



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

**Evaluation de l'activité hypoglycémiante de quelques
plantes médicinales de la région du Souf**

Présenté par :

M^{elle} BEDDAZEKRI Mabrouka

M^{me} GHEMAM ALI Mebarka

Devant le jury composé de:

Présidente : M^{me} RAMDANE F

M.A.A, Université d'El Oued.

Examineur : Mr SAADI H

M.A.A, Université d'El Oued.

Promoteur : Mr BOUALI N

M.A.A, Université d'El Oued.

- Année universitaire 2016/2017-

Dédicace

*Je dédie ce modeste travail à mon
Très chère père ELAID
qui m'a toujours soutenu, et qu'a été
toujours présent pour
moi*

*A la plus chère au monde
ma mère SAIDA qui a
toujours m'encouragé durant
mes études*

*A mon camarade **Imad***

A ma sœurs Habiba , Arbía, Fatima, Karima

A mes frères

Mahmoud, Djabari, Mabrouk

*A mes neveu gâtés ACHOIK, ILYAS, BACHIR, ABD
ELFATAH, SANA*

*A ma famille **BEDDA-ZEKRI** et **DEHTEB***

A toutes mes amies et surtout

Khadidja, Hidi, MEBARKA

A toute personne qui me connaît

Mabrouka

Dédicace

Je dédie ce modeste travail

*A ma source De tendresse, l'être la plus chère dans le monde,
la femme*

La plus patiente

Ma chère mère

A mon père Elhadi

A mon marie Naceret mon fille Mariem

A mes chères sœurs

Warda, Samira, Fatma, safa et Marwa

*A mes frères et le mère et les sœurs et les frères de mon
marie mes*

cousins et tous Mons aimes

Avec tous l'amour

Mebaraka

Remerciements

«La connaissance est la seule chose qui s'accroît lorsqu'on la partage».

Avant toute chose, nous remercions **Dieu**, le tout puissant, pour nos avoir donné la force et la patience.

Nous remercions très chaleureusement Monsieur **BOUALI Nourredine**, notre directeur de mémoire. Merci pour votre disponibilité et votre encadrement efficace. Merci pour votre compréhension, votre grande gentillesse et pour la confiance que vous nous aviez témoignée tout au long de cette étude. Malgré vos importantes obligations, vous avez toujours été présent pour orienter notre recherche dans la bonne direction et ceci a été fondamental dans la bonne réalisation de cet mémoire. Soyez assurés de nos profonde gratitude.

Nous exprimons nos vifs remerciements à Monsieur **DEROUICHE S**, enseignant à la Faculté des Sciences de la Nature et de la vie pour son aide et ses conseils tout au long de la réalisation de ce travail.

Nous adressons nos plus sincères remerciements
M^{lle} SANA, responsable du laboratoire de la Faculté des Sciences de la Nature et de la vie à
L'université d'Echahid Hamma Lakhdar EL OUED.

Nos sincères et respectueux remerciements vont également à **Mr. SAADI Hamza**, Maître assistant à l'université Echahid Hamma Lakhdar d'el Oued qui nous a honoré en acceptant d'être examinateur de ce jury et pour ses précieux conseils.

Nous exprimons nos vifs remerciements à **M^{me} RAMDANE Farah**, Maître assistante à l'université Echahid Hamma Lakhdar d'el Oued de nos avoir accordé le privilège de participer à ce jury en qualité présidente avec soin ce mémoire. Tout l'honneur lui en revient

Nous exprimons nos remerciements aussi à **Mr. BELEHBIB** pour son aide dans la réalisation de ce travail.

Nous remercions aussi tous ceux qui nous ont aidé de près ou de loin dans la réalisation de ce travail.

**MABROUKA;
MEBARKA**

Résumé

Résumé

Notre travail s'inscrit dans le cadre d'évaluer l'activités antioxydantes et l'effet hypoglycémique et hypolipidémique des extraits aqueux des parties aériennes d'*Ajuga iva* et de *Matricaria pubescens*, sur un modèle de rattes *Wistar* rendu diabétique par injection intrapéritonéale d'une dose unique de 120 mg/kg pc d'alloxane. L'étude réalisée sur 16 rattes de la souche *Wistar* albinos répartis en quatre groupe soit, groupe témoin sain (TS), groupe diabétique non traité (DNT), groupe diabétique traité par gavage gastrique de 300mg/kg d'*A.iva* (DA+A) et groupe diabétique traité par 800mg/kg de *M.pubescens* (DA+M) pendant 15 jours. Le screening phytochimique est essentiel afin d'identifier les composés existant dans l'extrait aqueux. La teneur en phénols totaux, tanins condensé et en flavonoïdes des différents extraits a été déterminée par des méthodes de Folin-Ciocalteu, chlorure d'aluminium. L'activité antioxydant des extraits issus des espèce *A. iva* et *M.pubescens* selon la méthode du piégeage du radical libre DPPH a montré que l'extrait aqueux possède une activité antioxydant remarquable de l'ordre 0,22mg/ml et 0,59mg/ml. l'administration de traitement par gavage deux fois par jour pendant deux semaine a révélée une augmentation de poids corporel et une diminution remarquable de la glycémie de l'ordre (75.89 %) et (71.86 %) d'*A.iva* et *M. pubescens*, à la fin de l'expérimentation. Parallèlement, il a été remarquée d'une façon générale que les deux extraits provoque une amélioration de profil lipidique soit (29.61%, 27.17% cholésterol), (22.02%, 8.03% triglycerides) et (9.47%, 20.58% LDL). D'autre part l'administration des extraits aqueux ont également amélioré le statut de stress oxydant dans les tissus étudiés. En effet, la diminution des concentrations de l'MDA et augmentation du taux de GSH, l'activité de GPx tissulaire et l'activité de la catalase dans les organes des rattes traités. Finalement, l'examen histologique du tissu pancréatique a révélé une amélioration des cellules β pancréatique. En conclusion, la présente étude suggère que l'*Ajuga iva* et *Matricaria pubescens* a un effet bénéfique contre le développement du diabète et ces complications.

Mots clés: *Ajuga iva*, *Matricaria pubescens*, effet hypoglycémiant, effet hypolipidémique, antioxydants, tissu pancréatique, stress oxydatif.

ملخص

يهدف عملنا إلى تقييم النشاطية المضادة للأكسدة من جهة و أثر تخفيض كل من نسبة السكر و الدهون في الدم من جهة أخرى للمستخلصين المائين لكل من نبات الشندقورة و القرطوفة و التي طبقت على جرذان من نوع ويستار ،صارت مريضه بالسكر عن طريق حقنها بجرعة واحدة من الألوكسان 120 ملغ/كغ. أجريت هذه الدراسة على 16 جرذ قسمت إلى أربعة أفواج كل منها مكون من أربعة جرذان؛ الفوج الأول شاهد أو سليم، الفوج الثاني مريض بالسكري و غير معالج أما الفوج الثالث أمراض بالسكري و عولج بالمستخلص المائي لنبته الشندقورة 300 ملغ/كغ و الفوج الرابع أمراض كذلك بالسكري و عولج بالمستخلص المائي لنبات القرطوفة 800 ملغ/كغ لمدة 15 يوما. توصلنا من خلال الدراسة الكيميونباتية للمستخلص المائي لهاتين النباتين وذلك بإتباع طريقة Folincio calteu و كلورير الصوديوم. كما تم تحديد النشاطية المضادة للأكسدة لمستخلص النباتين عن طريق حصر الجذور الحرة DPPH حيث أن هذين النباتين لديهما تأثير على النشاطية بنسب 0.22 ملغ/كغ و 0.59 ملغ/كغ على التوالي. المعالجة بالمستخلص المائي مرتين في اليوم لمدة 15 يوما أدت إلى زيادة الوزن الجسمي و تعديل نسبة السكر في الدم 75.89% و 71.86% لكل من الشندقورة و القرطوفه ،كما لاحظنا أن المستخلصين أديا إلى تحسين نشاطية الانزيمات في الكبد (TGO;TGP;ALP) والدهون(،22.02% 8.03% للدهون الثلاثيه)، (29.62% 27.17% الكولسترول) (9.47% 20.58% LDL). كما أدى كذلك الى تحسين معايير الاجهاد التأكسدي و نقصان تركيز بيروكسيد الدهون MDA و زيادة على مستوى مضادات الاكسدة الانزيميه (GPx, CAT, و غير انزيميه (GSH) على مستوى الانسجه المدروسة. أظهر الفحص التشريحي لنسيج البنكرياس تحسن على مستوى الخلايا β للبنكرياس. وفي الختام وتوصلنا من خلال هذه الدراسة إلى أن نبات الشندقورة و القرطوفة لهما تأثير في تخفيض نسبة السكر و الدهون في الدم كما أديا إلى الحد من تطور مضاعفات مرض السكري.

الكلمات المفتاحية : الشندقورة، القرطوفة، نسبة السكر في الدم، نسبة الدهون في الدم ، المضادة للأكسدة، نسيج البنكرياس، الإجهاد التأكسدي.

SOMMAIRE

SOMMAIRE

Dédicaces	
Remerciements	
Résumé	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
Introduction générale	01
PREMIÈRE PARTIE : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE	
Chapitre I : Généralité sur le diabète	
I.1.Définition du diabète.....	03
I.2.Épidémiologie.....	03
I.3.Classification.....	03
I.3.1.Le diabète de type 1 (anciennement insulino-dépendant DID).....	04
I.3.2.Diabète de type 2 (anciennement le diabète non insulino-dépendant DNID).....	04
I.3.2.1.Mécanismes de l'insulinorésistance.....	04
I.3.2.2.Mécanismes de l'insulinodéficience.....	05
I.4. Le pancréas.....	05
I.5. L'insuline.....	06
I.5.1. La biosynthèse de l'insuline.....	07
I.5.2. La sécrétion de l'insuline.....	08
I.5.3.Mécanisme d'action de l'insuline.....	08
I.6.Complications liées au diabète.....	10
I.6.1. Complications aiguës.....	10
I.6.1.1.Hyperglycémie.....	10
I.6.1.2.Hypoglycémie.....	10
I.6.2.Complications chroniques.....	10
I.6.2.1.Microangiopathie.....	10
I.6.2.2. Macroangiopathie.....	11
I.6.2.3. Neuropathie.....	12
I.2.6.4. Retinopathie.....	12

I.7. Facteurs de risque du diabète.....	12
I.7.1.Facteurs génétiques.....	12
I.7.2.Facteurs environnementaux.....	13
I.7.2.1.Mode de vie.....	13
I.7.2.2.Malnutrition in utero.....	13
I.7.2.3. Grossesse.....	13
Chapitre II : Stress oxydatif	
II.1. Définition du stress oxydatif.....	14
II.2. Radicaux libers.....	14
II.3. Origine des radicaux libres.....	15
II.3.1. Origine endogène.....	15
II.3.2. Origine endogène.....	16
II.4. Les cibles biologiques du stress oxydant.....	16
II.4.1. L'oxydation des lipides.....	16
II.4.2. L'oxydation des protéines.....	17
II.4.3. L'oxydation des sucres.....	17
II.4.4. L'oxydation d'ADN.....	17
II.4.5. Oxydation des lipoprotéines.....	18
II.5. Rôles biologique des radicaux libres.....	18
II. 6. Les conséquences du stress oxydant.....	18
II.7. Les maladies liées au stress oxydatif.....	18
II.8. Le diabète et le stress oxydatif.....	19
II.9. Définition des antioxydants et l'activité antioxydant.....	20
II.10. Mécanismes d'action des antioxydants.....	20
II.11. Classification des antioxydantes.....	21
II.11.1.Classification des antioxydantes par rapport à leur mécanisme d'action.....	21
II.11.1.1. Groupe I (les antioxydants primaires).....	21
II.11.1.2. Groupe II (les antioxydants secondaires).....	22
II.11.2. Classification des antioxydants suivant la nature chimique.....	23
II.11.2.1. Les antioxydants naturels.....	23
II.11.2.2. Les antioxydants synthétiques.....	26

II.12.Efficacité des antioxydants.....	27
Chapitre III : Les plantes médicinales	
III.1.Médecine traditionnelle.....	28
III.1.1.Définition.....	28
III.1.2. Phytothérapie.....	28
III.1.3. les plantes médicinales.....	28
III.1.4. Définition des principes actifs.....	29
III.1.5. plantes antidiabétique.....	29
III.1.6. Modes d’actions des plantes antidiabétiques.....	29
III.2. Présentation des les plantes étudiées.....	30
III.2.1. <i>Ajuga iva L.</i>	30
III.2.1.1. La famille des lamiaceae.....	30
III.2.1.2. Description botanique de la plante.....	31
III.2.1.3. Classification.....	31
III.2.1.4. Distribution géographique et habitat.....	32
III.2.1.5. Composition chimique de la plante.....	32
III.2.1.6. Utilisation traditionnelle de la plante.....	32
III.2.2. <i>Matricaria pubescens</i>	33
III.2.2.1. La famille des Astéracées.....	33
III.2.2.2. Description botanique de la plante.....	33
III.2.2.3. Classification.....	33
III.2.2.4. Répartition géographique et caractéristiques botaniques.....	34
III.2.2.5. Composition chimique de <i>Matricaria pubescens</i> (Desf.).....	34
III.2.2.6. Domaines d'utilisation de mtricaraia <i>pubescens</i> (Desf.).....	36
DEUXIEME PARTIE : MATERIELS ET METHODES	
I. Matériels	37
I.1. Matériels végétales <i>Ajuga iva</i> et <i>Matricaria pubescens</i>	37
I.1.1. Récolte d' <i>Ajuga iva</i> et <i>Matricaria pubescens</i>	37
I.2. Matériel Animal.....	37
I.2.1. Enceinte d’élevage.....	38
I.2.2. Le régime alimentaire.....	38

I.3. Etude l'effet d'extrait d' <i>Ajuga iva</i> et de <i>Matricaria pubescens</i>	39
I.3.1. Induction du diabète.....	39
I.3.2. Traitement des animaux.....	39
I.3.3. Les groupes des animaux.....	39
I.3.4. Suivi des animaux durant de traitement.....	41
I.4. Produits chimiques.....	41
I.5. Matériels de laboratoires.....	41
II. Méthodes	42
II.1. Préparation des extraits aqueux.....	42
II.2. Calcul des rendements en extrait sec.....	44
II.3. Teste photochimique.....	44
II.4. Détermination des teneurs en principes.....	45
II.4.1. Dosage des polyphénols totaux.....	45
II.4.2. Dosage des flavonoïde.....	46
II.4.3. Dosage des tanins condensés.....	46
II.6. Détermination de l'activité anti-radicalaire des extraits par la méthode de DPPH (effet scavenger).....	46
II.7. Préparation des prélèvements et préparation du plasma.....	48
II.8. Préparation des échantillons des coupes histologiques.....	48
II.9. Méthode de dosage des paramètres biochimiques sériques.....	49
II.9.1. Méthode de dosage des paramètres de métabolisme et lipides.....	49
II.9.1.1. Méthode de dosage des triglycéride.....	49
II.9.1.2. Méthode de dosage du cholestérol total.....	50
II.9.1.3. Méthode de dosage du cholestérol-HDL.....	51
II.9.1.4. Méthode de calcul de la concentration de cholestérol LDL.....	51
II.9.2. Méthode de dosage des paramètres de métabolisme protéique.....	51
II.9.2.1. Méthode de dosage de l'urée sérique.....	51
II.9.2.2. Méthode de dosage de créatinine.....	52
II.9.2.3. Méthode de dosage des protéines totales sériques.....	52
II.9.3. Méthode de dosage des paramètres de l'activité enzymatique.....	52
II.9.3.1. Méthode de dosage de l'activité de l'aspartate aminotransférase (ASAT) et	52

l'alanine aminotransférase (ALAT).....	
II.9.3.2. Méthode de dosage de l'activité de phosphatase alcaline (ALP).....	52
II.10. Dosage des paramètres du stress oxydant.....	53
II.10.1. Préparation de l'homogénat des organes.....	53
II.10.2. Dosages des protéines tissulaires.....	53
II.10.3. Dosage du malondialdéhyde (MDA).....	54
II.10.4. Dosage du Glutathion réduit (GSH).....	54
II.10.5. Dosage de l'activité enzymatique de la catalase (CAT).....	55
II.10.6. Dosage de l'activité enzymatique de la (GSH-Px).....	56
II.11. Méthode d'analyse statistique.....	57
TROISIEME PARTIE : RESULTATS ET DISCUSSION	
I. Résultats	58
I.1. Tests Phytochimiques des plantes (partie aérienne)	58
I.2. Analyse quantitative des composés phénoliques.....	59
I.2.1. Teneurs en polyphénols totaux (PPT).....	59
I.2.2. Teneurs en flavonoïde total (FVT).....	60
I.2.3. Teneurs en tannins condensé.....	61
I.3. Activité anti-radicalaire d'extrait aqueux d' <i>Ajuga iva</i> et de <i>Matricaria pubescens</i>	62
I.4. Evaluation des paramètres avant sacrifice.....	63
I.4.1. Etude pondérale.....	63
I.4.2. Evolution de la glycémie.....	65
I.5. Evaluation des paramètres après sacrifice.....	67
I.5.1. Variations du poids relatif des organes.....	67
I.5.2. L'analyse des paramètres biochimiques.....	69
I.5.2.1. Effet du traitement sur la glycémie sérique et le profil lipidique.....	69
I.5.2.2. Effet du traitement sur la protéinémie, la créatinine et l'urée.....	72
I.5.2.3. Effet du traitement sur l'activité enzymatique.....	74
I.5.3. Détermination du statut oxydant/antioxydant.....	76
I.5.3.1. Variation des concentrations en malondialdéhyde (MDA).....	76
I.5.3.2. Variation de concentration du Glutathion réduit (GSH).....	78
I.5.3.3. Variation de l'activité enzymatique de la catalase (CAT).....	80
I.5.3.4. Variation de l'activité enzymatique de glutathion peroxydase (GPx).....	82

I.6. Les coupes histologiques.....	84
II. Discussion.....	86
Conclusion générale et perspective.....	94
Référence bibliographique.....	96
Annexe.....	109
Résumé et mots-clés	

LISTE DES FIGURES

LISTE DES FIGURES

Numéro	Titre	page
Figure 1	Tissu pancréatique	6
Figure 2	Structure de l'insuline	7
Figure 3	Mécanisme de libération de l'insuline de la cellule β	8
Figure 4	Mécanisme biochimique de l'action de l'insuline	9
Figure 5	Les complications cardiovasculaires liées au diabète	11
Figure 6	Mécanisme de la peroxydation lipidique	17
Figure 7	ROS et Maladies	19
Figure 8	Régulation de la production d'espèces réactives de l'oxygène par les systèmes de défenses antioxydants	20
Figure 9	Les systèmes de défense contre les radicaux libres	22
Figure 10	Schématisation des molécules intervenant dans les protections cellulaires	24
Figure 11	Structure du glutathion	26
Figure 12	Structures chimiques des quelques antioxydants synthétiques	27
Figure 13	<i>Ajuga iva</i> (A) la plante entière, (B) la fleur, (C) les feuillets fleur	31
Figure 14	Espèce <i>Matricaria pubescens</i>	34
Figure 15	La plante d' <i>Ajuga iva</i> (photo originale)	37
Figure 16	La plante <i>Matricaria pubescens</i> (photo originale)	37
Figure 17	Rats de la souche <i>Wistar Albinos</i> (photo originale)	38
Figure 18	Protocole expérimentale	40
Figure 19	Protocole de préparation de l'extrait aqueux d' <i>Ajuga iva</i>	42
Figure 20	Protocole de préparation de l'extrait aqueux de la <i>Matricaria pubescens</i>	43
Figure 21	Forme réduite et libre du DPPH	47
Figure 22	Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols	59
Figure 23	Courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonoïdes	60
Figure 24	Courbe d'étalonnage de l'acide gallique	61
Figure 25	Courbe d'inhibition d'acide ascorbique	62
Figure 26	Effet d'extrait d' <i>Ajuga</i> sur le radical DPPH	63
Figure 27	Effet d'extrait de <i>Mtricaraia</i> sur radical DPPH	63

Figure 28	Variation du poids corporel chez les rats TS, DNT, DT+A et DT+M	65
Figure 29	Variation de la glycémie chez les lots de rats TS,DNT, DT+A et DNT+M	67
Figure 30	Variation du poids relatifs des organes (foie ,rein, cœur, pancréas) chez les différentes groupes expérimentaux	69
Figure 31	Variation des concentrations des paramètres biochimiques chez les différents groupes expérimentaux Glucose (mg/l), triglycerides (mg/l), cholestérol total (mg/l), LDL (mg/l), HDL(mg/l).	72
Figure 32	Variation des concentrations sérique de l'urée, la créatinine et les protéines totales chez les différents groupes expérimentaux.	74
Figure 33	Variation de concentration d'activité sérique des transaminases TGO et TGP, et le α amylase, et la phosphatase alcaline, chez les différents groupes expérimentaux.	75
Figure 34	Concentrations tissulaires de malondialdéhyde chez les différentes groupe expérimentale pendant 15 jours du traitement.	77
Figure 35	Concentrations de glutathion réduit tissulaires chez les différents groupes expérimentaux pendant 15 jours du traitement.	79
Figure 36	Variation de l'activité de la catalase chez les différents groupes expérimentaux pendant 15 jours de traitement.	81
Figure 37	Concentrations de glutathion peroxydase chez les différents groupes expérimentaux pendant 15 jours du traitement	83
Figure38	Coupes histologiques du pancréas du rat témoin sain: (A) couleur HEx10, (B) couleur HEx40 (C) couleur HEx100 (Photo original,2017).	84
Figure 39	Coupes histologiques du pancréas du rat témoin diabétique non traité: (A) couleur HEx10, (B) couleur HEx40 (C) couleur HEx100 (Photo original,2017).	84
Figure 40	Coupes histologiques du pancréas du rat diabétique traité par <i>Ajuga iva</i> : (A) couleur HEx10, (B) couleur HEx40 (C) couleur HEx100 (Photo original,2017)	85
Figure41	Coupes histologiques du pancréas du rat diabétique traité par <i>Matricaria pubescens</i> : : (A) couleur HEx10, (B) couleur HEx40 (C) couleur HEx100 (Photo original,2017).	85

LISTE DES TABLEAUX

LISTE DES TABLEAUX

Numéro	Titre	Page
Tableau 1	Nature des différentes espèces radicalaires impliquées dans le stress oxydant	15
Tableau 2	Composition de régime alimentaire	38
Tableau 3	Le rendement de l'extrait aqueux d' <i>Ajuga iva</i> et de <i>Matricaria pubescens</i>	58
Tableau 4	Le screening phytochimique réalisé sur la partie aérienne d' <i>Ajuga iva</i> et du <i>Matricaria pubescens</i>	58
Tableau 5	Contenu en polyphénols totaux dans les deux extraits aqueux	60
Tableau 6	Contenu en flavonoïdes dans l'extrait d' <i>Ajuga iva</i> et de <i>Matricaria pubescens</i>	61
Tableau 7	Contenu en tannins dans l'extrait d' <i>Ajuga iva</i> et de <i>Matricaria pubescens</i>	61
Tableau 8	Valeurs des IC50 du DPPH pour les extraits aqueux des deux plantes	63
Tableau 9	Variations du poids corporel des quatre lots TS, DNT, DT+A,DT+M	64
Tableau 10	Variations de la glycémie des lots TS, DNT, DNT, DT+A, DT+M	65
Tableau 11	Variation du poids relatif des organes(Pancréas, Foie, Cœur, Rein) des lots TS,DNT, RDT+A,DT+M	67
Tableau 12	Variation des paramètres biochimiques chez les différents groupes expérimentaux Glucose (mg/dl),triglycerides (mg/dl),cholesterol total (mg/dl), LDL (mg/dl), HDL(mg/dl).	70
Tableau 13	Variation des concentrations sériques de l'urée(mg/dl), la créatinine(mg/dl) et les protéines totales(mg/dl)chez les différents groupes expérimentaux.	72
Tableau 14	Variation de concentration d'activités sérique des transaminases TGO (UI/I) et TGP (UI/I), de l'amylase (UI/I), et de la phosphatase alcaline (UI/I), chez les différents groupes expérimentaux.	74

Tableau 15	Concentration tissulaires de malondialdéhyde (MDA)chez les groupes témoins et le groupe diabétique et les groupes traités pendant 15 jours du traitement.	76
Tableau 16	Concentration de glutathion réduit tissulaires chez les groupes témoins et le groupe diabétique et les groupes traités pendant 15 jours du traitement	78
Tableau 17	Concentration de l'activité de catalase chez les groupes témoins et le groupe diabétique et les groupes traités pendant 15 jours du traitement.	81
Tableau 18	Concentration de l'activité tissulaire de glutathion peroxydase chez le groupe témoin et les groupes expérimentaux pendant 15 jours du traitement.	82

LISTE DES ABREVIATIONS

LISTE DES ABREVIATION

A.iva: *Ajuga iva*.

ADN: *Acide désoxyribonucléique*.

ADP: Adénosine diphosphate.

AG: Acide gallique.

AG: Acides gras.

AGPI: Acides gras poly-insaturés.

ALAT: Alanine aminotransférase.

AlCl₃: Aluminum chloride

ARNm: Acide ribonucléique message.

ASAT: Aspartate aminotransférase.

ATP: Adénosine-5'-triphosphate.

BHA: Butylhydroxyanisol.

BHT: Butylhydroxtoluene.

CAP: Centre antipoison d'Alger.

CAT: Catalase.

DID: Diabète insulino-dépendant.

DL50: Dose létale 50

DNID : Diabète non insulino-dépendant.

DPPH: 2,2-Diphényle-1-picrylhydrazyl.

DTNB: Acide dithio-bis2-nitrobenzoïque

EC: Effect concentration.

EC: Epicatéchine

EOR: Espèces oxygénées radicalaires.

ERA: Espèces Réactives d'azote.

ERO: Espèces réactives de l'oxygène.

ES: Ecart-types.

FID: Fédération internationale du diabète.

g/l : gramme par litre.

GD: Diabète gestationnel.

GK: Glucokinase.

GLDH: Glutamate Déshydrogénase.

- GPDHm**: Glycérol phosphate déshydrogénase mitochondriale.
- GPx**: Glutathion peroxydase.
- GR**: Glutathion réductase.
- GRB2**: Growth factor receptorbindingprotein 2.
- GSH**: Glutathione réduit.
- GSHPx**: Glutathion peroxydase.
- GSSG**: Glutathionoxydé.
- GTF** : Glucose tolérance factor.
- H₂O** : Eau distillée.
- H₂O₂**: Peroxyde d'hydrogène
- H₂SO₄**: Acide Sulfurique.
- HDL**: High density lipoproteins (lipoprotéines de haute densité).
- HNE**: 4-Hydroxynonéнал.
- IC₅₀**: Concentration inhibitrice de 50% (Inhibitory Concentration of 50%).
- LDL**: Low density lipoproteins
- M. pubescens***: *Matricaria pubescens*
- MDA**: Malondialdéhyde
- Mmol/l**: Millimole par litre
- Mn**: Manganèse
- mTOR**: mammalian Target of rapamycin.
- NAD**: Nicotinamide Adénine Dinucléotide NADH: Nicotinamide Adénine Dinucléotide.
- NADPH**: Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate.
- NO**: L'oxyde d'azote.
- NO₂**: dioxyde d'azote .
- O.M.S** : organisation mondiale de la santé.
- O₂**: Oxygène.
- OH**: anions superoxydes.
- OH•** :Radical hydroxyle O₂ Oxygène singulet.
- PC**: Poids corporel .
- PC**: Pyruvate carboxylase.
- PDH**: Pyruvate déshydrogénase.
- PK1**:3-Phosphoinositide-dependent proteine kinase1.
- PI3K**: Phosphatidyl inositol 3-kinase.
- PP**: Polypeptide pancréatique.

PPT: Polyphénols totaux.

RE: Réticulum endoplasmique.

ROS: Reactive Oxygen Species (espèces réactive de l'oxygène).

SOD: Superoxyde dismutase.

TBA : Thiobarbituricacid: L'acide thiobarbiturique

TCA : Trichloroacétique

TDNT: lot témoin diabétique non traité.

TG: Triglycéride.

TGO: Transaminase glutamique oxaloacétique.

TGP: Transaminase glutamique pyruvique.

TS: Témoin sain.

UV: Ultra violet.

Zn: Zinc.

INTRODUCTION
Générale

Introduction générale

Depuis quelques années, le monde des sciences biologiques et médicales est envahi par un nouveau concept, celui du « stress oxydant », c'est-à-dire d'une situation où la cellule ne contrôle plus la présence excessive des radicaux oxygénés toxiques (Barouki, 2006).

Actuellement, il est bien admis que même si un stress oxydant n'est pas une maladie en soi, il est potentiellement impliqué dans de nombreuses maladies comme facteur déclenchant ou associé à des complications lors de leur évolution comme dans le cas du diabète (Guerci *et al.*, 2001).

Ce dernier est une maladie complexe tant par ses mécanismes physiopathologiques que par son déterminisme génétique ainsi que la genèse de ses complications. C'est un groupe hétérogène de maladies métaboliques dont la caractéristique principale est une hyperglycémie résultant d'un défaut de sécrétion, d'action de l'insuline ou de ces deux anomalies associées (OMS, 2002a). En plus des complications aiguës du diabète (hyperglycémie, acidocétose et/ou syndrome hyperosmolaire), l'hyperglycémie chronique provoque des complications dégénératives plus ou moins graves touchant le cœur, les vaisseaux, les yeux, les reins et les nerfs (Capet *et al.*, 1999).

La prise en charge des diabétiques dans les pays en voie de développement est une problématique, car d'une part, le traitement clinique est extrêmement coûteux et d'autre part le prix des médicaments conventionnels est hors de portée des populations à revenu modéré. Selon l'organisation mondiale de la santé (OMS), près de 80% des populations des pays en voie de développement de la région d'Afrique ont recours à la médecine traditionnelle (Farnsworth *et al.*, 1985; OMS, 2002).

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'activités hypoglycémiantes et antioxydantes de deux plantes médicinales algériennes appartenant à deux familles, Lamiaceae et Asteraceae, pendant le diabète sucré provoqué.

- La première espèce *Ajuga reptans*, du genre *Ajuga* est largement distribuée dans les régions arides d'Europe, d'Asie, d'Afrique et d'Australie (Boudjelal, 2012).
- La deuxième du genre *Matricaria*. *Matricaria inodora* est une espèce endémique d'Afrique du Nord (Sahara Septentrional), connue pour son utilisation en médecine traditionnelle (Quezel et Santa, 1963). Cette dernière n'a jamais été étudiée en Algérie comme plante antidiabétique, la raison pour laquelle nous avons fixé nos objectifs sur l'étude et la recherche de l'effet antidiabétique des extraits aqueux des espèces choisies après avoir fait les tests phytochimiques de chaque une. Pour cela nous avons utilisé des rats *Wistar* femelles avec un diabète induit à l'alloxane.

Notre travail sera réparti en deux parties ; la première partie est consacrée à une synthèse bibliographique, dans laquelle le sujet du diabète sucré est évoqué avec le stress oxydant et leur activité, suivi par la présentation des plantes médicinales étudiées.

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

PREMIERE PARTIE

Synthèse bibliographique

CHAPITRE I

GENERALITÉ SUR LE DAIBETÉ

I.1. Définition du diabète

Le diabète sucré est un groupe de maladies métaboliques caractérisées par une hyperglycémie chronique résultante d'un défaut de la sécrétion de l'insuline et/ou de l'action de cette hormone. Cette insuffisance provoque une augmentation de la glycémie qui conduit à son tour à des lésions affectant plusieurs appareils ou systèmes en particulier les vaisseaux et les nerfs (Raccach, 2004).

La glycémie est le paramètre central dans le diabète sucré ; c'est le taux de glucose dans le sang (Ménat, 2005). Un individu est diabétique quand sa glycémie à jeun est supérieure ou égale à 1.26g/l. On distingue quatre types de diabète sucré suivant la cause de la maladie (étiologie) dont les plus répandus sont le diabète de type 1 et 2 (OMS, 2002) (Allan, 2008).

I.2. Épidémiologie

Le diabète sucré est un problème de santé majeur présent partout dans le monde. Les études épidémiologiques ont montré qu'il frappe indistinctement toutes les populations et tous les groupes d'âge. A l'échelle mondiale, le nombre de patients diabétiques est en augmentation spectaculaire ces dernières années (Barceló, 1996).

En 2011, l'Organisation mondiale de la santé (OMS) a enregistré 356 millions diabétiques dans le monde en 2011 (OMS, 2011). De même, en 2010, la fédération internationale du diabète (FID) a enregistré un million 632 milles diabétiques en Algérie. Ce chiffre peut atteindre jusqu' à 2 millions 850 milles en 2030, avec une augmentation de 61 milles nouveaux cas recensés par an. La prévalence mondiale déclarée par FID, était de 8,5% et la prévalence nationale était de 7,4 %. Elle peut augmenter à plus 9,3% en 2030 (Whiting, 2011).

I.3. Classification

Depuis 1997, une nouvelle classification du diabète sucré a été proposée par Kaneko (American Diabetes Association) et adoptée chez l'Homme par l'O.M.S. On distingue trois types de diabètes communs à l'Homme et l'animal:

I.3.1. Le diabète de type 1 (anciennement insulino-dépendant DID)

Représente 10% environ de tous les cas de diabète et se déclare généralement à l'enfance suite une destruction auto-immune des cellules insulino-sécrétrices dites cellules β des îlots de Langerhans pancréatiques (OMS, 2002a). L'hyperglycémie apparaît lorsqu'il ne reste plus que 10 à 20% de cellules β fonctionnelles (Azzi, 2013).

Le processus auto-immun responsable d'une «insulite » pancréatique se déroule sur de nombreuses années (5 à 10 ans voire plus, avant l'apparition du diabète) (Grimaldi, 1999). Cette réaction auto-immune survient sur un terrain de susceptibilité génétique à la suite de facteurs déclenchant et peut être dépistée avant l'apparition de l'hyperglycémie par des dosages sanguins d'auto-anticorps (Allan, 2008).

I.3.2. Diabète de type 2 (anciennement le diabète non insulino-dépendant DNID)

Le Diabète de type II appelé aussi « diabète gras » ou « diabète de la maturité » survient généralement chez les adultes de plus de 40 ans et touche davantage les personnes obèses ou en surpoids. Environ 75 % des diabétiques de type II souffrent d'obésité. Ce Type de diabète est dit insulino-résistant ou non-insulino-dépendant (DNID) Car il se caractérise par la résistance de l'organisme à l'action de l'insuline (Jennifer Baraka, 2014).

I.3.2.1. Mécanismes de l'insulino-résistance

L'insulino-résistance se définit simplement comme une diminution de l'action de l'insuline au niveau des tissus cibles. A l'origine de l'insulino-résistance, il y aurait un excès de graisses au niveau viscéral, responsable de la libération d'une grande quantité d'acides gras libres. Leur passage par le foie favorise d'une part la synthèse des triglycérides et d'autre part, la néoglucogenèse, donc la production de glucose qui majore elle-même la sécrétion d'insuline (Hamza, 2011).

Au niveau musculaire, il existe une véritable compétition entre les acides gras libres et le glucose, pour être oxydé. L'oxydation des acides gras libres est en priorité, le stock de glycogène musculaire qui reste intact, ce qui entraîne une production accrue d'acétyl CoA qui inhibe en retour les enzymes de la glycolyse. L'énergie musculaire est donc fournie en priorité par l'oxydation des acides gras libres et le stock de glycogène musculaire reste intact, ce qui réprime en retour la glycogène synthase (Shulman, 2000).

I.3.2.2. Mécanismes de l'insulinodéficience

Au cours du diabète de type 2, le muscle et le tissu adipeux deviennent résistants à l'action biologique de l'insuline. Par ailleurs, l'adaptation compensatrice des cellules β visant à produire et à libérer chroniquement plus d'insuline dans la circulation n'est plus suffisante pour assurer la normoglycémie, en particulier en phase postprandiale, ce qui se traduit par un épuisement fonctionnel des cellules β survivantes (Azzi, 2013).

Cette insulinodéficience est d'abord relative puis devient absolue lorsque la glycémie à jeun dépasse 2 g/L. La carence insulinaire à ce stade et l'excès de sécrétion de glucagon sont responsables d'une augmentation du débit hépatique de glucose, avec augmentation de la néoglycogénèse hépatique, responsable de l'hyperglycémie à jeun. Les mécanismes proposés pour expliquer la réduction progressive de l'insulinodéficience sont nombreux. L'hypothèse la plus plausible fait intervenir les concepts de glucotoxicité et de lipotoxicité (Purrello Etrabuazz, 2000). L'exposition chronique de la cellule à l'hyperglycémie et à des concentrations élevées de triglycérides et d'acides gras libres altèrent de façon progressive et irréversible l'insulinosécrétion induite par le glucose (Hamza, 2011).

Le rôle de la glycation avancée (acides gras estérifiés) des protéines, notamment celles du promoteur du gène de l'insuline pourrait être aussi en cause. Les radicaux libres, ou les dépôts d'une substance de nature amyloïde, ou amyline, observés dans les îlots de Langerhans des diabétiques de type 2 peuvent également être une cause de cette insulinodéficience (Olson *et al.*, 1993).

I.4. Le pancréas

Le pancréas est un organe constitué de quatre parties : la tête, l'isthme, le corps et la queue. Situé derrière l'estomac, devant et au-dessus des reins (fig. 01), il participe à de nombreuses fonctions biologiques. C'est un organe particulier, ses fonctions de glande à sécrétion exocrine et endocrine font du pancréas une glande amphicrine. En effet, il participe à la digestion du bol alimentaire par déversement des sucs pancréatiques (exocrine), mais il sécrète aussi des hormones (endocrine) (Célia, 1991).

La partie endocrine ne représente que 1 à 2 % du tissu pancréatique et est constituée d'amas dispersés : les îlots de Langerhans. Seul le pancréas synthétise les deux hormones jouant un rôle dans le maintien de la glycémie : l'insuline et le glucagon, qui sont produits au

niveau des îlots de Langerhans. Ces îlots contiennent quatre types de cellules sécrétant chacune une hormone polypeptidique caractéristique :

- l'insuline (hormone hypoglycémisante), synthétisée par les cellules β .
- le glucagon (hormone hyperglycémisante), sécrété par les cellules α .

la somatostatine, produite dans les cellules δ , qui exerce un effet inhibiteur sur la sécrétion de l'insuline et du glucagon. le polypeptide pancréatique synthétisé dans les cellules PP (polypeptide pancréatique) La proportion de ces types cellulaires est variable et leurs distributions au sein de l'îlot sont aléatoires (Olson *et al.*, 1993).

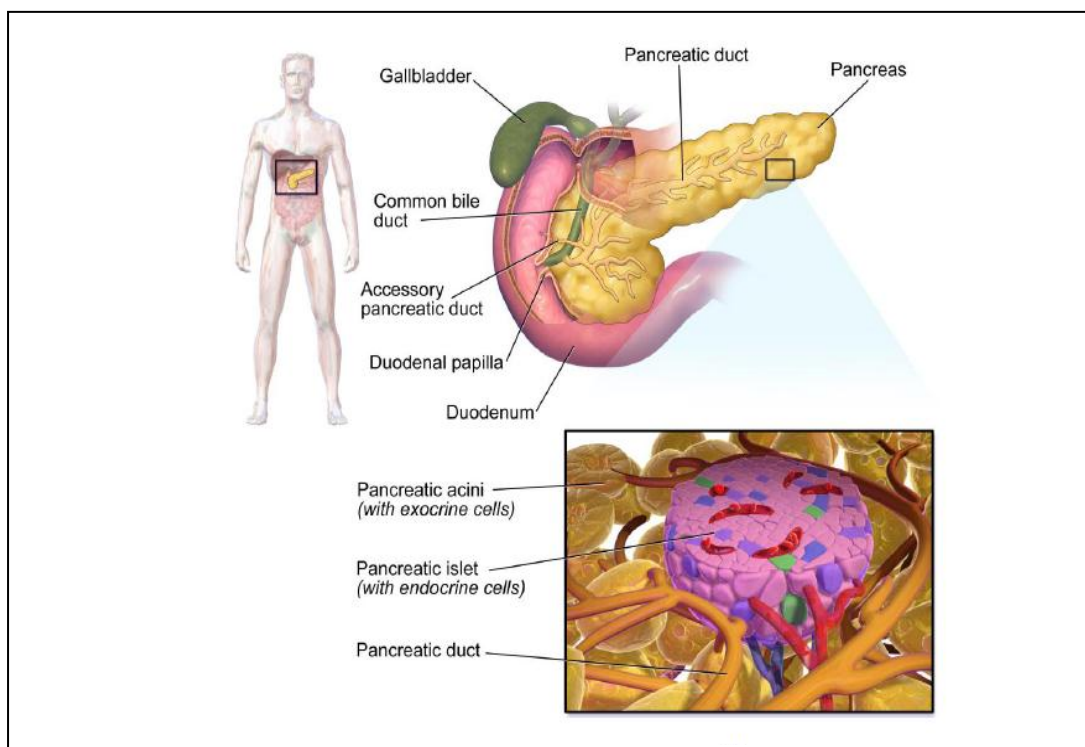


Figure 01: Tissu pancréatique (Julien, 2014).

I.5. L'insuline

L'insuline est une hormone polypeptidique formée, après élimination du peptide C par hydrolyses, de deux chaînes de 21 et 30 acides aminés, reliées par deux ponts disulfures (fig.02). Elle est sécrétée par les cellules β des îlots pancréatiques du pancréas et exerce un effet normoglycémiant. Elle fait partie du groupe des peptides appelés IGF (Insuline like Growth Factor) ou somatomédines (Helene, 2002).

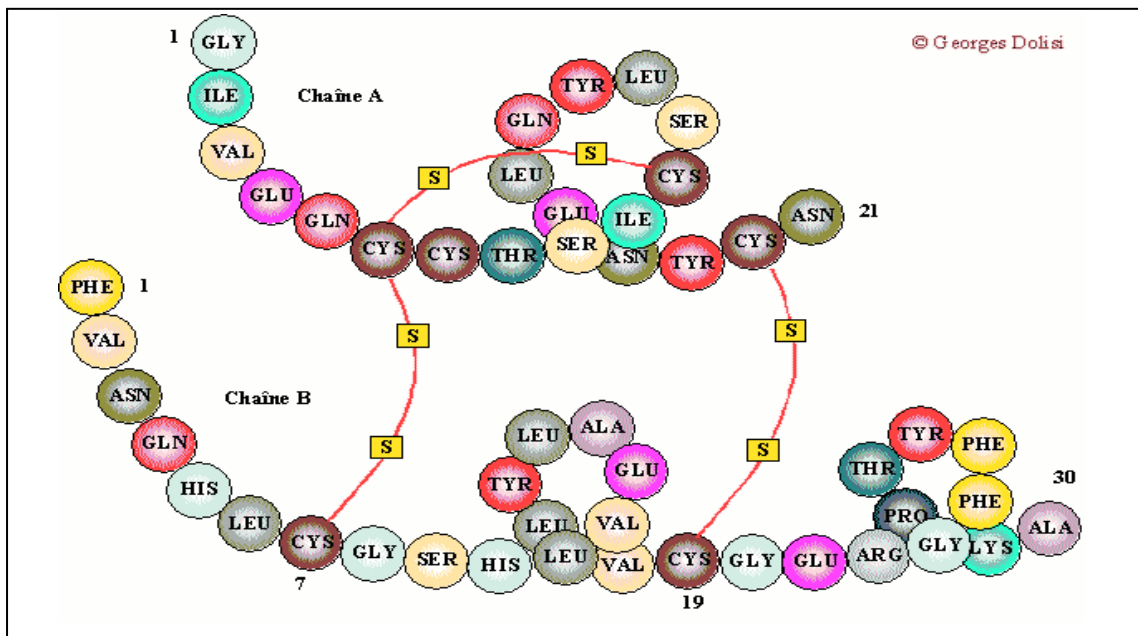


Figure 02: Structure de l'insuline (Helene, 2002).

I.5.1. La biosynthèse de l'insuline

L'insuline est synthétisée dans les cellules β sous forme de pré-pro-insuline inactive. Chez l'homme, elle est codée par un gène se trouvant sur le chromosome 11. Après la transcription en ARNm du gène codant la pré-pro insuline, l'ARNm est exporté du noyau vers le cytoplasme pour atteindre les ribosomes se trouvant à la surface du réticulum endoplasmique (RE) (Elodie, 2009).

La traduction de la pré-pro insuline se réalise à l'entrée du RE. La molécule subit alors un remodelage, acquiert sa structure quaternaire avec des ponts disulfures et perd sa séquence signal. La pro-insuline ainsi obtenue est constituée de 86 acides aminés ayant un poids moléculaire de 9 kDa. Dans l'appareil de Golgi, sous l'action d'une protéase spécifique, la pro-insuline est clivée pour donner le peptide-C acides aminés ayant un poids moléculaire de 3kDa et un peptide bicaténaire (Raynal, 2002), l'insuline d'une taille finale de 51 acides aminés et de poids moléculaire de 6kDa. Ces deux peptides sont stockés dans des granules jusqu'à sécrétion (Raynal, 2002).

I.5.2. La sécrétion de l'insuline

Le glucose circulant entre dans la cellule β par son transporteur GLUT2 (fig. 03) et est aussi tôt phosphorylé par la glucokinase (GK). Le pyruvate est pris en charge par la pyruvate déshydrogénase (PDH), la pyruvate carboxylase (PC) et entre dans le cycle de Krebs. Le NADH est pris en charge par la glycérol phosphate déshydrogénase mitochondriale (GPDHm).

La production d'ATP qui s'en suit augmente le rapport entre (ATP) et (ADP) dans le cytoplasme et entraîne la fermeture des canaux potassiques dépendants de l'ATP (K_{ATP}) (Carole, 2004). Cela provoque une dépolarisation de la membrane de la cellule β induisant l'ouverture des canaux calciques voltage sensibles: le calcium entre dans la cellule et déclenche l'exocytose des vésicules contenant de l'insuline. Celle-ci passe dans le sang par transcytose (endocytose + exocytose) à travers l'endothélium du capillaire (Nathalie, 2010).

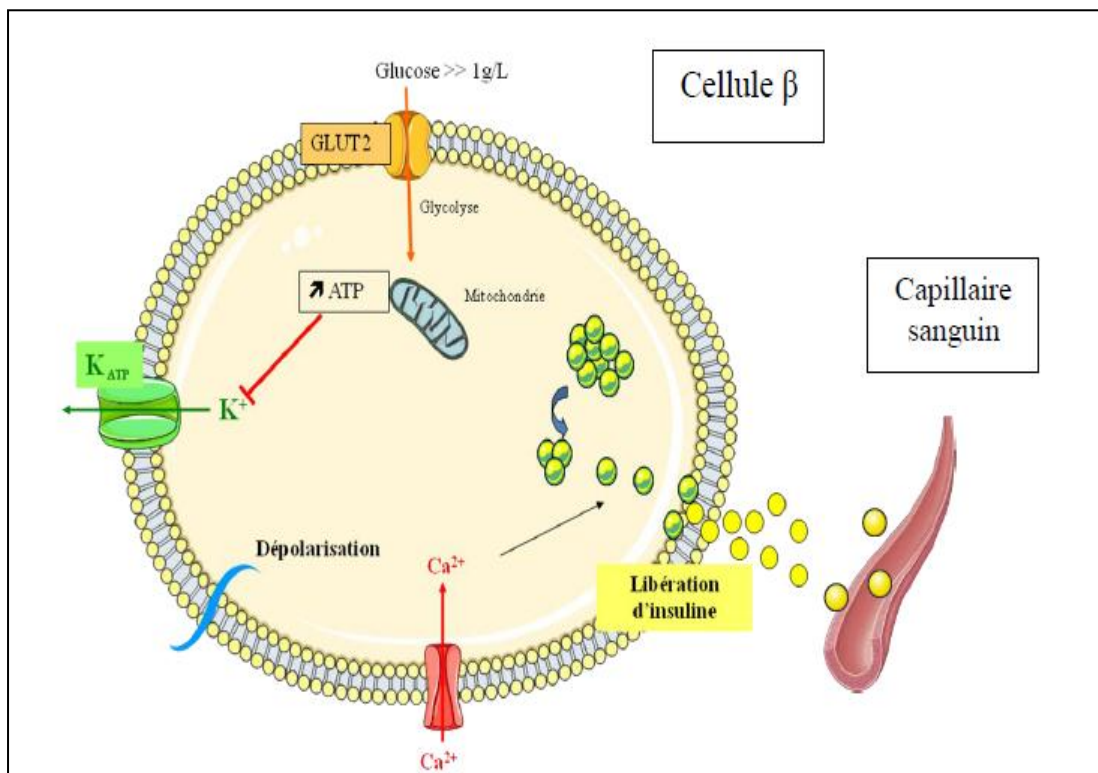


Figure 03: Mécanisme de libération de l'insuline de la cellule β (Nathalie, 2010).

I.5.3. Mécanisme d'action de l'insuline

L'insuline libérée permet d'augmenter le captage du glucose par les adipocytes et les cellules musculaires (fig. 04). Ce phénomène est régulé par des mécanismes d'exocytose et d'endocytose des récepteurs GLUT4 insulino-dépendant en présence de l'hormone. Dans le

foie et le muscle, le glucose est stocké sous forme de glycogène par le processus de glycogénogenèse et il est utilisé dans le cycle de la glycolyse dans les myocytes pour produire de l'énergie. De plus, au niveau du tissu adipeux, elle induit un stockage des acides gras en favorisant la lipogenèse (Nathalie, 2010).

Leur interaction avec le récepteur de l'insuline activé induit la phosphorylation de plusieurs résidu tyrosols de leur région C-terminale permettant la fixation de protéines possédant un domaine SH2 comme l'unité p85 du complexe p85/p110 de la PI3-K (phosphatidyl inositol 3-kinase) et le GRB2 (growth factor receptorbindingprotein 2). Ces deux protéines sont les médiateurs des fonctions de l'insuline sur le métabolisme et la croissance cellulaire, respectivement (Elodie, 2009).

Cette cascade régule l'expression des gènes impliqués dans la prolifération cellulaire et la différenciation. La cascade PI3K conduit à des modifications de l'état de phosphorylation de plusieurs enzymes dont Akt et mTOR, permettant de stimuler la synthèse de glycogène et de protéines. La cascade PI3K, via PDK1, participe également au contrôle de la translocation du transporteur de glucose GLUT4 vers la surface de la cellule et donc à l'augmentation de la vitesse d'entrée du glucose dans la cellule (Nathalie, 2010).

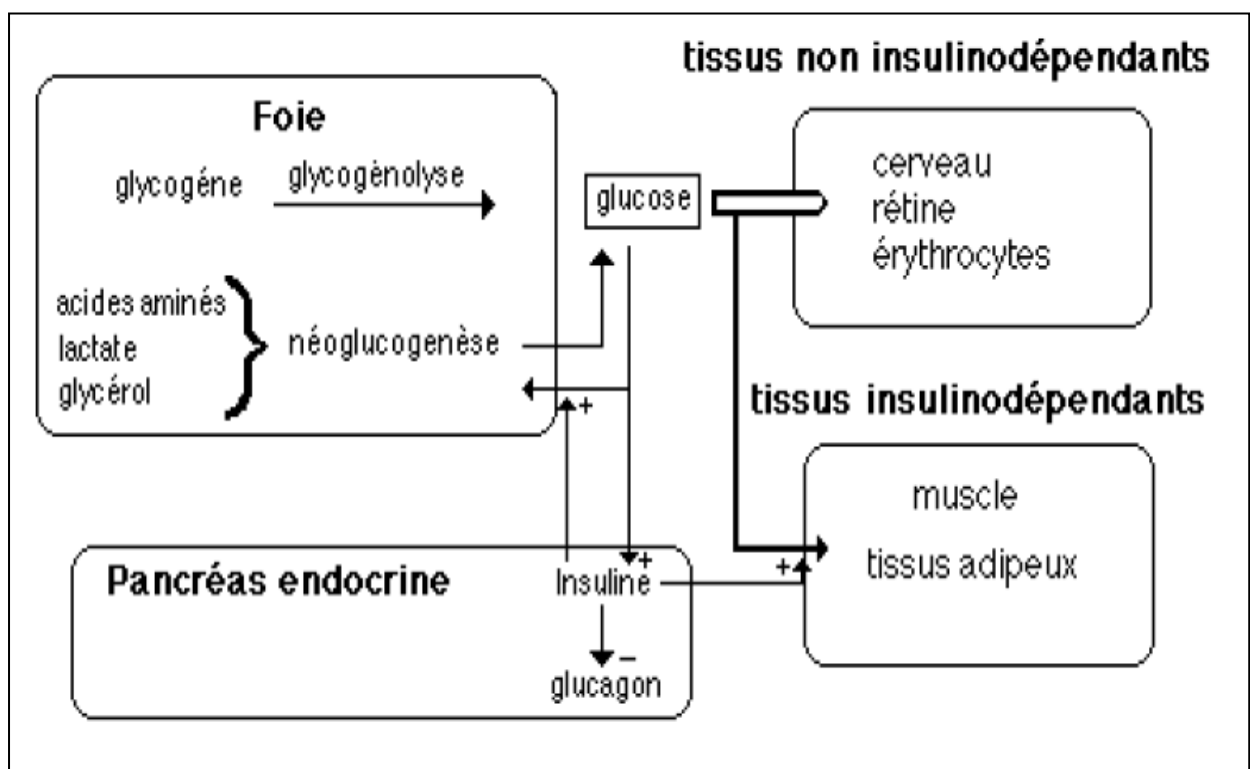


Figure 04: Mécanisme biochimique de l'action de l'insuline (Oberley, 1988).

I.6. Complications liées au diabète

I.6.1. Complications aiguës

Les complications liées au diabète ont une origine commune: l'excédent de glucose dans le sang. Après un certain temps, une trop grande quantité de glucose dans le sang a des effets néfastes sur les reins (néphropathie), les yeux (rétinopathie), le système neurologique (neuropathie), le cœur (infarctus) et les vaisseaux sanguins (hypertension, artériosclérose, etc.) (Allan,2008).

I.6.1.1.Hyperglycémie

L'hyperglycémie se définit par une glycémie trop élevée supérieure à 7 mmol.l⁻¹ à jeun et de 11 mmol.l⁻¹, une à deux heures après un repas. Elle se produit lorsque la quantité d'insuline dans le sang est insuffisante par rapport à la quantité de glucose qui apparaît dans le sang. Les principales causes de l'hyperglycémies ont un surplus d'alimentation, une diminution de l'activité physique, une insuffisance d'insuline et/ou d'antidiabétiques oraux, un stress physique ou psychologique, la prise de certains médicaments. Elle se caractérise entre autres par de la fatigue, une polyurie, une polydipsie, une respiration rapide, une haleine fruitée, des douleurs abdominal (Kevin, 2012).

I.6.1.2. Hypoglycémie

L'hypoglycémie est une complication fréquente. Les causes d'hypoglycémies sont multiples. Dans le diabète de type 1, il s'agit d'une inadéquation entre le régime alimentaire, l'activité physique et la dose d'insuline. Dans le diabète de type 2, il peut s'agir d'interactions médicamenteuses avec un sulfamide hypoglycémiant (sulfamide antibactérien, anti-vitamine K, aspirine) ou de tares viscérales surajoutées (insuffisance rénale) (Allan, 2008).

I.6.2. Complications chroniques

I.6.2.1. Microangiopathie

Elle résulte d'une atteinte diffuse des artérioles et des capillaires. Elle touche tous les organes mais la localisation la mieux étudiée est les vaisseaux de la rétine «rétinopathie» qui reste la première cause, chez de nombreux cas, de cécité chez les sujets âgés de 20 à 64 ans. Environ 12% des diabétiques de type 1 dans le monde sont aveugles après 30 ans de diabète et 7% des diabétiques de type 2 sont aveugles après 20 ans de diabète. La cataracte ainsi que le glaucome sont les deux formes les plus répandues d'une rétinopathie (Grimaldi *et al.*, 2009).

I.6.2.2. Macroangiopathie

Elle est liée à une atteinte des artères de gros et moyen calibre. Son support anatomique qu'est une athérosclérose non spécifique (fig.05). On peut citer plusieurs formes de cette complication. Les artères des membres inférieurs peuvent être le lieu d'une artériopathie dont l'aspect le plus évocateur est la gangrène. Ce type de complication peut se traduire au niveau des troncs artériels supraortiques par des accidents vasculaires cérébraux (Yang *et al.*, 2012).

La coronaropathie est une autre forme de complications. Chez les diabétiques de type 2 le risque coronarien est également augmenté (Halimi *et al.*, 2011).

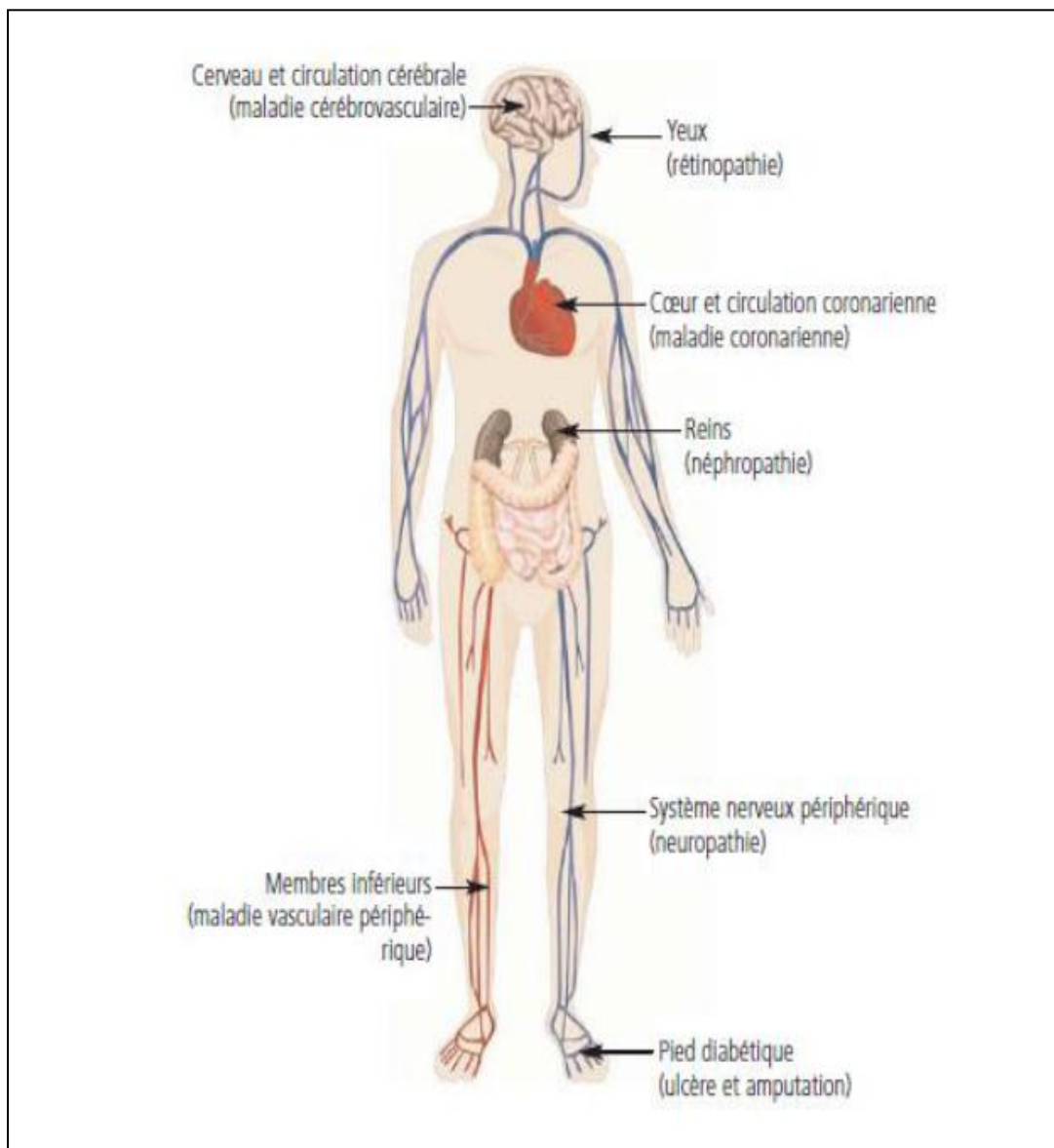


Figure 05: Les complications cardiovasculaires liées au diabète (Aurelien, 2010).

I.6.2.3. Neuropathie

La neuropathie est le nom générique donné aux affections qui touchent les nerfs et qui peuvent être passablement douloureuses, quelle qu'en soit la cause. Les troubles du système nerveux se développent dans les dix premières années du diabète chez 40% à 50% des personnes diabétiques de type 1 ou 2 (Allan, 2008).

Cela en raison d'une mauvaise circulation sanguine (donc d'un apport en oxygène insuffisant pour les nerfs) et du taux élevé de glucose, qui altère la structure des nerfs. Le plus souvent, le sujet ressent des picotements, des pertes de sensibilité et des douleurs qui se manifestent d'abord au bout des orteils ou des doigts, puis remontent progressivement le long des membres atteints. La neuropathie peut aussi toucher les nerfs qui contrôlent la digestion, la pression sanguine (Kevin, 2012).

I.6.2.4. Retinopathie

La rétinopathie diabétique constitue une des complications majeures du DT2 par sa fréquence et sa gravité potentielle. C'est la complication la plus spécifique, liée directement à la microangiopathie. Ainsi, le diabète est la première cause de cécité dans le monde occidental. D'autres complications ophtalmologiques sont cependant possibles au cours de la maladie diabétique: atteinte du cristallin, de l'iris, glaucome. L'ensemble de ces manifestations explique les graves conséquences sur la vision d'un diabète non ou mal traité (Kevin, 2012).

I.7. Facteurs de risque du diabète**I.7.1. Facteurs génétiques**

les facteurs génétiques sont plus importants dans l'étiologie du diabète de type 2 que dans celles du diabète de type 1. La majorité des cas de diabète de type 2 sont multifactoriels; avec interaction de facteurs environnementaux et facteurs génétiques. La contribution génétique est largement inconnue mais il est évident que plusieurs gènes sont impliqués (Redouane, 2010).

I.7.2. Facteurs environnementaux

I.7.2.1. Mode de vie

la suralimentation, en particulier en association à l'obésité et à la sous activité, est associée au développement du diabète de type2 (Hasslett, 2005). L'obésité agit probablement comme facteur diabétoène. Les adipocytes secrètent un certain nombre des produits biologiques (leptine, facteurs de nécrose tumorale α , acide gras libres) qui modulent les processus, comme la sécrétion d'insuline. L'action de l'insuline et le poids du corps peuvent contribuer à la résistance à l'insuline (Brawnwald *et al.*, 2002).

I.7.2.2. Malnutrition in utero

Il est proposé que la malnutrition in utero et chez le nouveau-né peut léser le développement des cellules β à une période critique prédisposant à la survenue d'un diabète de type2 plus tard dans la vie (Redouane, 2010).

I.7.2.3. Grossesse

Pendant la grossesse, la sensibilité à l'insuline est diminuée par l'action d'hormones placentaires, et cela affecte une hyperglycémie permanente. Des grossesses répétées peuvent accroître le risque de développer un diabète permanent en particulier chez les femmes obèses (Hasslett *et al.*, 2005).

CHAPITRE II

*Stress oxydatif et l'activité
Antioxydant*

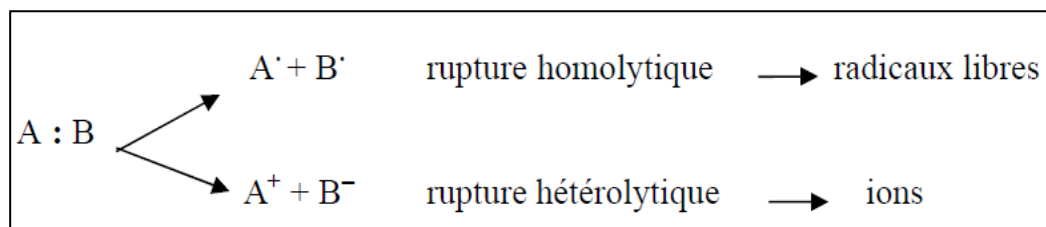
II.1. Définition du stress oxydatif

Le stress oxydant est communément défini comme un déséquilibre entre les systèmes oxydants et les capacités anti-oxydantes d'un organisme, d'une cellule ou d'un compartiment cellulaire (Barouki, 2006). Il semble que la vraie origine d'un stress oxydant ne soit pas la génération d'ERO elle-même, mais le déséquilibre spatiotemporel entre la production d'ERO et leur élimination. L'équilibre peut être rompu lorsque la production est trop importante ou lorsque les systèmes de détoxification sont trop peu présents ou mal localisés (Morel, 2007).

II .2. Radicaux libers

Les radicaux libres sont des espèces chimiques (atomes ou molécules) (tableau 01) qui possèdent un ou plusieurs électrons célibataires (électron non apparié) sur leur couche externe et capables d'existence indépendante. Ils peuvent être dérivés de l'oxygène (espèces réactives de l'oxygène ERO) ou d'autres atomes comme l'azote (espèces Réactives d'azote ERA). La présence d'un électron célibataire confère aux radicaux libres une grande réactivité (demi-vie courte) et ils peuvent être aussi bien des espèces oxydantes que réductrices. De part sa structure particulière, il a tendance à attirer les électrons d'autres atomes et molécules pour gagner sa stabilité (Delattre *et al.*, 2005).

Selon la définition proposée par Halliwell et Gutteridge, (1989). Les radicaux libres sont des espèces capables d'exister indépendante, contenant un ou plusieurs électrons non appariés dits électrons célibataires, ces radicaux peuvent se former par transferts mono-électroniques ou par scission homolytique de liaison covalente selon le schéma suivant :



Après une rupture homolytique, chacun des deux électrons intervenant dans la liaison entre les atomes A et B gagne l'orbitale externe de ces atomes, qui deviennent alors des radicaux libres (Bonnefont-rousselet *et al.*, 2003).

Tableau 01: Nature des différentes espèces radicalaires impliquées dans le stress oxydant (Delattre, 2005).

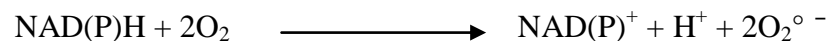
<i>Radicaux libres primaires</i>		<i>Dérivés oxygénés non radicalaires</i>	
$O_2^{\circ-}$	= Radical superoxyde.	$1/2O_2$	= Oxygène singulet
HO_2°	= Radicale perhydroxyle	H_2O_2	= Peroxyde d'hydrogène.
$^{\circ}OH$	= Radical hydroxyle	$ONOOH$	= Nitroperoxyde
RO_2°	= Radical peroxyde	$ONOO^-$	= Peroxynitrite
RO°	= Radical alkoxyde.		
NO°	= monoxyde d'azote		

II.3. Origine des radicaux libres

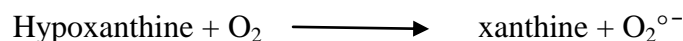
II.3.1. Origine endogène

Les systèmes biologiques les plus simples générant des ROS sont les constituants cellulaires solubles capables d'activer l'oxygène moléculaire lors des réactions d'autooxydation. Ce groupe comprend, parmi d'autres, des thiols, des hydroquinones, des flavines, des catécholamines, des tetrahydropterines, des hémoprotéines, et des métaux de transition (Maged, 1999). Mais la production des ROS dans les cellules mammifères est essentiellement d'origine enzymatique et découle dans plusieurs sources possibles. Il s'agit principalement de :

- NAD(P)H oxydase qui est une enzyme membranaire (Delattre *et al.*, 2005) utilisant NAD(P)H comme substrat et génère $O_2^{\circ-}$ (Salvayre *et al.*, 2005), selon la réaction suivante :



- La xanthine oxydase/déshydrogénase peut générer $O_2^{\circ-}$ et H_2O_2 en utilisant la xanthine ou l'hypoxanthine et NADH comme substrat. (Salvayre *et al.*, 2005)



- Enzymes de la voie de l'acide arachidonique, les lipoxygénases synthétisant les leucotriènes et les Cyclo-oxygénases synthétisant les prostaglandines et les thromboxanes (Boumaza, 2009).

- Enzymes des organites cellulaires comme les enzymes mitochondriales constituant la source principale des ROS, la myéloperoxydase lysosomiale, les cytochromes P450 du réticulum endoplasmique lisse, les cytochromes oxydases et la chaîne de transport d'électron nucléaires, et les enzymes des peroxysomes comme la glycolate oxydase et D-aminoacides oxydases...etc (Boumaza, 2009).

II.3.2. Origine exogène

L'organisme humain est soumis à l'agression de différents agents extérieurs capables de donner naissance à des espèces oxygénées réactives:

Les rayonnements UV (par l'intermédiaire d'agents photo sensibilisants) et les radiations ionisantes induisent la synthèse de radicaux libres dérivés de l'oxygène tels que $O_2^{\cdot-}$, OH^{\cdot} , $1O_2$ et de molécules génératrices de radicaux libres. L'oxyde d'azote (NO) et le dioxyde d'azote (NO_2), des toxiques présents dans notre environnement (suie, goudron, tabac, polluants industriels) sont également responsables de la synthèse de radicaux libres. Ils sont à l'origine d'une auto-oxydation des acides gras poly-insaturés (AGPI) des alvéoles pulmonaires (Atti, 2014).

D'autres facteurs sont également capables de générer des radicaux libres dans l'organisme, en citant, les rayonnements UV, les particules inhalées (amiante, silice) l'ingestion d'alcool, des anticancéreux (Favier, 2003).

II.4. Les cibles biologiques du stress oxydant

Les entités oxydantes étant très réactives, elles réagissent avec les premières molécules qu'elles rencontrent. Elles ont comme cibles les lipides, les acides nucléiques, les protéines et les sucres (Beckman et Ames, 1998).

II.4.1. L'oxydation des lipides

Les acides gras polyinsaturés (RH) comme l'acide linoléique ou l'acide arachidonique sont les cibles privilégiées des ERO qui conduisent à la formation des radicaux et des peroxydes lipidiques (Delattre, 2005).

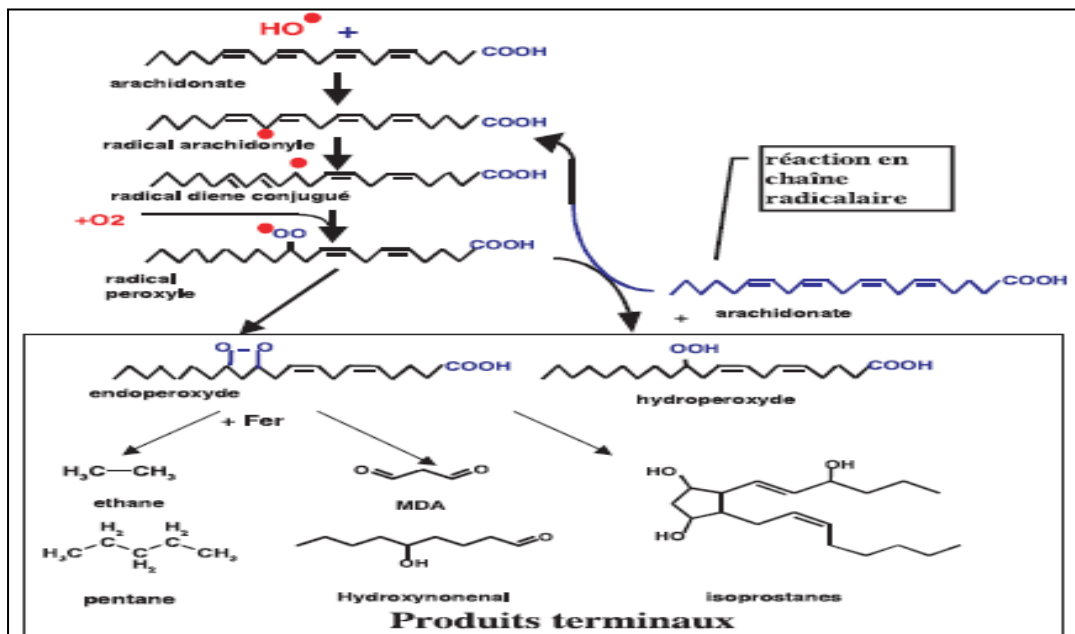


Figure 06 : Mécanisme de la peroxydation lipidique (Favier, 2003).

II.4.2. L'oxydation des protéines

L'action des radicaux libres a lieu sur les chaînes latérales de certains acides aminés comme le thiol des cystéines. A proximité des sites de liaison d'ions métalliques peuvent se dérouler des réactions d'oxydation qui produisent des acides aminés anormaux. Les radicaux libres sont également responsables de la formation de ponts disulfures qui modifient la conformation des protéines et nuisent à leur activité biologique (activité enzymatique, transduction d'un signal ou système de transport) (Jacques et André, 2004).

II.4.3. L'oxydation des sucres

En présence de métaux, l'oxydation du glucose peut libérer des cétoaldéhydes, du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et des anions superoxydes (OH^\bullet), et entraîner la coupure de protéines et leur glycation par attachement du céto-aldéhyde, formant un dérivé de produit de glycation avancé (AGE, Advanced Glycation End product) (Wolff *et al.*, 1989).

II.4.4. L'oxydation d'ADN

Les ERO constituent la plus importante source endogène de dommages à l'ADN. Elles peuvent lui induire de nombreuses modifications covalentes telles que des lésions aux bases nucléotidiques (purines et pyrimidines), des cassures simples brin ou doubles brin de la chaîne oligonucléotidique, ou des pontages avec des résidus protéiques (Wang, 2008). Ces

modifications peuvent avoir de graves conséquences sur la réplication du génome. Les niveaux élevés de ces lésions ont été enregistrées dans plusieurs types tumorales et sont grandement impliquées dans tous les étapes de cancérogenèse (Trachootham *et al.*, 2009).

II.4.5. Oxydation des lipoprotéines

Le dommage oxydatif provoque des changements dans la structure des lipoprotéines de faible densité (LDL) qui sont riches en acides gras polyinsaturés. La peroxydation se trouve dans les LDL par les ROS provoque la formation d'aldéhydes (MDA et HNE), qui peuvent à leur tour oxyder les LDL. Les LDL oxydées peuvent nuire au bon fonctionnement cardio-vasculaire de deux façons: soit en s'attaquant au cœur, soit en s'attaquant aux vaisseaux sanguins (Mohammedi, 2012).

II.5. Rôles biologique des radicaux libres

Les Radicaux libres oxygénés présentent un paradoxe en ce qui concerne leur fonction biologique : d'une part, ils préviennent la maladie par l'implication du système immunitaire, médiation de la signalisation cellulaire et jouant un rôle essentiel dans l'apoptose. D'autre part, ils peuvent endommager d'importantes macromolécules dans les cellules et peuvent intervenir dans la cancérogénèse et les maladies cardiovasculaires (Fang *et al.*, 2002).

II.6. Les conséquences du stress oxydant

Les conséquences biologiques du stress oxydant seront extrêmement variables selon la dose et le type cellulaire. De légers stress augmenteront la prolifération cellulaire et l'expression de protéines d'adhésion, des stress moyens faciliteront l'apoptose, alors que de forts stress provoqueront une nécrose et des stress violents désorganiseront la membrane cellulaire, entraînant des lyses immédiates. De nombreuses autres anomalies biologiques sont induites par le stress oxydant : mutation, carcinogénèse, malformation des fœtus, dépôt de protéines anormales, fibrose, formation d'auto-anticorps, dépôt de lipides oxydés, immunosuppressions (Favier, 2003).

II.7. Les maladies liées au stress oxydatif

Le stress oxydant est impliqué dans de nombreuses pathologies (fig. 07), incluant l'obésité, le diabète, l'athérosclérose, le vieillissement, cancer, cataracte, sclérose latérale amyotrophique, syndrome de détresse respiratoire aigu, œdème pulmonaire, Alzheimer, les rhumatismes et les maladies cardiovasculaires. La plupart des maladies induites par le stress

oxydant apparaissent avec l'âge car le vieillissement diminue les défenses antioxydantes et augmente la production mitochondriale de radicaux (Mohammedi, 2012).

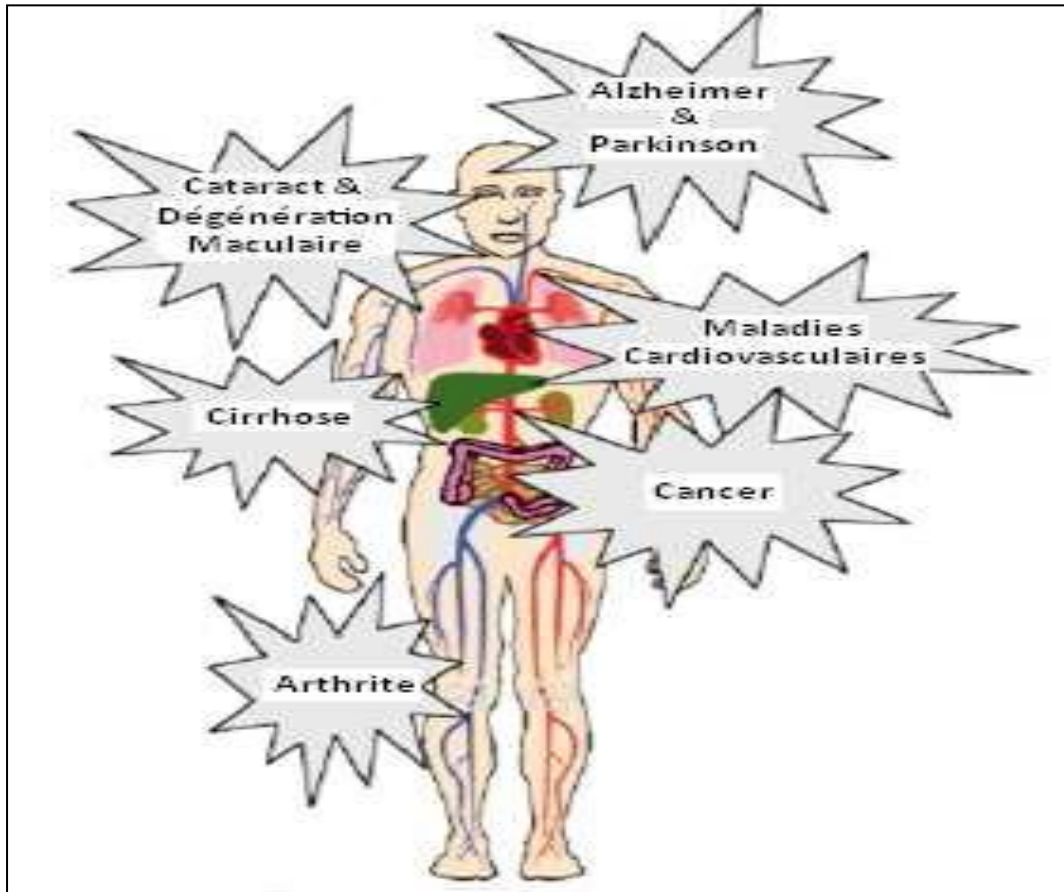


Figure 07: ROS et Maladies (Mohammedi, 2012).

II.8. Le diabète et le stress oxydatif

Les complications du diabète sont fortement liées à certain nombre de facteurs. A côté de l'hyperglycémie chronique et la glycation non enzymatique des protéines, un facteur très important impliqué dans la genèse de ces complications est le stress oxydatif (Guerci *et al.*, 2001 ; Punitha *et al.* , 2005). En effet, le métabolisme cellulaire normal de l'oxygène produit de manière continue de faibles quantités d'espèces oxygénées activées dont font partie les radicaux libres ($O_2^{\cdot-}$, OH^{\cdot} ,..., le peroxyde d'hydrogène et l'oxygène singulet). Le patient diabétique présente une surproduction des ROS d'une part et d'autre part, une diminution des antioxydants, ce qui génère un état de stress oxydatif à l'origine des micro et des macro angiopathies (Pincemail *et al.*, 1999 ; Huang *et al.*, 2004).

II.9. Définition des antioxydants et l'activité antioxydante

Les antioxydants sont définis par Halliwell, (1999) comme «toute substance qui en faible concentration par rapport au substrat susceptible d'être oxydé prévient ou ralentit l'oxydation de ce substrat» (Pastre et Priymenko, 2007).

Les antioxydants piègent les radicaux libres en inhibant les réactions à l'intérieur des cellules provoquées par les molécules de dioxygène et de peroxyde, aussi appelées espèces oxygénées radicalaires (EOR) et espèces azotées radicalaires (fig. 08) (Benbrook, 2005). Les antioxydants sont largement présents dans nos aliments, soit sous forme naturelle, soit sous forme d'additifs utilisés dans l'industrie agroalimentaire (Tanguy *et al.*, 2009).

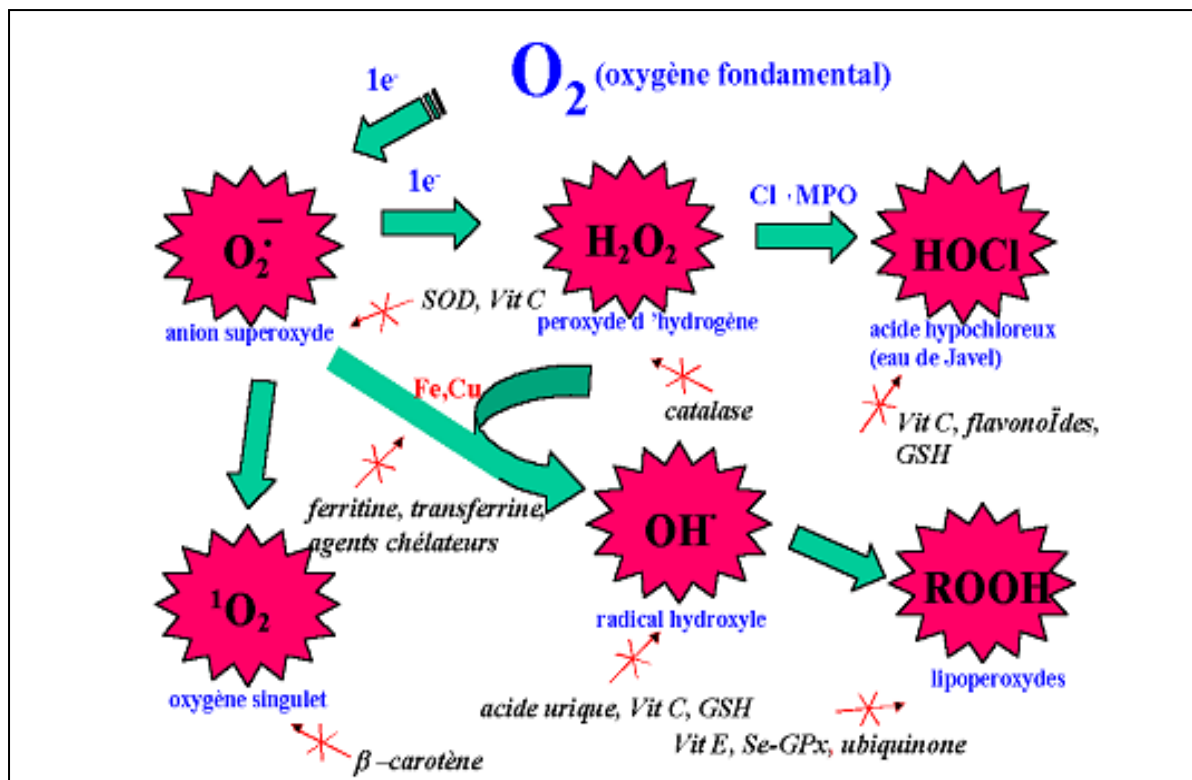


Figure 08: Régulation de la production d'espèces réactives de l'oxygène par les systèmes de défenses antioxydants (Milbury et Richer, 2008).

II.10. Mécanismes d'action des antioxydantes

Du point de vue de leur fonction mécanistique, les antioxydants peuvent être classés en: Antioxydants de prévention, antioxydants scavenger et antioxydants de novo et de réparation.

A. Les antioxydants de prévention

Ils agissent comme première ligne de défense dans la cellule, en évitant la formation des ROS et RNS comme, par exemple, réduisant le peroxyde d'hydrogène et les hydroperoxydes lipidiques en eau et hydroxydes lipidiques respectivement. Outre, en séquestrant les ions métalliques comme le cuivre et le fer (Milbury et Richer, 2008).

B. Les antioxydants scavenger

Les antioxydants scavenger éliminent rapidement les radicaux libres avant que ces derniers attaquent les molécules biologiques. La SOD convertit le superoxyde en peroxyde d'hydrogène. Les composés phénoliques et les amines phénoliques agissent principalement comme des antioxydants scavenger des radicaux libres (Khelfallah, 2013).

C. Les antioxydants de novo et de réparation

Ce sont principalement les enzymes qui agissent comme troisième ligne de défense, en réparant les dommages, nettoyant les déchets et reconstituant les fonctions perdues (Berger, 2006). La quatrième ligne de défense est représentée par la fonction adaptative par laquelle des antioxydants appropriés sont générés au bon moment, et transférés à la bonne position avec des convenables concentrations (Milbury et Richer, 2008).

II.10. Classification des antioxydantes

Indépendamment de leur localisation, les antioxydants peuvent agir à deux niveaux : en prévenant la formation de radicaux libres oxygénés (groupe 1) ou en épurant les radicaux libres oxygénés formés (groupe 2). En complément de cette double ligne de défense, l'organisme est en outre capable de réparer ou d'éliminer les molécules endommagées par l'attaque radicalaire (Gardès et Albert, 2003).

II.10.1. Classification des antioxydantes par rapport à leur mécanisme d'action

II.10.1.1. Groupe I (les antioxydants primaires)

Ce genre d'antioxydants peut inhiber la réaction d'initiation et la propagation de l'oxydation en participant au processus d'oxydation et en convertissant les radicaux libres vers leurs formes inactives. Les antioxydants primaires sont généralement des composés phénoliques (AH) capables de donner un atome d'hydrogène au radical libre et le convertir en un composé stable non radicalaire (Atti, 2014).

Les antioxydants de ce groupe réagissent de façon prédominante avec les radicaux peroxylés, pour deux raisons : la concentration élevée de ces radicaux et la faible énergie du groupement ($\text{ROO}\cdot$). Un piègeur du radical libre, même à des concentrations faibles, entre en compétition avec les lipides pour rendre le radical libre inactif par l'intermédiaire d'une réaction de libération d'un électron, suivie d'une déprotonation (Frankel *et al.*, 2000; Huang *et al.*, 2005).

II.10.1.2. Groupe II (les antioxydants secondaires)

Les composés de ce groupe sont catalogués comme préventifs ou antioxydants secondaires. Ils englobent une large gamme de différentes substances chimiques qui inhibent l'oxydation des lipides par différents mécanismes et ne transfèrent pas le radical libre sous sa forme non-radicalaire. Avec quelques exceptions, les antioxydants secondaires sont généralement reliés à l'inhibition de facteurs initiant l'oxydation. ce groupe inclut : des chélateurs de métaux pro-oxydatifs, des piègeurs de la molécule d'oxygène, inhibiteurs des enzymes pro-oxydative, enzymes antioxydants et destructeurs des hydroperoxides. Parfois, quelques antioxydants peuvent exercer plusieurs fonctions anti-oxydatives (Kanoun, 2011).

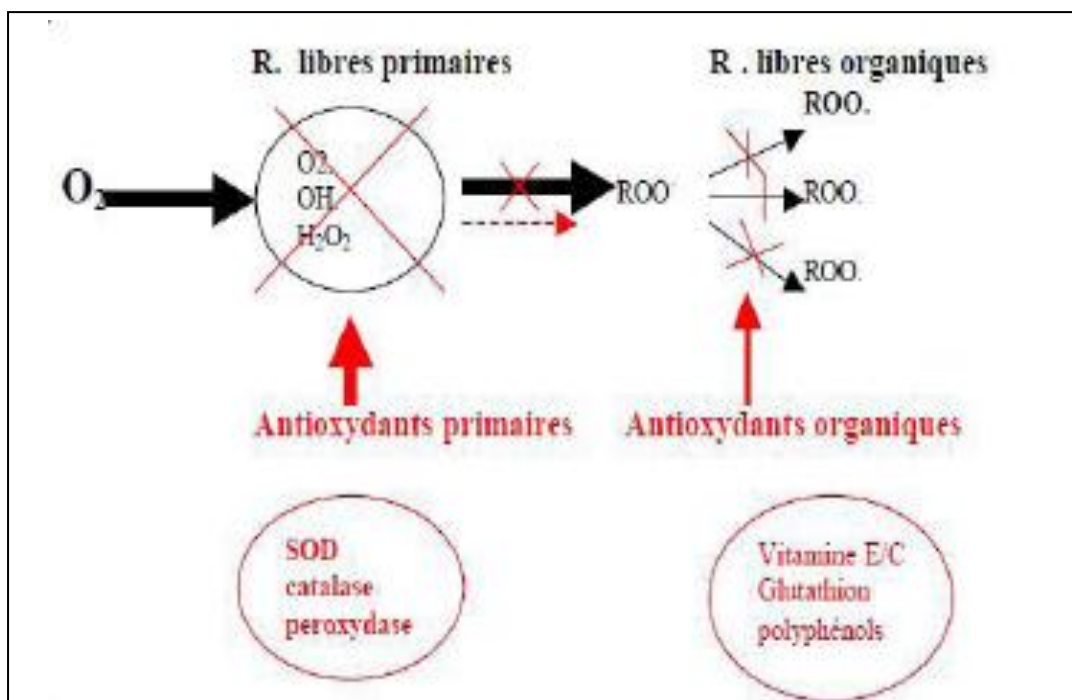


Figure 09: Les systèmes de défense contre les radicaux libres (Binov, 2001).

II.10.2. Classification des antioxydantes suivant la nature chimique

II.10.2.1. Les antioxydants naturels

La présence d'antioxydants dans les aliments permet d'éviter le rancissement dû à l'oxydation causée par l'oxygène, la lumière, la chaleur ou le contact de certains métaux (Moure et Cruz, 2001).

A. Les antioxydantes enzymatiques

➤ La Superoxyde dismutase (SOD)

La superoxyde dismutase catalyse la dismutation de l'anion superoxyde en H₂O₂ selon la réaction suivante :



La SOD existe sous trois formes qui se différencient par leur localisation cellulaire et par leur cofacteur métallique : une forme cytosolique et nucléaire associée aux ions cuivre et zinc (Cu/Zn-SOD), une forme mitochondriale associée au manganèse (Mn-SOD) et une forme extracellulaire (EC-SOD). Il a été récemment montré que la Cu/Zn-SOD était également présente dans l'espace intermembranaire (Okado-Matsumoto et Fridovich, 2001 ; Strutzen *et al.*, 2001).

➤ Les catalases

Essentiellement présente dans les peroxysomes et dans les érythrocytes, est capable de transformer le peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène moléculaire (Delattre *et al.*, 2005), mais leur rôle est très important surtout en présence d'ions ferreux (Lindau-Sehpard et Shaffer, 1993).



➤ La Glutathion peroxydase (GPx) et la Glutathion réductase (GR)

La glutathion peroxydase (GPx) agit en synergie avec la SOD puisque son rôle est d'accélérer la dismutation du H_2O_2 en H_2O et O_2 . Lors de cette réaction deux molécules de glutathion réduit (GSH) sont oxydées en glutathion disulfure (GSSG) (Ahmad, 1995).

Le glutathion disulfure (GSSG) ainsi produit est à nouveau réduit par la glutathion réductase (GR) (Marfak, 2003), utilisant le NADPH comme donneur d'électron (Ahmad, 1995; Mates *et al.*, 1999).

D'autres enzymes jouent un rôle non négligeable dans la lutte antioxydant, l'ensemble formant un système complexe : glutathion réductase, thioredoxine réductases, glutathion

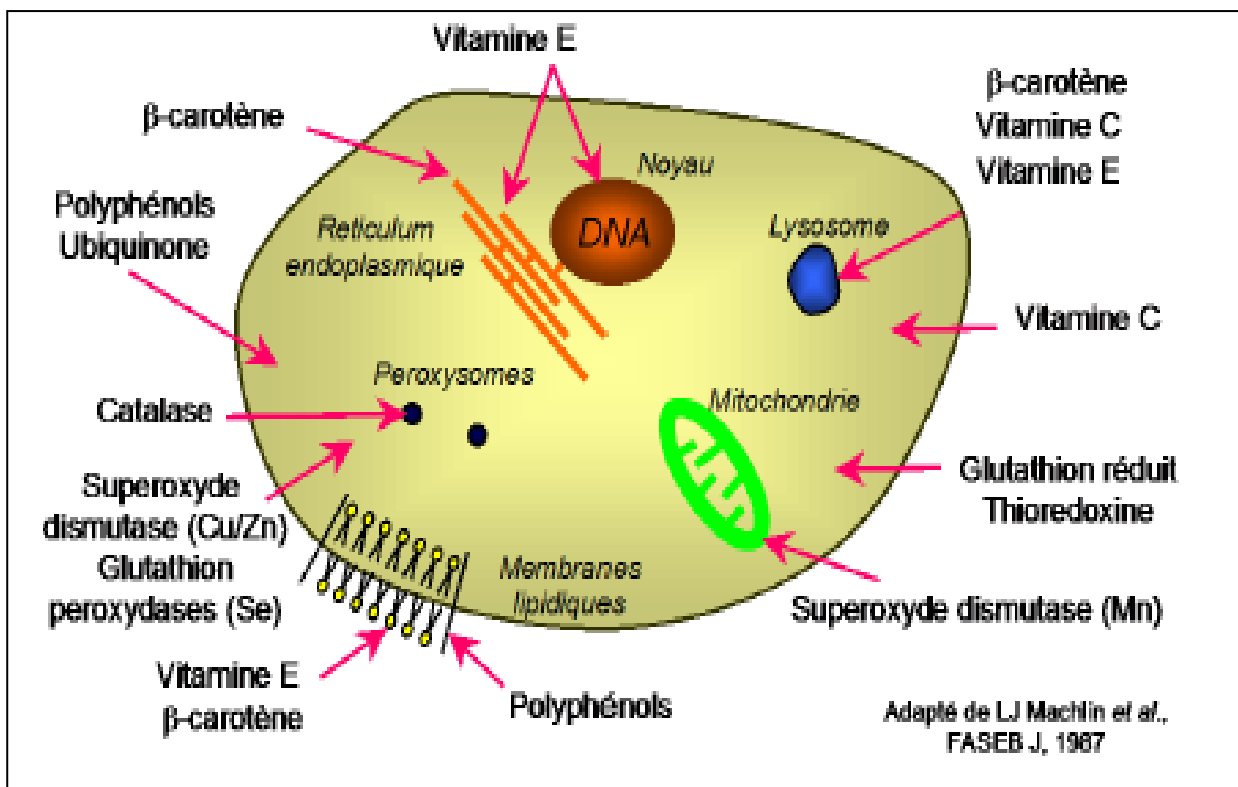


Figure 10: Schématisation des molécules intervenant dans les protections cellulaires (Atti, 2014).

B. Les antioxydants non enzymatiques

➤ Acide ascorbique: vitamine C

La vitamine C est un antioxydant puissant. Elle participe dans les réactions avec la vitamine E et l'enzyme glutathion peroxydase pour neutralisation des radicaux libres (Cheick Traore, 2006). La vitamine C agit principalement en piégeant directement les ROS

(majoritairement l'O₂⁻ et le ONOO⁻). Il est présent dans les légumes, le chou, le poivron, les agrumes. Elle joue un rôle important dans la régénération de la vitamine E (Bossokpi, 2002).

➤ **Vitamine E**

La vitamine E prévient la peroxydation des lipides membranaires *in vivo* en captant les radicaux peroxydes. Elle est présente dans les huiles végétales (huiles d'arachide, de soja, de chardon, de tournesol et d'olive pressées à froid) ainsi que dans les noix, les amandes, les graines, le lait, les oeufs, et les légumes à feuilles vertes (Ahamet, 2003). Elle joue un rôle préventif dans le développement des cancers et sur le vieillissement (Cheick Traore, 2006).

➤ **La β-carotène**

Le β-carotène, précurseur de la vitamine A, est apporté par l'alimentation. Elle est douée de plusieurs capacités, elle capte l'oxygène singulet sous faible pression d'oxygène et, avec les autres caroténoïdes, elle a le pouvoir de terminer les réactions en chaîne de lipoperoxydation. Elle protège les structures cellulaires contre l'agression oxydante en s'opposant à la génotoxicité de nombreux agents (Ahamet, 2003).

➤ **Les flavonoïdes**

Présent dans la plupart des plantes, les flavonoïdes sont des pigments polyphénoliques qui sont responsables dans la plupart des colorations des fleurs et des fruit (Goto et Kondo, 1991). Ils possèdent de nombreuses vertus thérapeutiques. Ils sont particulièrement actifs dans le maintien d'une bonne circulation. Certains ont aussi des propriétés anti-inflammatoires et antivirales, d'autres ont des effets protecteurs sur le foie (Ouissem, 2014).

Les relations structure activités antioxydantes des flavonoïdes et des composés phénoliques ont montré que l'activité antioxydante était déterminée par la position et le degré d'hydroxylation (Igor et Passi, 2002).

➤ **Le Glutathion**

Le glutathion est un agent anti radicalaire composé de 3 acides aminés: cystéine, acide glutamique et glycine (fig. 11). Il joue un rôle majeur dans la protection des lipides, des protéines et des acides nucléiques contre l'oxydation (Delattre *et al.*, 2005).

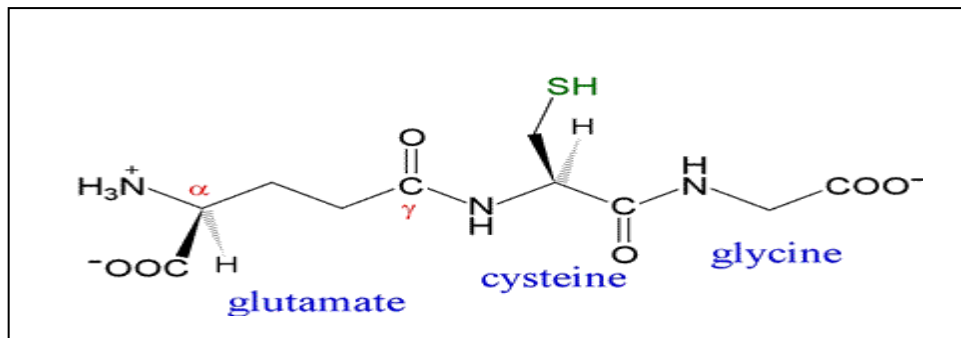


Figure 11: Structure du glutathion (Delattre *et al.*, 2005).

➤ Les acides phénoliques

Le terme d'acide-phénol peut s'appliquer à tous les composés organiques possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique (Bruneton, 1999).

Les deux groupes essentiels des acides phénoliques sont les acides hydrox benzoïques et les acides hydrox cinnamique. Ces derniers sont des dérivés des molécules non phénoliques qui sont respectivement l'acide benzoïque et l'acide cinnamique (Budic-Ieto et Lovric, 2002).

II.10.2.2. Les antioxydants synthétiques

Il existe de nombreux antioxydants synthétiques dont les squelettes sont souvent dérivés des antioxydants naturels. Pour une utilisation pratique, les antioxydants doivent remplir les conditions suivantes: Ils ne doivent pas être toxiques, ils doivent être hautement actifs à des faibles concentrations (0.01-0.02%) et doivent être présents à la surface ou dans la phase grasse de l'aliment. Cependant, il reste à les considérer comme des corps étrangers au système biologique. Parmi les polyphénols de synthèse (Ouissem, 2014).

Le BHT (Butyl Hydroxy Toluène) et le BHA (Butyl Hydroxy Anisole) (fig.12) sont les plus efficaces rencontrés dans la famille des gallates (esters de l'acide gallique) par rapport à leur faible coût pour retarder l'oxydation lipidique. Cependant, il a été montré que ces antioxydants de synthèse pouvaient être toxiques (Yu *et al.*, 2000).

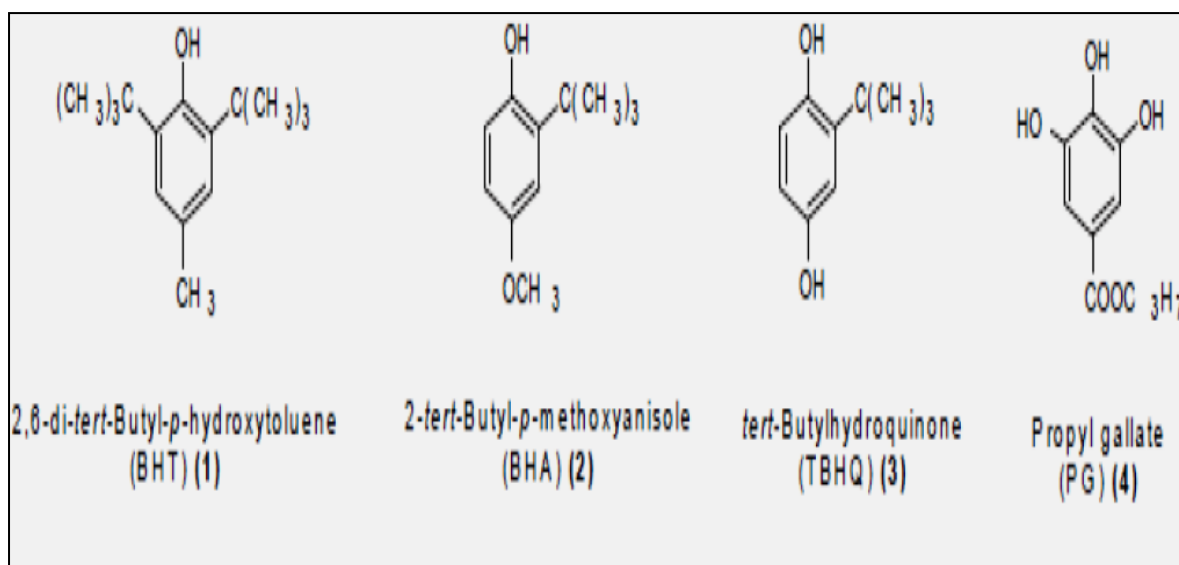


Figure 12: Structures chimiques de quelques antioxydants synthétiques (Ouissem, 2014).

II.11. Efficacité des antioxydants

Les antioxydants les plus efficaces sont ceux qui ont les énergies de liaison les plus faibles au niveau du groupe donneur d'hydrogène. L'efficacité des antioxydants phénoliques est due en particulier à la stabilisation des radicaux phénoxyliques par la délocalisation des électrons autour du cycle aromatique. L'efficacité d'un composé phénolique dépend également du nombre de fonction OH a hydrogéné labile (Yaacoub, 2009).

CHAPITRE III

Les plantes médicinales

III.1. Médecine traditionnelle

III.1.1. Définition

Selon l'OMS la médecine traditionnelle est l'ensemble des connaissances et pratiques explicables ou non utilisées pour diagnostiquer, prévenir ou éliminer un déséquilibre, physique, mental, ou social en se fondant exclusivement sur des connaissances acquises ou transmises de générations en génération, oralement ou par écrit. Les gens complètent souvent les soins qu'ils reçoivent dans les cliniques et les hôpitaux par un traitement proposé par un guérisseur traditionnel . En fait, d'après les estimations, la médecine traditionnelle assume 80% à 90% des soins de santé en Afrique (Jarald *et al.*, 2008).

La médecine traditionnelle se rapporte aux pratiques et approches utilisant, séparément ou de façon combinée, des médicaments d'origine végétale, animale et minérale, des thérapies spirituelles (Singh *et al.*, 2012).

III.1.2. Phytothérapie

La phytothérapie est une thérapie médicale qui utilise les plantes pour élaborer des remèdes destinés à améliorer le bien-être général et à soigner. Nombreuse plantes contiennent des principes actifs qui peuvent avoir les mêmes propriétés que des médicaments de synthèse. Au contraire de l'allopathie qui utilise des principes actifs purs pour produire des médicaments, la phytothérapie utilise la plante ou ses extraits. Les plantes médicinales sont faciles à utiliser, seraient potentiellement efficaces et peu coûteuses. Le mode de préparation et d'administration sont des facteurs déterminants dans un traitement (Hamza, 2011).

III.1.3. les plantes médicinales

La définition d'une plante médicinale est très simple. En fait il s'agit d'une plante qui est utilisée pour prévenir, soigner ou soulager divers maux. Les plantes médicinales sont des drogues végétales dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses (Farnsworth *et al.*, 1986). Environ 35 000 espèces de plantes sont employées par le monde à des fins médicinales, ce qui constitue le plus large éventail de biodiversité utilisé par les êtres humains. Les plantes médicinales continuent de répondre à un besoin important malgré l'influence croissante du système sanitaire moderne (Elqaj *et al.*, 2007).

III.1.4. Définition des principes actifs

Le principe actif c'est une molécule contenu dans une drogue végétale ou dans une préparation à base de drogue végétale et utilisé pour la fabrication des médicaments (Pelt, 1980). Cette molécule présentant un intérêt thérapeutique curatif ou préventif pour l'homme ou l'animale, elle est issue de plantes fraîches ou séchées, nous pouvons citer comme des parties utilisées: les racines, écorces, sommités fleuries, feuilles, fleurs, fruits, ou encore les graines (Benghanou, 2012).

Les plantes contiennent des métabolites secondaires peuvent être considérées comme des substances indirectement essentiels à la vie des plantes par contre aux métabolites primaires qu'ils sont les principales dans le développement et la croissance de la plante, les métabolites secondaires participent à l'adaptation de la plante avec l'environnement, ainsi à la tolérance contre les chocs (lumière UV, les insectes nocifs, variation de la température ...) (Benghanou, 2012). Ces composés sont des composés phénoliques, des terpènes et stéroïdes et des composés azotés dont les alcaloïdes (Jarald *et al.*, 2008).

III.1.5. Les plantes antidiabétique

Une très grande variété de mécanismes est impliquée dans la baisse du niveau de glucose dans le sang. Ceci est dû à la grande variété de classes chimiques des constituants hypoglycémiantes provenant des plantes. Certains de ces composés se révèlent véritablement hypoglycémiantes et pourraient avoir un potentiel thérapeutique, alors que d'autres produisent simplement une hypoglycémie comme effet parallèle de leur toxicité, particulièrement hépatique (Jarald *et al.*, 2008).

III.1.6. Modes d'actions des plantes antidiabétiques

Une très grande variété de mécanismes est impliquée dans la baisse du niveau de glucose dans le sang. Ceci est dû à la grande variété de classes chimiques des constituants hypoglycémiantes provenant des plantes. Certains de ces composés se révèlent véritablement hypoglycémiantes et pourraient avoir un potentiel thérapeutique, alors que d'autres produisent simplement une hypoglycémie comme effet parallèle de leur toxicité, particulièrement hépatique (Jarald *et al.*, 2008). L'activité antidiabétique des plantes peut dépendre de plusieurs mécanismes (Singh *et al.*, 2012).

- Réduction de la résistance à l'insuline
- Stimulation de la sécrétion d'insuline à partir des cellules bêta ou/et inhibition du processus de dégradation de l'insuline
- Apport de quelques éléments nécessaires comme le calcium, le zinc, le magnésium, le manganèse et le cuivre pour les cellules bêta.
- Régénération ou/et réparation des cellules pancréatiques bêta
- Effet protecteur de la destruction des cellules bêta
- Augmentation du volume et du nombre de cellules dans les îlots de Langerhans
- Inhibition de la réabsorption rénale du glucose Inhibition de β -galactosidase, de α -glucosidase et de α -amylase (Sudha *et al.*, 2011).
- prévention du stress oxydatif, qui peut être impliqué dans le dysfonctionnement des cellules bêta remarqué dans le diabète.
- Stimulation de la glycogénogenèse et de la glycolyse hépatique.
- Prévention de la conversion de l'amidon en glucose.
- Diminution des activités du cortisol.

III.2. Présentation des plantes étudiées

III.2.1. *Ajuga iva L*

III.2.1.1. la famille des lamiaceae

La famille des Lamiacées (Lamiaceae) ou Labiées (Labiatae) est une importante famille de plantes dicotylédones, qui comprend environ 4000 espèces et près de 210 genres (Naghibi *et al.*, 2005). Cette famille comporte de nombreuses plantes exploitées pour les essences ou cultivées pour l'ornementation et la plupart de ces espèces sont aussi bien utilisées dans la médecine traditionnelle que dans la médecine moderne (Judd *et al.*, 2002).

La famille des lamiacées contient une très large gamme de composés comme les terpénoïdes, les iridoïdes, les composés phénoliques, et les flavonoïdes. Les huiles essentielles et plus précisément les courtes chaînes des terpénoïdes sont responsables de l'odeur et la saveur caractéristique des plantes (Naghibi *et al.*, 2005).

III.2.1.2. Description botanique de la plante

Le genre *Ajuga* appartient à la famille des lamiacées avec plus de 300 espèces différentes (fig. 13). Cette plante est largement distribuée dans les régions arides d'Europe, d'Asie, d'Afrique et d'Australie (Boudjelal, 2012).

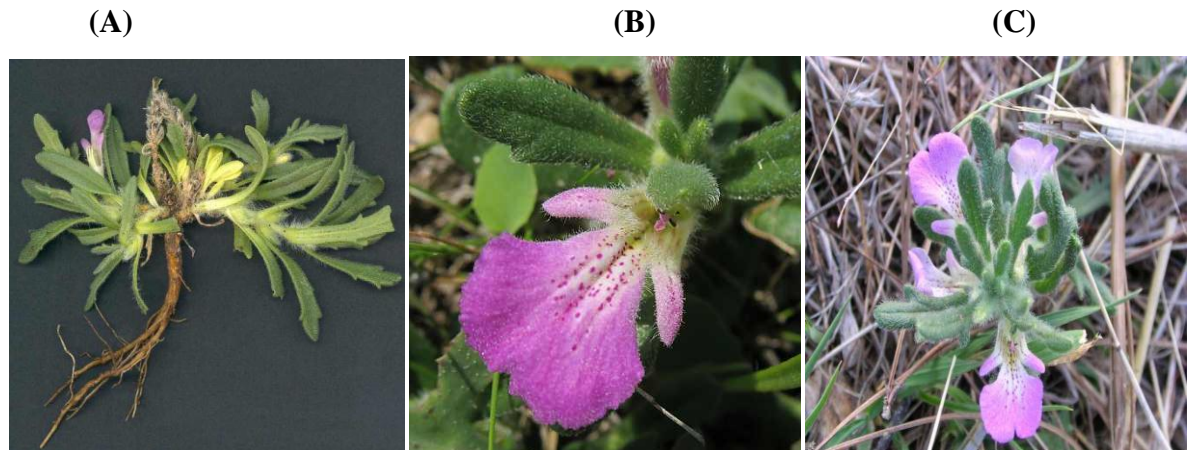


Figure 13: *Ajuga iva* (A) la plante entière, (B) la fleur, (C) les feuilles et les fleurs (Ben Jann et *al.*, 2000).

Ajuga iva est une petite plante vivace de 5 à 20 cm de long, à tiges vertes rampantes et velues, à feuilles vertes de 14 à 25 mm de longueur, linéaires, denses et couvertes de duvets. Les fleurs sont violettes, roses ou jaunes, de 20 mm de longueur ; la lèvre supérieure de la corolle est réduite ou absente et la lèvre inférieure est divisée en trois lobes velus. Les lobes latéraux sont petits, alors que le lobe central est relativement plus large décoré dans sa base par un axe central jaunâtre (Halimi, 2004).

III.2.1.3. Classification (APG III, 2009)

Règne: Plantae

Division: Spermatophyta (Angiospermae)

Classe: Dicotyledones

Ordre: Tubiflorae

Famille: Lamiaceae / Labiatae

Genre: *Ajuga*

Espèce: *Ajuga iva*

Auteur: (L.) Schreber

Nom commun (Arabe): Chendgoura, (Berber): Taftelba, (Français): Ivette, Petit if, Bugle, (Anglais): Herbivy, Musky bugle.

III.2.1.4. Distribution géographique et habitat

L'ivette musquée pousse à une altitude de 0 à 1600 mètres, dans les régions arides où elle croît dans les champs. Elle est commune dans la région méditerranéenne, très répandue dans les pelouses et les forêts du Tell algérien. La floraison de la plante est d'avril à octobre (Baba Aissa, 2000).

III.2.1.5. Composition chimique de la plante

La plupart des plantes contiennent les composés polyphénoliques, qui sont les meilleurs antioxydants. Les flavonoïdes et les tannins se trouvent en grande quantité dans l'*Ajuga iva*. Elle contient aussi les anthocyanes, les acides phénoliques et d'autres substances en particulier l'ajugarine (Halimi, 2004).

Les études ont montrés que l'ivette 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), 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 les trouvent dans l'*Ajuga iva*, elle est très riche en fer (Ben Jannet *et al.*, 2000).

III.2.1.6. Utilisation traditionnelle de la plante

Ajuga iva est une plante utilisée dans la médecine traditionnelle algérienne contre le diabète, elle est connue pour ses propriétés anti-inflammatoires, antimicrobiennes, antirhumatismales, hypoglycémiantes, antispasmodiques, antifongiques (Bondm *et al.*, 2000).

C'est une plante astringente, qui assèche les écoulements et qui facilite la cicatrisation. Elle est recommandée aussi pour guérir les ulcères, les plaies et les blessures (Baba Aissa, 2000). La richesse de l'ivette lui donne plusieurs propriétés prouvées scientifiquement. C'est un agent antioxydant, antidiabétique et hypolipidémique, vasodilatateur et donc anti hypertensif, antibactérien et antifongique (Israili et Lyoussi, 2009).

III.2.2. *Matricaria pubescens*

III.2.2.1. La famille des Astéracées

La famille des Astéracées comprend plus de 13 tribus, 1000 genres et 23000 espèces. En Algérie, il en existe 109 genres et 408 espèces et en France 111 genres et 638 espèces. Cette vaste famille est économiquement importante, vu que plusieurs de ses plantes sont cultivées pour leur valeur alimentaire (le tournesol, le topinambour, la laitue, la chicorée, la camomille, etc.) ou comme plantes décoratives (les dahlias, les asters, les rudbeckies, les gaillardes, etc) (Mahdjar, 2013).

III.2.2.2. Description botanique de la plante

Matricaria pubescens est appelée localement ``Guertoufa``, elle se rencontre particulièrement dans tout le Sahara septentrional et Central. C'est une plante endémique très connue en Afrique du Nord (Quezel et Santa, 1963).

Elle est décrite dans la flore du Sahara comme plante annuelle en touffe vert sombre à tiges couchées puis redressées. Les feuilles d'un vert sombre sont très découpées et velues, bractées de l'involucre amplement scarieuses lacérées tout autour, pédoncule non épaissi au sommet. Les fleurs jaunes toutes en tubes s'épanouissent sur des tiges grêles. Akènes jaunâtres, munis d'une collerette déjetée sur le côté et aussi longue qu'eux, triangulaires et à faces courbes (face antérieure, convexe, deux faces latérales concave) .Toute la plante a une odeur très agréable (Quezel et Santa, 1963).

III.2.2.3. Classification (Zarrou, 2012) :

Embranchement : Angiospermes (spermaphytes)

S/embranchement : (angiospermes)

Classe : Dicotylédones (Monocotyledones)

Sous-classe : Gamopétales (Composita)

Ordre : Asterales

Famille : Astéracées

Genre : *Matricaria*

Espèce : *Matricaria Pubescens*

Nam français : Camomille

Nom vernaculaire : Garetoufa (E, O), ouazouaza (B)

Nom tamasheq : Aynasnis



Figure 14: *Matricaria pubescens* (Desf.) (Mahdjar, 2013).

II.2.2.4. Répartition géographique et caractéristiques botaniques

La plupart des *Matricaires* sont très fréquents dans les régions tempérées d'Europe, d'Asie, et en Amérique, ainsi que dans le nord et le sud de l'Afrique, et certaines sont naturalisées en Australie.

Les *Matricaires* sont des plantes annuelles de 50 centimètres à 1,5 m de hauteur, à tige dressée (rameuse). Les feuilles alternes, sessiles, épaisses, charnues, sont très divisées, en lanières. Les fleurs, jaunes au centre, blanches à la circonférence, très odorantes, sont groupées en capitules solitaires au sommet des rameaux. Le fruit est très petit, blanc jaunâtre, légèrement arqué (Mahdjar, 2013).

II.2.2.5. Composition chimique de *Matricaria pubescens* (Desf.)

Un grand nombre du genre de *Matricaria* ont fait à ce jour, l'objet d'études chimiques et de très nombreux métabolites secondaires ont été isolés, à l'exception des alcaloïdes. Les recherches phytochimiques ont permis de mettre en évidence, dans le genre *Matricaria*, tous les composés caractéristiques des Astéracées. Ces derniers, lors d'études chimio systématiques, ont montré une grande variété de métabolites secondaires et des procédés biosynthétiques différents. On a ainsi pu mettre en évidence au cours d'études chimiques sur les compositae, différents types de composés chimiques : coumarines, flavonoïdes, amides, terpènes, hétérosides, sesquiterpènes lactones (Mahdjar, 2013).

❖ Les coumarines

Ce sont des 2-H-1-benzopyran-2-ones, considérés comme étant les lactones des acides O-hydroxy-2-cinnamiques. Les composés coumariniques rencontrés chez le genre *Matricaria* sont le plus souvent des composés simples comme c'est le cas de l'herniarine et l'un belliférone (Guignard, 1994).

❖ Les flavonoïdes

Les flavonoïdes, présents dans la plupart des plantes, sont des pigments polyphénoliques qui contribuent entre autres, à colorer les fleurs et les fruits en jaune ou en blanc. Ce sont des substances naturelles très répandues dans la famille des Astéracées (Eberhard *et al.*, 2005) où beaucoup de travaux ont été réalisés chez le genre *Matricaria*. On trouve essentiellement des flavonoïdes glycosylés comme l'apigénine 7-glucoside et la lutéoline 7-glucoside (Eberhard, 2005).

❖ Les amides

Les parties aériennes et les racines de l'espèce *Matricaria pubescens*(Desf.) présentent un gout piquant et poivré dû à des métabolites secondaires comportant un radicalisobutylamide. Ces amides peuvent être aromatiques « fagaramide » ou aliphatiques « sanshool » (Benkiki, 2006).

❖ Les terpènes

Constituant une vaste famille de composés naturels, ils sont classés chimiquement en fonction du nombre d'unités isopréniques (C₅ H₈) n constituant leurs structures carbonées selon la règle élaborée initialement par Léopold Ruzicka (Makhloufi, 2009).

❖ Sesquiterpènes lactones

Ce sont des molécules en C₁₅ souvent présentent sous formes de lactones qui peuvent conférer notamment aux Astéracées des propriétés allergisantes. Ces substances sont fragiles et, par distillation, peuvent se transformer en carbures plus ou moins insaturés par dégradation de la lactone initiale. Elles peuvent être présentes dans les huiles essentielles (Makhloufi, 2009).

II.2.2.6. Domaines d'utilisation du *Matricaria pubescens* (Desf.)

Alimentation

Cette plante est utilisée pour donner une bonne saveur au thé. Dans la région Sud-Ouest Algérienne elle est aussi utilisée pour la préparation des soupes et dans la conservation du beurre transformé traditionnellement (D'han) (Ould el hadj, 2003).

Médicinal

Matricaria pubescens (Desf.) est utilisée dans les affections oculaires, démangeaison, dysménorrhée, inflammations des plaies (Zarrou, 2012), rhumatismes, toux, otites et affections oculaires, calculs biliaires et affection gastro-intestinales (Ould el hadj, 2003).

L'usage traditionnel de cette plante est varié d'une région à l'autre:

- ❖ El-Goléa: rhumatismes, courbatures, déshydratation, dentition, dysménorrhée, affections oculaires, toux, allergies.
- ❖ Béchar: toux, allergies, affections oculaires.
- ❖ Ouargla: toux, dysménorrhée, piqûres de scorpion et allergies.

En usage externe, la matricaire est utilisée couramment dans le domaine dermatologique (Makhloufi, 2009)

- Retenues de l'usage: vulnérable (cicatrisant, antiseptique, antiphlogistique).
- Mucodermotrope: anti-inflammatoire, épithéliogène, antiulcéreux, lénitif.
- Anti-infectieux: antifongique, antibactérien (Zarrou, 2012).

DEUXIEME PARTIE

Matériels et Méthodes

I. Matériels

I.1. Matériels végétales *Ajuga iva* et *Matricaria pubescens*

I.1.1. Récolte d'*Ajuga iva* et de *Matricaria pubescens*

Le matériel végétal utilisé dans ce travail est la partie aérienne de plante *Ajuga iva* récoltée au mois de Mars 2017 dans la wilaya Souk Ahras et *Matricaria pubescens* récoltée au début du mois de Février 2017 dans la région de Hassi kalifa, wilaya d'El Oued. Les échantillons sont ensuite lavé puis séché à l'air libre et à l'ombre pendant 21 jours, afin de préserver au maximum l'intégrité de sa composition chimique, ces parties sont soumises à différentes méthodes d'extraction aux solvants organiques.



Figure 15: La plante d'*Ajuga iva*
(photo originale)



Figure16: La plante *Matricaria pubescens* (photo originale)

I .2. Matériel Animal

Le matériel animal choisi est le rates blanche de sexe féminin et d'une souche *wistar* (*Rattus norvegus alvinus*) Albinos, provenant de l'institut Pasteur d'Alger (centre d'élevage El-Kouba, Alger) (fig.17). A leur arrivées, ces rattes pesaient entre 220 et 228 grammes, au début de l'expérimentation, ils pesaient en moyenne 222 grammes.



Figure 17: Rates banche de la souche *Wistar* Albinos (photo originale)

I. 2.1. Enceinte d'élevage

Les rattes sont élevées dans des cages en matière plastique. Les cages ont été nettoyées et la litière changée tous les jours. Les rates sont acclimatés pendant six semaines aux conditions de l'animalerie au niveau de la faculté des sciences de la nature et de la vie à l'Université Echahid Hamma Lakhdar d' El OUED, à une température ambiante et un taux d'humidité 64.5% avec un cycle photopériodique de 12 heures de lumière/obscurité. Ils ont libre accès à l'eau et à la nourriture.

I. 2.2. Le régime alimentaire

Le régime utilisé dans notre expérience est sous forme de mélange de différents produits broyé et destiné aux bétails d'une composition suivantes :

Tableau02: Composition de régime alimentaire (Southon *et al.*, 1984).

Matières premières	Quantité (g/kg)	Pourcentage (%)
Mais	326	32.6
Saccharose	326	32.6
Protéine	168	16.8
Cellulose	40	4
Minéraux	20	2
Vitamine	20	2
Huile	40	4

I.3. Etude l'effet d'extrait d'*Ajuga iva* et de *Matricaria pubescens*

I.3.1. Induction du diabète

Après une mise à jeun pendant une nuit (privation de la nourriture pendant 16 heures mais pas de l'eau). Le diabète a été induit par injection intrapéritonéale de l'alloxane monohydrate (98%) (Sigma-Aldrich, USA) dissous a une solution de chlorure de sodium à 0.9 % stérile avec une dose de 120 mg/kg. Apres injection, les bouteilles d'eau ont été remplacées par des bouteilles contenant une solution saluté de glucose 5% pendant 24 heures afin de surmonté l'hypoglycémie induite par l'alloxane la destruction des cellules β pancréatiques et la libération massive d'insuline. Cette hypoglycémie peut être fatale pour les rattes. Pour les témoins, un volume équivalent de chlorure de sodium à 0.9 % a été administré par voie intrapéritonéale. Le diabète a été détecté après 72 heures, la mesure de la glycémie à jeun a été faite par un glucomètre ON CALL PLUS, les rattes avec le niveau du glucose sanguin supérieur ou égal à 200 mg/dl sont considérés diabétiques et ils sont retenues dans notre étude (Laxmi *et al.*, 2010).

I.3.2. Traitement des animaux

Après l'installation du diabète, l'ensemble des rattes, diabétiques et non diabétiques sont répartis en quatre groupes de quatre rates, chacun et gardés dans les mêmes conditions. Le début du traitement par l'extrait aqueux d' *Ajuga iva* et de *Matricaria pubescens* commence 72 heures après la confirmation du diabète et dure 15 jours (durée du traitement). Le choix de la dose a été fait selon des études antérieurs de toxicité, pour la dose 800 mg / kg pc de *Matricaria pubescens*, Gleason a conclu que la dose létale 50 chez les rats blancs comprise entre 5000 et 15000 mg/kg. Le choix de la dose 300 mg/kg pc d' *Ajuga iva* est basé sur les résultats de Jaouad EL HILALY(2004) sur la toxicité aigue par voie orale de cette dernière, la DL_{50} est supérieure à 14g/kg pc.

1.3.3. Les groupes des animaux

1^{re} Groupe (Rattes témoins saines): 4 rattes qui reçoivent quotidiennement par gavage gastrique 5 ml/kg d'eau distillée pendant 15 jours.

2^{ème} Groupe (Rattes Diabétiques non traités): 4 rattes qui reçoivent quotidiennement par gavage gastrique 5 ml/kg d'eau distillée pendant 15jours.

3^{ème} Groupe (Rattes Diabétique traitées + *Ajuga*): 4 rattes soumises a un régime alimentaire standard et reçoivent chaque jour par gavage gastrique 300 mg/kg de l'extrait aqueux d' *Ajuga iva* pendant 15 jours.

4^{ème} Groupe (Rattes Diabétiques traitées + *Matricaria*): 4 rattes soumises à un régime alimentaire standard et reçoivent quotidiennement par gavage gastrique 800 mg/kg de l'extrait aqueux de *matricaria pubescens* pendant 15 jours.

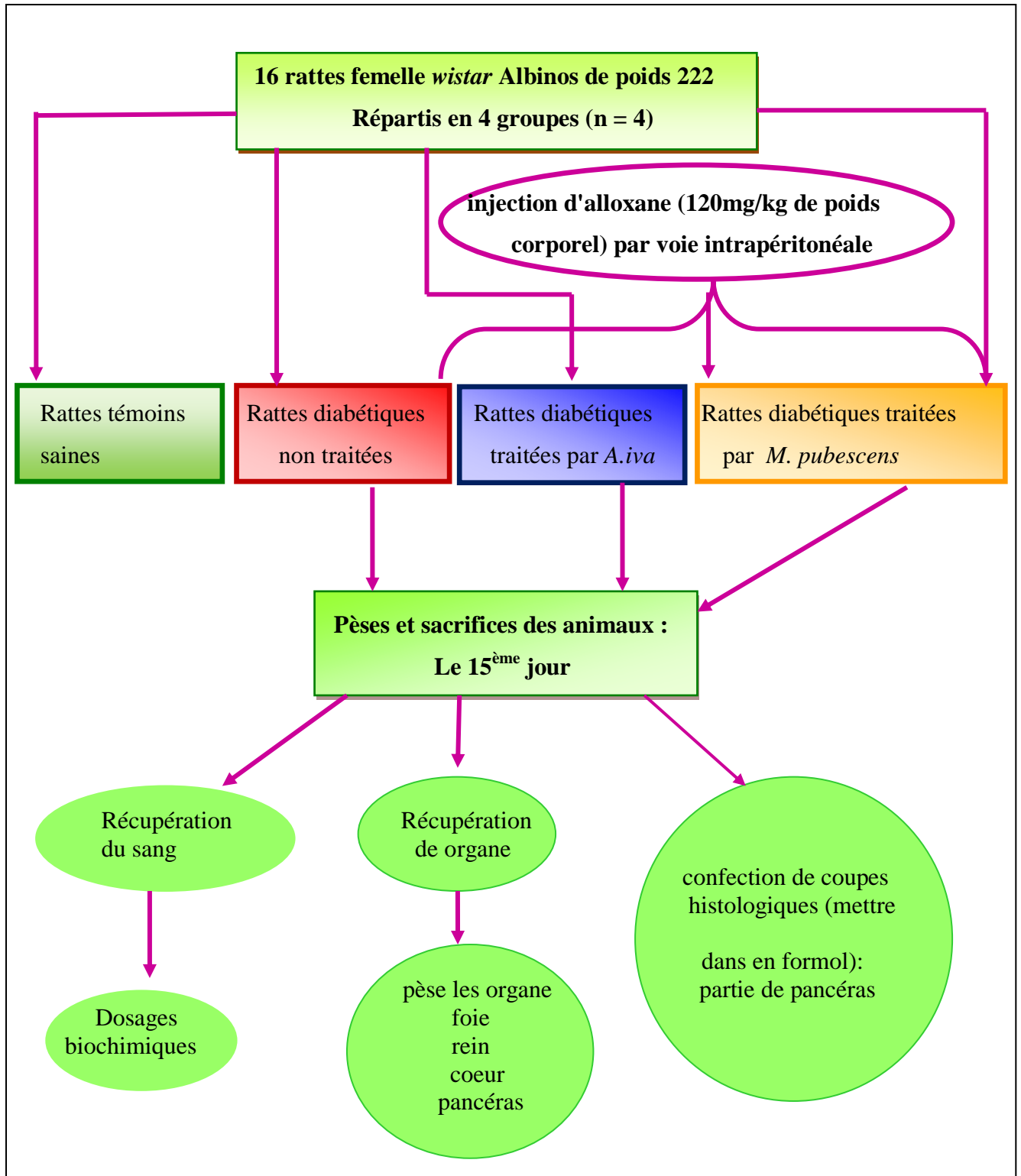


Figure 18: Protocole expérimentale

I.3.4. Suivi des animaux durant le traitement

- **Poids corporel**

Les rattes ont été pesés chaque cinq jours grâce à une balance SF-400

- **Glycémie**

la glycémie des rattes a été mesurée chaque trois jour. Le sang est prélevé au niveau de la queue du rat avant et après l'administration d'extraits pour déterminer le taux de glucose sanguin a l'aide d'un glucomètre ON CALL PLUS. Les résultats ont été exprimés en termes de milligramme par décilitre de sang mg/dl.

I .4. Produits chimiques

Plusieurs réactifs chimiques ont été utilisés dans nos expériences, parmi ces produits: $AlCl_3$; magnésium; Folin Ciocolteu; 2,2'-diphényl-1-picryl hydrazyl (DPPH); acide ascorbique; acide galique; rutine; acide sulfurique (H_2SO_4); $FeCl_3$; acide acétique; acétate de sodium; alloxane; acide trichloroacétique (TCA); Acide thiobarbiturique (TBA); acide salicylique; butylhydroxytoluène (BHT); acide dithio-bis-2-nitrobenzoïque (DTNB) = réactif Ellman; glutathion réduit (GSH); tris; NaCl; bleu de comassie; sérum albumine bovin (SBA); acide phosphorique (H_3PO_4); eau oxygénée (H_2O_2); méthanol; chlorure d'hydrogène (HCL); liqueur de Fehling; Méthanol, Chloroforme

Les kits de réactifs de l'urée et créatinine, le kit de réactif de protéine totale sérique et α - amylase, le kit de réactif de triglycéride, les kits de réactifs de cholestérol et triglycéride HDL-cholestérol, les kits des réactifs de TGO et TGP et PAL, sont achetés du SPINREACT (Espagne).

1.5. Matériels du laboratoires

- ❖ Centrifugeuse horizontale de type SIGMA.
- ❖ Spectrophotométrie à transmission moléculaire de type UV- VIS -1240.
- ❖ Étuve de type MEMMERT.
- ❖ Evaporateur rotatif de type Büchi Rotavapor R- 200.
- ❖ Bain-marie de type MEMMERT. Balance électrique de type KERN EMB 2200-O.
- ❖ Balance analytique de type KERN ABJ/ABS, Micropipette, Hown, Verreries (bucher, erlenmeyer, éprouvette, tubes à essai, Pipette graduée...).

II. Méthodes

II.1. Préparation des extraits aqueux

10g de poudre de partie aérienne dissous dans 100ml d'eau distillée chaude à macérer pendant 24h à température de la chambre, Après filtration sur un tissu mousseline, puis sur papier filtre, ce filtrat a ensuite été évaporé à sec sous pression réduite à 65°C à l'aide d'un évaporateur rotatif. (Majhenic *et al.*, 2007)

30g de la plante *Matricaria pubescens* séché et broyé a été infusé dans 120 ml d'eau distillée, le mélange laissé macérer pendant 24h.

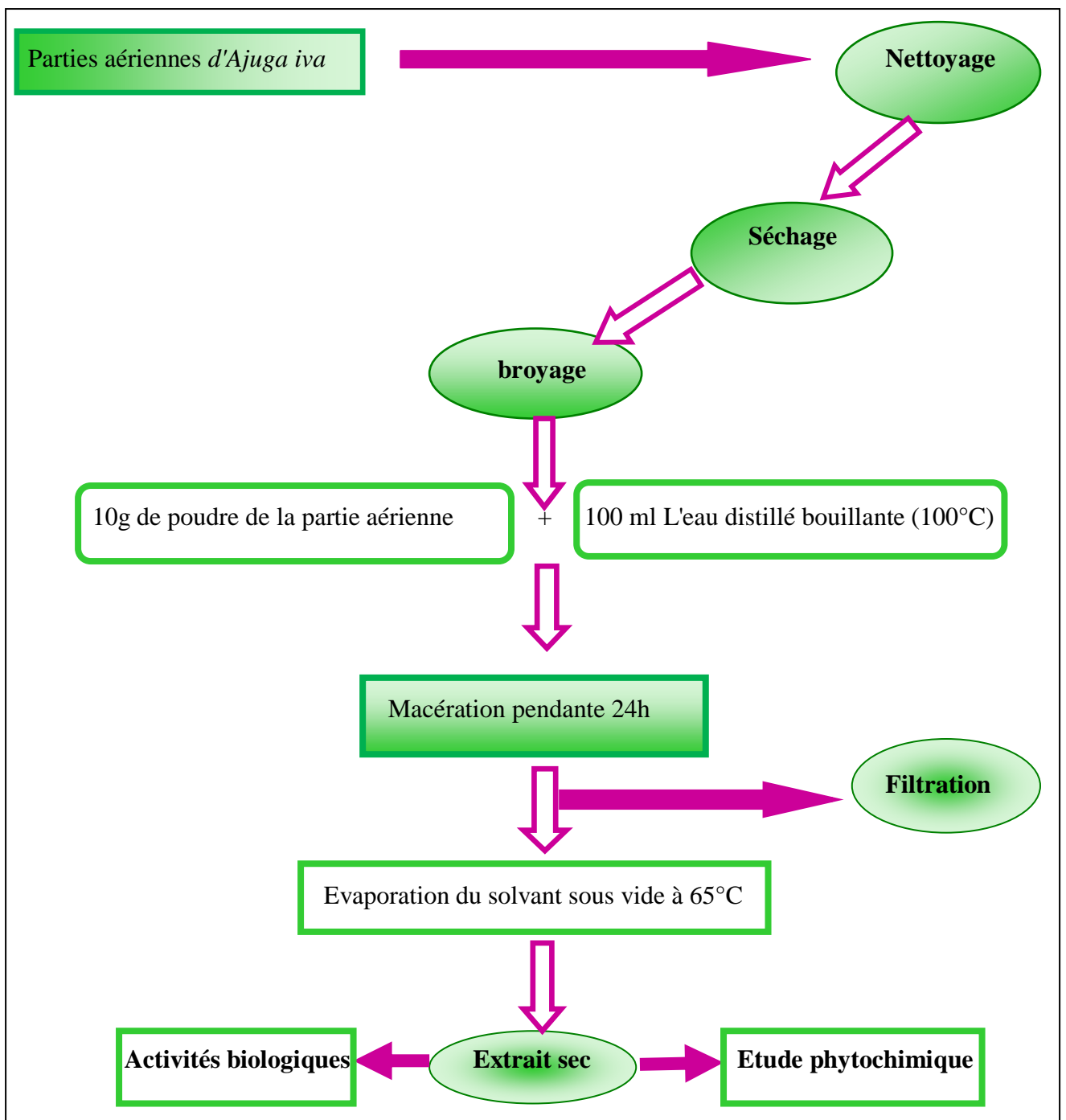


Figure19: Protocole de préparation de l'extrait aqueux d'*Ajuga iva*

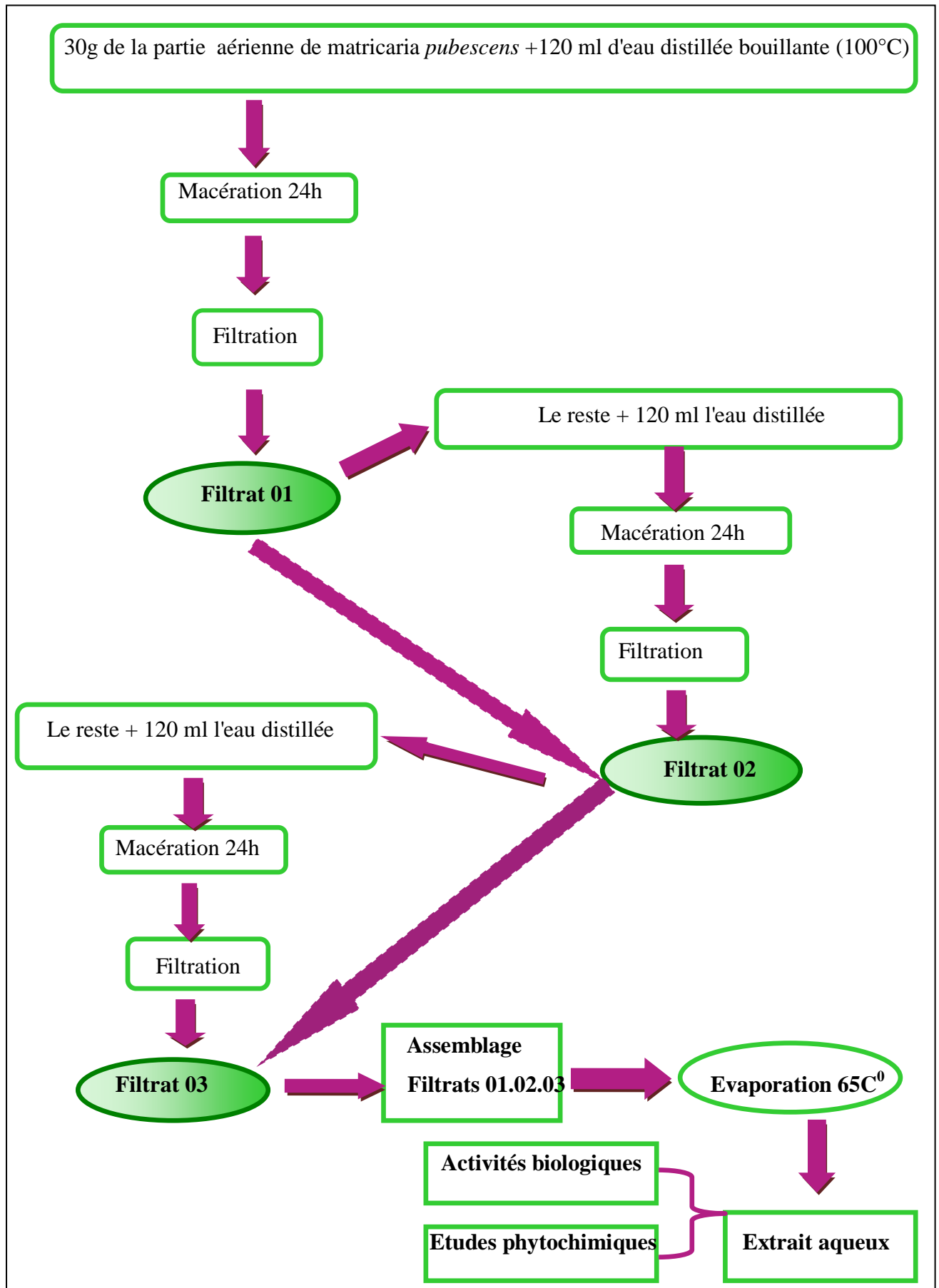


Figure 20: Protocole de préparation de l'extrait aqueux de la *Matricaria pubescens*

II.2. Calcul des rendements en extrait sec

Le rendement de la plante en extrait est le rapport entre le poids de l'extrait et le poids de la plante à traiter (Harborne, 1998). Le rendement qui est exprimé en pourcentage a été calculé par la formule suivante:

$$\text{Rdt \%} = [P_E / P_A] \times 100$$

Où

R= Rendement de l'extrait en pourcentage;

P_E = Poids de l'extrait en gramme;

P_A = Poids de la plante en gramme.

II.3. Tests photochimiques

Les extraits de chacune des plantes ainsi obtenus, sont soumis à des tests phytochimiques spécifiques permettant de mettre en évidence la présence ou l'absence de leur principaux constituants, utilisant les méthodes classiques décrites précédemment par (Harborne, 1998). Ces tests de caractérisations sont réalisés sur des extraits secs remis en solution dans l'eau.

❖ Les flavonoïdes

A 5 mL d'extrait, sont ajoutés 2 à 3 gouttes d'HCl concentré et quelques copeaux de tournures de magnésium. La présence de flavonoïdes est indiquée par l'apparition d'une couleur rouge, orange ou rose (Athamena, 2009 ; Benzahi, 2001).

❖ Les tanins

A 2 mL d'extrait sont additionnés 2 ou 3 gouttes FeCl₃ (1%). L'apparition d'une couleur verte-noire indique la présence des tanins catéchiques, et la couleur bleu-noire indique la présence des tanins galliques (Badiaga, 2011).

❖ Les alcaloïdes

Ajouter 5 mL d'acide chlorhydrique (1%) à 1 mL d'extrait, le mélange est incubé au bain marie pendant 10 minutes, puis la solution obtenue est divisée en deux parties. Dans un tube le réactif de Mayer est ajouté et dans l'autre le réactif de Wagner. L'apparition d'un précipité blanc ou brun révèle la présence des alcaloïdes (Bruneton, 1993).

❖ Les terpénoïdes

A 5 mL d'extrait on ajoute 2 mL de chloroforme puis on ajoute 1 à 2 mL de l'acide sulfurique concentré, la présence des terpénoïdes est révélée par l'apparition de deux phases et une couleur marron en interphase (Chebrouk ,2009).

❖ Les saponosides : Test de mousse

A 1 mL d'extrait est ajouté 2 mL d'eau chaude, après agitation (2 min) l'apparition d'une mousse persistante plus de 5 min, indique la présence de saponosides (Makhloufi, 2013).

❖ Les composés réducteurs

A 1 mL d'extrait dans un tube, sont ajoutés 2 mL de liqueur de Fehling (1ml réactif A et 1ml réactif B) et mis à incuber l'ensemble pendant 8 min dans un bain-marie bouillant. L'apparition d'un précipité rouge brique indique la présence des composés réducteurs (oses, holosides, mucilages) (Boual , 2009).

II.4. Détermination des teneurs en principes actifs

II.4.1. Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux dans les différents extraits est réalisé par la méthode de Singleton et Ross en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu (Ghouini, Lamini, 2015). Le réactif de Folin-Ciocalteu est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et phosphomolibdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$), il est réduit par les phénols en un mélange d'oxydes bleus de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_{23}). Cette coloration bleue dont l'intensité est proportionnelle aux taux de composés phénoliques présents dans le milieu donne un maximum d'absorption environs 750- 765nm (Bonnaillie et *al.*, 2012).

La teneur en composés phénoliques totaux des extraits phénoliques a été déterminée selon la méthode de Folin-Ciocalteu. A 200µl de chaque solution d'extrait est ajoutée 1ml de réactif de Folin Ciocalteu (1/10) puis 0,8ml d'une solution de bicarbonate de sodium (7,5%) a été ajoutée. Après 30min, le contenu phénolique a été mesuré à 765nm avec UV-Vis spectrophotomètre (Vuorela, 2005).

La courbe d'étalonnage a été réalisée par l'acide gallique à différentes concentrations (20 -100 µg/ml), dans les mêmes conditions de dosage. Les résultats sont ainsi exprimés en µg

équivalent d'acide gallique par mg d'extrait sec (μg d'EAG/mg). Toutes les mesures sont répétées 3 fois (Bonnaillie *et al.*, 2012).

II.4.2. Dosage des flavonoïdes

Les flavonoïdes des extraits ont été quantifiés par la méthode du trichlorure d'aluminium (Baharun *et al.*, 1996); 1 ml de chaque échantillon (préparés dans l'eau distillée ou dans le méthanol pour avoir des concentrations convenables) a été ajouté à 1 ml de la solution d' AlCl_3 (2 % dans le méthanol). Après 10 minutes d'incubation, l'absorbance a été lue à 430 nm. La concentration des flavonoïdes dans chaque extrait a été calculée à partir des courbes d'étalonnage établies avec la quercétine (0-50 $\mu\text{g}/\text{ml}$), a été préparée dans le méthanol et exprimée en milligrammes équivalents de quercétine par grammes du poids d'extrait (mg EQ / g E).

II.4.3. Dosage des tanins condensés

Les quantités des tannins condensés sont estimées en utilisant la méthode à vanilline en milieu acide (Julkunen-Titto, 1985). Un volume de 400 μl de l'extrait brut est ajouté à 3 ml de la solution vanilline/éthanol (4 % m/v) puis mélangé à l'aide d'un vortex. Ensuite 1.5 ml de l'acide chlorhydrique concentré (HCl) est additionné et laissé réagir à la température ambiante pendant 15 min. L'absorbance à 500 nm est mesurée contre un blanc.

La concentration des tannins est estimée en milligramme (mg) équivalents acide gallique par gramme (g) du poids de l'extrait sec (AG)/g à partir de la courbe d'étalonnage (Bonnaillie *et al.*, 2012).

II.6. Détermination de l'activité anti-radicalaire des extraits par la méthode de DPPH (effet scavenger)

L'activité anti-radicalaire des différents extraits a été évaluée, *in vitro*, par le test de DPPH. Cette méthode spectrophotométrique utilise le radical DPPH (2,2'-diphényl-1-picrylhydrazyl) de couleur violette comme réactif, qui vire au jaune (fig. 21), en présence de capteurs de radicaux libres, et se réduit en 2,2'-diphényl-1-picrylhydrazine (Cuendet *et al.*, 1997). Ceci permet de suivre la cinétique de décoloration à 517 nm.

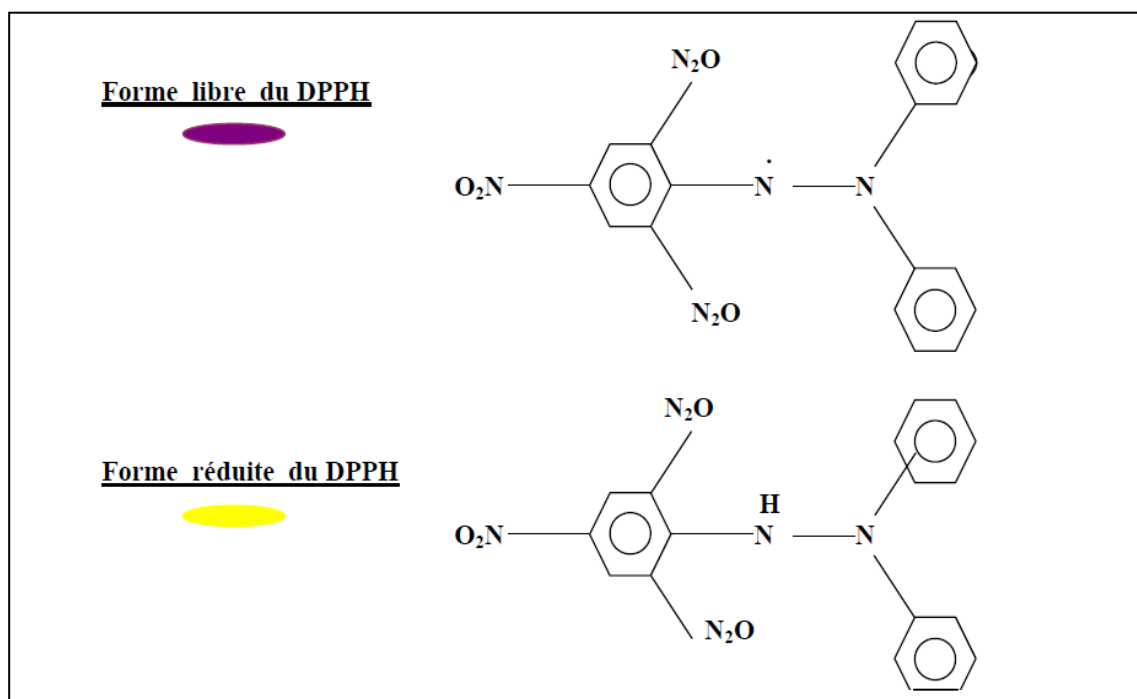


Figure 21 : Forme réduite et libre du DPPH (Mohammedi, 2006).

Pour cela, 50 μ l de chacune des différentes concentrations des extraits ont été incubés avec 5 ml d'une solution méthanolique de DPPH à 0.004 %. Après une période d'incubation de 30 minutes, les absorbances à 517 nm ont été enregistrées. Les résultats obtenus pour chaque extrait testé ont été exprimés par rapport à ceux obtenus pour le BHT (Butylated hydroxytoluene) pris comme antioxydant de référence. Le pourcentage d'inhibition (I %) du radical DPPH par les extraits a été calculé comme suit: (Cuendet *et al.*, 1997)

$$\text{Activité Scavenger (\%)} = (A \text{ contrôle} - A \text{ échant} / A \text{ contrôle}) \times 100$$

AC: absorbance en absence de l'inhibiteur (contrôle négatif)

AE: absorbance en présence de l'inhibiteur (échantillon)

La concentration inhibitrice de 50 % de l'activité du DPPH (IC_{50}) de chaque extrait a été par la suite calculée à partir de l'équation qui détermine le pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration de l'inhibiteur. Elle a été exprimée en μ g / ml et comparée avec celle du BHT(Cuendet *et al.*, 1997).

II.7. Préparation des prélèvements et préparation du plasma

A la fin du traitement et au 15^{ème} jour, les rattes sont sacrifiées le matin à jeun. Le prélèvement sanguin s'effectue pour les différents lots. Les échantillons sanguins sont recueillis dans des tubes héparinés, puis centrifugés à 3000 tours/minute pendant 10 minutes. Le plasma est séparé en deux à trois fractions dans des tubes Eppendorf, l'un est utilisé pour le dosage immédiat tel que le glucose et les deux autres sont mis au congélateur pour le dosage des autres paramètres.

Après le sacrifice et la dissection des animaux, les organes (le pancréas, le cœur, le foie, les reins) sont récupérés, rincés par l'eau physiologique salin 0.9 % puis pesés à l'aide d'une balance. Une Partie du pancréas a été mis dans le formol pour l'étude histologique et l'autre partie du pancréas est conservé au congélateur à (18°C) pour le dosage des protéines hépatiques et du glutathion réduit (GSH) .

I.8. Préparation des échantillons des coupes histologiques

Les coupes histologiques du pancréas ont été réalisées suivant la technique classique du Houlot. Pour chaque rattes, on prélève un fragment du pancréas de 0,5 cm³, ces fragments sont mis directement dans du Bouin alcoolique, fixateur couramment utilisé (26 ml Formol, 7 ml acide acétique et 45 ml acide picrique de 95%). Puis ces morceaux sont retirés et coupés à l'aide du couteau tranchant à fin de réaliser des prélèvements pour l'étude histologique avec une surface de 1-2 cm² et une épaisseur proche de 1,5 mm. Les pièces obtenues sont alors mis dans des cassettes spéciales parois tournées afin de permettre le passage des liquides.

Déshydratation : Les échantillons sont ensuite déshydratés pendant 12 heures au minimum pour éliminer l'eau des tissus, cette opération nécessite le passage du tissu dans des bains d'éthanol de concentration croissante (70%, 80%, 90% et 100%).

Inclusion : Les pièces anatomiques sont alors plongées dans des bains de paraffine liquide, puis on procède à l'étape de l'enrobage qui consiste à inclure le tissu imprégné dans un bloc de paraffine qui, en se solidifiant, va permettre sa coupe. La réalisation des coupes minces de quelques microns (5 µm en moyenne) sont possibles grâce d'un microtome. Ces coupes sériées sont reliées entre elle sous forme des rubans ; les quels sont par la suite étalés sur des lames porte-objets, dépliés et fixés sur les lames par l'utilisation d'une eau gélatineuse chauffée.

Coloration : Selon la technique à l'hémalum-éosine, la coloration suit les étapes suivantes:

1- Déparaffiner et hydrater les lames à l'eau de robinet puis rincer à l'eau distillé.

- 2- Immerger dans un bain d'hématoxyline de Harris (15 min) qui colore en bleu violacée les structures basophiles (noyaux).
- 3- Différencier les coupes dans l'alcool acide (100 ml éthanol à 70% + 50 ml HCl) puis les rincer à l'eau de robinet.
- 4- Bleuir dans un bain d'eau ammoniacale (100 ml d'eau distillé + 2 ml d'ammoniaque).
- 5- Immerger dans un bain d'Eosine (15 secondes à 2 min) qui colore les structures acidophiles (cytoplasme).
- 6- Déshydrater, éclaircir et monter les lames à Eukitt. Tous ces bains sont séparés par des lavages à l'eau de robinet.
- 7- Enfin, passer à l'observation au microscope photonique, lequel est équipé d'un appareil photographique.

II.9. Méthode de dosage des paramètres biochimiques sériques

Tous les dosages des paramètres plasmatiques ont été effectués selon les fiches techniques spécifiques à chaque paramètre de marque SPINREACT.

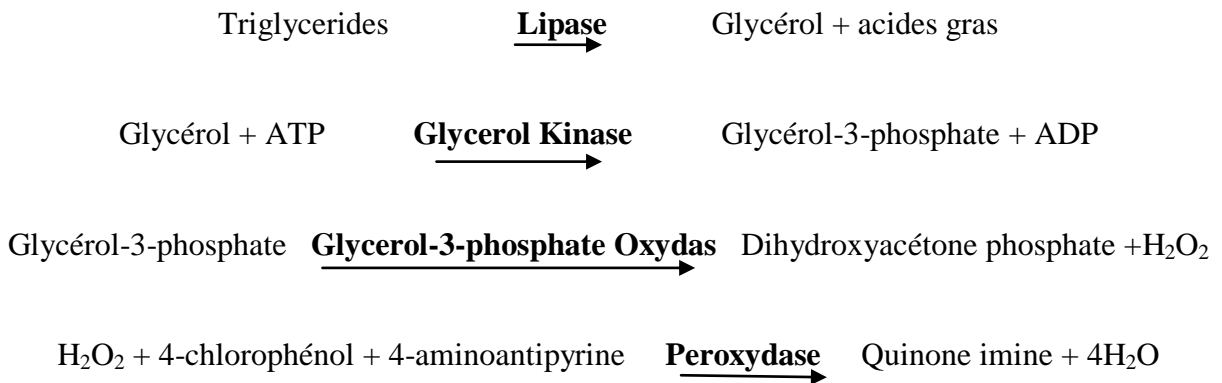
II.9.1. Méthode de dosage des paramètres de métabolisme des carbohydrates et lipides

II.9.1.1. Méthode de dosage des triglycérides

Le dosage des triglycérides a été effectué par le même autoanalyseur (ARCHITECT *c* Systems) suivant une méthode colorimétrique enzymatique des triglycérides (Glycérol phosphate oxydase) en utilisant le Kit de réactif des glycérides REF 7D74 (Fossati & Prencipe, 1982).

- **Principe**

Repose sur le dosage enzymatique du glycérol libre après action de la lipase. Les triglycérides sont hydrolysés enzymatiquement par la lipase afin de libérer les acides gras et le glycérol. Le glycérol est phosphorylé par l'adénosine triphosphate (ATP) et le glycérol Kinase (GK) pour produire du Glycérol-3-phosphate et de l'adénosine diphosphate (ADP). Le Glycérol-3-phosphate est oxydé en Dihydroxyacétone phosphate (DAP) par le glycérol phosphate oxydase (GPO) en produisant du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂). Lors d'une réaction colorée catalysée par la peroxydase, le H₂O₂ réagit avec le 4-aminoantipyrine (4-AAP) et le 4-chlorophénol (4-CP) pour produire un colorant rouge.



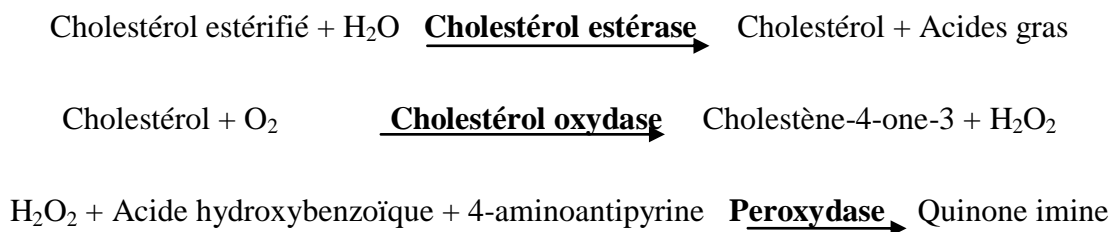
II.9.1. 2. Méthode de dosage du cholestérol total

Le cholestérol peut être dosé par de très nombreuses méthodes, dont les plus anciennes sont colorimétriques alors que celles pratiquées actuellement sont enzymatiques.

Dans notre étude, le cholestérol a été déterminé suivant une méthode enzymatique (réaction de Trinder) par un autoanalyseur de type (ARCHITECT *c* Systems) en utilisant le Kit de réactif du cholestérol REF 7D62 (Roeschlau *et al.*, 1974).

- **Principe**

Les esters de cholestérol sont hydrolysés enzymatiquement par la cholestérol estérase qui les décomposent en cholestérol et en acides gras libres. Le cholestérol libre, y compris celui initialement présent, est ensuite oxydé par le cholestérol oxydase pour former du cholestène-4-one-3 et du peroxyde d'hydrogène. Le peroxyde d'hydrogène se combine avec de l'acide hydroxybenzoïque (HBA) et de la 4-aminoantipyrine pour former un chromophore (quinoneimine) quantifié à 500 nm.



L'intensité de la coloration de la quinone imine mesuré à 500 nm, est directement proportionnelle à la quantité de cholestérol présent dans l'échantillon du sérum.

II.9.1. 3. Méthode de dosage du cholestérol-HDL

Dans notre étude, cholestérol-HDL ont été déterminés suivant une méthode colorimétrique par un autoanalyseur de type (BIOLIS24j) en utilisant le Kit de réactif de cholestérol-HDL (Naito, 1984). Les lipoprotéines de faible densité (LDL), les lipoprotéines de très faible densité (VLDL) et chylomicrons du spécimen sont Précipités par l'acide phosphotungstique (PTA) et le chlorure de magnésium.

II.9.1. 4. Méthode de calcul de la concentration du cholestérol LDL

Le dosage se fait selon une méthode de calcul directe par la formule de Friedwald *et al.*, (1972).

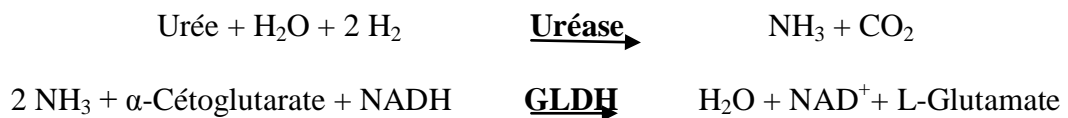
$$\text{LDL-C (mg/dl)} = \text{Cholesterol total (mg/dl)} - [\text{HDL-C (mg/dl)} + \text{TG}/5] \text{ (mg/dl)}.$$

II.9.2. Méthode de dosage des paramètres de métabolisme protéique

II.9.2.1. Méthode de dosage de l'urée sérique

- **Principe**

Dans notre étude, l'urée sérique a été déterminée suivant une méthode colorimétrique par un Autoanalyseur de type (BIOLIS24j) en utilisant le Kit de réactif de l'urée sérique (Kaplan, 1984). L'uréase catalyse l'hémolyse de l'urée, présente dans l'échantillon, en ammoniac (NH₃) et en anhydride carbonique (CO₂). L'ammoniac formé est incorporé à l'α-cétoglutarate par l'action du glutamate déshydrogénase (GLDH) avec oxydation parallèle de la NADH à la NAD.



La diminution de la concentration de NAD⁺ dans la méthode est proportionnelle à la concentration d'urée dans l'échantillon testé. L'absorption est mesurée à 340 nm.

II.9.2.2. Méthode de dosage de créatinine

La créatinine est dosée selon une méthode cinétique colorimétrique, elle forme en milieu alcalin un complexe coloré avec l'acide picrique. La vitesse de formation de ce complexe est proportionnelle à la concentration de la créatinine (Murray *et al.*, 1984).

II.9.2.3. Méthode de dosage des protéines totales sériques

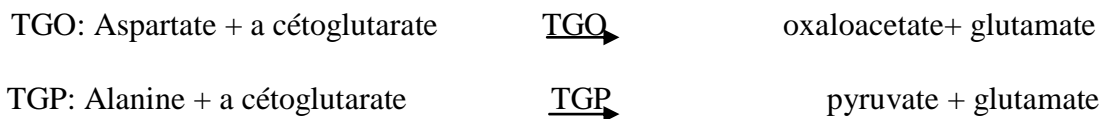
- **Principe**

Dans notre étude, les protéines totales ont été déterminées suivant une méthode colorimétrique par un autoanalyseur de type (BIOLIS24j) en utilisant le Kit de réactif de protéine totale (Tietz et Amerson, 1995). Les ions cuivriques, dans un milieu alcalin, interagissent avec les liaisons peptidiques des protéines formant un complexe bleu violet ou l'intensité de la couleur est proportionnelle à la quantité des protéines plasmatiques l'absorption est mesurée à 550 nm.

II.9.3. Méthode de dosage des paramètres de l'activité enzymatique

II.9.3.1. Méthode de dosage de l'activité de l'aspartate aminotransférase (ASAT) et l'alanine aminotransférase (ALAT)

Il s'agit d'un dosage colorimétrique selon les réactions suivantes :

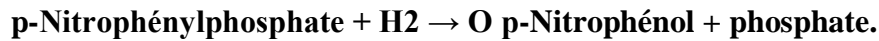


Le pyruvate ou l'oxaloacétate formés sont dosés sous forme de leurs dérivés 2,4 dinitrophénylhydrazones. On met 1000 µl de réactif dans un tube à essai et on ajoute 100 µl de sérum; et directement on mesure la valeur de l'absorbance A par le spectrophotomètre UV et avec un longueur d'onde λ (= 505 nm), mais chaque échantillons reste 03 min pour donner la valeur de A (Gabriela *et al.*, 2005).

II.9.3.2. Méthode de dosage de l'activité de de phosphatase alcaline (ALP)

- **Principe**

La phosphatase alcaline (ALP) catalyse l'hydrolyse de p-nitrophényl phosphate (pNPP) au pH 10.4, en libérant p-nitrophenol et phosphate, selon la réaction suivante :



Le taux de la formation de p-Nitrophénol, mesuré photométriquement, est proportionnel à la concentration d'Alcaline phosphatase présente dans le sérum (Wenger *et al.*, 1984).

II.10. Dosage des paramètres du stress oxydant

II .10.1. Préparation de l'homogénat des organes

Un gramme de tissu (foie, le cœur, pancréas, les reins) de chaque rat des différents groupes étudiés, a été utilisé. Après broyage et homogénéisation des tissus dans le TBS (Tris 50 mM, NaCl 150m M, pH 7.4), on a procédé à une centrifugation de la suspension cellulaire (3000 tour/min, 15 pendant minutes), puis le surnageant obtenu est conservé à $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ en attendant d'effectuer les dosages des paramètres de stress oxydatif tissulaires.

II.10.2. Dosages des protéines tissulaires

- **Principe**

La concentration de protéines est déterminée selon la méthode de Bradford (1976) qui utilise le bleu de Coomassie (G 250) comme réactif. Les groupements amines (-NH₂) des protéines réagissent avec un réactif à base de l'acide orthophosphorique, de l'éthanol et de bleu de Coomassie pour former un complexe de couleur bleue. L'apparition de cette couleur reflète le degré d'ionisation du milieu acide et l'intensité établit la concentration des protéines dans l'échantillon.

- **Mode opératoire**

- ❖ Prélever 0,1 ml de l'homogénat.
- ❖ Ajouter 5 ml du réactif de Bradford.
- ❖ Agiter et laisser reposer 5 min pour la stabilisation de la couleur.
- ❖ Lire la densité optique à 595 nm, contre le blanc.
- ❖ La densité optique obtenue est rapportée sur une courbe d'étalonnage préalablement tracée.
- ❖ La concentration des protéines est déterminée par comparaison à une gamme étalon d'albumine sérique bovine (BSA) (1 mg/ml) réalisée dans les mêmes conditions (annexe).

II.10.3. Dosage du malondialdéhyde (MDA)

- **Principe**

Les composés carbonylés à l'instar du malondialdéhyde réagissent avec l'acide thiobarbiturique (TBA) pour donner des chromophores de couleur rose absorbant à 532 nm (Yagi, 1976).

- **Mode opératoire**

Pipeter dans les tubes à essai en verre et à vis, 100µl d'échantillon, 400µl 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 formés lors de la réaction. Centrifuger à 3000 tours/minutes pendant 5 minutes et lire l'absorbance du surnageant à 532nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

- **Méthode de calcul**

La concentration de TBARS a été déterminée en utilisant le coefficient d'extinction moléculaire du MDA ($\epsilon = 1.53 \cdot 10^5 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$). Les résultats ont été exprimés en µmol/l.

$$\text{MDA } (\mu\text{mol/mg de protéine}) = (\text{Do échantillon} / 1,53 \times 10^5) \text{ mg de protéine.}$$

II .10.4. Dosage du Glutathion réduit (GSH)

- **Principe**

Le dosage du glutathion a été réalisé selon la méthode de Wekbeker et Cory (1988). Le principe de ce dosage repose sur la mesure de l'absorbance optique de l'acide 2-nitro-5-mercaptopurique. Ce dernier résulte de la réduction de l'acide 5,5'-dithio-bis-2- nitrobenzoïque (réactif d'Ellman, DTNB) par les groupements (-SH) du glutathion. Pour cela une déprotéinisation de l'homogénat est indispensable afin de garder uniquement les groupements thiol spécifiques du glutathion.

- **Mode opératoire**

- ❖ Prélever 0,8 ml de l'homogénat.
- ❖ Déprotéiniser en ajoutant 0,2 ml d'une solution d'acide sulfosalicylique 0,25 %.

- ❖ Agiter le mélange et laisser pendant 15 minutes dans un bain de glace.
- ❖ Centrifuger à 1000 tours/min pendant 5 min.
- ❖ Prélever 0,5 ml du surnagent.
- ❖ Ajouter 1 ml du tampon Tris + EDTA (0.02 M d'EDTA), pH 9,6.
- ❖ Mélanger et ajouter 0,025 ml de DTNB à 0,01M (dissous dans le méthanol absolu).
- ❖ Laisser pendant 5 min à température ambiante pour la stabilisation de la couleur qui se développe instantanément.
- ❖ Lire les densités optiques à 412 nm contre le blanc.

➤ **Méthode de calcul**

La concentration du glutathion est obtenue par la formule suivante :

$$(\text{GSH})(\text{nM /mg de pro}) = (\text{D.O} \times 1 \times 1.525) / (13133 \times 0.8 \times 0.5 \times \text{mg de proteine})$$

13133 : constante d'absorption des groupes SH à 412 nm.

DO : la lecture d'absorbance par le spectrophotomètre.

1.525 ml : volume total de mélange.

0.5ml : volume de solution surnagent.

1 : volume de mélange de protéine.

0.8ml : volume de solution homogène sans protéine existe dans 1ml.

(GSH) : concentration de glutathion.

II.10.5. Dosage de l'activité enzymatique de la catalase (CAT)

• **Principe**

L'activité enzymatique du catalase est déterminée dans les tissus cellulaires selon la méthode de (Flohe et *al.*, 1984), Le dosage de l'activité enzymatique du catalase est basé sur la diminution de l'absorbance à 240 nm qui est due à la décomposition du superoxyde d'hydrogène (H₂O₂) par la catalase.

➤ **Mode opératoire**

Dans une cuvette en quartz de 3 ml, 50µl de l'homogénat sont mélangés avec 2.95 ml d'une solution de H₂O₂ à 19 mmol/ml préparée dans le tampon phosphate de potassium pH 7.4 (0.1M). Le changement de l'absorbance est suivi pendant deux minutes en prenant les

valeurs à t0 et après chaque minute. L'activité enzymatique du catalase est exprimée en constante de vitesse de la réaction d'ordre 0 par gramme de tissu.

➤ **Méthode de calcul**

L'activité enzymatique du catalase est calculée selon la formule suivante :

$$K = (2.303/T) \times \log (A1/A2)$$

Dont :

K : Constante de vitesse de la réaction d'ordre 1.

T : Intervalle de temps en minute.

A1 : Absorbance à t0

A2 : Absorbance à t1

L'activité enzymatique du catalase = K/n (K/g) où n représente la quantité de tissu en gramme dans le volume utilisé de l'échantillon testé.

II.10.6. Dosage de l'activité enzymatique de la (GSH-Px)

- **Principe**

Dans notre étude, L'activité enzymatique du glutathion peroxydase (GPx) a été mesurée par la méthode de (Flohe et *al.*, 1984), en utilisant un spectrophotomètre de type SHIMATZU. Cette méthode est basée sur la réduction de peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) en présence de glutathion réduit (GSH), ce dernier est transformé en (GSSG) sous l'influence de la GPx selon la réaction suivante :



➤ **Mode opératoire**

Nous avons procédé aux étapes suivantes:

- ❖ Prélever 0.2 ml de l'homogénat (surnageant).
- ❖ Ajouter 0.4 ml de GSH (0.1mM).
- ❖ Ajouter 0.2 ml de la solution tampon TBS (Tris 50 mM, NaCl 150 mM pH 7.4).

- ❖ Incuber au bain marie à 25°C, pendant 5 min.
- ❖ Ajouter 0.2ml de H₂O₂ (1.3 mM) pour initier la réaction, laisser agir pendant 10 minutes.
- ❖ Ajouter 1 ml de TCA (1%) pour arrêter la réaction.
- ❖ Mettre le mélange dans la glace pendant 30 minutes.
- ❖ Centrifuger durant 10 minutes à 3000 tours /minutes.
- ❖ Prélever 0.48 ml du surnageant.
- ❖ Ajouter 2.2 ml de la solution tampon TBS.
- ❖ Ajouter 0.32 ml de DTNB (1.0 mM).
- ❖ Mélanger et après 5 minutes lire les densités optiques à 412 nm.

➤ **Méthode de calcul**

La détermination de l'activité enzymatique de la GPx se fait à l'aide de la formule suivante:

$$\text{GPx } (\mu\text{mol GSH/mg de prot}) = \frac{[(\text{Do échantillon} - \text{Do étalon}) \times 0.04] \times 5/\text{mg de prot}}{\text{Do étalon}}$$

DO échantillon : Densité optique de l'échantillon.

DO étalon : Densité optique de l'étalon.

0.04 : Concentration de substrat (GSH) /**mg de prot** : milligramme de protéine.

II.11. Méthode d'analyse statistique

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 2013) et EXCEL (version 2010) .

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 $P > 0.05$.

TROISIEME PARTIE

Résultats et Discussion

I. Résultats

❖ **Etudes phytochimiques**

Les rendements moyens en extrait aqueux ont été calculés en fonction de la matière végétale sèche de la partie aérienne des deux plantes *Ajuga iva* et *Matricaria pubescens*.

Tableau03: Le rendement de l'extrait aqueux d'*Ajuga iva* et de *Matricaria pubescens*

Plantes	Mode de séchage	Rendement %
<i>Ajuga iva</i>	Ombre	13.1%
<i>Matricaria pubescens</i>	Ombre	8.57%

Selon le tableau 03 les deux plantes ont données des masses en extrait sec de rendement différent, de point de vue rentabilité, l'extrait aqueux d'*Ajuga iva* et de *Matricaria pubescens* ont des rendements de 13.1% et 8.57% respectivement.

I.1. Tests Phytochimiques des plantes (partie aérienne)

Le screening phytochimique réalisé sur la partie aérienne d' *Ajuga iva* et de *Matricaria pubescens* permis d'avoir les résultats présentés dans le tableau n° 04.

Tableau 04:Le screening phytochimique réalisé sur la partie aérienne d'*Ajuga iva* et de *Matricaria pubescens*

Composée	Rréactifs	<i>Ajuga iva</i>	<i>Matricarai pubescens</i>
Flavonoïdes	H ₂ SO ₄	(++)	(+++)
Tanins catéchiques	FeCl ₃	(+++) T. catéchiques	T. catéchiques (++)
Alcaloïdes	Mayer, Wagner	(-)	(-)
Saponines	Test de mousse	(+)	(-)
Terpénoides	Test de Slakowski	(+)	(+++)
Sucres réducteurs	Liqueur de Fehling	(-)	(+++)

(+) trace

(++) positif

(+++) très positif

(-) absent

D'après les résultats obtenus, nous avons noté que l'extrait aqueux d' *Ajuga iva* est très riches en tanins et flavonoïdes . Par contre, il est pauvre en terpénoïdes et saponosides et ne contiennent pas des alcaloïdes et sucre réducteurs.

Selon le tableau n° 04,on observe que l'extrait aqueux de *Matricaria pubescens* est riche en flavonoïdes, terpénoïdes, sucre réducteurs et l'absence des alcaloïdes et saponosides, il renferment aussi des différents proportions des tanins.

I.2. Analyse quantitative des composés phénoliques

I. 2.1. Teneurs en polyphénols totaux (PPT)

Le dosage des polyphénols totaux a été effectué par la méthode spectrophotométrique adaptée de Singleton et Ross avec le réactif de Folin-Ciocalteu. C'est l'une des méthodes les plus anciennes conçue pour déterminer la teneur en polyphénols des plantes médicinales et les nourritures (Athamena, 2009).

Les résultats présentés dans la figure n° 22 et le tableau n° 05 sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par gramme de la matière végétale sèche (mg GAE/g MS), en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée de l'acide gallique, ayant l'équation: $Y=0.008x+0.484$ avec un coefficient de corrélation $R^2=0.995$.

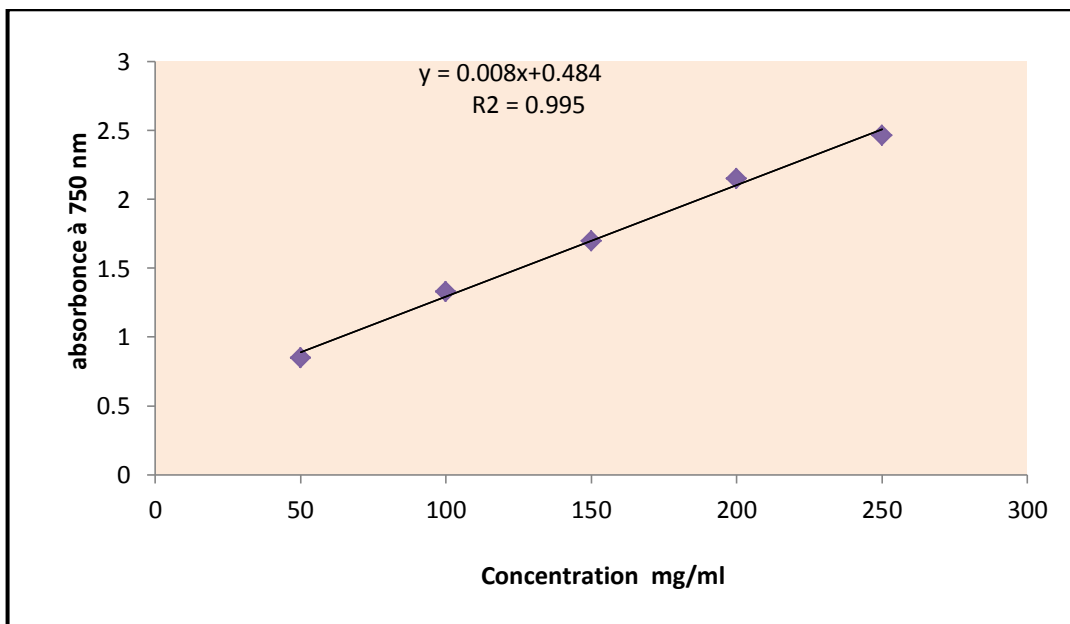


Figure 22: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols

Tableau05:Contenu en polyphénols totaux dans les deux extraits aqueux

Extraits	Polyphénols (mg d'AG/g MS)
L' extrait aqueux d' <i>Ajuga iva</i>	9.25
L'extrait aqueux de <i>Matricaria pubescens</i>	8.31

Les résultats obtenus lors du dosage des polyphénols montrent que la teneur de ces derniers dans l'extrait aqueux d'*Ajuga iva* soit 9.25 mg éq d'acide gallique /g et supérieur a celui de la *Matricaria pubescens* soit 8.31 mg éq d'acide gallique /g.

I.2.2.Teneurs en flavonoïde total (FVT)

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode au trichlorure d'aluminium (AlCl₃) et l'étalon été la quercétine. La teneur en flavonoïdes est exprimée en milligramme d'équivalent de quercétine par gramme de matière sèche (mg EQ/g de MS). Les taux des flavonoïdes des extraits ont été obtenu à partir de la courbe d'étalonnage de quercétine, selon l'équation suivante: $Y=23.45x+0.121$ avec un coefficient de corrélation $R^2=0.992$ fig n°23.

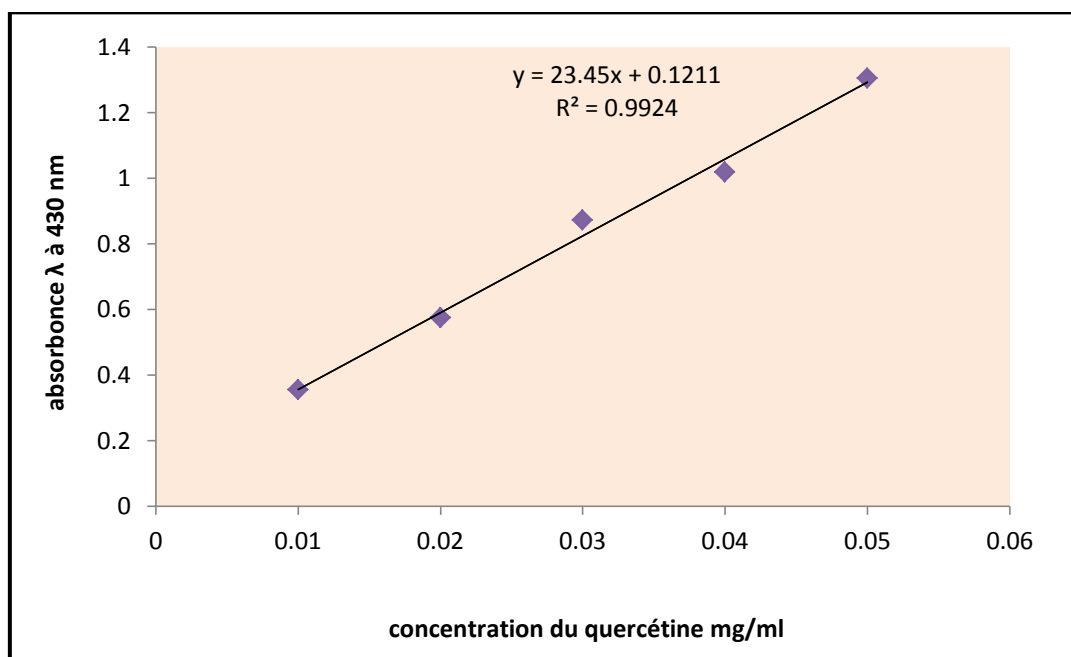


Figure 23: Courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonoïdes

Tableau 06: Contenu en flavonoïdes dans l'extrait d'*Ajuga iva* et de *matricaria pubescens*

Extraits	Flavonoïdes (mg de Querc /g MS)
L' extrait aqueux d' <i>Ajuga iva</i>	7.37
L'extrait aqueux de <i>Matricaria pubescens</i>	3.72

Le tableau ci dessus montre que le teneur en flavonoides de l'extrait aqueux d'*Ajuga iva* (7.37 éq d'acide gallique / g) et plus important que celui de l'extrait aqueux de *Matricaria pubescens* (3.72 éq d'acide gallique / g)

I.2.3.Teneurs en tannins condensé

Les résultats du dosage des tannins sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par g d'extrait sec selon la courbe d'étalonnage. Les résultats sont présentés dans le tableau n°07 et la fig n°24.

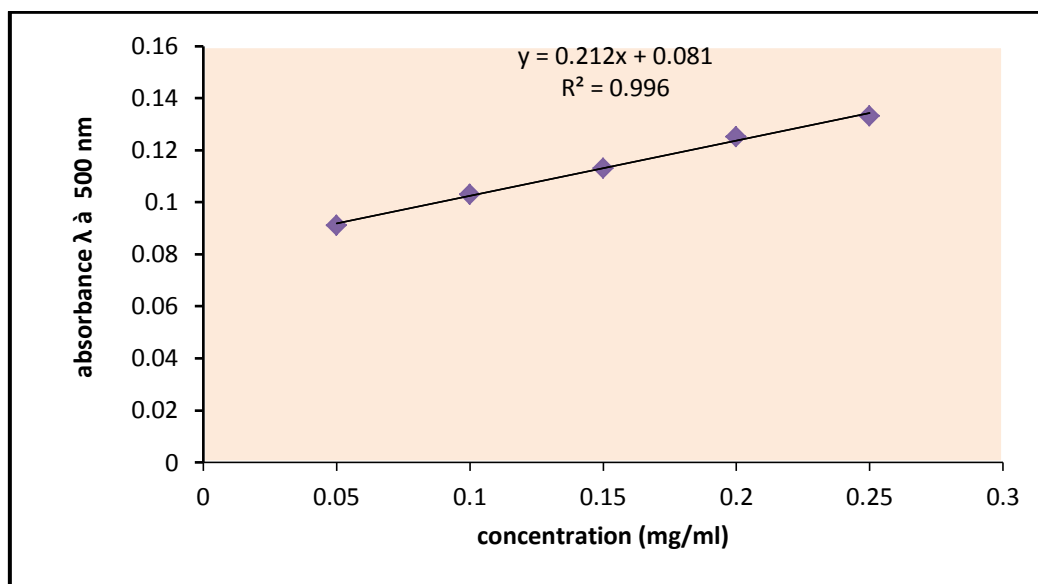


Figure 24: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

Tableau 07: Contenu en tannins dans l'extrait d'*Ajuga iva* et de *Matricaria pubescens*

Extraits	tannins (mg d'AG/g d'extrait sec)
L' extrait aqueux d' <i>Ajuga iva</i>	0.14
L'extrait aqueux de <i>Matricaria pubescens</i>	0.042

Le dosage des tanins illustré dans le tableau n° 07 montre que l'extrait d'*Ajuga iva* (0.14 mg d'AG/g d'extrait sec) par rapport a celui de l'extrait aqueux de *Matricaria pubescens* (0.042 mg d'AG/g d'extrait sec) est riche.

I. 3. Activité anti-radicalaire d'extrait aqueux d'*Ajuga iva* et de *Matricaria pubescens*

L'activité anti radicalaire est réalisée par la méthode du radical 2,2-diphényl-1picrylhydrazyle (DPPH) qui est une méthode fréquemment utilisée pour sa simplicité.. L'inhibition de la décoloration du radical DPPH est en fonction de la concentration des différents extraits utilisée (Cuendet *et al.*, 1997).

L'activité antioxydante des extraits est exprimée en IC₅₀, il définit la concentration efficace du substrat qui cause la perte de 50% de l'activité du radical DPPH. Dans ce test on a utilise l'acide ascorbique comme standard, les résultats obtenus (pourcentage d'inhibitions I%) sont représentés dans le tableau n°08, selon l'équation: $Y=2553x+21.20$ avec un coefficient de corrélation $R^2=0.998$.

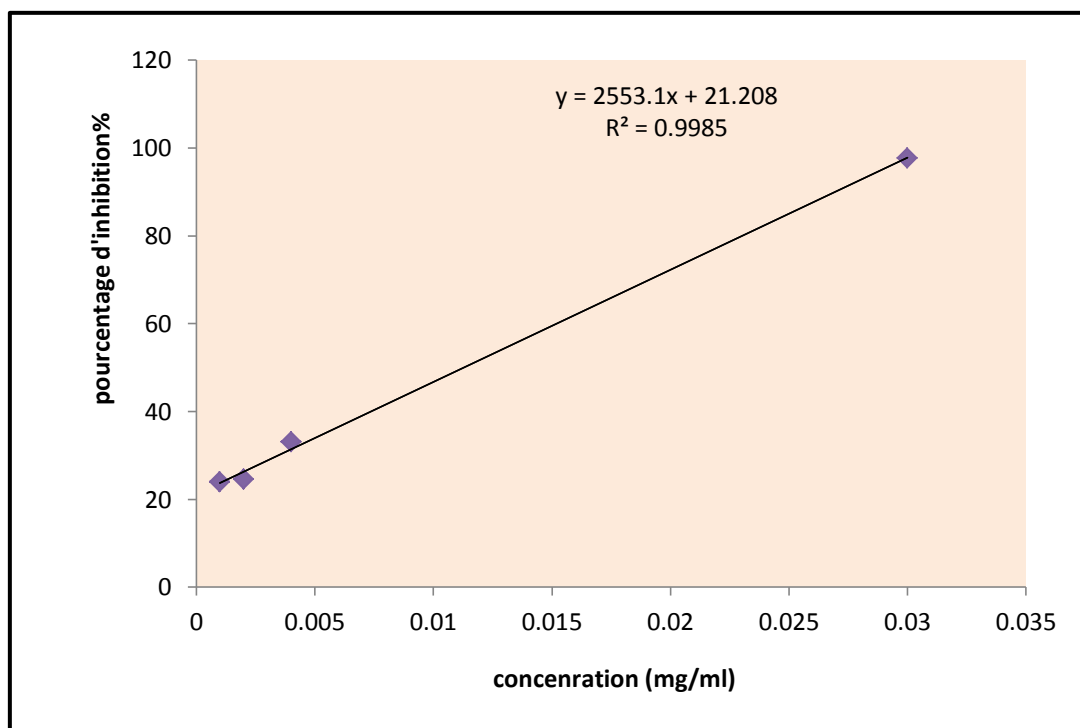


Figure 25: Courbe d'inhibition d'acide ascorbique

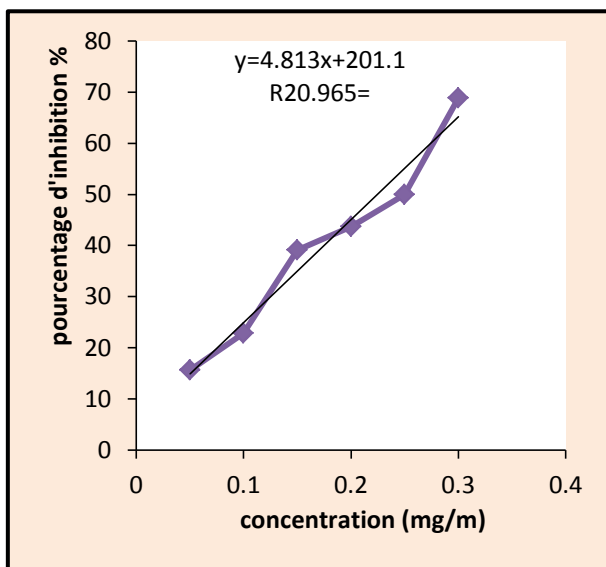


Figure 26: Effet d'extraits d'*A.iva* sur le radicale DPPH

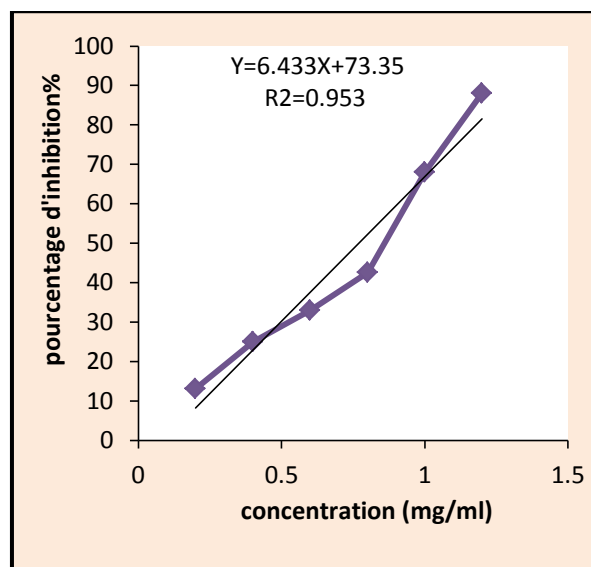


Figure 27: Effet d'extraits de *M.pubescens* sur Le radicale DPPH

Tableau 08: Valeur d'IC₅₀ du DPPH des extraits aqueux des deux plantes.

Extraits	Valeurs des IC ₅₀ (mg/ml)
L' extrait aqueux d' <i>Ajuga iva</i>	0.22
L'extrait aqueux de <i>matricaria pubescens</i>	0.59

L'extrait d'*Ajuga iva* a représenté une valeur d'IC₅₀ = 0.22 mg/ml, ce qui est l'extrait le plus puissant d'inhiber ou de piéger le radical DPPH mais cette valeur est moins importante en comparaison avec celle de l'acide ascorbique (0.011mg/ml) suivi par l'extrait de *Matricaria pubescens* (0.59 mg/ml).

❖ Etudes biologiques

I.4. Evaluation des paramètres avant sacrifice

I.4.1. Etude pondérale

Les variations pondérales (exprimé en grammes) des quatre lots: rattes témoin sain (TS), rattes témoin diabétique non traité (DNT), rattes diabétique traité par *Ajuga iva* (DT+A), rattes diabétique traité par *Matricaria pubescens* (DT+M) et les résultats sont présentées dans le tableau N°09.

Tableau09: Variations du poids corporel des quatre lots TS, DNT, DT+A,DT+M

Dose (mg/kg pc) Nombre de Jours	Poids corporel (g)			
	LOTS			
	TS	DNT	DT+A	DT+M
	-	-	300	800
1J	225.25±0.85	220±0.41**	224.75±1.38 ^{NS}	221±0.65 ^{NS}
5J	226±1.47	210.5±0.87**	226.25±1.65 ^{NS b}	219.75±0.63 ^{**b}
10J	231.25±1.31	194.25±2.21***	230.25±2.02 ^{NS c}	223.25±1.71 ^{**c}
15J	238±1.08	187.25±1.31***	231.75±1.80 ^{**c}	226±0.41 ^{**a}
Gain ou perte poids	0.174±0.031	-0.345±0.124	0.077±0.027	0.077±0.017

Les valeurs sont exprimées en Moy ± ES avec un nombre d'échantillon (n =4).

comparaison avec le lot témoin:*p < 0.05 ; **p < 0.01 ; ***p < 0.001

comparaison avec le lot diabétique: ^a p < 0.05 ; ^b p < 0.01; ^c p < 0.001

NS : Différence non significative P > 0.05

Les résultats obtenus ont montré que l'injection de l'alloxane induisait un diabète caractérisé par une perte de poids corporel chez le lot des rattes diabétiques non traités qui est de l'ordre de (-14.88%), Par contre le groupe témoin sain a subit durant la même période un gain de poids corporel de (5.66%)

L'administration par gavage de l'extrait aqueux d'*Ajuga iva* d'une dose de 300 mg/kg de p.c et de *Matricaria pubescens* d'une dose de 800 mg/kg de p.c pendant deux semaines de traitement provoque une augmentation de poids corporel de l'ordre (3.11%),(2.26%) respectivement par rapport au groupe diabétique non traité.

L'analyse statistique de la variation des moyennes des poids corporels présente une diminution très hautement significative (p<0.001) chez le groupe diabétique par rapport au groupe témoins a partir du 5^{ème} jour, cependant le poids corporels des groupes traités (DT+A, DT+M) est augmenté significativement(p<0.05) et hautement significative (p<0.01) respectivement par rapport au groupe des rattes diabétiques non traités.

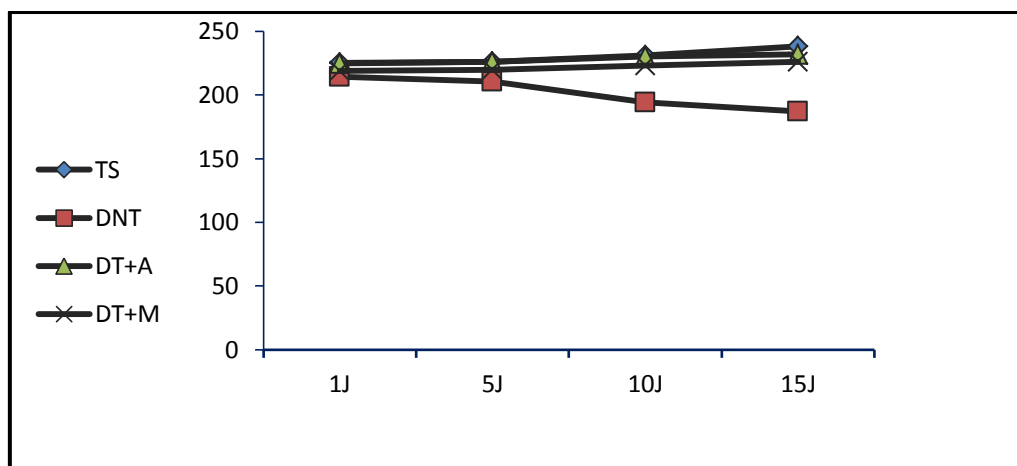


Figure 28: Variation du poids corporel chez les rattes TS, DNT,DT+A et DT+M

I.4.2. Evolution de la glycémie

L'évolution de la glycémie des différents groupes expérimentaux: rattes témoins saines (TS), rattes témoins diabétiques non traitées (DNT), rattes diabétiques traitées par *Ajuga* (DT+A), rattes diabétique traitées par *Matricaria* (DT+M) est présentée dans le tableau n°10 et fig n° 29.

Tableau 10: Variations de la glycémie des lots TS, DNT, DNT, DT+A, DT+M.

Dose mg/kg (pc)	LOTS			
	TS	DNT	DT+A	DT+M
	-	-	300	800
1	94.25±8.08	348.3±33.7**	412.75±36.4**NS	404.5±20.3**NS
3	88.5±10.1	370.3±26.7**	369.5 ±15.1***NS	394±6.06***a
6	91.50±3.57	401.50±35.5**	332±29.1**NS	350.5±14.9***NS
9	94.75±7.32	414.8±28.3***	261.5±30.6*a	297±23.4**a
12	87±5.96	428.5±11.2***	144.8±17.5NS b	167±12.3**c
15	89.5±5.55	431.50±15***	107.5±5.42NSc	121.5±7.24*c

Les valeurs sont exprimées en Moy ± ES avec un nombre d'échantillon (n =4)

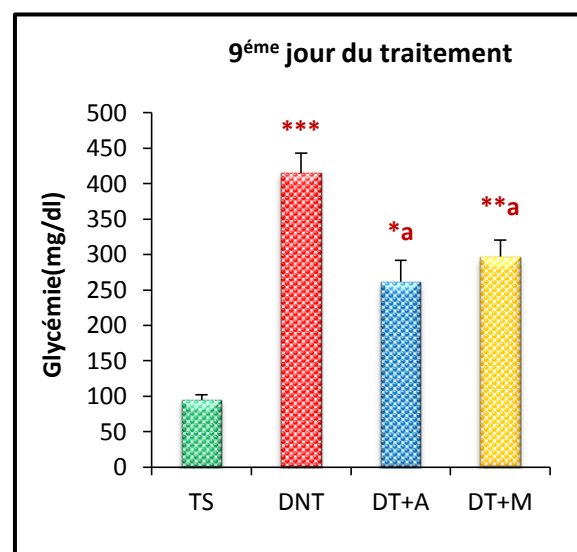
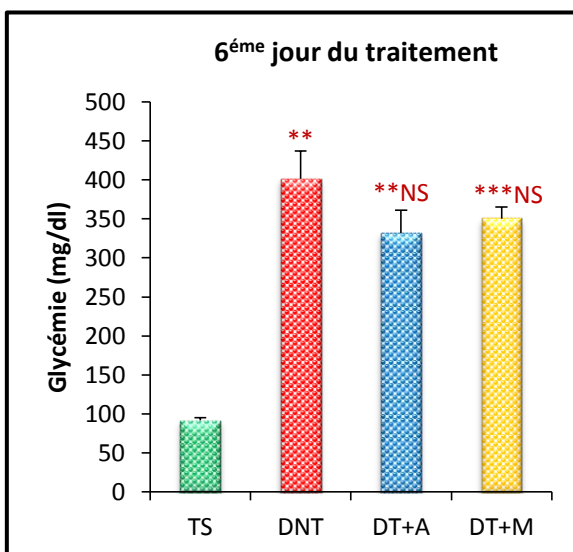
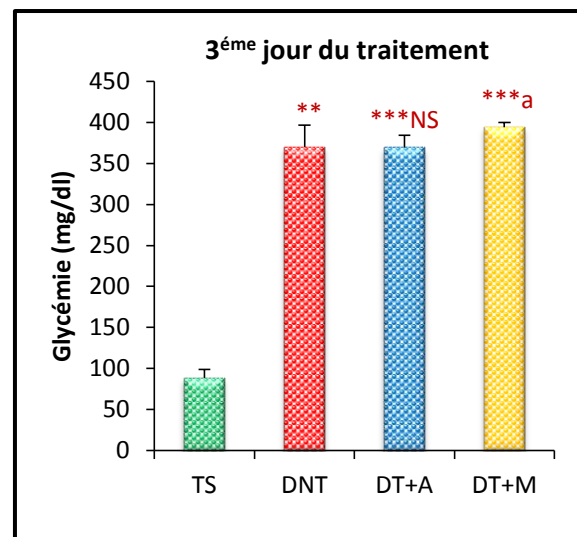
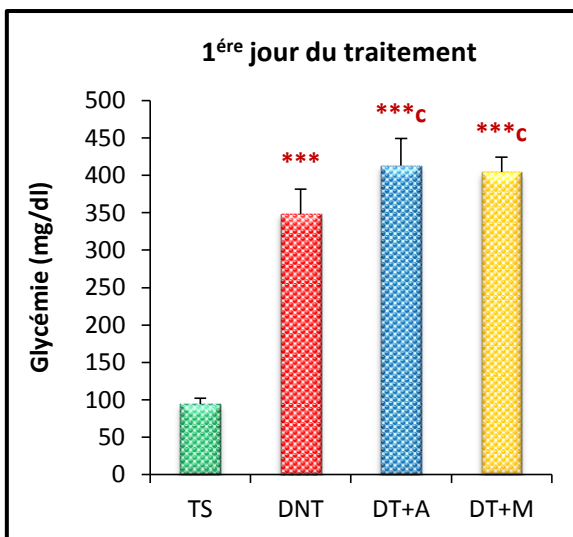
comparaison avec le lot témoin *p < 0.05 ; ** p < 0.01; ***p < 0.001

comparaison avec le lot diabétique ^a p < 0.05 ; ^b p < 0.01; ^c p < 0.001

NS : Différence non significative P > 0.05

Dans le tableau n° 10 et la figure n°29, nous avons constaté une augmentation de la glycémie d'une façon hautement significative ($p < 0.01$) et très hautement significative ($p < 0.001$) pendant la première et la deuxième semaine respectivement, de l'ordre de (23.88%) chez les rattes soumis à une injection intra-péritonéale de 120mg/kg pc d'alloxane comparés au groupe témoin sain.

Par ailleurs, les rattes traités par 300mg/kg d'*A.iva* et 800 mg/kg de la *M. pubescens* présentent pendant 15^{ème} jours une diminution très hautement significative ($p < 0.001$) de l'ordre (-73.95%) et (-69.96%) respectivement, par rapport au groupe non traité.



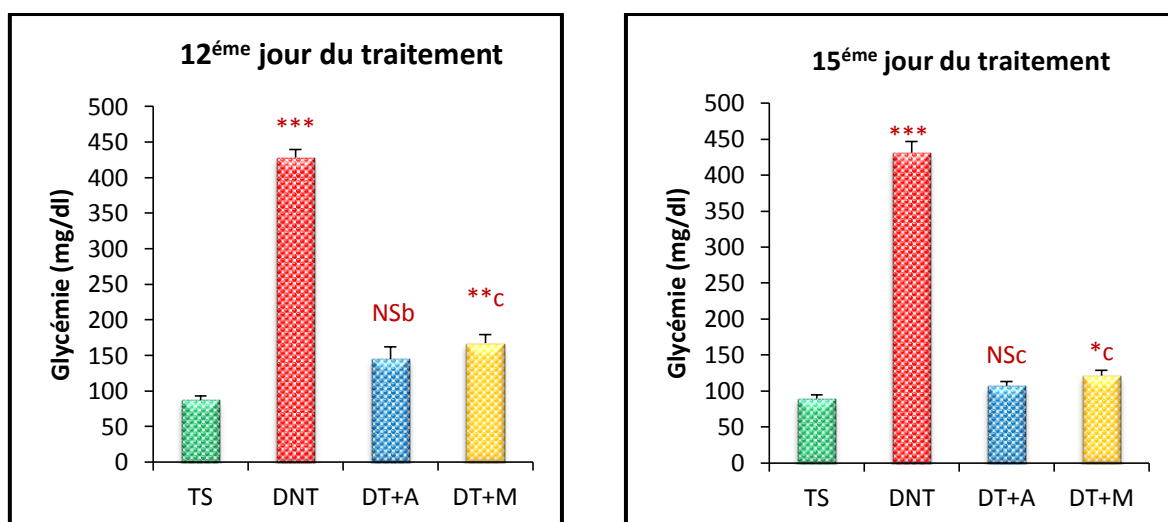


Figure 29: Variation de la glycémie chez les ratte de lot TS, DNT, DT+A et DNT+M
 Comparaison avec groupe témoin : * p < 0.05, ** p < 0.01, *** p < 0.001, avec groupe
 témoin diabétique : **NS** p > 0.05, ^a p < 0.05; ^b p < 0.01, ^c p < 0.001 n=4.

I.5. Evaluation des paramètres après sacrifice

I.5.1. Variations du poids relatif des organes

Le poids relatif des organes des ratte (exprimé en grammes/ 100g PC) des quatre lots (TS, DNT,DT+A,DT+M) et les résultats sont présentées dans le tableau N° 11.

Tableau 11: Variation du poids relatif des organes (Pancréas, Foie, Cœur, Rein) des
 lots TS,DNT, RDT+A,DT+M

g/100g pc	Foie	Rein	Cœur	Pancréas
TS	3.208±0.103	0.67±0.030	0.352±0.023	0.282±0.016
DNT	3.352±0.106 ^{NS}	0.95±0.040 ^{**}	0.365±0.009 ^{NS}	0.272±0.027 ^{NS}
DT+ A	2.902±0.035 ^{**b}	0.695±0.027 ^{NS b}	0.297±0.009 ^{*b}	0.29±0.012 ^{NS}
DT+ M	3.065±0.080 ^{NSa}	0.772±0.060 ^{NS}	0.285±0.017 ^{*a}	0.31±0.007 ^{*b}

Les valeurs sont exprimées en Moy ± ES avec un nombre d'échantillon (n =4).

comparaison avec le lot témoin: *p < 0.05 ; ** p < 0.01; *** p < 0.001

comparaison avec le lot diabétique: ^a p < 0.05 ; ^b p < 0.01; ^c p < 0.001

NS : Différence non significative P > 0.05

❖ Foie

D'après les résultats, nous n'avons observé aucune variation significative ($p > 0.05$) de poids relatif du foie chez les rattes des lots (DNT) et (DT+M) par contre, il existe une diminution hautement significative ($p < 0.01$) chez les rattes du lot (DT+A) par rapport aux rattes du lot (TS)

Comme on a remarqué une diminution significative ($p < 0.05$) et hautement significative ($p < 0.01$) du poids relatif du foie chez les rattes du lot (DT+M), (DT+A) comparée au lot diabétique non traité.

❖ Rein

Nos résultats montrent une augmentation hautement significative ($p < 0.01$) du poids relatif du rein chez les rattes du lot (DNT) par rapport au lot (TS).

Mais on remarque qu'il n'existe aucune différence significative ($p > 0.05$) pour le poids relatif du rein entre les rattes des lots (DT+A) et (DT+M) par rapport au groupe (TS).

Notre étude montre une diminution hautement significative ($p < 0.01$) du poids relatifs du rein chez les rattes du lot (DT+A) et aucune variation significative ($p > 0.05$) de lot (DT+M) par rapport (DNT).

❖ Cœur

D'après les résultats, nous n'avons observé aucune variation significative ($p > 0.05$) du poids relatif du cœur chez le lot des rattes diabétiques non traitées (DNT) par rapport aux rattes du lot témoin sain (TS), par contre il existe une diminution significative ($p < 0.05$) entre les rattes des lots (DT+M) et (DT+A) en comparant avec le groupe témoin sain. Aussi pour les groupes traité on a constaté une diminution hautement significative ($p < 0.01$) et ($p > 0.05$) respectivement, par rapport aux rattes des lots (DNT).

❖ Pancréas

Les résultats obtenus, ne montrent aucune variation significative ($p > 0.05$) du poids relatif de pancréas chez les rattes du lot (DNT) et (DT+A) par rapport au rattes du lot (TS), mais on remarque une augmentation significative ($p < 0.05$) du poids relatifs de pancréas chez les rattes du lot (DT+M) par rapport au groupe sain.

L'étude statistique ne montre aucune variation ($p > 0.05$) du poids relatif de pancréas chez les rattes traités par *A.iva* en comparant avec les rattes du lot diabétique. Concernant les rattes du lot (DT+M) il existe une augmentation hautement significative ($p < 0.01$).

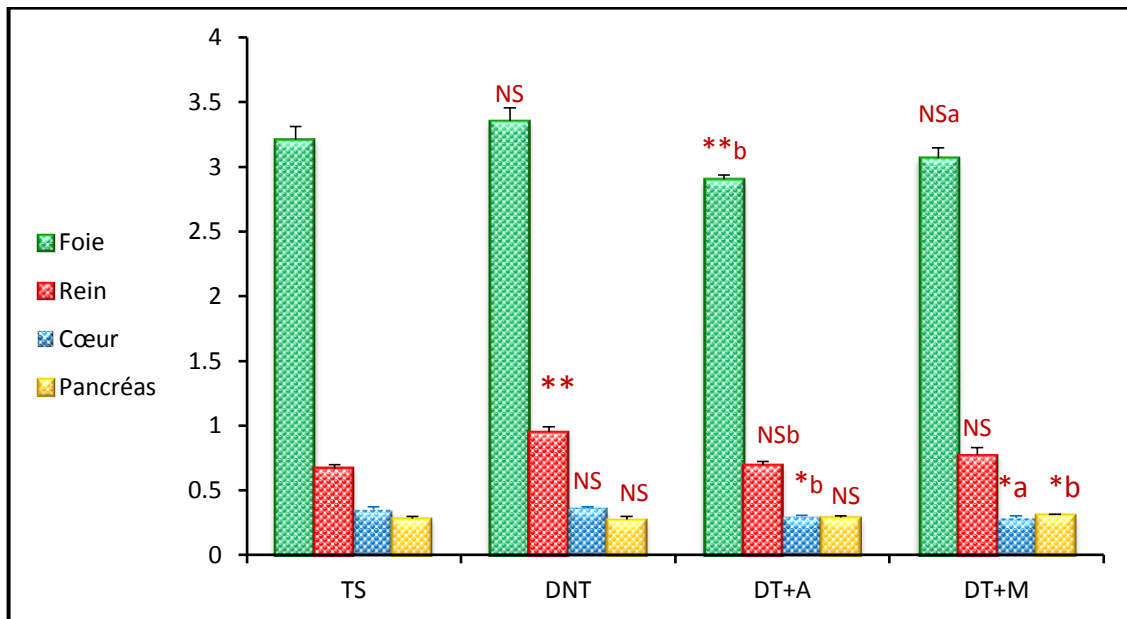


Figure 30: Variation du poids relatifs des organes (foie ,rein, cœur, pancréas) chez les différentes groupes expérimentaux. Comparaison avec groupe témoin : * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, avec groupe témoin diabétique : NS $p > 0.05$, ^a $p < 0.05$; ^b $p < 0.01$, ^c $p < 0.001$ n=4.

I.5.2. L'analyse des paramètres biochimiques

Les variations des paramètres biochimiques des rattes des lots : témoin sain (TS), lot diabétique non traité (DNT), lot diabétique traité par *A.iva* (DT+A), lot diabétique traité par *M. pubescens* (DT+M)

I.5.2.1. Effet du traitement sur la glycémie sérique et le profil lipidique

Les résultats obtenus dans notre étude présente l'influence des extraits aqueux de la partie aérienne d'*Ajuga iva* et de *Matricaria pubescens* sur le profil lipidique et glycémique chez des rattes rendues diabétiques par l'alloxane sont présentés dans le tableau n°12 et la figure n°31.

Tableau12: Variation des paramètres biochimiques chez les différents groupes expérimentaux Glucose (mg/dl), triglycerides (mg/dl), cholestérol total (mg/dl), LDL(mg/dl), HDL(mg/dl).

Dose mg/kg (p c) Paramètres	Lots			
	TS	DNT	DT+A	DT+M
	-	-	300	800
Glycémie (mg/dl)	87.25±3.04	428.25±1.49***	103.25±2.32** ^c	120.5±1.55*** ^c
Triglycéride(mg/dl)	67.25 ±1.11	84±2.12 **	65.5±0.86 ^{NSc}	77.25±0.47*** ^b
Cholestérol (mg/dl)	86.75±0.63	92.00±1.22*	64.75±0.62*** ^c	67±0.70*** ^c
HDL (mg/dl)	48.50±0.28	36.75±0.75***	52±1.08* ^c	49.25±0.47 ^{NSc}
LDL (mg/dl)	74.50±1.04	76.50±0.86 ^{NS}	69.25±0.47** ^c	60.75±0.75*** ^c

Les valeurs sont exprimées en Moy ± ES avec un nombre d'échantillon (n =4).

comparaison avec le lot témoin: *p < 0.05 ; **p < 0.01 ; ***p < 0.001

comparaison avec le lot diabétique: ^a p < 0.05 ; ^b p < 0.01; ^c p < 0.001

NS : Différence non significative P > 0.05

Les résultats rassemblés dans le tableau (12) montrent une augmentation très hautement significatives (p<0.001) de la concentration sérique du glucose chez le lot des rattes diabétiques non traités et diabétiques traités par *M.pubescens* et augmentation hautement significatives (p<0.01) pour le groupe traité par *A.iva* par rapport au lot des rattes témoins saines. En ce qui concerne le lot des rattes diabétiques traites par *A.iva* et *M.pubescens*, de même, on a observé une diminution très hautement significatives (p<0.001) de la glycémie par rapport aux rattes diabétiques non traités.

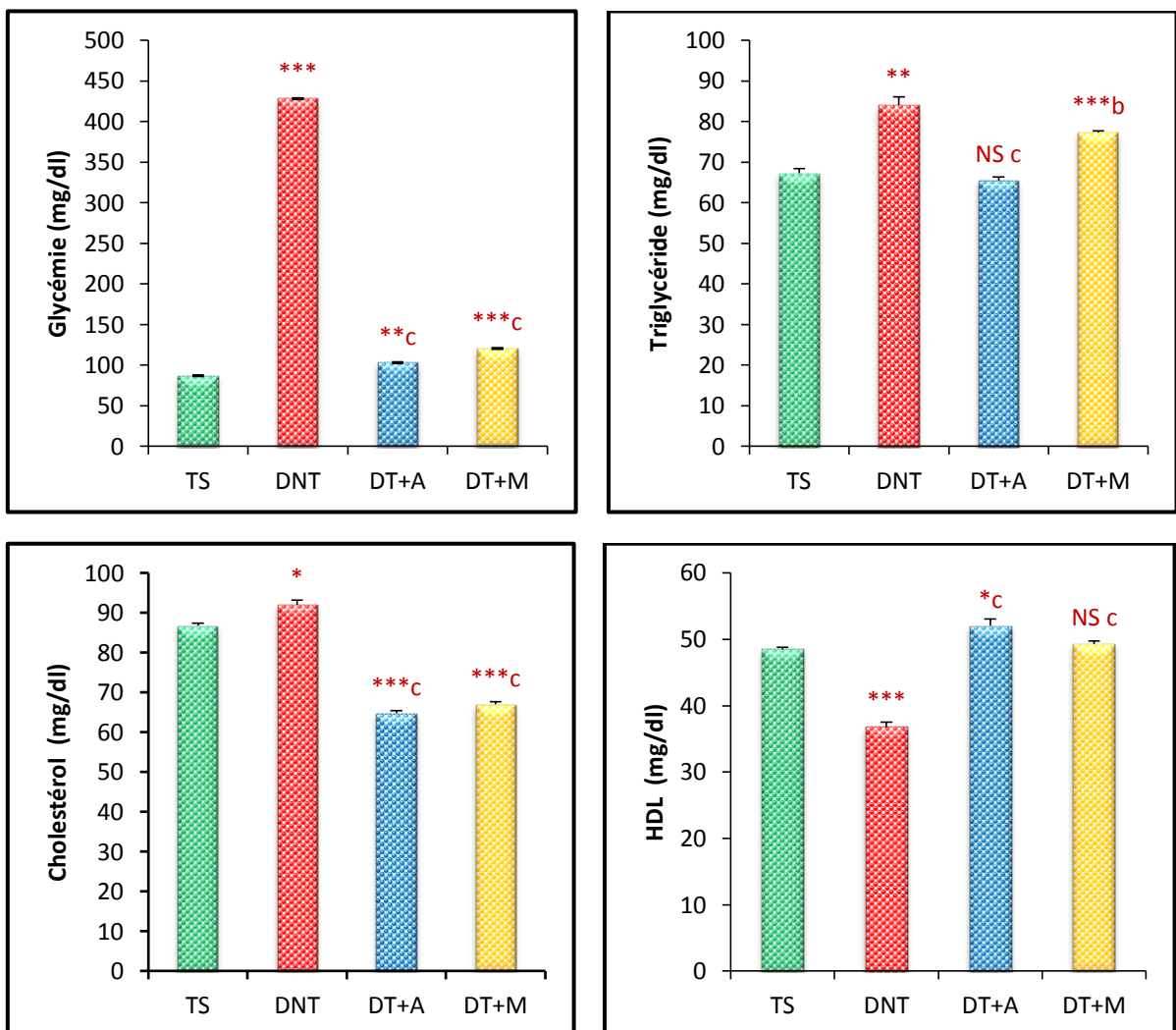
Aussi, il existe une augmentation hautement significative (p<0.01) du taux plasmatique de triglycéride chez le lot des rattes diabétiques non traités et on ne remarque aucune variation significative (p>0.05) chez le groupe diabétique traité par *A.iva*. Concernant le traitement par la *M. pubescens* on a enregistré une augmentation très hautement significatives(p<0.001) par rapport au lot des rattes témoins saines. L'étude statistique montre une diminution très hautement significative (p<0.001) et hautement significative (p<0.01) entre les rattes du lot diabétique traité et diabétique non traité respectivement. .

Par contre, La variation du taux plasmatique de cholestérol présente une augmentation significative (p<0.05) entre les rattes diabétiques non traitées (DNT) par rapport aux rattes du lot témoin sain (TS). Cependant, le cholestérol diminue de façon très hautement

significative ($p < 0.001$) pour le lot des ratte diabétiques traitées (DT+A),(DT+M) en comparant au lot des ratte témoins saines et des ratte diabétiques non traitées.

Concernant la concentration sérique de l'HDL, on observe une diminution très hautement significative ($p < 0.001$) chez les ratte diabétiques non traitées (DNT) par rapport aux ratte du lot témoin sain (TS) et une augmentation très hautement significative ($p < 0.001$) entre les ratte diabétique traité et les ratte diabétiques non traitées.

On a également constaté que LDL cholestérol chez les ratte diabétiques non traités ne présente aucune variation significative ($p > 0.05$) par rapport aux ratte témoins sain,. En revanche notre étude illustre une diminution très hautement significative ($p < 0.001$) du taux de LDL chez les ratte diabétiques traités par *Ajuga iva* et *Matricaria pubescens* par rapport aux ratte diabétiques non traités.



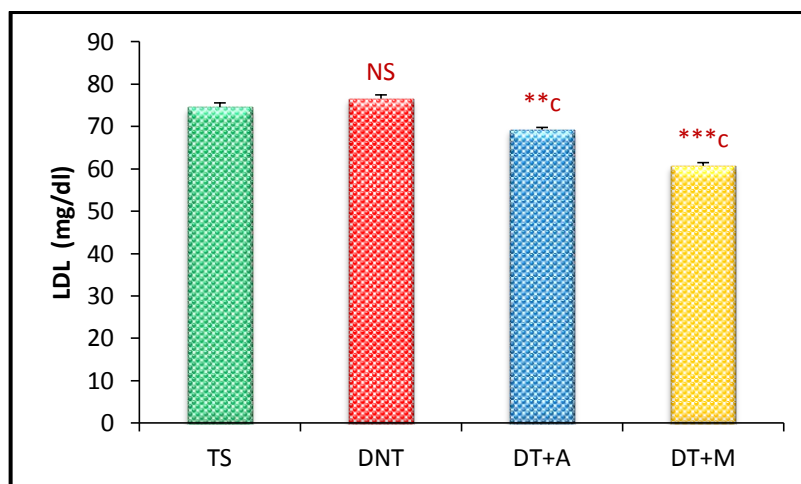


Figure 31 : Variation des concentrations des paramètres biochimiques chez les différents groupes expérimentaux Glucose (mg/dl), triglycérides (mg/dl), cholestérols total (mg/dl), LDL(mg/dl), HDL(mg/dl). Comparaison avec groupe témoin : * p < 0.05, ** p < 0.01, *** p < 0.001, avec groupe témoin diabétique : NS p > 0.05, ^a p < 0.05; ^b p < 0.01, ^c p < 0.001 n=4.

I.5.2.2. Effet du traitement sur la protéinémie, la créatinine et l'urée

Les variations des paramètres biochimiques des rats des lots : témoin sain (TS), lot diabétique non traité (DNT), lot diabétique traité par *Ajuga iva* (DT+A) , lot diabétique traité par *Matricaria pubescens* (DT+M) sont rassemblées dans le tableau N°13.

Tableau 13: variation des concentrations sériques de l'urée(mg/dl), la créatinine(mg/dl) et les protéines totales (mg/dl) chez les différents groupes expérimentaux.

Dose mg/kg (p c)	Lots			
	TS	DNT	DT+A	DT+M
	-	-	300	800
Parameters				
Urée (mg/dl)	0.44±0.01	0.69±0.005***	0.47±0.013 ^{NSb}	0.52±0.02 ^{NSa}
Créatinine (mg/dl)	5.37±0.12	10.39±0.40**	3.85±0.12** ^c	6.50±0.15** ^c
Protéines T (mg/dl)	76.53±0.85	85.24±1.06**	81.79±0.77** ^a	72.03±0.68** ^c

Les valeurs sont exprimées en Moy ± ES avec un nombre d'échantillon (n =4).

comparaison avec le lot témoin: *p < 0.05 ; **p < 0.01 ; ***p < 0.001

comparaison avec le lot diabétique: ^a p < 0.05 ; ^b p < 0.01; ^c p < 0.001

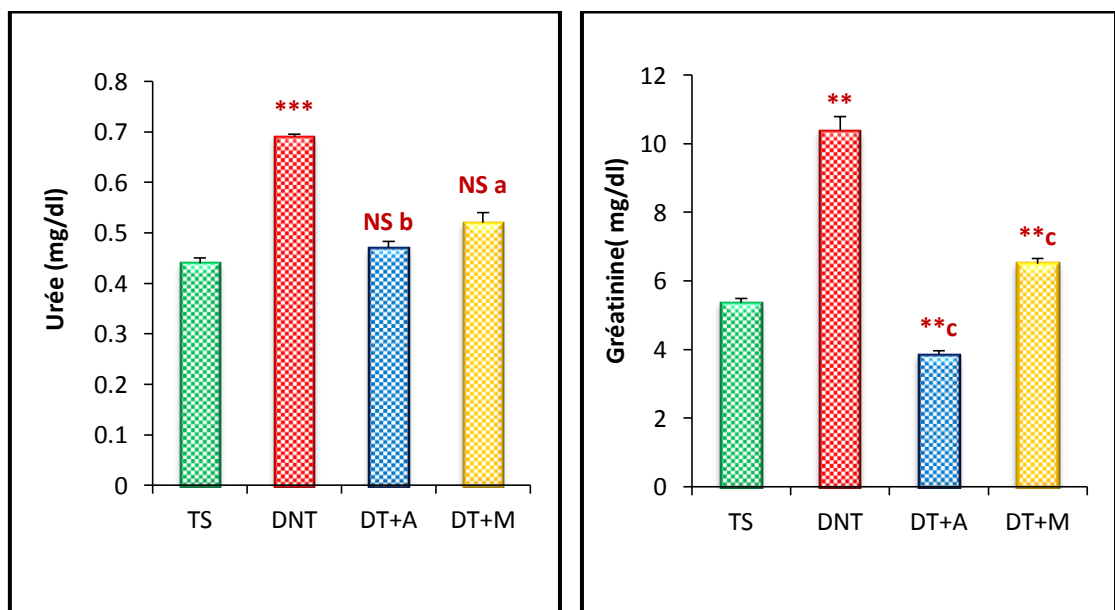
NS : Différence non significative P > 0.05

Nous avons constaté , une augmentation très hautement significative ($p < 0.001$) de la concentration sérique de l'urée entre les rattes diabétiques et les rattes témoins saines, d'autre part il n'existe aucune variation significative ($p > 0.05$) chez le groupe traité par *A.iva* et *M. pubescens* par rapport au groupe témoin. On remarque une diminution hautement significative ($p < 0.01$) et significative ($p < 0.05$) respectivement chez le groupe traité par *A.iva* et *M. pubescens* par rapport aux rattes diabétiques.

La variation de la créatinine a montré qu'il existe une augmentation très hautement significative ($p < 0.001$) entre les rattes (DNT),(DT+A) et (DT+M) par rapport aux rattes témoins,. L'étude statistique montrée une diminution très hautement significative ($p < 0.001$) chez les rattes diabétiques traités (DT+A),(DT+M) par rapport aux rattes de groupe diabétique non traité.

Le taux plasmatique des protéines totales est augmenté de façon hautement significative ($p < 0.05$) chez les rattes diabétiques non traités (DNT) et les rattes traité (DT+A) et une diminution hautement significative du lot (DT+M) par rapport aux rattes (TS).

Alors que on a observé une augmentation significative ($p < 0.05$) et très hautement significative ($p < 0.001$) de la concentration sérique des protéines totales entre le groupe DT+A,DT+M respectivement et le groupe diabétique non traité.



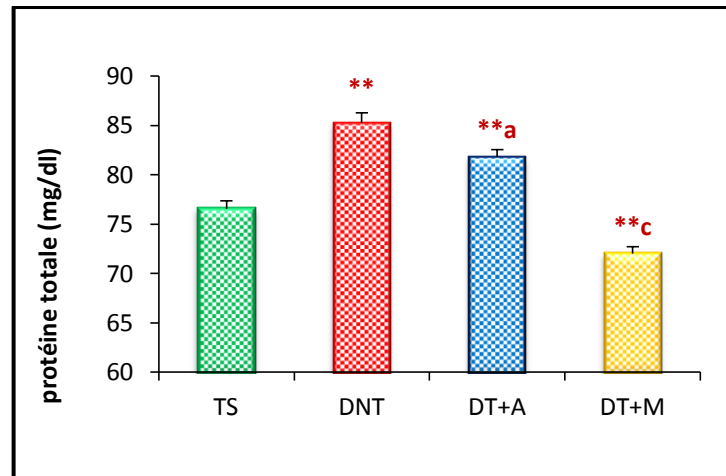


Figure 32: Variation des concentrations sérique de l'urée, la créatinine et les protéines totales chez les différents groupes expérimentaux. Comparaison avec groupe témoin : * p < 0.05, ** p < 0.01, *** p < 0.001, avec groupe témoin diabétique : NS p > 0.05, ^a p < 0.05; ^b p < 0.01, ^c p < 0.001 n=4.

I.5.2.3. Effet du traitement sur l'activité enzymatique

Le tableau 14 montre les résultats des différents paramètres biochimiques obtenus après le sacrifice des rats expérimentaux.

Tableau14: Variation des concentrations d'activité sérique des transaminases TGO (UI/I) et TGP(UI/I), de l'amylase (UI/I), et de la phosphatase alcaline (UI/I), chez les différents groupes expérimentaux.

Dose mg/kg (p c) Paramètres	Lots			
	TS	DNT	DT+ A	DT+ M
	-	-	300	800
TGO (UI/I)	161.33±0.57	198.66±0.50***	169.21±3.41 ^{NS b}	158.80±6.28 ^{NS b}
TGP (UI/I)	52.37±1.09	75.16±0.40***	67.22±0.40 ^{***c}	66.55±1.37 ^{**b}
α amylase(UI/I)	318.30±1.60	415.72±0.30***	213.25±1.23 ^{***c}	295.80±3.07 ^{**c}
PAL(UI/I)	66.06±7.19	133.9±25.5 ^{NS}	85.01±4.02 ^{*b}	117.5±28.1 ^{NSb}

Les valeurs sont exprimées en Moy ± ES avec un nombre d'échantillon (n=4).

comparaison avec le lot témoin: * p < 0.05; ** p < 0.01; ***p < 0.001

comparaison avec le lot diabétique: ^a p < 0.05; ^b p < 0.01; ^c p < 0.001

NS : Différence non significative P > 0.05

Concernant l'activité sérique de TGP, TGO et α amylase, les résultats obtenus montrent une augmentation très hautement significative ($p < 0.001$) entre le lot DT et le lot témoin sain. D'autre part la concentration de la PAL ne présente aucune variation significatif chez le lot DNT par rapport au lot témoin.

l'administration par gavage de l'extrait aqueux d'*Ajuga iva* à la dose 300 mg/kg de PC et le *Matricaria pubescens* à la dose 800 mg/kg induit une diminution de la concentration de TGP de façon très hautement significative ($p < 0.001$) et hautement significative ($p < 0.05$) respectivement. Dans la présente étude, la concentration de l' α amylase, présente une diminution très hautement significative ($p < 0.001$) chez le groupe DT+A et celui DT+M par rapport aux groupe DNT.

En fin, nous avons remarqué une diminution hautement significative ($p < 0.001$) de la PAL et TGO chez le lot des rattes DT+A et DT+M par rapport aux rattes non traités.

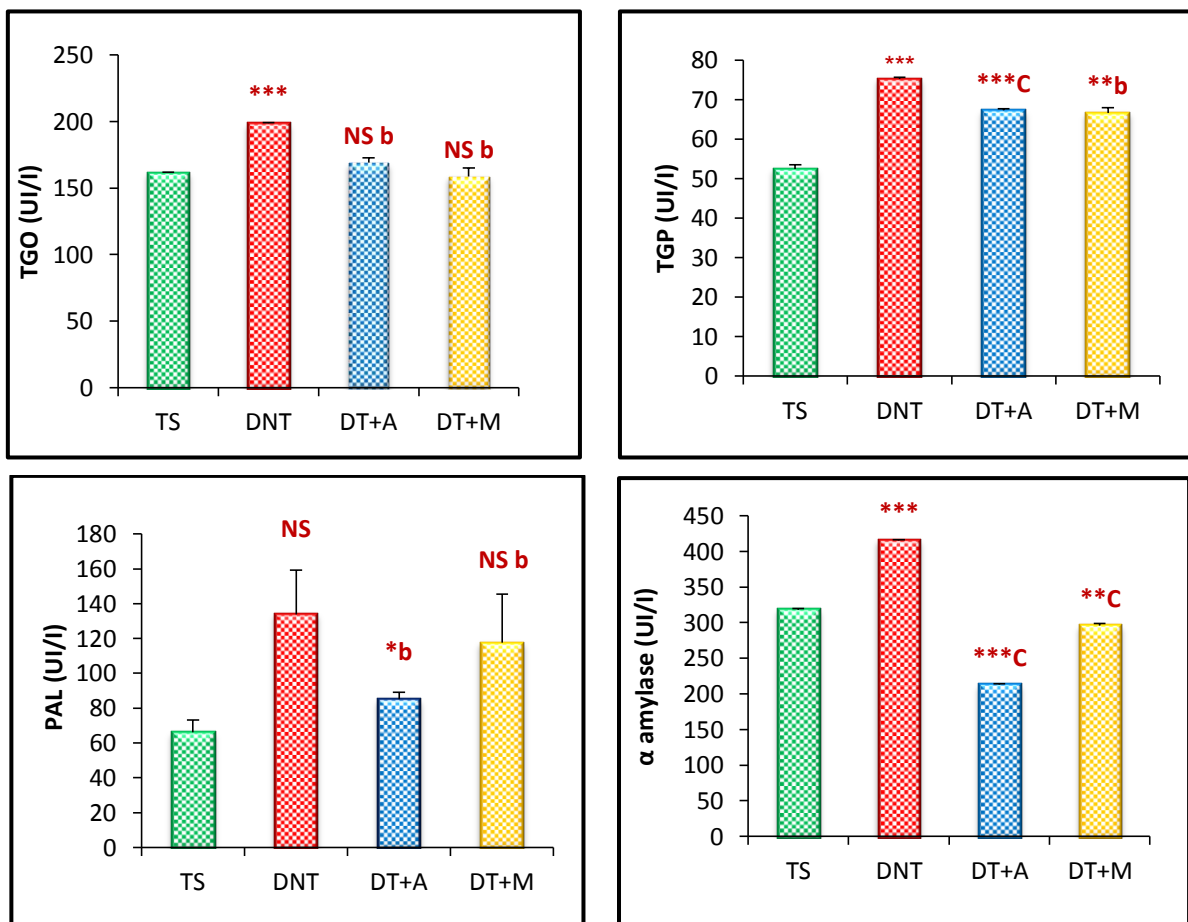


Figure 33: Variation de concentration d'activité sérique des transaminases TGO et TGP, et le α amylase, et la phosphatase alcaline, chez les différents groupes expérimentaux.

Comparaison avec groupe témoin : * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, avec groupe témoin diabétique : NS $p > 0.05$, ^a $p < 0.05$; ^b $p < 0.01$, ^c $p < 0.001$ n=4.

1.5.3. Détermination du statut oxydant/antioxydant

1.5.3.1. Variation des concentrations en molonydialdéhyde (MDA)

Les concentrations en MDA ont été déterminées sur des fractions cytosoliques des organes: foie, rein, cœur et pancréas.

Le tableau N°15 représente la variation du taux de MDA chez des rattes témoins sain et des rattes rendus diabétiques par l'alloxane et des rattes traités par un extrait aqueux d'*Ajuga iva* et *Matricaria pubescens*.

Tableau 15: Concentration tissulaire de Malondialdéhyde (MDA) chez le groupe témoin, diabétique et le groupe traité pendant 15 jours.

Paramètres	Dose mg/kg (pc) Organes	LOTS			
		TS	DNT	DT+A	DT+M
		-	-	300	800
MDA (µmol/ mg pro)	Foie	1.350±0.023	1.625±0.247 ^{NS}	1.57±0.085 ^{NS}	1.26±0.029 ^{*b}
	Rein	1.33±0.073	2.285±0.168 [*]	0.863±0.180 ^{NS}	1.553±0.325 ^{NS b}
	Cœur	1.50±0.155	2.89±0.369 [*]	1.697±0.006 ^{***c}	1.92±0.355 ^{NS}
	Pancréas	1.08±0.004	1.92±0.021 ^{***}	1.020±0.042 ^{NSc}	1.145±0.041 ^{NSc}

Les valeurs sont exprimées en Moy ± ES avec un nombre d'échantillon (n =4).

comparaison avec le lot témoin: *p < 0.05 ; **p < 0.01; ***p < 0.001

comparaison avec le lot diabétique: ^a p < 0.05; ^b p < 0.01; ^c p < 0.001

NS : Différence non significative P > 0.05

Les résultats de la peroxydation lipidique des organes étudiés ne présentent aucune variation significative (p>0.05) dans le foie mais dans le cœur et rein on remarque une augmentation significative (p<0.05) par contre, le taux du MDA augmente de façon très hautement significative (p<0.001) dans le pancréas chez le lot diabétique non traité par rapport au lot témoin sain.

D'autre part, les rattes traités par 300mg/kg pc d'*Ajuga iva* présentent une diminution du taux MDA cardiaque et pancréatique de façon très hautement significatif (p<0.001) et

d'une façon non significative dans le foie et rein. Chez les rattes traités par *Matricaria pubescens* on observe une diminution très hautement significative ($p < 0.001$) du taux MDA pancréatique et hautement significative ($p < 0.01$) au niveau du foie et rein mis aucune variation ($p > 0.05$) du MDA cardiaque par rapport aux rattes diabétiques non traités.

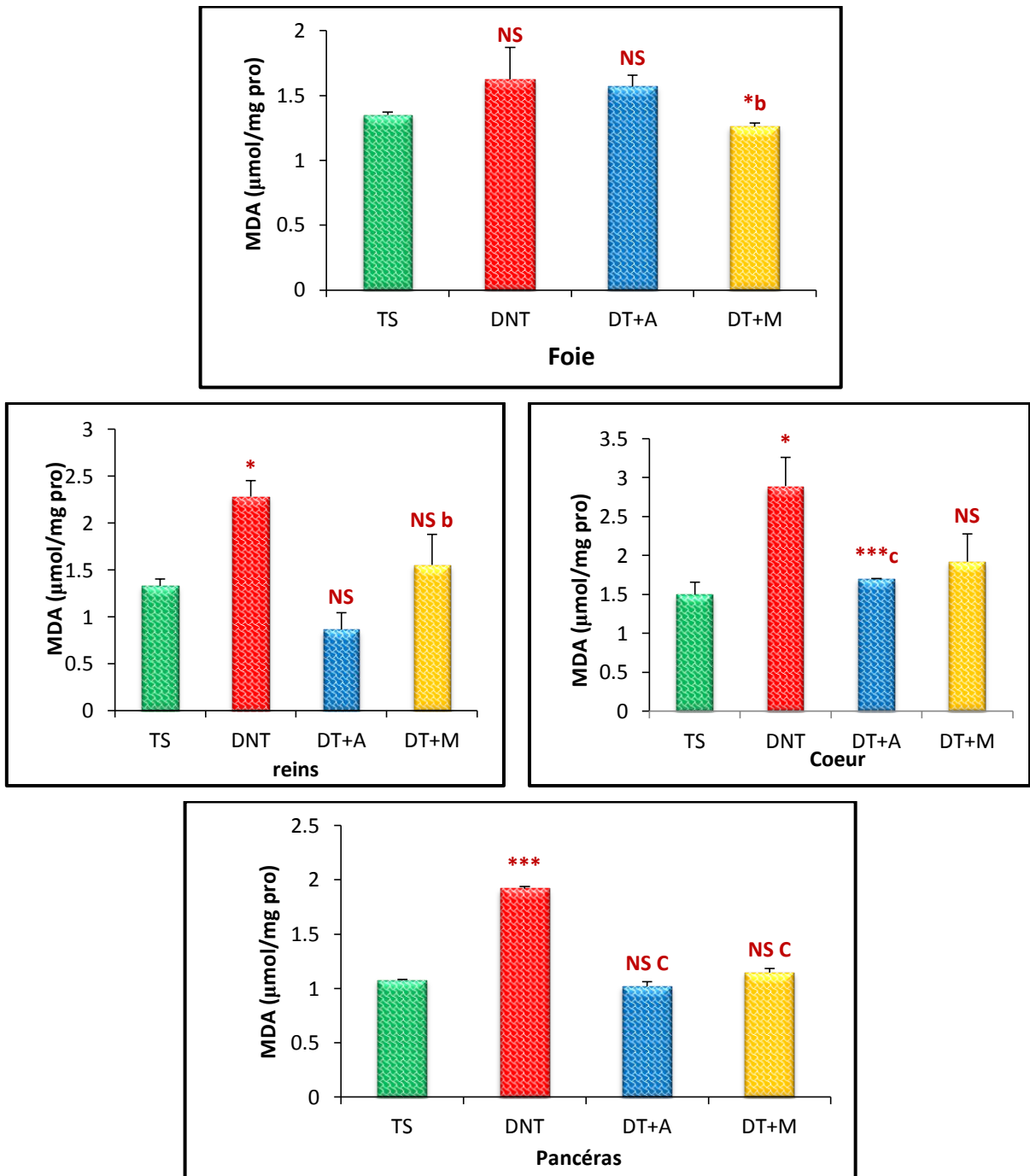


Figure 34: Concentrations tissulaires de malondialdéhyde chez les différents groupes expérimentaux pendant 15 jours de traitement. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, avec groupe témoin diabétique : NS $p > 0.05$, ^a $p < 0.05$; ^b $p < 0.01$, ^c $p < 0.001$ n=4.

I.5.3.2. Variation de concentration du Glutathion réduit (GSH)

Les résultats de l'étude de l'influence d'un traitement de deux semaines par l'extrait aqueux d'*A.iva* et du *M. pubescens* sur le taux tissulaire du GSH sont rassemblés dans le tableau N° 16.

Tableau 16: Concentrations de glutathion réduit tissulaires chez les groupes témoins et le groupe diabétique et les groupes traités pendant 15 jours du traitement.

Paramètres	Dose mg/kg (pc) Organes	LOTS			
		TS	DNT	DT+A	DT+M
		-	-	300	800
GSH (µmol /mg de pro)	Foie	1.270±0.254	0.730±0.086**	0.906±0.037** ^a	0.857±0.046** ^{NS}
	Rein	1.210±0.271	0.625±0.087**	0.821±0.066 ^a	0.862±0.021 ^{**b}
	Cœur	1.606±0.211	0.602±0.075**	0.717±0.122 ^{**NS}	0.676±0.083 ^{**NS}
	Pancréas	2.844±0.274	0.840±0.091***	1.181±0.130 ^{**NS}	0.935±0.024 ^{**a}

Les valeurs sont exprimées en Moy ± ES avec un nombre d'échantillon (n =4).

comparaison avec le lot témoin: *p < 0.05 ; **p < 0.01 ; ***p < 0.001

comparaison avec le lot diabétique: ^a p < 0.05 ; ^b p < 0.01; ^c p < 0.001

NS : Différence non significative P > 0.05

Nos résultats montrent que la concentration de glutathion réduit tissulaires rénale, cardiaque et hépatiques chez les rattes des lots diabétiques non traités est diminuée de façon hautement significatif (p<0.01) et très hautement significatif (p<0.001) de la GSH pancréatique par rapports aux rattes témoins sain.

Notre étude a montrée aussi, une augmentation significatif (p <0.05) du taux de la GSH rénale et hépatique et aucune signification (p>0.05) dans le cœur et pancréas chez les rattes traité par *A.iva* par rapports aux rattes DNT. D'autre part, les rattes des lots traités par le *M. pubescens* illustrent une augmentation hautement significatif (p <0.01) de la concentration de la GSH tissulaires au niveau des reins et augmentation significative (p <0.05) dans le pancréas mais aucune différence significative (p >0.05) du taux de la GSH cardiaque et hépatique par rapport aux rattes diabétiques non traités (DNT).

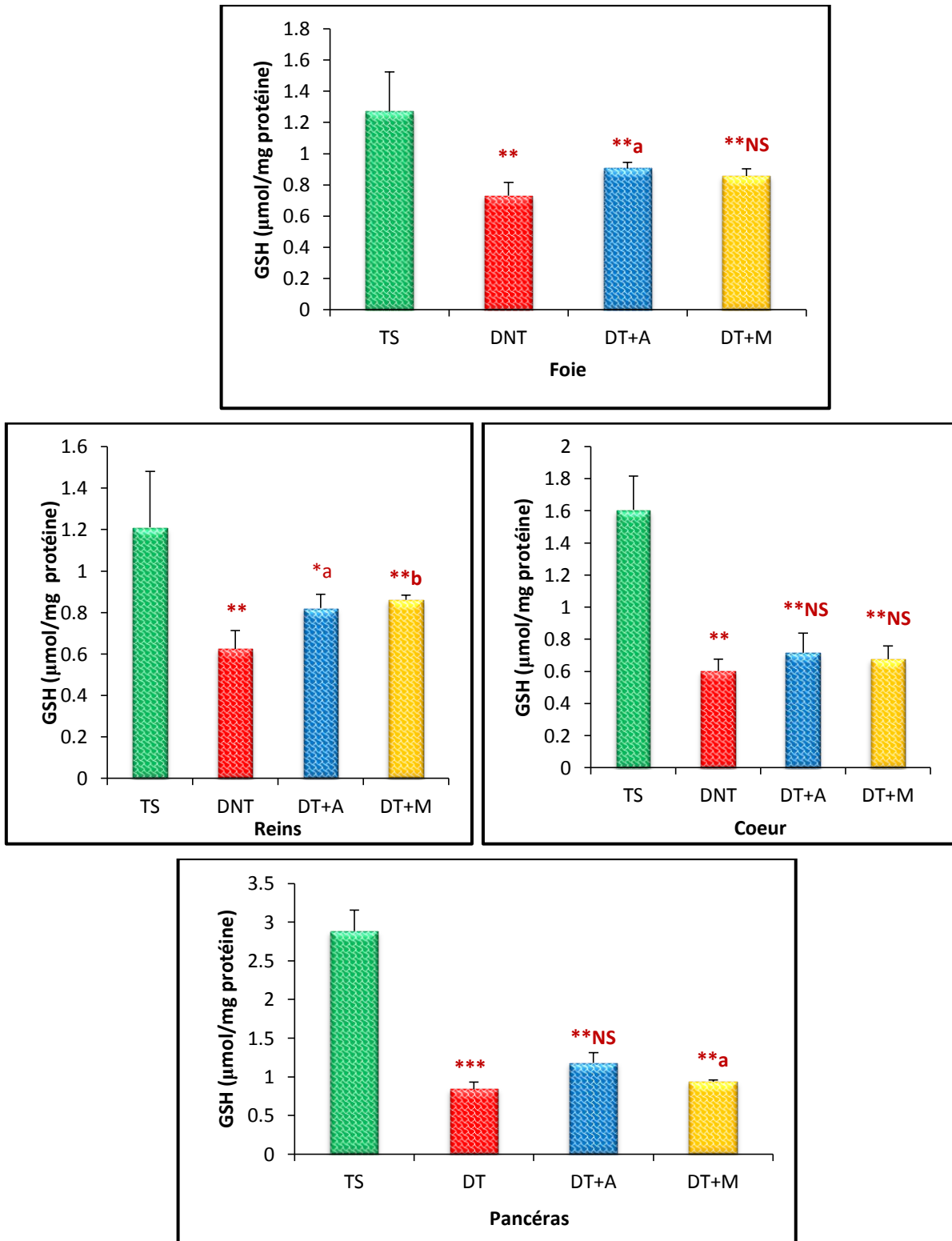


Figure 35: Concentration de la glutathion réduct tissulaires chez les différents groupes expérimentaux pendant 15 jours du traitement. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, avec groupe témoin diabétique : NS $p > 0.05$, ^a $p < 0.05$; ^b $p < 0.01$, ^c $p < 0.001$ n=4.

I.5.3.3. Variation de l'activité enzymatique de la catalase (CAT)

Les résultats de l'influence de l'extrait aqueux de la partie aérienne d'*A.iva* et du *M. pubescens* sur l'activité enzymatique de la catalase chez les rats sains et les rats rendus diabétiques par l'alloxane sont rassemblés dans le tableau N° 17.

Tableau17: Concentrations de l'activité de catalase chez les différents groupes expérimentale pendant 15 jours du traitement.

Paramètres	Dose mg /kg (p c)	LOTS			
		TS	DNT	DT+A	DT+M
		-	-	300	800
Organes					
CAT (U/mg de pro)	Foie	48.2±14.3	13.81±2.37**	33.98±4.06 ^{*a}	23.30±5.17 ^{*NS}
	Rein	137.5±10.6	67.31±4.19***	127.79±12.1 ^{NS a}	110.5±9.03 ^{NS a}
	Cœur	40.11±0.115	8.55±1.09***	21.44±7.17 ^{*NS}	35.93±4.91 ^{NS a}
	Pancréas	23.33±7.56	6.40±0.93***	14.26±1.11 ^{** b}	20.18±3.72 ^{NS a}

Les valeurs sont exprimées en Moy ± ES avec un nombre d'échantillon (n =4).

comparaison avec le lot témoin: *p < 0.05 ; **p < 0.01 ; ***p < 0.001

comparaison avec le lot diabétique: ^a p < 0.05 ; ^b p < 0.01; ^c p < 0.001

NS : Différence non significative P > 0.05

Dans notre étude expérimentale, les résultats montrent une diminution très hautement significative (p<0.001) des concentrations de la catalase dans les différents organes, reins, cœur; pancréas et hautement significative dans le foie chez le groupe diabétique traité en comparant avec le groupe témoin.

D'autre part nous avons signalé une augmentation significative (p<0.05) de la catalase hépatique, rénal et hautement significative (p<0.001) dans le pancréas mais aucune différence significative au niveau du cœur chez le groupe d'*A.iva* par rapport à celui des rats diabétiques non traités. On a aussi remarqué une augmentation significative (p<0.05) de la catalase dans les différents organes, reins, cœur et pancréas mais aucune différence significative au niveau du foie chez le groupe DT+M, par rapports aux groupe DNT.

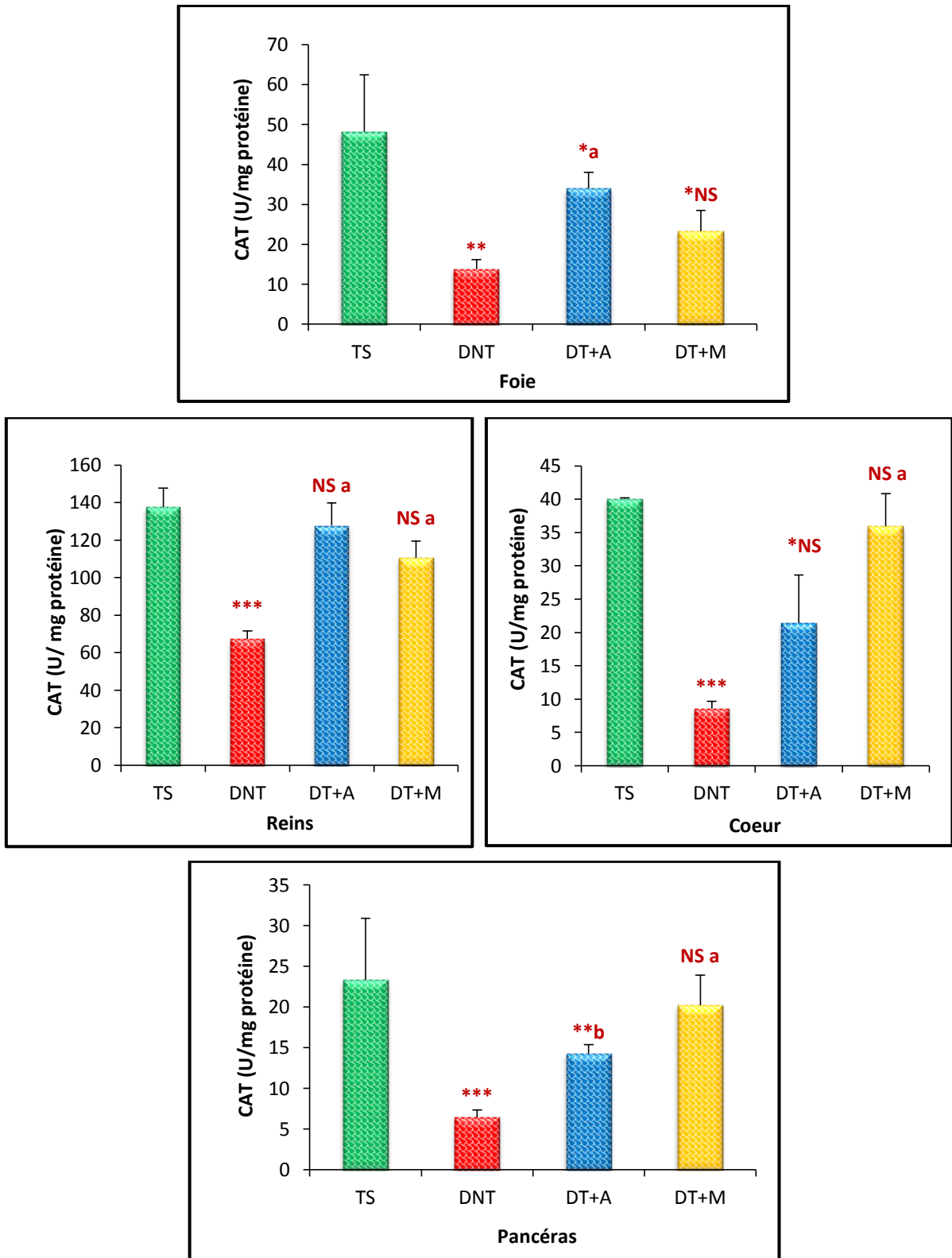


Figure 36: Variation de l'activité de la catalase chez les différents groupes expérimentaux pendant 15 jours de traitement. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, avec groupe témoin diabétique : NS $p > 0.05$, ^a $p < 0.05$; ^b $p < 0.01$, ^c $p < 0.001$ n=4.

I.5.3.4. Variation de l'activité enzymatique de glutathion peroxydase (GPx)

l'étude de l'influence d'un traitement de deux semaines par l'extrait aqueux d'*Ajuga iva* et de *Matricaria pubescens* sur le taux tissulaire de GPX est mentionnée dans le tableau N° 18.

Tableau 18:Concentrations de l'activité tissulaire de glutathion peroxydase chez le groupe témoin et les groupes expérimentaux pendant 15 jours du traitement.

Paramètres	Dose mg/kg (p c)	LOTS			
		TS	DNT	DT+A	DT+M
	Organes	-	-	300	800
GPX (µmol GSH/mg de protéine)	Foie	26.63±4.20	10.53±1.84**	15.81±4.14 ^{NS}	32.16±3.11 ^{NS b}
	Rein	24.94±2.33	14.73±1.84*	34.28±2.27* ^b	43.07 ±2.35 ^{**b}
	Cœur	20.64±0.83	9.41±2.30*	31.56±1.59 ^{**b}	27.40±7.34 ^{NS}
	Pancréas	12.41±1.68	6.42±0.56 ^{NS}	20.91±0.30 ^{***c}	18.82±2.14 ^{NSa}

Les valeurs sont exprimées en Moy ± ES avec un nombre d'échantillon (n =4).

comparaison avec le lot témoin: *p < 0.05 ; **p < 0.01 ; *** p < 0.001

comparaison avec le lot diabétique: ^a p < 0.05 ; ^b p < 0.01; ^c p < 0.001

NS : Différence non significative P > 0.05

Selon la figure n°37 et le tableau n° 18 nous avons enregistré une diminution hautement significative de la teneur tissulaire en glutathion peroxydase au niveau du foie (p<0.01), diminution significative (p<0.05) aux niveaux des organes rein, cœur et non significative (p>0.05) pour le pancréas chez le lot diabétique par rapports aux lot témoin sain.

D'autre part, on a observé que la concentration de GPX est augmenté au niveau du pancréas d'une façon très hautement significative (p<0.001) et hautement significative (p<0.001) pour les reins, cœur mais aucune variation significative (p>0.05) au niveau du foie chez le lot DT+A. Concernant le lot DT+M présente des variations hautement significatives (p<0.01) au niveau du foie et rein, de façon significative (p<0.05) dans le pancréas et non significative (p>0.05) dans le cœur par rapports aux rattes diabétiques non traités.

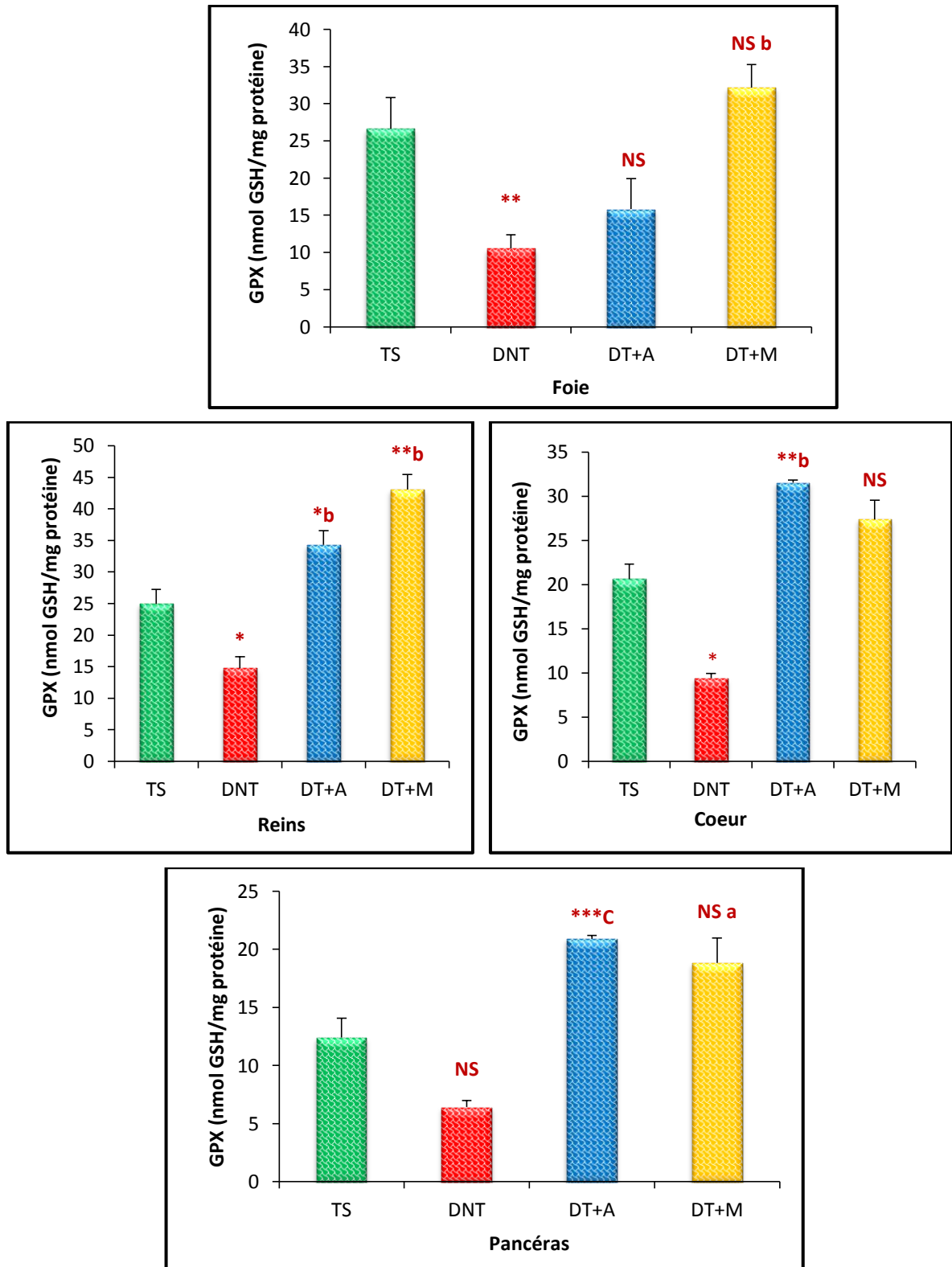


Figure 37: Concentrations de glutathion peroxydase chez les différents groupes expérimentaux pendant 15 jours du traitement. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, avec groupe témoin diabétique : NS $p > 0.05$, ^a $p < 0.05$; ^b $p < 0.01$, ^c $p < 0.001$ n=4.

I.5.4. Les coupes histologiques

L'observation microscopique du pancréas des rattes traités par l'alloxane révèle une modification cellulaire bien visible, qui traduit par une atrophie cellulaire, Alors que l'étude histologique du pancréas des rattes traités par les extraits aqueux de la partie aérienne des plantes *Ajuga iva* et *Matricaria pubescens* présente une légère amélioration au niveau cellulaire.

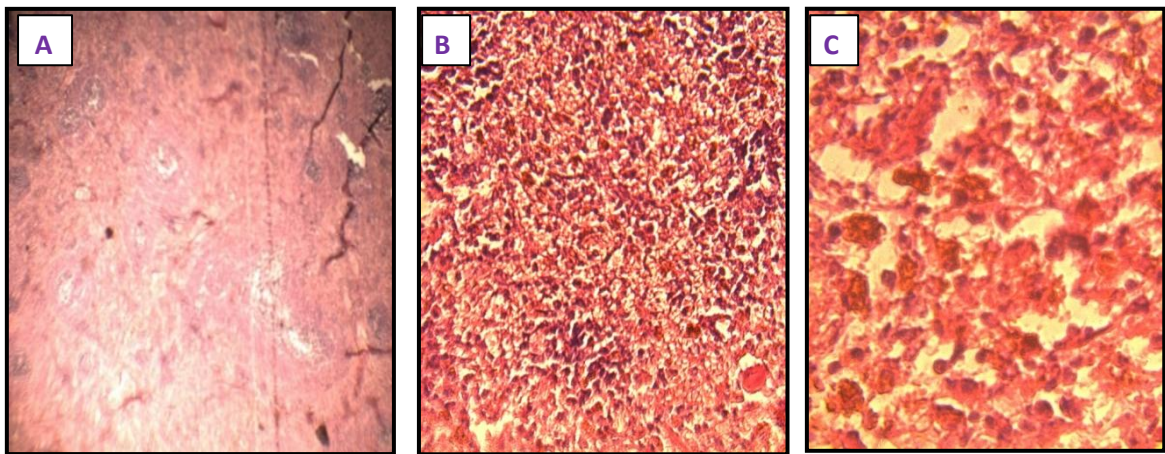


Figure 38 : Coupes histologiques du pancréas du rat témoin sain: (A) couleur HEx10, (B) couleur HEx40 (C) couleur HEx100 (Photo original,2017).

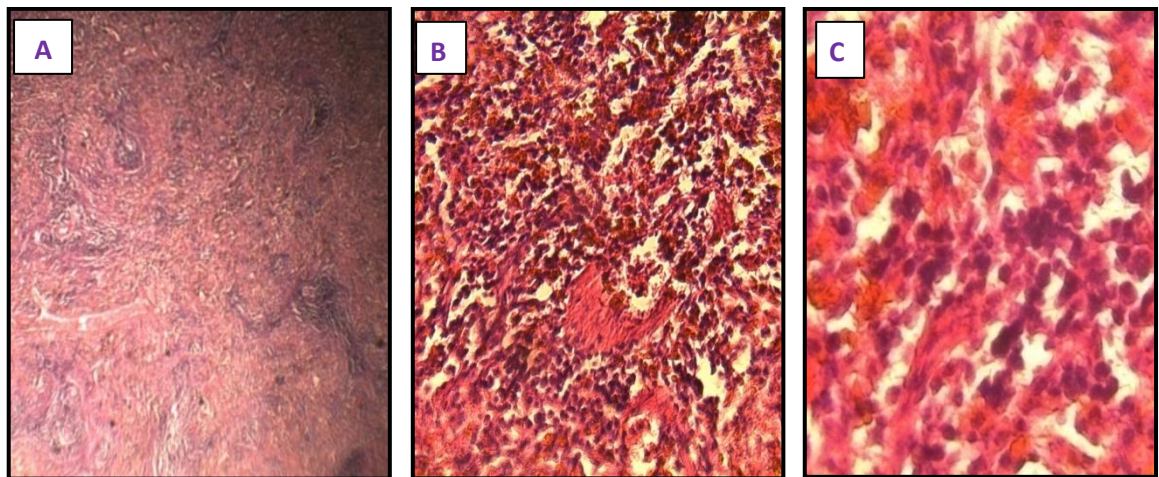


Figure 39 : Coupes histologiques du pancréas du rat témoin diabétique non traité: (A) couleur HEx10, (B) couleur HEx40 (C) couleur HEx100 (Photo original,2017).

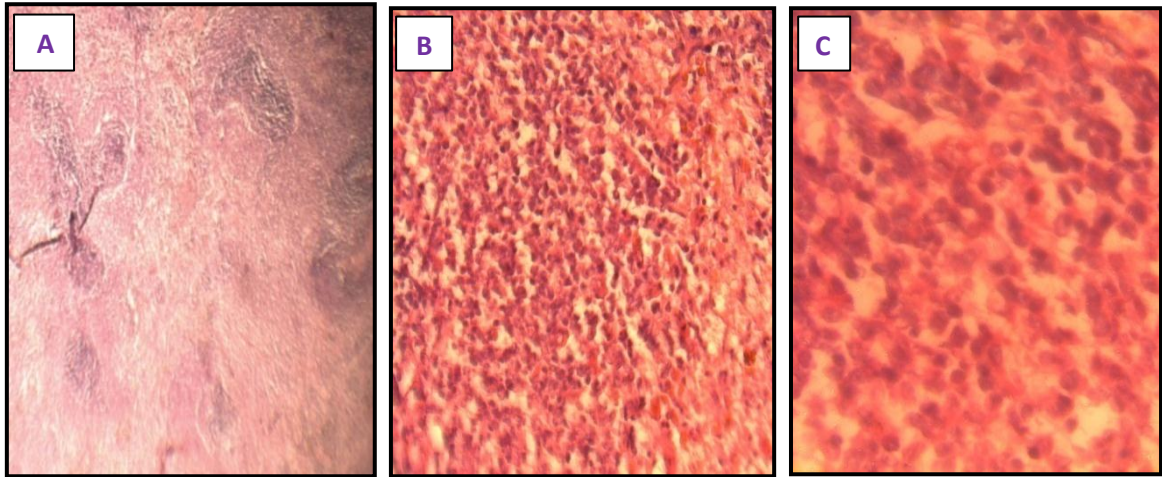


Figure 40: Coupes histologiques du pancréas du rat diabétique traité par *Ajuga iva*: : (A) couleur HEx10, (B) couleur HEx40 (C) couleur HEx100 (Photo original,2017).

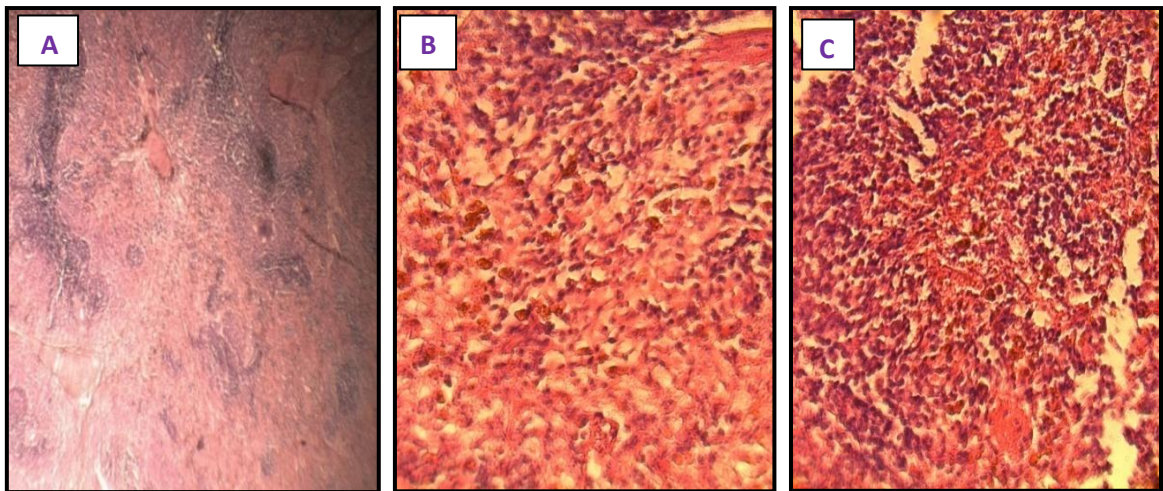


Figure 41 : Coupes histologiques du pancréas du rat diabétique traité par *Matricaria pubescens*: : (A) couleur HEx10, (B) couleur HEx40 (C) couleur HEx100 (Photo original,2017).

II. Discussion

Le diabète sucré est un désordre/syndrome métabolique chronique résultant d'une variété d'interactions entre des facteurs héréditaires et environnementaux. Il est caractérisé par une perturbation de la sécrétion de l'insuline ou de l'action des récepteurs ou des postrécepteurs de l'insuline ce qui affecte, par conséquent, le métabolisme des carbohydrates, des protéines et des lipides. En plus, il engendre des lésions au niveau du foie, des reins et des cellules β pancréatiques (Baynes, 1991;Singh *et al.*, 2005). Il existe une évidence croissante que les complications reliées au diabète sont associées au stress oxydant, et que la production des radicaux libres augmente pendant le diabète (Baynes, 1991).

L'activité des ROS peut induire la peroxydation lipidique qui, par la suite, stimule la glycation des protéines, l'inactivation des enzymes et l'altération de la structure et la fonction des biomembranes, jouant ainsi un rôle crucial dans les complications à long terme du diabète (Baynes, 1991). Dans ce cas de syndrome, le stress oxydant coexiste avec la réduction du statut antioxydant ce qui peut, par la suite, augmenter l'effet délétère des radicaux libres (Collier *et al.*, 1990).

Devant l'augmentation considérable du nombre de diabétiques et les échecs secondaires des médicaments antidiabétiques, de nombreux chercheurs ont évalué l'action pharmacologique des plantes traditionnelles et donc leur intérêt en médecine traditionnelle.

L'utilisation des plantes médicinales est aujourd'hui la forme de médecine de plus en plus utilisée à travers le monde. Le recours au traitement par les plantes ainsi que la recherche des nouvelles substances à activités biologiques constituent une des plus grandes préoccupations scientifiques (Djedioui, 2010)

L'objectif primordial assigné par cette étude vise à rechercher les principes actifs obtenus par macération de la partie aérienne des deux plantes *Ajuga iva* (300mg/kg pc) et *Matricaria pubescens* (800mg/kg pc) grâce à des tests phytochimiques, ainsi que, ses effets sur certains paramètres glucidiques, lipidiques et le statut redox, chez un modèle de rats rendus diabétiques par l'injection de 120mg/kg pc d'alloxane.

Le choix de ces plantes était basé sur la fréquence de leurs utilisations par la population locale dans la région d'Oued souf.

Evaluer le pouvoir antioxydant de l'extrait aqueux des deux plantes (*Ajuga iva*, *Matricaria pubescens*) et de ses capacités de protéger les tissus (hépatiques, rénaux et

cardiaques) des dommages tissulaires qui peuvent être causés par la production excessive des espèces réactives de l'oxygène et des produits de peroxydation lipidiques lors du diabète par mesure du taux du molonyldialdéhyde (MDA), du glutathion réduit (GSH), l'activité de catalase (CAT) et glutathion peroxydase (GPX).

Confirmer l'effet hypoglycémique de l'extrait aqueux d'*Ajuga iva* chez des rattes rendues diabétiques par injection d'alloxane par mesure de la glycémie et du profil lipidique sanguin.

D'étudier pour la première fois l'effet hypoglycémique de l'extrait aqueux de la *Matricaria pubescens* qui n'a jamais abordé auparavant. Les tests phytochimiques réalisés sur la partie aérienne de cette plante montrent sa richesse en plusieurs composés pouvant être à l'origine des effets antihyperglycémiantes trouvés au cours de cette étude. L'extrait aqueux, qui est l'axe de cette contribution, contient la majorité de composés décelés dans la plante ce qui peut être ardemment lié avec son efficacité contre le diabète.

Les variations des rendements d'une plante à une autre, semblent être liées aux différents facteurs, propriétés génétiques des plantes ainsi qu'à l'origine géographique, aux conditions de stockage, de la récolte et aussi aux méthodes d'extraction appliquées (Bougandoura, 2011).

Le screening phytochimique des extraits aqueux de la partie aérienne d'*Ajuga iva* et de *matricaria pubescens* avec des rendements respectivement 13,16% et 8.57 %, a révélé la présence de plusieurs principes actifs tel que : isoprénolides, les alcaloïdes, les saponosides et triterpéniques en plus d'autres composés phénoliques comme, flavonoïdes et tanins. Certains molécules appartenant aux principes actifs identifier, ont été mentionnés comme anti diabétiques (Marles et Farnceworth, 1995; Perez *et al.*, 1998; Wang et Ng, 1999). Par contre on remarque l'absence des familles chimiques connues comme étant très toxiques telle que les alcaloïdes (Marles et Farnceworth, 1995) (Zidi, 2010).

Le dosage des phénols totaux des deux extraits aqueux a révélé des teneurs considérables dans *Ajuga iva* (9.25 mg d'AG/g MS) et *Matricaria pubescens* (8.31 mg d'AG/g MS). En effet, les composés phénoliques sont bien connus comme des agents antioxydants dirigés contre les radicaux libres associés aux dommages oxydatifs (Wang et Ng, 1999).

D'autre part, le dosage des flavonoïdes a montré que les deux espèces *Ajuga iva* et *Matricaria pubescens* présentent des teneurs modérées de l'ordre de (7.37 mg de Querc /g

MS) et (3.72 mg de Querc /g MS) respectivement dans les extraits aqueux. Les résultats que nous avons obtenus se rapprochent aux travaux réalisés par Marles et Farnceworth, (1995), qui ont montré que les teneurs en phénols totaux et en flavonoïdes de l'extrait méthanoïque d'*A.iva* sont respectivement de 26,86 µg EAG/mg MS et de 7,41 µg EC/mg MS.

L'activité antiradicalaire des extraits est donc relativement dépendante de la teneur en polyphénols totaux et en flavonoïdes. Par exemple l'extrait hydrométhanolique préparé par macération qui représente la teneur la plus élevée en polyphénols totaux et en flavonoïdes, possède le pouvoir antioxydant le plus élevé par rapport aux autres extraits (Saadaoui *et al*, 2007).

La réduction du DPPH par dosage spectrophotométrique UV a mis en évidence, la présence dans les deux extraits des valeurs d'IC₅₀ les plus faibles, allant de 0.22 à 0.59 mg/ml. L'activité la plus faible a été observée chez *Matricaria pubescens*. Ce dernier résultat est en accord avec celui de (Saadaoui *et al*, 2007).

L'étude réalisée par Hariri et Ouis (2016) a montré que l'IC₅₀ de l'extrait méthanolique d'*A.iva*, préparé par macération, récolté à Mascara durant les mois Janvier, Mars et Avril 2014, est de l'ordre de 512 µg/ml.

Les résultats ci-dessus montrent clairement que les valeurs d'IC₅₀ que nous avons obtenues sont inférieures par rapport aux études réalisées par Khodja *et al.*, (2014), (Lenzen and Munday, 1991), notre plante possède le pouvoir antioxydant le plus puissant (Bougandoura, 2011).

La comparaison de ces valeurs avec celle de l'antioxydant standard, l'acide ascorbique (0,011 mg/ml), nous a permis de déduire que le pouvoir antioxydant de l'ensemble des deux extraits testés est moins importante que celui de l'acide ascorbique.

Le diabète induit à l'alloxane est un modèle bien connu du diabète expérimental (Abir *et al.*, 2005). Nous avons constaté une hyperglycémie après trois jours d'administration de l'alloxane monohydrate aux rats, ce qui provoque une chute significative de l'insulinémie. Ce composé peut causer une nécrose sévère des cellules β pancréatiques. Cet effet est expliqué par le fait que l'alloxane est pourvu d'un pouvoir producteur du peroxyde d'hydrogène et d'autres radicaux libres qui sont à l'origine de cette nécrose cellulaire des cellules β (Lenzen and Munday, 1991). La sensibilité de ces cellules au stress oxydatif est attribuée également à un taux faible en antioxydants du pancréas par rapport aux autres tissus (Lenzen *et al.*, 1996). Ce phénomène prooxydant de l'alloxane produit une hyperglycémie

suite à la chute de l'insulinosécrétion et aggrave le statut redox par l'auto oxydation du glucose (Sakurai et Tsuchiya, 1988 ; Abir *et al.*, 2005).

La recherche de l'activité anti-hyperglycémiant et hypoglycémiant de l'extrait aqueux d'*Ajuga iva* et de la *Matricaria pubescens* à des dose 300 et 800 mg/kg pc respectivement, a montré une augmentation du poids corporel des rattes diabétique, cette augmentation pondérale est due à la croissance normale des rattes. Ce résultat du gain de poids a été rapporté avec d'autres plantes connues par leur activité antidiabétique. On a enregistré aussi, un déficit pondéral chez les rattes diabétiques non traités (DNT) qui s'explique par l'augmentation du catabolisme des lipides et des protéines due au déficit en glucides. Ce déficit est dû à la lipolyse continue par un manque d'insuline a cause de l'installation du diabète (Sthishsekar et Subramanian, 2005).

Les résultats avant sacrifice présentent une diminution de la glycémie qui se manifeste des le 15^{ème} jour de l'expérimentation chez le groupe traité par l'extrait aqueux d'*Ajuga iva* et de la *Matricaria pubescens* par rapport au groupe diabétique non traité. Ce qui s'explique par l'efficacité des extraits dans la réduction de l'hyperglycémie induite par l'alloxane. Cependant après sacrifice (15^{ème} jours de traitement) la glycémie des lots traité par les deux extraits est diminuée de façon très hautement significative par rapport au lot diabétique, cette diminution est due soit par la stimulation de la sécrétion de l'insuline soit par une action extra pancréatique et donc par l'influence de l'absorption de glucose et son utilisation par les différents tissus (Bouldjadj, 2009).

Pour le poids relatif des organes, foie, cœur et reins nous avons remarqué une augmentation significative de leurs poids chez les rattes diabétiques non traités. Ceci est explicable par l'hypertrophie tissulaire de ces organes (foie, reins et cœur) causés par l'alloxane. D'après les études réalisées sur l'effet diabétogène de l'alloxane, un chargement du foie marqué par l'augmentation de la concentration hépatique en TG et AG libres qui est due à leurs mobilisations des tissus adipeux vers le foie et à la diminution de leurs dégradations (Mihaela *et al.*, 2006), cette augmentation lipidique touche aussi le cœur. Concernant le poids relatif des reins, son augmentation chez les rattes diabétiques est due à la prolifération des cellules glomérulaire (Kumar *et al.*, 2007). Dans notre étude, nous avons constaté que le traitement des rattes diabétiques par l'extrait aqueux d'*Ajuga iva* et de *Matricaria pubescens* a atténué l'effet diabétogène de l'alloxane et réduit le degré de diabète, témoignant ainsi de l'amélioration des mécanismes lipo-distributeurs contrôlant les surcharges lipidiques dans les tissus non adipeux comme le foie et le cœur (Unger, 2002).

Dans notre étude on a observé une augmentation significative entre les valeurs du profil lipidique CHL-T(6.05%), des TG (24.90%) et des LDL-C (2.68%) associée à une diminution remarquable des HDL-C (-24.22%) des rattes diabétiques par rapport aux rattes du lot témoin sain. Nos résultats sont en accord avec ceux montrés par (Eidi *et al.*, 2006 ; Sharma *et al.*, 2008) chez des rattes rendues diabétiques par l'alloxane, alors que Coopersitin et ses collaborateurs (1981) ont déjà motionné que le diabète est souvent associé à une hyperlipidémie. On constate que nous extraits possèdent une action hypolipidémique puisque le profil lipidique (lipides totaux, triglycérides et cholestérol) des rattes diabétiques traités en comparaison avec celui des rattes diabétiques non traités. Ces résultats ont été confirmés dans plusieurs études qui traitent l'action hypolipidémique de *l' Ajuga iva* (El Hilaly et Lyoussi; 2002).

Revenons maintenant au profil lipidique. Ce bilan est devenu d'une importance cruciale via son utilisation dans le traitement de plusieurs maladies cardiovasculaires et le contrôle des patients diabétiques (Akuyam, 2007). Plusieurs études ont rapporté que les complications cardiovasculaires associées au diabète sont dues aux perturbations du métabolisme lipidique (El-hilaly *et al.*, 2006; Akuyam *et al.*, 2007; Gupta *et al.*, 2008; Qi *et al.*, 2008).

L'urée et la créatinine sont des marqueurs significatifs de la fonction rénale (Eidi *et al.*, 2007). Il apparait une augmentation significative ($p < 0.05$) de la concentration sérique de la créatinine, l'urée, et les protéine plasmatiques chez les rattes diabétiques, et ceci est un indicateur d'une toxicité rénale (néphrotoxicité) due par l'alloxane (Akuyam, 2007). Cependant l'extrait aqueux des deux plantes provoque une diminution de l'urémie et créatinémie, ce qui protège ainsi les reins de la toxicité de l'alloxane.

Le dosage des paramètres sanguins a montré un taux élevé de la TGO, TGP, α amylase et PAL chez les rattes diabétiques. Ce qui explique l'accumulation des acides aminés comme l'alanine et le glutamate dans le sérum provenant de la dégradation des composés protéiques du corps. De ce fait, ces acides aminés peuvent se transformer sous l'action des transaminases sériques en composés carboxyliques tel que l' α cétylglutarate et le pyruvate. Ce qui implique alors une forte activité enzymatique de TGO et TGP. Ceci peut être expliqué aussi par l'effet hépatotoxique de l'alloxane (Drotman et Lawhorn, 1978 ; Daisy *et al.*, 2008).

Les enzymes antioxydants sont considérées comme la première ligné de défense de l'organisme contre les radicaux libre, d'où elles préviennent l'oxydation des macromolécules.

De nombreuses études expérimentales ont montrées les effets bénéfiques de l'administration des extraits aqueux de plusieurs plantes utilisées en médecine traditionnelle dans le traitement de diabète, sur la balance oxydant/antioxydant ainsi que leurs capacités de prévenir le développement des complications liées au diabète. Donc on a consacré cette partie de l'étude pour l'évaluation du pouvoir antioxydant de l'extrait aqueux des deux plantes et de ses capacités de protéger les tissus des dommages tissulaires qui peuvent être causés par la production excessive des espèces réactives de l'oxygène et des produits de peroxydation lipidiques lors du diabète.

Au cours de notre étude nous avons enregistré une augmentation des marqueurs de la peroxydation lipidique MDA dans les différents organes foie (20.37%), rein(71.80%), cœur (92.66%), et pancréas (77.77%) chez les rattes diabétiques. L'augmentation de la concentration du MDA suggère une augmentation des espèces réactives de l'oxygène (Kakkar *et al.*, 1998), ainsi l'augmentation du taux de MDA est le résultat de l'augmentation des ERO qui attaquent les acides gras polyinsaturés de la membrane cellulaire et provoque la peroxydation lipidique (Battacharya *et al.*, 1997).

L'augmentation des ERO pourrait être due, soit à l'augmentation de leur production, soit à la réduction de leur élimination suite à l'épuisement des systèmes antioxydants piègeurs tel que rapportent (Cho *et al.*, 2002). l'alloxane peut aussi augmenter le niveau des ERO chez les rattes diabétiques en raison de l'augmentation de la glycémie (Mazunder *et al.*, 2005). Lors d'un diabète, l'hypoinsulinémie augmente l'activité de l'enzyme Faty acyl coenzyme A oxydase qui initiée la β oxydation lipidique des acides ce qui provoque une augmentation de la peroxydation lipidique (Sivajothi *et al.*, 2008).

Le glutathion réduit (GSH) joue un rôle multifactoriel dans le mécanisme de défense antioxydant (Sathishsekar MSc & Subramanian, 2005). C'est un piègeur direct des radicaux libres, un cosubstrat nécessaire pour l'activité GPx (Ravi *et al.*, 2004) et participe dans la régénération de la vitamine E oxydée (Dominguez *et al.*, 1998).

Plusieurs études soutiennent l'hypothèse que lors d'un diabète, l'hyperglycémie chronique augmente la voie des polyols, la formation des AGE et donc le niveau de production des radicaux libres, ce qui entraîne une augmentation de l'oxydation GSH ainsi qu'une diminution de sa régénération (Baynes & Thorpe 1999 ; Ou *et al.*, 1996).

Dans la présente étude nous avons constaté une baisse significative du taux hépatique et rénal en GSH avec (-42.51%) et(-48.34 %) respectivement chez les rattes rendus

diabétiques par l'alloxane par rapport aux ratte saines témoins, ont a trouvé des résultats similaires par Ravi *et al.*, (2004) et suggèrent que la diminution de la concentration du GSH dans le foie et les reins des ratte rendus diabétiques par l'alloxane est probablement due d'une part à un accroissement de son utilisation par les cellules hépatiques et rénales, et d'autre part à une diminution de la synthèse du GSH ou une augmentation de sa dégradation au cours du stress oxydant causé par le diabète. Dans une autre étude (Dominguez *et al.*, 1998) indiquent que la déplétion relative du NADPH due à l'activation de l'aldose réductase et à la réduction de sa production à travers le cycle des pentoses altère la régénération du GSH ce qui conduit à l'épuisement de ce piègeur des radicaux libres.

Ces résultats suggèrent que l'extrait aqueux d'*Ajuga iva* et *Matricaria pubescens* peuvent soit augmenter la biosynthèse du glutathion soit réduire le stress oxydatif conduisant à une baisse de sa dégradation ou bien en influençant les deux mécanismes en même temps (Sathishsekar MSc & Subramanian, 2005). D'autre part, les composés polyphénoliques sont connus par leurs capacités de recycler la vitamine E et de piéger les radicaux libres cela peut donc participer directement dans la réduction de l'utilisation du GSH (Babu *et al.*, 2006).

L'augmentation de la concentration du GSH dans le foie et les reins chez les ratte traités par la plante pourrait être un facteur responsable de la réduction de la concentration du MDA dans ces tissus (Pari & Latha, 2005).

La destruction de l'anion peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) par la CAT améliore la toxicité induite par l'alloxane de la même façon que par des substances capables de piéger le radical hydroxyle ($\cdot OH$) (Sivajothi *et al.*, 2008). La modification de l'équilibre des enzymes antioxydantes causée par une baisse de l'activité de la CAT peut être responsable de l'insuffisance des défenses antioxydantes dans la lutte contre les ERO ce qui provoquent des dommages tissulaires (Sivajothi *et al.*, 2008).

Une diminution a été remarquée dans l'activité de GPx et CAT dans les différents organes étudiés chez les ratte diabétiques. Cependant le traitement de deux semaines par un extrait aqueux d'*Ajuga iva* et *Matricaria pubescens* a provoqué une augmentation significative de l'activité de la CAT dans le foie et les reins par rapport aux ratte diabétiques témoins.

Nos constatations sont en accord avec plusieurs d'autres études comme celle publiée par (Sivajothi *et al.*, 2008), qui ont constaté que chez des ratte rendus diabétiques par STZ, un traitement de 21 jours par un extrait aqueux de *Scoparia dulcis* provoque une augmentation hautement significative de l'activité de la CAT hépatique et rénale.

L'augmentation de l'activité de la CAT chez les ratte diabétiques traités par les extraits laisse penser que cette défense anti- oxydante pourrait être réactivée par des principes actifs, qui ont pu provoquer une augmentation de la capacité de détoxication par l'amélioration de la capture des radicaux libres.

Pour l'activité GPx nos résultats peuvent indiquer que les extraits aqueux de ses plantes peuvent soit augmenter la biosynthèse de la GPx ou réduire le stress oxydatif conduisant au moins à la dégradation de la GPx, ou avoir les deux effets (Rathee *et al.*, 2006). De plus, les polyphénols sont capables de protéger les structures cellulaires des altérations oxydatives et stimulent l'expression et l'activité les défenses antioxydantes enzymatiques et non enzymatiques face au stress oxydant. Ils peuvent agir en modulant l'expression et l'activité des systèmes de défense enzymatiques (Ashokkumar *et al.*, 2008). Parmi le polyphénols on trouve les flavonoïdes, Les flavonoïdes (ou) bioflavonoïdes sont des produits naturels qui sont capables d'entraîner la modulation de l'activité enzymatique de la GPx (Rathee *et al.*, 2006).

L'étude des coupes histologiques du pancréas des ratte diabétiques présente des îlots nécrotiques avec une destruction des populations cellulaires, notamment les cellules β . Ceci est dû à l'effet cytotoxique de l'alloxane qui se comporte comme un agent relatif d'inhibition enzymatique ayant des conséquences négatives sur la sécrétion exocrine pancréatique, procès accompagné par un diabète typique dû à la défection apparue de la sécrétion insulinique (Hincu *et al.*, 2006).

En revanche, l'étude histologique du pancréas des ratte diabétiques traitées montrent la présence des îlots de Langerhans bien délimités avec peu de nécroses cellulaires. Cela pourrait signifier l'effet protecteur de nos plantes par la présence de composés révélés dans l'étude phytochimique tel que les flavonoïdes.

Conclusion Générale

Conclusion générale

En Algérie, la médecine traditionnelle est largement répandue et tient une place majeure dans le traitement du diabète. Sachant que le diabète constitue un véritable fléau en Algérie, le nombre des études en matière de recherche de nouvelles molécules capable de prévenir ou même de retarder l'apparition des complications liées au diabète, reste très limité.

Les principaux résultats de l'analyse pharmacologique des extraits aqueux des deux plantes sélectionnées pour cette étude : *Ajuga iva* et *Matricaria pubescens* montrent bien que ces extraits possèdent un effet antioxydant chez les rattestes de laboratoire. Cet effet dépend de leur composition chimique, mode de préparation, dose et voie d'administration.

Notre objectif était de savoir les effets d'*Ajuga iva* et de *Matricaria pubescens* sur l'évolution de la glycémie et du poids corporel, l'histologie des organes ainsi que le bilan biochimique sanguin et tissulaire chez des rattes testes *wistar* Albinos alloxanisés.

A la lumière des résultats obtenus, on peut conclure que :

Les tests phytochimiques effectués sur l'extrait aqueux d'*Ajuga iva* et de *Matricaria pubescens* ont révélé la présence de composés réducteurs, de flavonoïdes, et de triterpènes.

L'activité antiradicalaire est dépendante du contenu en flavonoïdes et en polyphénols totaux des extraits. Malgré la richesse d'*Ajuga iva* en polyphénols c'est la *Matricaria pubescens* qui a donnée le meilleur pouvoir antioxydant.

L'injection intra péritonéale de l'alloxane à 120 mg/ kg du pc chez les rattes adultes a induit des perturbations du métabolisme glucidique, lipidique et protéique, accompagné par un déficit pondéral remarquable.

Les résultats de l'étude des paramètres biochimiques montrent clairement que le traitement pendant quinze jours par les deux plantes participe à la diminution de la glycémie chez les rattes du lot DT+A et DT+M de l'ordre (75.89%),(71.86%) respectivement, aussi bien l'amélioration du bilan lipidique (cholestérol, HDL-c, LDL-c, triglycérides, lipides totaux).

D'autre part le dosage des biomarqueurs du stress oxydant (GSH, MDA) et des enzymes antioxydantes (GPX, CAT) à permis une meilleure caractérisation de l'effet antioxydant que l'extrait de la plante provoque une nette amélioration du statut antioxydant

hépatique et rénal. En effet, la diminution de la concentration du MDA, accroisse les taux du glutathion réduit (GSH), et de l'activité de la catalase (CAT) dans le foie et les reins chez les rattes diabétiques traités par l'extrait montrent clairement les propriétés antioxydantes de l'extrait aqueux d'*Ajuga iva* et de *Matricaria pubescens*. Ces résultats laissent un grand espoir pour l'avenir avec le rôle protecteur que peuvent conférer l'*Ajuga iva* et le *Matricaria pubescens* dans la prévention et la limitation des effets toxiques des radicaux libres au cours du diabète

d'une étude histologique sur les organes déjà cités pour maître en évidence d'une part l'effet du stress oxydant associé au diabète et d'une autre part l'efficacité de la plante utilisée comme source d'antioxydants contre les dommages du stress oxydant, et donc par conséquence contre le développement des complications associées au diabète sucré par le biais du stress oxydant un diabète.

Perspective

En perspectives, l'étude relation structure-activité permettra de corréliser les résultats des tests biologiques avec des structures bien précises responsables de l'activité. Cette étude est très importante si l'on veut améliorer l'effet biologique de ces composés. Ceci permettra dans le futur de synthétiser des molécules potentiellement actives.

Afin de confirmer ces résultats, il est nécessaire de répéter cette étude sur des échantillons quantitativement plus importants.

Références

Bibliographiques

Références bibliographiques

1. **Ahamet, S. (2003).** Etude phytochimique et des activités biologiques de *Balanites aegyptiaca* L(Balanitaceae). Thèse de doctorat en pharmacie. Université de Bamako : 117 P.
2. **Ahmad, S. (1995).** Oxydative stress and antioxydant defenses in biology. 1stEd. Chapman &Hall. New York. pp: 1-457.
3. **Akuyam, S.A., Isah, H.S. and Ogala, W.N. (2007).** Evaluation of serum lipid profile of – un derive Nigerian Children. *Annals of Africanme dicine* vol 6,(3):119-123.
4. **Allan , L.(2008).** Optimisation de la revascularisation des îlots pancréatiques au cours de la transplantation: approche génétique ou pharmacologique. Ecole Doctorale des Sciences de la Vie et de la Santé. Université Louis Pasteur Strasbourg,231 p.
5. **APG III. (2009).** An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for theorders and families of following plants: APG III. *Bot. J. Linn. Soc*; 161: 105-121.
6. **Arisi, A.C. M., Cornic, G., Jouanin, L. & Foyer, C. H. (1998).** Over expression of iron superoxide dismutase in transformed poplar modifies the regulation of photosynthesis at low CO2 partial pressures or following exposure to the prooxidant herbicide methyl viologen. *Plant Physiology*117; 565-574.
7. **Athamena, S. (2009).** Etude quantitative des flavonoïdes Des graines de *cuminum cyminum* et les feuilles de *rosmarinus officinalis* et l'évaluation de l'activite biologique. Mémoire de Magister en Biochimie Appliquée. Université El-hadj Lakhdar- Batna ,P:88.
8. **Atti, I. (2014).** Evaluation des activités antioxydant et antiradicalaire d'un mélange d'épices «Ras el hanout », Mémoire master Academique, Université KASDI MERBAH Ouargla,p:61.
9. **Aurelien, P. (2010).** *Rofils glycémiques périopératoires des patients ayant bénéficiéd'une chirurgie de l'aorte abdominale.* Université henripoincaré. nancy . Faculté demédecine de nancy, 94p.
10. **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*. Université Abou Bekr Belkaid –Tlemcen. Faculté des sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre et de l'univers, Laboratoire Antibiotiques Antifongiques: Physico-chimie, Synthèse et Activité Biologique,175p.
11. **Baba Aissa, F. (2000).** Encyclopédie des plantes utiles. Flore d'Algérie et du Maghreb, substances végétales d'Afrique d'Orient et d'Occident. Ed. Librairie modern Rouiba, 46.

12. **Babu, P.V., Sabitha, K.S., Shyamaladevi, C.S. (2006)** therapeutic effect of green tea extract on oxidative stress in aorta and heart of streptozotocin diabetic rats. *Chemico-Biological Interactions*. Vol. 162: 114-120.
13. **Badiaga, M.(2011)**. Etude ethnobotanique, phytochimique et activité biologique de *Nauclea latifolia*smith une plante médicinale africaine récoltée au mali. Thèse de doctorat en chimie organique. Université de bamaco Mali. P:183.
14. **Bahorun, T., Gressier, B., Trotin, F., Brunete, C., Dine, T., Vasseur, J., Gazin, J.C., Pinkas, M., Luycky, M. and Gazin, M. (1996)**.Oxygen species scavenging activity of phenolic extract from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparation. *Arzneim Forsh / Drug Res*. 1-6.
15. **Baluchén jadmojard, T. et Rghani, M. (2003)**. Beneficial effect of aqueous garlic extract on the vascular reactivity of streptozotocin-diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*; 85 PP:139-144.
16. **Barceló, A.(1996)**. Série de monographies sur les maladies liées au vieillissement: VIII. Diabète sucré non-insuline-dépendant. *Maladies chroniques au Canada* ; 17(1) : 1-21.
17. **Barouki, R. (2006)**. Stress oxydant et vieillissement. *Médecine/Sciences*, 22, 266-72.
18. **Battacharya, S.K., Satyan, K.S., Ghosal, S. (1997)**. Antioxidant activity of glycowithanolides from *Withania somnifera*. *Indian Journal of Experimental Biology*, **35** : 236 - 239.
19. **Baynes, J.W. (1991)**. Role of oxidative stress in development of complications in diabetes. *Diabetes*,40:405-412..
20. **Baynes, J.W., Thorpe, S.R.(1999)**.Rôle of Oxidative Stress in Diabetic Complications A New Perspective on an Old Paradigm. *Diabetes*. Vol. 48 (9): 1-9.
21. **Bédane, C. (2008)**. Photodermatologie: Photobiologie cutanée, photoprotection et photothérapie. *Edition Wolters Kluwer France*, p 20.
22. **Ben Jannet, H. Harzallah-skhir, F. Mighri, Z. Simmonds, M.S. and Blaney ,W.M.(2000)**. Responses of *Spodopteralittoralis* larvae to Tunisian plant extracts and to neo-clerodanediterpénoids isolated from *Ajuga pseudo iva* leaves. *Fitoterapia* 71, 105-112.
23. **Benbrook, M.(2005)**. Accroître la teneur antioxydants des aliments grâce à l'agriculture et à la transformation alimentaire biologiques. Ed. Theorganic center : 6-8.
24. **Benghanou, M. (2012)**. La phytothérapie entre la confiance et méfiance. Mémoire professionnel infirmier de la sante publique, institut de formation paramédical CHETTIA (Alger): 56.

- 25. Benkiki, N.(2006).**"Etude phytochimique des plantes médicinales algériennes : *Ruta montana* ,*Matricaria pubescens* et *Hypericum perforatum*".Thèse doctorat .Université el hadj lakhder Batna ,pages 8,112-125.
- 26.Benzahi, K. (2001).** Contribution à l'étude des flavonoïdes dans la Plante cynodn Dactylon-L (chindent), Mémoire de magister. Université de Ouargla, P :15-17.
- 27. Berger, M M.(2006).** National manipulation of oxydative stress: review of the evidence. Nutrition Clinique et metabolism.20(1): 48-53.
- 28. Bougandoura, N .(2011).** Pouvoir antioxydant et antimicrobien des extraits d'espèces végétales *Satureja calaminthas spnepta* (nabta) et *Ajuga iva L.* (chendgoura) de l'ouest d'Algérie. Mémoire de magister. Université Abou Bakr Belkaid- Tlemcen, p 125.
- 29. Bondm, M.R., Al-Hillo ,Y., Lamara ,K., Ladjel, S., Bruno ,M., Piozzi, F., Simmonds, M.S.J.(2000).**Occurrence of the antifeedant 14,15-dihydroajugapitin in the aerial parts of *Ajuga iva* from Algeria. Biochemical Systematics and Ecology, 28, 1023-1025.
- 30. Bonnaille, C., Salacs, M., Vassiliova, E., Saykova, I. (2012).** Etude de l'extraction de composés phénoliques à partir de pellicules d'arachide (*Arachis hypogaea L.*). Revue de génie industriel , 7, 35-45. En ligne : <http://www.revue-genie-industriel.info>.
- 31. Bossokpi, I. P. L.(2002).** Etude des activités biologiques de Fagarazan thoyloides Lam (Rutaceae).Thèse de doctorat en pharmacie. Université de Bamako : 9p.
- 32.Boual, Z.(2009).** Contribution à l'étude des polysaccharides de quelques plantes spontanées à caractère médicinal de la région de Ghardaïa (Sahara septentrional Est algérien). Mémoire de magister. Université Kasdi Merbah Ouargla. P:80.
- 33. Boudjelal, A.(2012).**Extraction, identification et détermination des activités biologiques de quelques extraits actifs de plantes spontanées (*Ajuga iva*, *Artemisia herba alba* et *Marrubium vulgare*) de la région de M'Sila, Algérie.DO Laboratoire de Biochimie et Microbiologie Appliquée .p95.
- 34. Bouldjadj, R.(2009).** Etude l'effet antidiabétique et antioxydant de l'extrait aqueux lyophilise *d'artemesia herba alba asso* chez des rats sains et des rats rendues antidiabétique par streptozotocine. thèse de magistère en Biologie Cellulaire et Moléculaire. Constantine,111 p.
- 35. Boumaza, A.(2009).** Effet de l'extrait méthanoïque de *Zygophyllum cornutum cos carnivores domestiques*. *Revue Méd. Vét. (4) :187p.*
- 36. Boynes, J.W. (1991).** Perspectives in diabetes: role of oxidative stress on development of complication in diabetes *Diabets* 40:405-412.

- 37. Bradford, M. (1976).** A rapid and sensitive method for the quantities of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem*, 72:248–54.
- 38. Bruneton, J. (1999).** Pharmacognosie, Phytochimie – Plantes médicinales – Techniques et
- 39. Bruneton, J. (1993).** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Technique et documentation Lavoisier, Paris p :915.
- 40. Budic-Ieto, T., Lovric, J. (2002).** Identification of Phenolic Acids and Changes in their Content during Fermentation and Ageing of White Wines Posip and Rukatac. *Food Technology and Biotechnology*. 40(3): 221-225.
- 41. Carroll, M. (2004).** The complement system in regulation of adaptive immunity. *Nat Immunol*, 23(10), pp.981-86. De hydroascorbate to ascorbate by the seleno enzyme thioredoxin reductase. *JBioChem*. Vol 272: 22607-22610.
- 42. Chebrouk, F. (2009).** Caractérisations analytiques de quelques composés polyphénoliques et terpéniques issus de la plante *Marrubium deserti* de la région de Ghardaïa. Mémoire de magister. Université Kasdi Merbah Ouargla. P:76.
- 43. Cheick traore, M. (2006).** Etude de la phytochimie et des activités biologiques de quelques *Chemistry*, 72(2): 145-171.
- 44. Cho, S.Y., Park, J.Y., Park, E.M., Choi, M.S., Lee, M.K., Jeon, S.M., Jang, M.K., Kim, M.j., Park, Y.B. (2002).** Alternation of hepatic antioxidant enzyme activities and lipid profile in 74 streptozotocin-induced diabetic rats by supplementation of dandelion water extract.
- 45. Claiborne, A. (1985).** Catalase activity. In CRC, Handbook of Methods for Oxygen Radical Research (Ed. RA Greenwald) *CRC Press, Boca Raton, FL.*, pp: 283-284. *Clinica Chimica Acta*, 317 : 109 - 117.
- 46. Collier, A., Wilson, R., Bredley, H., Thomson, J.A., Small, M. (1992).** Free radical activity in type 2 diabetes. *Diabet Med*;7:27-30.
- 47. Cooperstin, S.J. and Watkin, D. (1981).** Action of Toxic Drugs on Islet Cells. In the Islets of Langerhans. *Academic Press, New York* : 387 – 425.
- 48. Cuendet, M., Hostettmann, K. and Potterat, O. (1997).** Iridoidglucosides with free radical scavenging properties from *Fagraeablumei*. *Helvetica Chimica Acta* 80, 1144-1152.
- 49. Delattre, J., Beaudoux, J.L., Bonnefont, R. (2005).** Radicaux libres et stress oxydant: aspects biologiques et pathologiques. *Lavoisier edition TEC and DOC éditions médicales internationales Paris*, 1 - 405.51.

- 50. Djedioui, A. (2010).** Evaluation de l'activité hypoglycémiant et anti-hyperglycémiant de l'extrait aqueux d' *Inulaviscosa* ; une plante de l'Est Algérien chez le rat avec un diabète induit. Mémoire magister. Badji Mokhtar Université Annaba. p: 55.
- 51. Dominguez, Z., Ruiz, E., Gussinye, M., Carrascosa, A. (1998).** Oxidative stress at onset and in early stages of type diabetes in children and adolescents. *Diabetes care*, **21** : 1736 - 1742.
- 52. Douste-Blazy, L. Mendy, F.(1988).** Biologie de lipide chez l'homme: de la physiologie a la pathologie. Edition Médicale International. Paris.
- 53. Droillard, M.-J. &Paulin, A. (1990).** Isozymes of Superoxide Dismutase in Mitochondria and Peroxisomes Isolated from Petals of Carnation (*Dianthus caryophyllus*) during Senescence. *Plant Physiology* 94(3), 1187-1192.
- 54. Eberhard, W. (2005).** Developmental plasticity and the origin of species differences. Smithsonian Tropical Research Institute, Unit 2511.p:6543– 6549.
- 55. Eidi, A., Eidi, M .and Esmaeili, E.(2006).** Antidiabetic effect of garlic (*Allium sativum* L.) in normal and streptozotocin-induced diabetic rats, *Phytomedicine* 13 .p: 624–629.
- 56. El Hilaly, J. and Lyoussi, B. (2002).** Hypoglycaemic effect of the lyophilised aqueous extract of *Ajugaivain* normal and streptozotocin diabetic rats. *J Ethnopharmacol*, 80: 109–113.
- 57. El-hilaly, J., Tahraoui, T., Israili, Z.H. and Lyoussi, B. (2006).** Hypolipidemic effects of acute and sub-chronic administration of an aqueous extract of *Ajugaiva*L. whole plant in normal and diabetic rats. *J Ethnopharmacol*105: 441–448.
- 58. El-hilaly, J., Tahraoui, T., Israili,Z. H. and 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 streptozotocininduced diabetic rats. *Pak J PharmSci*, 20 : 261-268.
- 59. Elqaj, M., Ahami, A. et Belghyti ,D. (2007).** La phytothérapie comme alternative à la résistance des parasites intestinaux aux antiparasitaires. Journée scientifique "ressources naturelles et antibiotiques". Maroc.
- 60. Fang, Yetal. (2002).**Free radicals, antioxidants, and nutrition. *Nutrition*, 18(10), 872-9.
- 61. Farnsworth ,N. R., Akerele ,O., Bingel, A. S., Soejarto ,D. D. et Guo, Z. (1986).** Places des plantes médicinales dans la thérapeutique. *Bulletin de l'organisation mondiale de la santé.*, 64 (2) : 159-164.
- 62. Favier, A.(2003).** Le stress oxydant : Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *Actualité chimique*, 108-115.

- 63. Favier, A. (2006).** Stress oxydant et pathologies humaines. *Ann. Pharm. Fr.* . Mémoire de Activités antioxydante et antimicrobienne d'extraits de *Rhamnus alaternus* L. p 64: 390-396.
- 64. Flohel, G.(1984).** Assays of glutathione peroxidase. *Methods Enzymol*, Vol. 105: 114-121.
- 65. Fossati, P., Prencipe, L. (1982).** *Clin. Chem.* 28p : 2077-2080. Cite par fiche technique BIOLABO. Réf : 80019.
- 66. Frankel, E.N. and Meyer, A.S. (2000).** The problems of using one-dimensional methods to evaluate multidimensional food and biological antioxidants. *Journal of Science and Food Agriculture*80, 1925-1941.
- 67. Friedwald ,T.W., Fredrickson, D.S., Levy, R.J.(1972).** LDL cholesterol estimation. *Clin Chem*,18: 499-501.
- 68. Gardès-Albert, M., Abedinzadeh, Z., Jore, D. (2003).** L'actualité chimique.269-270.
- 69. Gérard, A. (2012).** Histologie en Pratique, Faculté de Médecine .p :14.
- 70. Gerard-Monnier, D., Chaudiere, J. (1996).** Metabolism and antioxidant function of glutathione. *Pathol Biol.* Vol 44: 77-85.
- 71.Gherboudj, O. (2014).** Étude phytochimique et activité antioxydant de *Matricaria pubescens* (Desf.) Sch. Bip. et *Chrysanthemum de serticolum* Batt. &Trab (ASTERACEAE). Thèse de doctorat, universite constantine 1..p:471.
- 72. Ghouini, F., Lamini, R.(2015).** Evaluation des activités biologiques de quelques plantes spontanées à caractère médicinal récoltées des régions sahariennes. Mémoire de magister. Université Kasdi Merbah Ouargla. p:71.
- 73. Goto, T., Kondo, T. (1991).** Structure and molecular stacking of anthocyanins Flower, (30): 17-33.
- 74. Goudable, J., Favier, A. (1997).** Oxidative free radicals and antioxidants. *Nutrition Clinique et Métabolisme.* 11(2): 115–120.
- 75. Grimaldi, A. (1999).** Diabétologie. Questions d'internat. CHU-PS : 15-23 ; 99-129.
- 76. Guerci B., Bohme P., Kearney-Schwartz A., Zannad F., Drouin P.(2001).** Endothelial dysfunction and type 2 diabetes. *Diabetes Metab.* 27: 436-447.
- 77. Guignard ,J L., Cosson L., Henry, M. (1985).**Abrégé de phytochimie. Ed Masson : 175-203.
- 78. Guignard, M.(1994).** Lagrangean relaxation. Publshed by Sociedad de Estadistica Operativa Madrid Spain. Volume 11. p:220-225.
- 79. Gupta, R.K., Kesari, A.N., Diwakar, S., Tyagi, A., Tandon, V., Chandra, R. and watal, G.(2008).** Invivo evaluation of ant-oxidant and anti-lipidimic potential of annona scanos aqueus extract in type 2 diabetic models. *Journal of ethnopharmacology* 118:21-25.

- 80. Halimi, A.K. (2004).** Les plantes médicinales en Algérie. Editions BERTI, Alger. 156-157.
- 81. Halimi, JM., Joly, D., Choukroun,G., Combe C., Dussol, B., Fauvel, JP.,Quere, S, Fiquet, B.(2011).** Quel est le profil des patients diabétiques de type 2 suivis en Néphrologie recevantun double blocage du système rénine angiotensine? Néphrologie& Therapeutique.7(5) :372-373.
- 82. Halliwell, B. (1999).** How to characterize a biological antioxidant. Free radical research communications. 9: 1-32.
- 83. Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C. (1989).** Free radical in biology and medicine. 2ndEd .Clarendon Press, Oxford University.
- 84. Hamza, N.(2011).**Effets préventif et curatif de trois plantes médicinales utilisées dans la Wilaya de Constantine pour le traitement du diabète detype 2 expérimental induit par le régime « high fat » chez la souris C57BL/6J. Université Mentouri de Constantine. Thèse Du Doctorat en Science Alimentaire. P:154.
- 85. Harborne ,J.B.(1998).** *Phytochemical methods : a guide to modern techniques of plant analysis.* Ed. Chapman and Hall. London,302 p.
- 86. 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.
- 87. Hasselt, V. (2005).** development and validation of a role-play test for assessing crisis (hostage) negotiation skills. Published by SQGE.p:345-361.
- 88. Hélène, P.(2002).** External Debt and Growth documentations, 3ème Edition, Lavoisier, (1999),1120p.
- 89. Hellal, Z.(2011).** Contribution à l'étude des propriétés antibactériennes et antioxydants de certaines huiles essentielles extraites des Citrus. Application sur la sardine (*Sardina pilchardus*). Mémoire de Magister. Universite Mouloud Mammeri De Tizi-Ouzou.
- 90. El Hilaly, J., Lyoussi, B, Wibo, M., Morel, N., (2004).** Vasorelaxant effect of the aqueous extract of *Ajuga iva* in rat aorta. J Ethnopharmacol 93, 69-74
- 91. Hincu, M., Pantea, S., Anca, M., Coman ,E.M .,Mehedinti ,T.(2006).** L'effet de l'alloxane sur l'histologie du tissupancréatique. Fascicula XVII. Anul.
- 92. Huang, D et al. (2005).** The chemistry behind antioxidant capacity assays. Journal ofAgriculture and Food Chemistry, 53, 1841-1856.

- 93. Huang, D.J., Lin, C.D., Chen, H.J., Lin, Y.H. (2004).** Antioxidant and antiproliferative activities of sweet potato (*Ipomoea batatas*[L.] Lam 'Tainong 57') constituents. *Bot. Bull. Acad. Sin.*45: 179-186.
- 94. Igor Passi, L.B. (2002).** Etude des activités biologiques de *Fagarazan thoxyloides* Lam.(Rutaceae). Thèse Pharmacie, Bamako. p 133.
- 95. Israili, Z.H., Lyoussi, B. (2009).** Ethnopharmacology of the plants of genus *Ajuga*. *Pak J Pharm Sci*, 22: 425-462.
- 96. Jarald, E., Joshi, S.B., Jain, D.C.(2008).** Diabetes and herbal medicine. *Iranian Journal of Pharmacology and therapeutics* ; 7: 97-106.
- 97. Jean, A., Martin, C., Jean, M., Estelle, E., Georges, K., Jacques, P.(2008).** Histologie : les tissus, Université Pierre et Marie Curie, Service d'Histologie - Embryologie, Site Pitié-Salpêtrière. p :15-19.
- 98. Jennifer, B.(2014).** Stress oxydant et pathologie diabétique à l'île de La Réunion Identification et caractérisation des propriétés structurales et fonctionnelles de l'albumine glyquée. université de la réunion, p182 .
- 99. Judd, W.S., Campbell, C.S., Kellogg, E.A., Stevens, P.F. (2002).** Botanique systématique. Une perspective phylogénétique. 1ère Edition De Boeck Université. Paris, 383.
- 100. Kakkar, R., Mantha, S.V., Radhi, J., Prasad, K., Kalra, J. (1998).** Increased oxidative stress in rat liver and pancreas during progression of streptozotocin-induced diabetes. *J Clin Sci*,94 : 623 - 32.
- 101. Kanoun, K.(2011).** Contribution à l'étude phytochimique et activité antioxydante des extraits de *Myrtus communis* L. (Rayhane) de la région de Tlemcen (Honaine). Mémoire de Magister en Biologie. Université abou bekrbelkaid tlemcen. p 30-48.
- 102. Kaplan, A.U., Kaplan, A et al.(1984).***Clin Chem*. The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton. 1257-1260 and 437 and 418. cite par fiche technique.
- 103. Kevin, V.(2012).** Identification des mécanismes cellulaires et moléculaires à l'origine de la perte précoce des îlots pancréatiques au cours de la transplantation. Docteur de l'université de strasbourg, l'université de strasbourg. P:226.
- 104. 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.
- 105. Kumar, G., Banu, G.S., Murugesan, A.G.et Pandian, M.R. (2007).**Effect of *Helicteres isora* Bark Extract on Protein Metabolism and Marker Enzymes in Streptozotocin Induced Diabetic Rats. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 6 (2) PP: 123-129.

- 106. Kumar, A., Kaundal, R. K., Iyer, S., Sharma, S.S.(2007).** Effects of resveratrol on nerve functions, oxidative stress and DNA fragmentation in experimental diabetic neuropathy. *Life Sci.* Vol 80:1236-1244.
- 107. Laxmi, V., Anirudh, K., Basant, K., Umesh, K., Rajesh, P., Pawar ,S.(2010).** Antidiabetic activity of *Cassia occidentalis* (Linn) in normal and alloxaninduced diabetic rats. *Indian J Pharmacol*,42(4): 224–228.
- 108. Lenzen, S., Munda, Y. R.(1991).** Thiol group reactivity , hydrophilicity and stability of alloxan, its reduction products and its N-methyl derivatives and a comparison with ninhydrin. *Biochem Pharmacol*,42: 1385–91.
- 109. Mahdjar, S.(2013).** Contribution à l'Etude de la composition chimique de la plante *Matricaria pubescens* et à l'évaluation de son activité antioxydants. Faculté des Sciences et Technologie et des Sciences de la Matière Département des Sciences de la Matière; p95.
- 110. Majhenic, L., Kerget, M.S., Knez, Z.(2007)**Antioxidant and antimicrobial activity of guarana seed extracts. *Food Chemistry.* Vol. 104(3): 1258-1268.
- 111. Makhloufi, A .,Bouyahyaoui, A., Seddiki, N., Benlarbi, L., Mebarki, L., Boulanouar, A.(2014).** *Inter. J. of Phytoth.*, 4(2), 95-100.
- 112. Makhloufi, A.(2013).** Etude des activités antimicrobienne et antioxydante de deux plantes médicinales poussant à l'état spontané dans la région de bechar (*Matricaria pubescens* (Desf.) et *Rosmarinus officinalis L*) et leur impact sur la conservation des dattes et du beurre cru, l'universite aboubaker belkaid, doctorat d'état en biologie ,p :89.
- 113. Marles, R.J., Farnsworth, N.R.(1995).** *Antidiabetic plants and their active constituents.* *Phytomedicine*2: 137-189.*Médecine.* Vol 5 (6):256-260.
- 114. Ménat, E. (2005).**Diététique du Diabète, la solution est dans votre assiette. Edition Alpen.40(3): 257-264. .
- 115. Mihaela, H., Anca-Mihaela, P.S., Malina, C.E, et Mehedinti, T.(2006).** L'effet de l'alloxane sur l'histologie du tissu pancréatique. *Analele universității Dunărea De Jos'' Galati Medicină.* Fascicula XVII, ANUL V. PP : 29-34..
- 116. Milbury, P., Richer, A. (2008).** *Understanding the Antioxidant Controversy.* Ed. Praeger :81p.
- 117. Mohammadi, Z.(2013).**Etude Phytochimique et Activités Biologiques de quelques Plantes médicinales de la Région Nord et Sud-Ouest de l'Algérie. Thèse de Doctorat en Biologie. université Abou Bekr Belkaid. Tlemcen Algérie. p 60.
- 118. Moure, A., Cruz, J.M. (2001).** Natural antioxidants from residual sources. *Food*

- Murray, R.L.(1984c).** Creatinine In: Clinical Chemistry; Theory, Analysis and Correlation, Kaplan, L.A., Pesce A.J. (Ed) *CV Mosby Company St Louis*, 1247-1253.
- 119. Naciri, M. (2013).** Les techniques de préparation des coupes pour les microscopies optique et électronique, M10 : E1 (Biologie Générale) Histologie-Embryologie.p :3-15.
- 120. Naghibi, F., Mosaddegh, M., Motamed, S.M, Ghorbani, A. (2005).** Labiatae Family in folk Medicine in Iran: from Ethnobotany to Pharmacology. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 2, 63-79.
- 121. Naito, H.K.(1984).** High-density lipoprotein (HDL) cholestérol. Kaplan A et al. *Clin chem the C.V. Mosby Co. St louis. Toronto. Princeto*, 1207-1213 and 437. Cité par fiche technique *SPINREACT*, Ref:1001095.
- 122. Nathalie, A.(2010).** Prévention du stress oxydant dans le diabète et ses complications par des antioxydants d'origine naturelle. Ecole doctorales de la vie et de santé. Thèse présenté en vue de l'obtention du grade de Docteurs en Science de l'Université de Strasbourg. P:257.
- 123. Nicholls, P. (2012).** Classical catalase: Ancient and modern. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 525, 95–101.
- 124. Niedernhofer, L.J., Daniels, J.S., Rouzer, C.A., Greene, R.E. and Marnett, L.J. (2003).** Malondialdehyde, a product of lipid peroxidation, is mutagenic in human cells. *J Biol Chem*, 278, 31426-33.
- 125. Oberley, L.W. (1988).** Free radicals and diabetes. *Free Radic Biol Med*, 5: 113-124.
- 126. Olson, M et al.(1993).** DICTATORSHIP, DEMOCRACY, AND DEVELOPMENT. *American Political Science Association*. Vol. 87, No. 3.p:567-57
- 127. OMS (Organisation Mondiale de la Santé), (2002a).** Diabète sucré. Aide mémoire ; N°138.
- 128. OMS (Organisation mondiale de la santé), (2011).** Diabète. Aide mémoire ; N°312.
- 129. Ou P, Nourooz-Zadeh J, Tritschler HJ, Wolff S (1996).** Activation of aldose reductase in rat lens and metal-ion chelation by aldose reductase inhibitors and lipoic acid. *Free Radic Res*. 25: 337 - 346.
- 130. Ould El Hadj, M. D., Hadj-Mahammed, M., Zabeirou, H. (2003).** Place des plantes spontanées dans la médecine traditionnelle de la région d'Ouargla (Sahara septentrional Est). *Courrier du Savoir – N°03*, 47-51.
- 131. Pastre, J., Priymenko, N.(2007).** Intérêt des anti-oxydants dans l'alimentation des
- 132. Pelletier, E., Campbell, P. G. C. &Denizeau, F. (2004).** Écotoxicologie moléculaire: Principes fondamentaux et perspectives de développement. *Edition PUQ*, p 182.
- 133. Pelt, J. M., (1980).** Les drogues, leur histoire et leurs effets. Édition Doin, Paris: 221.

134. **Perez, G.A.M., Zavala, S.M.A., Perez., G.S., Perez, G.C.(1998).**Antidiabetic effect of compounds islated from plants .*phytomedicine*.5:55-75.
135. **Pincemail, J et al .(1998).** Espèces oxygénées en médecine humaine: une approche didactique. *Vaisseaux, Cœur, Poumon*; 3: 133–8.
136. **Pincemail, J., Bonjean, K., Cayeux, K., Defraigne, J.O.(2002).** Nutrition et stress antioxydant. Mécanismes physiologiques de la défense antioxydants. *Nutrition Clinique et Métabolisme*. 16(4): 233-239.
137. **Punitha, I.S.R., Rajendran, K., Shirwaikar, A., Shirwaikar, A.(2005).** Alcoholic stem extract of *Coscinium fenestratum* regulates carbohydrate metabolism and improves antioxidant statusin streptozotocin nicotinamide induced diabetic rats. *E CAM*. 2(3): 375-381.
138. **Qi, x.y., Chen, w.j., Zhang, l. q. and Xie, B.J. (2008).** Magrocides extract from *Siratiag rosveuori* scavenges free radicals in vitro acid lowers oxidative stress serum glucose andlipid levels in aloxan induced diabetic mice. *Nutrition research* 28:278-284.
139. **Quezel, F., Santa, S. (1962-1963).** Nouvelle Flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Vol. 1-2. Ed. CNRS, Paris France.
140. **Racchah, D.(2004).** Epidémiologie et physiopathologie des complications dégénératives du diabète sucré. *EMC-Endocrinologie*; 1: 29-42.
141. **Rathee, J. S. et Hassarajani, S.A ., Chattopadhyay, S.(2006).** Antioxidant activity of Mamme alongifolia bud extract. *Food Chem*. Vol. 99: 436-441.
142. **Ravi, K., rojasekaran, S., Subramanian, S.(2005).** Antihyperlipidemic effect of Eugenia Jambolana seed Keinel on STZ induced diabetic rats. *Food chemical Toxicologie*43:1433-1439.
143. **Raynal, J. P.(2002).**Casablanca: un patrimoine préhistorique exceptionnel. Bulletin d'Archéologie marocaine, Institut National des Sciences de l'Archeologie et du patrimoine, XX, pp.17-43.
144. **Saadoui, B.,Bekir, J.,AKrout, J., Ammar, S., Mahjoubé, A. Mars, M.(2006).** Etude de la composition et du antioxydant des composés phénolique de quelques espèces végétales de l'aride tunisien. *Revue des régions Arides. Actes du séminaire international (les plantes à Parfum, Aromatique et Médicinale).*SIPAM, 316-321.
145. **Sarni-manchado, P., Veronique, C. (2006).** Les polyphénols en agroalimentaires. *Collection sciences et techniques agroalimentaires, édition TEC et DOC, Paris (France):* 398.
146. **Sathishsekar, D., et Subramanian, S. (2005).** Antioxidant properties of *Momordica Charantia* (bitter gourd) seeds on Streptozotocin induced diabetic rats. *AsiaPac J Clin Nutr*,14 (2):153-158. En ligne : <http://211.76.170.15/server/APJCN/14/2/153.pdf>

147. Sharma, S.B., balomayunder, C., Rouy, P. (2008). hypoglyomie and hypolipdemiec effects of flavonordrish extract from Eugeria Jam bolona seeds on STZ induced diabetic rate. Food and chemical toxicology:46:23-76-2383.
148. Shulman, L. (2000). Cellular mechanisms of insulin resistance. J. Clin invest .106(2):171-6.
149. Singh, N., Kamath, V. and Rajini, P.S.(2005). A H enuation of hyperglycemia and associated biochemical parameter in STZ induced diabetic rats by detary supplementation of potato peel powder. Clinca chemical Acta353:165-175.
150. Singh, U., Singh, S., Kochhar, A,(2012). Therapeutic potential of antidiabetic nutraceuticals. Phytopharmacology; 2(1) 144-169.
151. Sivajothi, V.,Dey, A., Jayakar, B., Raj Kapoor, B. (2008). Antihyperglycemic, antihyperlipidemic and antioxidant effect of *phyllanthusrheediion* streptozotocin induced diabetic rats. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 7 (1) : 53 - 59.
152. Southon, S., Gee .,J., Johnson, I.T.(1984). Hexose transport and mucosal morphology in the small intestine of the zinc-deficient rat. *Brit J Nutr*, 52(5): 371.
153. Sudha, P., Zinjarde, S.S., Bhargava, S. and Kumar, A.R. (2011). Potent α -amylase inhibitory activity of Indian Ayurvedic medicinal plants. BMC Comp. Altern. Med., 11: 5. type 2 expérimental induit par le régime « high fat » chez la souris C57BL/6J, Thèse POUR l'obtention du doctorat en science alimentaire, Université Mentouri de Constantine, p:154.
154. Tanguy, M. (2009). Antioxydants Première partie: Les antioxydants dans l'alimentation.
155. Tietz, N.W., Amerson, A.B.(1995). Clinical guide to laboratory tests .Ed. Saunders, Michigan. 931p. Cité par fiche technique *SPINREACT*, Ref: 1001290.
- 156.Trease, G.E., Evans, W.C. (1989). A textbook of Pharmacognosy (13th edition) Bacilluere Tinal Ltd·London.
157. Unger, R.H. (2002). Lipotoxic diseases. *Annu Rev Med* 53 PP:319–336.
158. Vertuani, S., Angusti, A., Manfredini, S.(2004).The antioxidants and pro-oxidants network: an overview. *Curr Pharm Des*. Vol 10: 1677-1694.
159. Vuorela, S. (Ed.). (2005). *Analysis, isolation, and bioactivities of rapeseed phenolics*. Finland: Helsinki.
- 160.Vuorela, S. (Ed.). (2005). *Analysis, isolation, and bioactivities of rapeseed phenolics*. Finland: Helsinki.
161. Wang, H.X., Ng, T.B., (1999). *Natural products with hypoglycemic, hypotensive, hypocholesterolemic, antiatherosclerotic and anti thrombolic activities*. Life Sciences **65**: 2663-2677.

- 162. Weckbercker, G., Cory, J.G.(1988).**Ribonucleotide reductase activity and growth of glutathione-depleted mouse leukemia L1210 cells in vitro. *Cancer Letters*,
- 163. Wenger ,C et al.(1984).**Alkaline phosphatase. In Clinical Chemistry. Theory, Analysis and Correlation. Kaplan L.A., Pesce A.J. (Ed.) *CV Mosby Company St Louis*, 1094-1098.
- 164. Wessner, M., Champion ,B., Girault ,J.P., Kaouadji ,N., Saidi B. and Laffont, R.(1992).**Ecdysteroids from *Ajuga iva*. *Phytochemistry*, 31: 3785-3788.
- 165. Whiting D.R., Guariguata L., Weil C., Shaw J.(2011).** IDF Diabetes Atlas: Global estimates of the prevalence of diabetes for 2011 and 2030. *Diabetes Research and Clinical Practice* ; 94: 311-321.
- 166. Yaacoub, R. (2009).** Impact nutritionnel et sanitaire de la torréfaction des fruits et graines oléagineux. l'intérêt de la fluorescence comme outil de contrôle des composés néoformés. Thèse de doctorat. N° 2009AGPT 0048. Institut des sciences et industries du vivant et de l'environnement (agro paris tech).
- 167. Yagi, K.(1976).** Simple fluorimetric essay for lipoperoxide in blood plasma. *Biochem. Med.* Vol. 15: 212-216.
- 168. Yang, C., Li, H., Wang, Z., Zhang, W., Zhou, K., Meng, J., Zhao, Y., Pan, J., Lv, X., Liang, H., Jiang, X.(2012).** Glycated albumin is a potential diagnostic tool for diabetes mellitus. *Clinical Medicine*. 12 (6):568–571.
- 169. Yoshimoto, M., Sakamoto, H., Yoshimoto, N., Kuboi, R. & Nakao, K. (2007).** Stabilization of quaternary structure and activity of bovine liver : Catalase through encapsulation in liposomes. *Enzyme and Microbial Technology* 41, 849–858.
- 170. Yu, R., Mandlekar, S., Tony- kong, A.N.(2000).** Molecular mechanisms of butylate dhydroxyl anisoleinduced toxicity: induction of apoptosis through direct release of cytochrome C. *Molecular Pharmacology*. 58: 431-437.
- 171. Zarrour, B.(2012).** Etude phytochimique de quelques extraits obtenus de le plante *Matricaria pubescens* (Astéracéas) et évaluation de leur activité antioxydant. Mémoire de master Academique. Universite Kasdi Merbah Ouargla. p:66.
- 172. Zidi, S. (2010).** Contribution à l'étude de l'effet antidiabétique potentiel d'un extrait aqueux de *Crataegus azarolus* Chez des rats *Wistar* avec un diabète induit à l'alloxane. Mémoire de magistère. Université Badji-Mokhtar Annaba. p:114.

ANNEXE



Figure : Préparation des extraies aqueux d'*Ajuga iva* et de *Matriaraia pubescens*
(Originale, 2016)

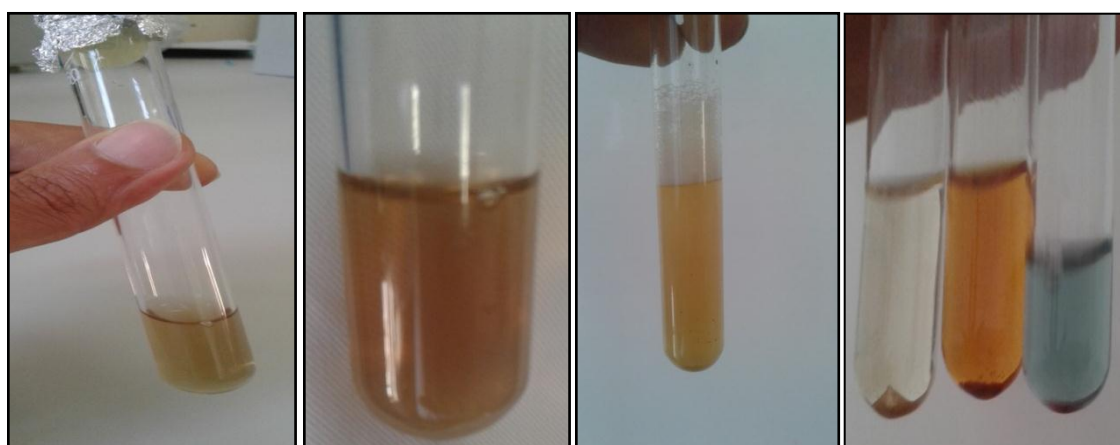


Figure: Résultat des tests phytochimiques d'*Ajuga iva* et de *Matricaria pubecsens*.
(Originale, 2016)



Figure: Injection intrapéritonéale d'alloxane pour induction du diabète (Originale, 2016)



Figure : Administration des extraits par gavage gastrique (Originale, 2016)



Figure: Sacrifice des rattes et prélèvement les organes (Originale, 2016)



Figure: Spectrophotométrie à transmission moléculaire de type UV- VIS -1240 (photo originale).

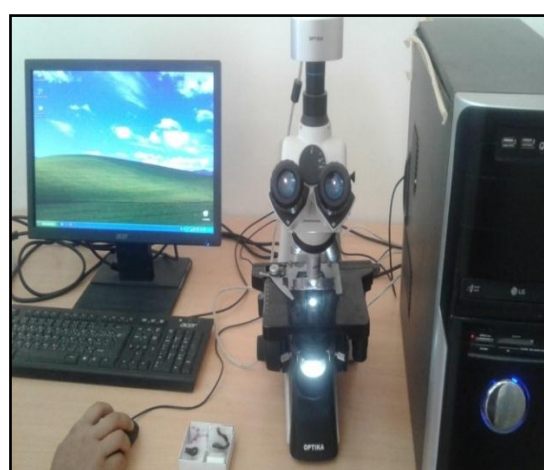


Figure: Microscope optique de type OPTIKA lié à un appareil photo (photo originale).



Figure: Centrifugeuse horizontale de type SIGMA (photo originale).



Figure: Bain-marie de type MEMMERT (photo originale).



Figure: Évaporateur rotatif de type Büchi Rotavapor R-200 (photo originale).

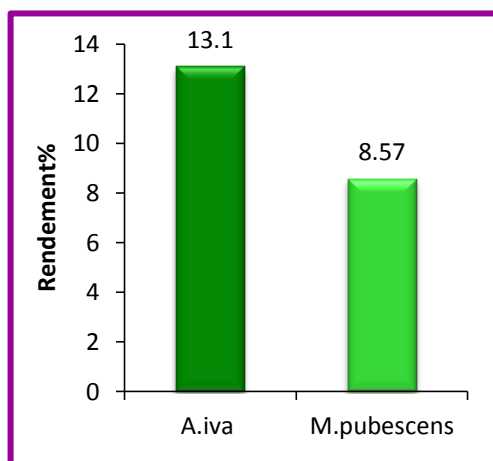


Figure: Le rendement de l'extrait aqueux d'*A. iva* et de *M. pubescens*

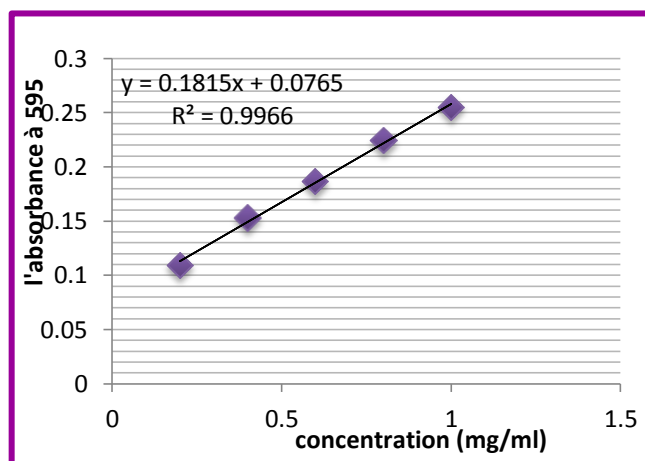


Figure: Courbe d'étalonnage pour le dosage pour le dosage des protéine

Résumé

Notre travail s'inscrit dans le cadre d'évaluer l'activités antioxydantes et l'effet hypoglycémique et hypolipidémique des extraits aqueux des parties aériennes d'*Ajuga iva* et de *Matricaria pubescens*, sur un modèle de rattes *Wistar* rendu diabétique par injection intrapéritonéale d'une dose unique de 120 mg/kg pc d'alloxane. L'étude réalisée sur 16 rattes de la souche *Wistar* albinos répartis en quatre groupe soit, groupe témoin sain (TS), groupe diabétique non traité (DNT), groupe diabétique traité par gavage gastrique de 300mg/kg d'*A.iva* (DA+A) et groupe diabétique traité par 800mg/kg de *M.pubescens* (DA+M) pendant 15 jours. Le screening phytochimique est essentiel afin d'identifier les composés existant dans l'extrait aqueux. La teneur en phénols totaux, tanins condensé et en flavonoïdes des différents extraits a été déterminée par des méthodes de Folin-Ciocalteu, chlorure d'aluminium. L'activité antioxydant des extraits issus des espèce *A. iva* et *M.pubescens* selon la méthode du piégeage du radical libre DPPH a montré que l'extrait aqueux possède une activité antioxydant remarquable de l'ordre 0,22mg/ml et 0,59mg/ml. l'administration de traitement par gavage deux fois par jour pendant deux semaine a révélée une augmentation de poids corporel et une diminution remarquable de la glycémie de l'ordre (75.89 %) et (71.86 %) d'*A.iva* et *M. pubescens*, à la fin de l'expérimentation. Parallèlement, il a été remarquée d'une façon générale que les deux extraits provoque une amélioration de profil lipidique soit (29.61%, 27.17% cholestrol), (22.02%,8.03% triglycerides) et (9.47%, 20.58% LDL). D'autre part l'administration des extraits aqueux ont également amélioré le statut de stress oxydant dans les tissus étudiés. En effet, la diminution des concentrations de l'MDA et augmentation du taux de GSH, l'activité de GPx tissulaire et l'activité de la catalase dans les organes des rattes traités. Finalement, l'examen histologique du tissu pancréatique a révélé une amélioration des cellules β pancréatique. En conclusion, la présente étude suggère que l'*Ajuga iva* et *Matricaria pubescens* a un effet bénéfique contre le développement du diabète et ces complications.

Mots clés: *Ajuga iva*, *Matricaria pubescens*, effet hypoglycémiant, effet hypolipidémique, antioxydants, tissus pancréatiques, stress oxydatif.

ملخص

يهدف عملنا إلى تقييم النشاط المضادة للأكسدة من جهة و أثر تخفيض كل من نسبة السكر و الدهون في الدم من جهة أخرى للمستخلص المائين لكل من نبات الشندقورة و القرطوفة و التي طبقت على جرذان من نوع ويستار، صارت مريضه بالسكر عن طريق حقنها بجرعة واحدة من الألوكسان 120 ملغ/كغ. أجريت هذه الدراسة على 16 جرذ قسمت إلى أربعة أفواج كل منها مكون من أربعة جرذان؛ الفوج الأول شاهد أو سليم، الفوج الثاني مريض بالسكري و غير معالج أما الفوج الثالث أمراض بالسكري و عولج بالمستخلص المائي لنبته الشندقورة 300 ملغ/كغ و الفوج الرابع أمراض كذلك بالسكري و عولج بالمستخلص المائي لنبات القرطوفة 800 ملغ/كغ لمدة 15 يوما. توصلنا من خلال الدراسة الكيميونباتية للمستخلص المائي لهاتين النباتين وذلك بإتباع طريقة Folin-Ciocalteu و كلورير الصوديوم. كما تم تحديد النشاط المضادة للأكسدة لمستخلص النباتين عن طريق حصر الجذور الحرة DPPH حيث أن هذين النباتين لديهما تأثير على النشاط بنسب 0.22 ملغ/كغ و 0.59 ملغ/كغ على التوالي. المعالجة بالمستخلص المائي مرتين في اليوم لمدة 15 يوما أدت إلى زيادة الوزن الجسمي و تعديل نسبة السكر في الدم 75.89 % و 71.86 % لكل من الشندقورة و القرطوفة، كما لاحظنا أن المستخلصين أديا إلى تحسين نشاطية الانزيمات في الكبد (TGO;TGP;ALP) والدهون (22.02% 8.03 % للدهون الثلاثية)، (27.17% 29.62% الكولسترول) (9.47% 20.58% LDL). كما أدى كذلك إلى تحسين معايير الاجهاد التأكسدي و نقصان تركيز بيروكسيد الدهون MDA و زيادة على مستوى مضادات الاكسدة الانزيميه (GPx و CAT) غير انزيميه (GSH) على مستوى الانسجه المدروسه. أظهر الفحص التشريحي لنسيج البنكرياس تحسن على مستوى الخلايا β للبنكرياس. وفي الختام وتوصلنا من خلال هذه الدراسة إلى أن نبات الشندقورة و القرطوفة لهما تأثير في تخفيض نسبة السكر و الدهون في الدم كما أديا إلى الحد من تطور مضاعفات مرض السكري

الكلمات المفتاحية: الشندقورة، القرطوفة، نسبة السكر في الدم، نسبة الدهون في الدم، المضادة للأكسدة، نسيج البنكرياس، الإجهاد التأكسدي.