significatif $p > 0.05$ sauf une diminution significatif ($p < 0.05$) de (0.425 ± 0.03 g/l) chez la groupe traitées par l'extrait aqueux en comparaison avec la groupe des témoins malades) chez les groupes traitées par les extraits de la plante indique une effet hypo lipidemique surtout avec les taux de HDL qui sont augmentées après l'administration des extraits diverses de la plante. mais comme une effet générale sur le profile lipidique la plante d'A.iva ne présente pas une effet significatif sur le taux de bilan lipidique (TG, HDL, LDL et cholestérol) en comparaison avec les rats seins et une diminution significatif pour le cholestérol en comparaison avec les témoins malades non traitées. ces résultats sont proches avec les études de (**El Hilaly Et al., 2006**) qui révéler une propriété anti lipidemique de l'A.iva.

Selon les résultats obtenu sur les effets d'A.iva sur les activités antioxydants des deux enzymes de MDA et GSH. L'extrait d'A.iva augmente les taux de MDA chez les sujets traitées en comparaison avec les témoins malades qui mène a la réduction de la peroxydation lipidique surtout dans le foie et le cerveau, c'est due a la présence des certains composées anti oxydants

Résultats et discussion

notamment que les polyphénols et flavonoïdes qui sont considérées des capteurs effectives des radicaux libres qui mène a la réduction de la peroxydation des lipides (**Houghton *Et al.*, 1998; Wagner *Et al.*, 1995; Soto *Et al.*, 2003**), ces résultats sont en agreement avec (**Lortz *Et al.*, 2000; avec Hamden *Et al.*, 2008**). Et en cas de GSH les deux extraits remarque une augmentation notable de la taux de l'enzyme antioxydant de glutathion GSH et cet augmentation est une indicateur de la réduction des radicaux libres générer par l'hyperglycémie, l'extrait aqueux exhibait une réduction plus important para port l'extrait hydro alcoolique (l'hydro alcoolique exhibait une important réduction dans le foie), la réduction est aussi expliquer a l'abondance d'A.iva des composées antioxydants, les résultats sont confirmées par les analyses de la chromatographie liquide (HPLC) précédente qui révéler trois composées phénoliques (acide gallique, l'acide chlorogenique et le vanilline) et aussi par des études des (**Khatteli, *Et al.*, 2020; El Hilaly *Et al.*, 2004 ; Baghiani *Et al.*, 2011**).

Concernant les paramètres de poids et la glycémie; les extraits d'A.iva ne remarque pas une changement de poids significatif para port les témoins malades ces résultats sont en agreement de l'étude de (**Lekhmici, *Et al.*, 2013**).

Pour la glycémie, les deux extraits d'A.iva remarque des résultats très similaires sur la réduction de taux de glycémie chez les rats diabétique insulino dépendante induit par alloxan par une dose de (150mg/kg), les résultats se manifestent après 15 jours de traitement par une quantité identique de 10mg/kg pour les deux extraits. a la fin de l'étude expérimentale les taux de glycémie comparées avec les rats témoins malades remarque une diminution très hautement significatif ($p < 0.001$) et en comparaison avec les témoins seins la différence est non significatif ($p > 0.05$), ces résultats indique que les rats traitées sont très proche a l'état sein et les extraits d'A.iva ayant une pouvoir curative anti hyperglycémique qui réduit les complications de diabète par l'induction de régénération cellulaire des cellules beta pancréatiques qui par conséquence régulier les taux glycémiques sanguines, cette affirmation est enfoncée par les études histologiques pancréatiques des différents groupes expérimentales des rats qui révéler une régénération et restauration des cellules beta pancréatique des ilots de Langherans. Ces résultats sont en contradiction avec la mécanisme de la diminution des diabètes mentionnée dans les études conduit par (**Dalila *Et al.*, 2012 ; Dabis *Et al.*, 1984**), Qui notée une diminution de taux de glycémie sans changement de taux d'insuline qui veut dire l'extrait d'A. Iva ne cause pas une régénération et restauration des cellules bêta pancréatiques et plutôt il existe une mécanisme

Résultats et discussion

insulinoindépendante qui agit sur cette diminution (**Dabis *Et al.*, 1984**). Par contre nôtres résultats sont en accord avec cels études effectuées par (**El-Hilaly *Et al.*,2006 ; Wang *Et al* .,2017**).



**Conclusion et
perspectives**

Conclusion et perspectives

Notre travail a bien mis en évidence à l'instar des auteurs ayant travaillé sur le même sujet, des dérèglements importants suite à l'action de l'alloxan .

Le modèle expérimentale de diabète que nous avons utilisés démontrent bien que cette maladie possède des traits pathologiques complexes et diversifiés.

L'alloxan comme la streptozocine entraîne l'installation d'une syndrome diabétique se caractérisant par une polyphagie, une polyurie, une polydipsie chez les rats.

Notre expériences sur les extraits d'A.iva montre que la plante se contiens des plusieurs composées chimiques dans les extraits obtenus par macération comme les flavonoïdes, des terpénoïdes, tandis que les tanins, les quinones libres et les composés réducteurs et les saponines qui généralement contribuent a leurs effets antioxydants révélées par leur effets de la réduction des radicaux libres ,la peroxydation des lipides et l'intégrité des cellules hépatiques et/ou cardiaques qui par conséquence contribue a l'intégrité générale et préservation de sante corporelle.

Les extraits d'A.iva en quantités réduits (10mg/kg ou 700mg/70kg chez les adultes par référence) en générale possède des propriétés anti diabétiques qui aide a la réduction de leur complications comme l'intoxité rénale par la réduction de taux de l'Urée sanguine et la diminution très hautement significatif de la taux de glycémie sanguine sans effets secondaires notables surtout par l'induction de la restauration et régénération des cellules beta pancréatiques observées par les coupes histologiques des pancréas chez les différentes groupes des rats qui donne des perspectives très prometteuses pour les utilisations médicales a la lutte contre ce maladie complexe par une solution moins couteux et moins dangereux.



**Référence et
bibliographique**

Référence et bibliographique

1. Allali H., Benmahdi H., Dib M.A., Tabli B., Ghalem S., Benabadji N., 2008: Phytotherapie of Diabetes in West Algeria. *Asian Journal of chemistry*; 20 (04): 2710.
2. Allali H., Benmehdi H., Dib M A., Tabti B., Ghalem S., Benabadji N., 2008: Phytotherapy of Diabetes in West Algeria. *Asian J Chem*; 20 (04): 2701-2710.
3. Azzi R., 2013 : Contribution à l'étude de plantes médicinales utilisées dans le traitement traditionnel du diabète sucré dans l'Ouest algérien : enquête ethnopharmacologique ; Analyse pharmaco-toxicologique de Figuier (*Ficus carica*) et de coloquinte (*Citrullus colocynthis*) chez le rat Wistar. Thèse doctorat en biochimie, département biologie, Faculté SNV STU, université Tlemcen(Algérie): 02
4. Azzi R., Djaziri R., Lahfa F., Sekkal F.Z., Benmehdi H., Belkacem N., 2012: Ethnopharmacological survey of medicinal plants used in the traditional treatment of diabetes mellitus in the North Western and South Western Algeria. *Journal of Medicinal Plants Research*; 6(10): 2041- 2050.
5. Baba Aissa, F. (1999). *Encyclopedie des plantes utiles. Flore d'Algérie et du Maghreb. Substances végétales d'Afrique d'orient et d'occident*, p 181.
6. Bellakhdar, J., Claisse, R., Fleurentin, J., Younos, C., 1991. Repertory of standard herbal drugs in the Moroccan pharmacopoea. *J. Ethnopharmacol.* 35, 123–143. [https://doi.org/10.1016/0378-8741\(91\)90064-K](https://doi.org/10.1016/0378-8741(91)90064-K).
7. Belouad A., 2001 : *Plantes médicinales en Algérie*. Office des publications nationales. Algérie : 122.
8. Ben Jannet H., Harzallah-Skhiri F., Mighri Z., Simmonds M.S.J., Blaney W.M., 2000: Responses of *Spodoptera littoralis* larvae Tunisian plants extracts and to neoclerodane diterpenoides isolated from *Ajuga iva* leaves. *Fitoterapia*; 71:105-112.
9. Benhammou, N; Atik Bekkara, F; Kadifkova Panovska, T. (2009). Antioxidant activity of methanolic extracts and some bioactive compounds of *Atriplex halimus*, C. R. *Chimie* 12: 1259–1266.
10. Benhammou, N; Atik Bekkara, F; Kadifkova, P. (2007). Antiradical capacity of the phenolic compounds of *Pistacia lentiscus* L. and *Pistacia atlantica* Desf, *Advances in Food Sciences*, 29(3), 155-161.

Référence et bibliographique

11. Bennaghmouche L., Hajjaji N., Gmira N., 2002: Flavonoïdes d'Ajuga iva (L.) Schreb. Actes Inst. Agron.Vet; 22(01): 25-30.
12. Bennaghmouche L., Hajjaji N., Zellou A., Cherrah Y., 2001: Etude pharmacologique d'Ajuga iva. Ann pharm fr ;59 :284.
13. Bruneton J., 1999 : Pharmacognosie : phytochimie, plantes médicinales. 2 ème Ed Paris, Lavoisier Tech & Doc.
14. Bruneton J., 2008 : Pharmacognosie : phytochimie, plantes médicinales. 3 ème Ed Paris, Lavoisier Tech & Doc.
15. Bruneton J., 2009 : Pharmacognosie : phytochimie, plantes médicinales. 4 ème Ed Paris, Lavoisier Tech & Doc.
16. Dellile A., 2013 : les plantes médicinales d'Algérie. 3ème Ed. Berti : 6-11-144.
17. Diafat A., Araar L., Derradji Y., Bouaziz F., 2016: Acute and chronic toxicity of the methanolic extract of Ajuga iva in rodents. International Journal of Applied Research in Natural Products; 9(02):9-16.
18. El Hilaly J., Israili Z.H., Lyoussi B., 2004: Acute and chronic toxicological studies of Ajuga iva in experimental animals. J Ethnopharmacol ; 91(1): 43-50.
19. El Hilaly J., Lyoussi B., 2002: Hypoglycaemic effect of the liophilised aqueous extract of Ajuga iva in normal and streptozotocin diabetic rats. Journal of Ethnopharmacology; 80: 109-113.
20. El Hilaly J., Lyoussi B., Wibo M., Morel N., 2004: Vasorelaxant effect of the aqueous extract of Ajuga iva in rat aorta. Journal of Ethnopharmacology; 93:69-74.
21. El-Hilaly J., Tahraoui A., Israili Z.H., Lyoussi B., 2006: Hypocholesterolemic effects of acute and sub chronic administration of an aqueous extract of Ajuga iva L. whole plant in normal and diabetic rats. J. Ethnopharmacol; 105: 441-448.
22. El-hilaly J., Tahraoui T., Israili Z.H., Lyoussi B., 2007: Acute hypoglycemic, hypocholesterolemic and hypotriglyceridemic effects of continuous intravenous infusion of a lyophilised aqueous extract of Ajuga Iva L. Schreber whole plant in streptozotocin-induced diabetic rats. Pak J Pharm Sci; 20: 261-268.
23. Halimi A.K., 2004 : Les plantes médicinales en Algérie. 1ère Ed. BERTI, Alger : 156- 157.
24. Halimi A.K., 2014 : Les plantes médicinales en Algérie. 2ème Ed. BERTI, Alger: 6- 148-149.

Référence et bibliographique

25. Harbone J.B., 1998: *Phytochemical Methods: A guide to modern techniques of plant analysis*. 3^{ème} Ed. Chapman and Hill: 303.
26. Hariri A., Ouis N., 2016: Phytochemical studies and antioxidant activities of *Adiantum Capillus-Veneris*, *Lavandula stoechas* and *Ajuga reptans*. *World journal of pharmaceutical research*; 5(3): 79-103.
27. Israili Z.H et Lyoussi B., 2009: Ethnopharmacology of the plants of genus *Ajuga*. *Pak J Pharm Sci*; 22: 425-462.
28. Jouad, H., Haloui, M., Rhiouani, H., El Hilaly, J., Eddouks, M., 2001. Ethnobotanical survey of medicinal plants used for the treatment of diabetes, cardiac and renal diseases in the North centre region of Morocco (Fez–Boulemane). *J. Ethnopharmacol.* 77, 175–182.
[https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(01\)00289-6](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(01)00289-6).
29. Kemassi, A, Sabrine, D., Rokaia, C., Boual, Z., Sadine, S., Salah, A., Aminata, K., Didi, O., 2014. Recherche et identification de quelques plantes médicinales à caractère hypoglycémiant de la pharmacopée traditionnelle des communautés de la vallée du M'Zab (Sahara septentrional Est Algérien). *J. Adv. Res. Sci Technol.* 1, 1–5.
30. Khattabi A., Rhalem N., Chabat A., Skali S., Soulaymani-Bencheich R., 2010: Plantes toxiques : définition et classification. *Toxicologie Maroc*; 2: 3-4.
31. Khodja N.K., Khodir L.B., Madani K., 2014: Phytochemical screening of antioxidant and antibacterial activities of methanolic extracts of some Lamiaceae. *Industrial crops and products*; 61 : 41–48.
32. Mahmoudi Y., 1987 : *La phytothérapie par les plantes communes en Algérie*. Blida, Edition ANES Palais du livre : 01-105.
33. Merzouki, A., Ed-derfoufi, F., Molero Mesa, J., 2000. Contribution to the knowledge of Rifian traditional medicine. II: folk medicine in Ksar Lakbir district (NW Morocco). *Fitoterapia* 71, 278–307. [https://doi.org/10.1016/S0367-326X\(00\)00139-8](https://doi.org/10.1016/S0367-326X(00)00139-8).
34. Schwartz D., 1992 : *Méthodes statistiques à l'usage des médecins et des biologistes*. 3^{ème} Ed. Paris ; Flammarion médecine-Sciences.
35. Taleb-Senoucia D., Ghomaria H., Kroufa D., Bouderbala S., Prost J., Lacaille- Dubois M.A., Bouchenaka M., 2009: Antioxidant effect of *Ajuga reptans* aqueous extract in streptozotocin-induced diabetic rats. *Phytomedicine*; 16: 623–631.

Référence et bibliographique

36. Trease G.E., Evans W.C., 1989: A textbook of Pharmacognosy (13th edition) Bacilluere Tinal Ltd, London.
37. Wessner M., Champion B., Girault J.P., Kaouadji N., Saidi B., Laffont R. 1992 :Ecdysteroids from *Ajuga iva*. *Phytochemistry* ; 31: 3785-3788.
38. Youbi, A., Ouahidi, I., Mansouri, L., Daoudi, A., Bousta, D., 2016. Ethnopharmacological survey of plants used for immunological diseases in four regions of Morocco. *Eur. J. Med. Plants* 13, 1–24. <https://doi.org/10.9734/EJMP/2016/12946>.
39. Haribabu T., Divakar K., Divakar G . Evaluation of anti-diabetic activity of Lycopene and its synergistic effect with Metformin hydrochloride and Glipizide in Alloxan induced diabetes in rats. *Sch. Acad. J. Pharm.* 2013; 2(2):119-124.
40. Hariri A., Ouis N., 2016: Phytochemical studies and antioxidant activities of *Adiantum Capilus-Veneris*, *Lavandula stoechas* and *Ajuga iva*. *World journal of pharmaceutical research*; 5(3): 79-103.
41. Israili Z.H et Lyoussi B., 2009: Ethnopharmacology of the plants of genus *Ajuga*. *Pak J Pharm Sci*; 22: 425-462.
42. Jouad, H., Haloui, M., Rhiouani, H., El Hilaly, J., Eddouks, M., 2001. Ethnobotanical survey of medicinal plants used for the treatment of diabetes, cardiac and renal diseases in the North centre region of Morocco (Fez–Boulemane). *J. Ethnopharmacol.* 77, 175–182. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(01\)00289-6](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(01)00289-6).
43. Kemassi, A, Sabrine, D., Rokaia, C., Boual, Z., Sadine, S., Salah, A., Aminata, K., Didi, O., 2014. Recherche et identification de quelques plantes médicinales à caractère hypoglycémiant de la pharmacopée traditionnelle des communautés de la vallée du M’Zab (Sahara septentrional Est Algérien). *J. Adv. Res. Sci Technol.* 1, 1–5.
44. Khattabi A., Rhalem N., Chabat A., Skali S., Soulaymani-Bencheich R ., 2010: Plantes toxiques : définition et classification. *Toxicologie Maroc*; 2: 3-4.
45. Khodja N.K., Khodir L.B., Madani K., 2014: Phytochemical screening of antioxidant and antibacterial activities of methanolic extracts of some Lamiaceae. *Industrial crops and products*; 61 : 41–48.
46. M. S. J. SIMMONDS , S. J. SIMPSON et W. M. BLANEY. {17 Septembre 1991}. DIETARY SELECTION BEHAVIOUR IN SPODOPTERA LITTORALIS: THE EFFECTS

Référence et bibliographique

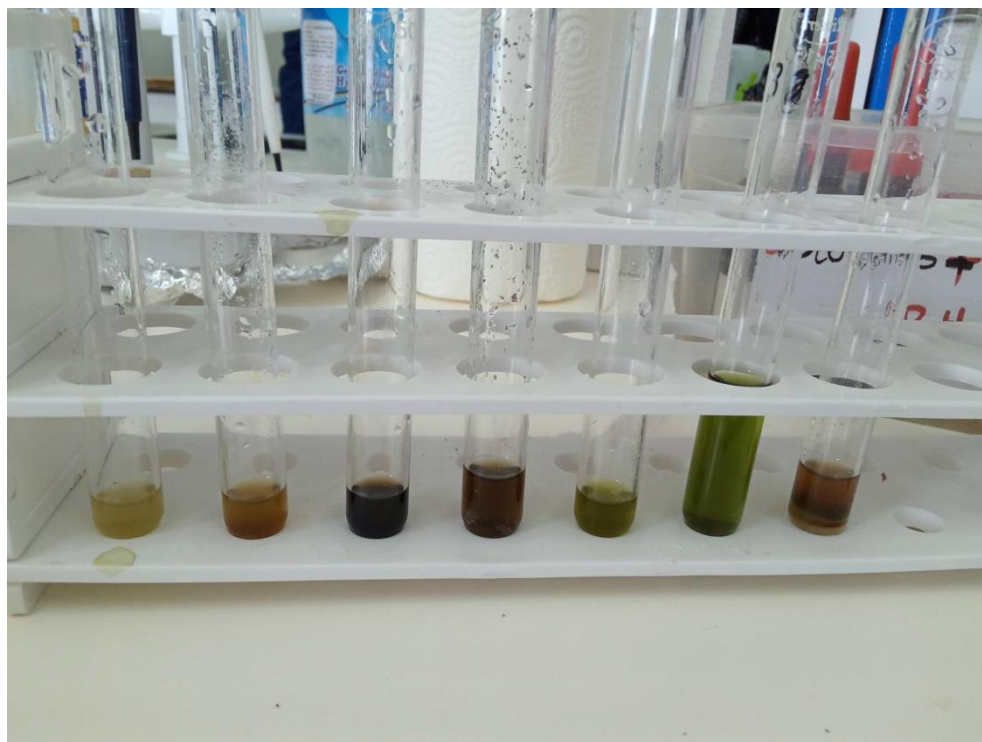
- OF CONDITIONING DIET AND CONDITIONING PERIOD ON NEURAL RESPONSIVENESS AND SELECTION BEHAVIOUR. 162, 73-90.
47. Maataoui, B.S., Hmyene, A., Hilali S., 2006 : Activités anti-radicalaires d'extraits de jus de fruits du figuier de barbarie (*Opuntia ficus indica*). *Lebanese Science Journal* ; 7(1): 3-8.
48. Mahmoudi Y., 1987 : La phytothérapie par les plantes communes en Algérie. Blida, Edition ANES Palais du livre : 01-105.
49. Marxen K., Vanselow K.H, Lippermeir S., Hintze R., Ruser A., Hansen U.P. 2007: Determination of DPPH radical oxidation caused by methanolic extracts of some microalgal Species by Linear regression analysis of spectrophotometric measurements. *Sensors*, 7 : 2080-2095.
50. Merzouki, A., Ed-derfoufi, F., Molero Mesa, J., 2000. Contribution to the knowledge of Rifian traditional medicine. II: folk medicine in Ksar Lakbir district (NW Morocco). *Fitoterapia* 71, 278–307. [https://doi.org/10.1016/S0367-326X\(00\)00139-8](https://doi.org/10.1016/S0367-326X(00)00139-8).
51. Nickavar B., Alinaghi A., et Kamalinejad M., 2008: Evaluation of the antioxidant properties of five *Mentha* species. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*; 7(3):203- 209.
52. Osasenaga Macdonald Ighodaro, Abiola Mohammed Adeosun, Oluseyi Adeboye Akinloye, Alloxan-induced diabetes, a common model for evaluating the glycemic-control potential of therapeutic compounds and plants extracts in experimental studies, *Medicina*, Volume 53, Issue 6, 2017, Pages 365 374, ISSN 1010-660X, <https://doi.org/10.1016/j.medici.2018.02.001>.
53. Parejo I., Viladomat F., Bastida J., 2003 : Investigation of bolivian plant extracts for their radical scavenging activity and antioxidant activity. *Life Sci*; 73 :1667-81.
54. Saborio P, Tipton GA, Chan JC, « Diabetes insipidus », *Pediatr Rev*, vol. 21, no 4, 2000, p. 122-9; quiz 129.
55. Scherer R., Goboy H.T., 2009: antioxidant activity index (AAI) by the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method. *Food Chemistry*; 112:654-658.
56. Schwartz D., 1992 : Méthodes statistiques à l'usage des médecins et des biologistes. 3^{ème} Ed. Paris ; Flammarion médecine-Sciences.
57. Taleb-Senoucia D., Ghomaria H., Kroufa D., Bouderbala S., Prost J., Lacaille- Dubois M.A., Bouchenaka M., 2009: Antioxidant effect of *Ajuga iva* aqueous extract in streptozotocin-induced diabetic rats. *Phytomedicine*; 16: 623–631.

Référence et bibliographique

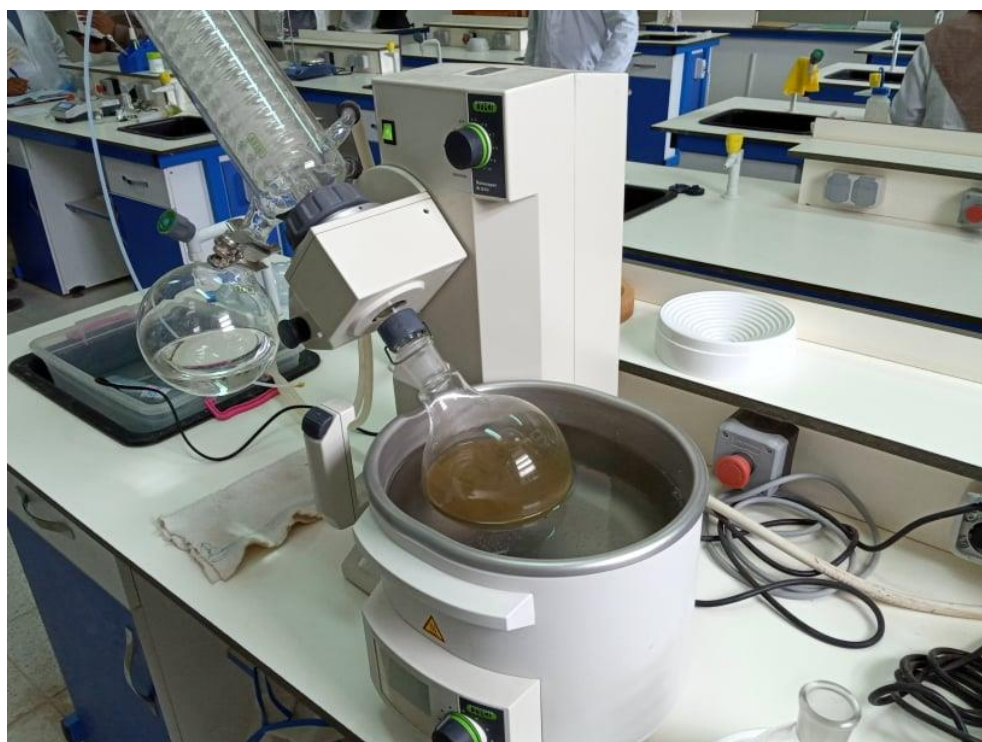
58. Tanko Y ., Yerima M., Mahdi MA., Yaro AH., Musa KY., Mohammed A. Hypoglycemic Activity of Methanolic Stem Bark of *Adansonia digitata* Extract on Blood Glucose Levels of Streptozocin-Induced Diabetic Wistar Rats. *International Journal of Applied Research in Natural Products*. 2008., 1(2) : 32-36.
59. These de Doctorat. Université de Bamako.2009 .
60. Trease G.E., Evans W.C., 1989: A textbook of Pharmacognosy (13th edition) Bacilluere Tinal Ltd, London.
61. Trease G.E., Evans W.C., 1989: A textbook of Pharmacognosy (13th edition) Bacilluere Tinal Ltd, London.
62. Wattiez A ., Dupuis A ., Courteix C . Le rat STZ-diabétique : modèle adapté à l'étude de la neuropathie diabétique douloureuse . *Douleur analg*. 2012 ; 25:38-45 .
63. Weckbecker, G., & Cory, J. G. (1988). Ribonucleotide reductase activity and growth of glutathione-depleted mouse leukemia L1210 cells in vitro. *Cancer Letters*, 40(3), 257–264. Doi : 10.1016/0304-3835(88)90084-5..
64. Wessner M., Champion B., Girault J.P., Kaouadji N., Saidi B., Laffont R. 1992 :Ecdysteroids from *Ajuga iva*. *Phytochemistry* ; 31: 3785-3788.
65. Yagi, K. (1976). A simple fluorometric assay for lipoperoxide in blood plasma. *Biochemical Medicine*, 15(2), 212–216. doi : 10.1016/0006-2944(76)90049-1.
66. Youbi, A., Ouahidi, I., Mansouri, L., Daoudi, A., Bousta, D., 2016. Ethnopharmacological survey of plants used for immunological diseases in four regions of Morocco. *Eur. J. Med. Plants* 13, 1–24. <https://doi.org/10.9734/EJMP/2016/12946>.
67. Zhishen J., Mengcheng T., Jianming W., 1999: The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry*; 64 : 555 – 559.



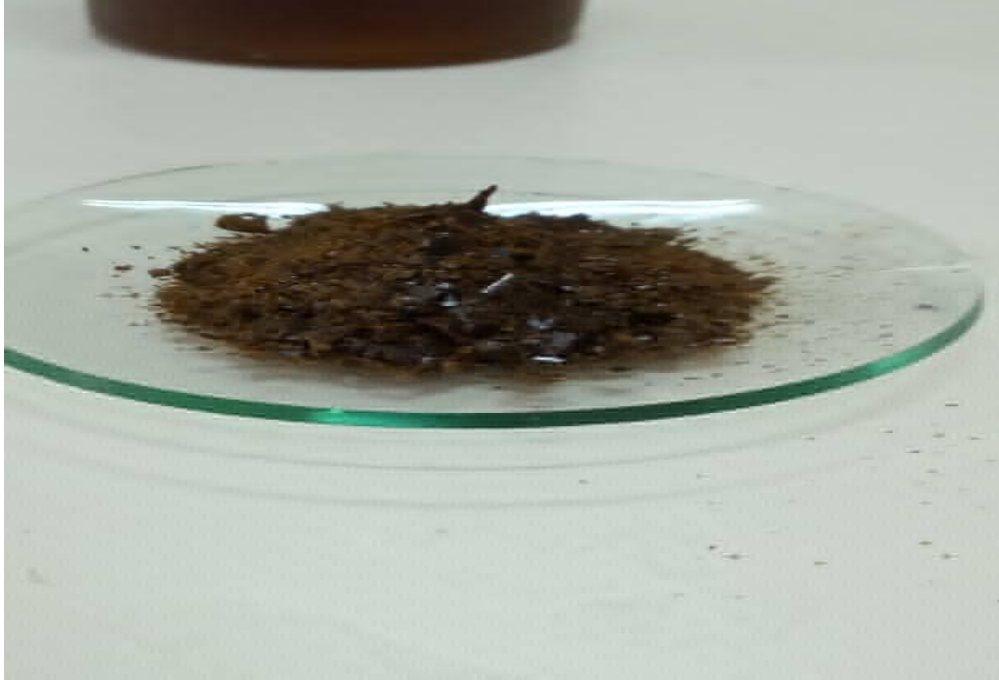
ANNEXES



Screening phytochimique des extraits d'*Ajuga iva*.



L'appareil de rotavapor utilise pour le séchage.



Les extraits sous forme poudre (sèche).



les extraits sous forme liquide après filtration.

ANNEXES



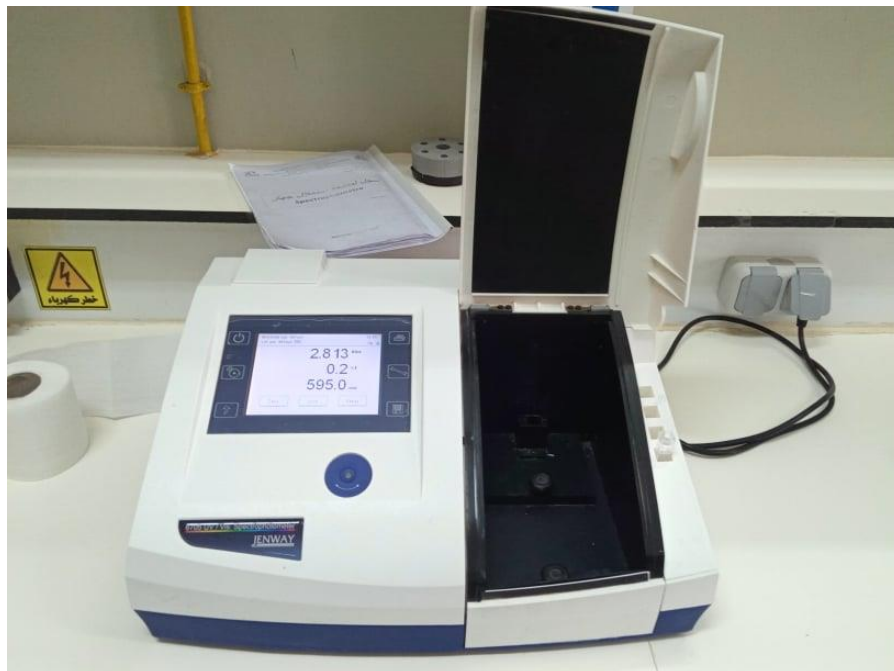
Les balances utilisées dans les mesures différents(la gauche mesure en gramme pour les quantités notable et le droit pour les mesures sensibles en milligrammes)



L'appareil vortex pour la mixtion des solution.



Le centrevigieuse.



L'appareil de spectrophotomètre.



L'appareil de glucomètre (one call extra) pour la mesure de taux de glycémie.



Au cote gauche les solutions utilisées pour la coloration des coupes histologiques pancréatiques par l'Hématoxyline et Eosine. Et a la cote droit l'installation (microscope optique avec CImage) utilise pour les observations et analyses histologiques.