



Université Mohamed Khider de Biskra
Faculté des sciences exactes et des sciences de la nature et de la vie
Département des sciences de la nature et de la vie
Filière : Sciences biologiques

Référence / 2021

MÉMOIRE DE MASTER

Spécialité : Biochimie Appliquée

Présenté et soutenu par :
Zebaidi Asma et Bassi Amel

Le: 29/06/2021.

Profile phénolique et activités biologiques de différents extraits de *Teucrium polium* L.

Jury :

M.	Rebai Redouane	MCB	Université de Biskra	Président
M.	Amirouche Deghima	MAA	Université de Biskra	Rapporteur
Mme.	Merzougui Imene	MCB	Université de Biskra	Examineur

Année universitaire : 2020-2021

Remerciement

Après avoir rendu grâce à Dieu le tout puissant et le Miséricordieux nous donné le courage, la force, la santé, la persistance, et de nous permis de faire Cette recherche, car sans lui rien n'est possible.

*Je tiens à exprimer toute ma reconnaissance à Monsieur **Amirouche Deghima**.
Je le remercie de m'avoir encadré, orienté, aidé et conseillé.*

Nous remercie par ailleurs l'ensemble des membres du jury pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre recherche en acceptant d'examiner notre travail et de l'enrichir par leurs propositions.

Nous tenons à remercier vivement tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

*J'adresse mes sincères remerciements à tous les professeurs de la
Département des sciences de la nature et de la vie.*

Dédicace

Tout d'abord, je dédie mon travail et mes sincères remerciements à mes parents qui m'ont toujours encouragés dans la poursuite de mes études, ainsi que pour leur aide, leur compréhension et leur soutien.

De plus, je remercie mon frère Mourad, pour sa présence, sa générosité et son soutien, fut une lumière dans mon parcours, Aucun dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime et le respect que j'ai toujours eu pour toi.

Puissent nos liens fraternels se consolider et se pérenniser.

Aussi, je remercie tous mes frères, Omar et sa femme Randa d'être avec moi toujours.

A ma sœurs Amel, je te dire merci ma jolie pour ta présence à côté de moi, je te souhaite le bonheur, réussite et prospérité.

Je dédie mon travail aussi à mes belles copines, Achouak , Nour et Thouraya , Amel ,Sara et Zahra , qui m'ont toujours encouragé et à qui je souhaite plus de succès ,

Je vous souhaite une vie pleine de santé, bonheur et succès.

Enfin, Je dédie mon travail à tous ceux que j'aime.

AsmA

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à ma mère qui a consacré sa vie pour mon bonheur et ma réussite, à mon père qui est toujours près de moi, et pour leurs encouragements, leur compréhension illimitée.

Je veux remercier ma sœur Asma pour leur soutien et leur aide.

Je veux remercier aussi, toutes mes sœurs : Warda, Hana, Moufida et mes frères : Kamel et Karim surtout Kamel qui m'aider toute la durée de mes études.

Je veux remercier aussi à tous les membres de ma famille.

A Toutes mes amies Sara, Zahra, Rabiaa, Imane, Ibtiha.

Amel

Table des matières

Liste des tableaux	I
Liste des figures	II
Liste des abréviations	III
Introduction	1

Synthèse bibliographique

Chapitre 1

Généralité sur la plante d'intérêt

1.1.Famille lamiaceae	3
1.2. <i>Teucrium polium</i>	3
1.3. Nom Vernaculaire	3
1.4. Systématique de la plante	4
1.5. Caractères morphologique, distribution Géographique et habitat	5
1.6. Composition chimique	5
1.7. Utilisations traditionnelles	5

Chapitre 2

Généralités sur le stress oxydant

2.1. Radicaux libres	7
2.2.Stress oxydant	7
2.3. Antioxydants	7
2.4. Maladies liées au stress oxydant	8

Chapitre 3

Généralité sur le diabète

3.1. Le Diabète	9
3.2. Classification de Diabète	9
3.2.1.Diabète de Type 1 :	9
3.2.2. Diabète de type 2	9

3.3. Stress oxydant et diabète	9
--------------------------------------	---

Deuxième partie

Partie Expérimentale

Chapitre 4

Matériels et méthodes

4.1. Matériels.....	11
4.1.1. Matériel bibliographique	11
4.1.2. Matériel végétale	11
4.1.2.1. Récolte de la plante.....	11
4.1.3. Animaux	12
4.2. Méthodes.....	12
4.2.1. Extraction.....	12
4.2.1.1. Préparation des extraits aqueux	12
4.2.1.2. Préparation des extraits organiques	13
4.2.1.3. La percolation.....	13
4.2.2. Teneur totale en polyphénols TPC.....	13
4.2.3. Teneur en Flavonoïdes TFC	14
4.2.4. Analyse chromatographique par HPLC.....	14
4.3. Activité antioxydants	15
4.3.1. Piégeage du radical libre DPPH.....	15
4.3.2. β -carotène	15
4.3.3. Pouvoir réducteur FRAP	16
4.4. Activité antidiabétique <i>in vivo</i>	17
4.4.1. Analyse des paramètres séro-biochimiques liées au diabète	18
4.4.2. Analyses des paramètres liés au stress oxydant	18

Chapitre 5

Résultats et discussion

5.1. Rendement d'extraction.....	20
5.2. Teneur en polyphénols totaux et en flavonoïdes.....	21
5.3. Analyse chromatographique (HPLC)	23
5.4. Activité antioxydants	25
5.4.1. Activité anti-radicalaire	26
5.4.2. Pouvoir réducteur (FRAP) et blanchiment du β -carotène	27
5.5. Activité antidiabétique <i>in vivo</i>	31
5.5.1. Effet hypoglycémiant	31
5.5.2. Effet sur les paramètres séro-biochimiques liés au diabète	32
5.5.3. Effet sur les paramètres liés au stress oxydant chez les rats diabétiques	34
5.5.4. Mécanisme d'action de <i>Teucrium polium L.</i>	35
Conclusion	36

Références bibliographique

Annexes

Résumé

Liste des tableaux

Tableau 1. Dates et zones géographiques de récolte de <i>Teucrium polium</i> L.en Algérie.	11
Tableau 2. Paramètres biochimiques analysés pour évaluer l'effet des extraits <i>T.polium</i> L....	18
Tableau 3. Rendement de différents extraits de <i>Teucrium polium</i> L.....	20
Tableau 4. Teneur en polyphénols totaux et en flavonoïdes des différents extraits de <i>T.polium</i> L.....	21
Tableau 5. Résultats de l'activité antioxydants in vitro de différents extraits de <i>Teucrium polium</i> L.....	25
Tableau 6. Comparison des paramètres biochimiques entre les différents groupes des rats (Vahidi et al., 2010).....	33
Tableau 7. Résultats du dosage des paramètres liés au stress oxydants.....	34

Liste des figures

Figure 1. Photographie de <i>Teucrium polium</i> L.	4
Figure 2. Chromatogramme de <i>T. polium</i> L.(A) enregistré à 330 nm	24
Figure 3. Capacité de piégeage des radicaux DPPH des extraits de <i>Teucrium polium</i> L.	27
Figure 4. Pouvoir réducteur des extraits de <i>Teucrium polium</i> L.	29
Figure 5. Activité antioxydants de divers extraits de <i>T. polium</i> L.(FRAP).....	30
Figure 6. Activité antioxydants des flavonoides isolés de l'extrait méthanolique de <i>T. polium</i> L.	30
Figure 7. Glycémie à jeun des rats diabétiques induits par le (STZ).....	32

Liste des abréviations

DS : Diabète sucré

HE : Huile Essentielle

EEth : Extrait éthanolique

EMet : Extrait méthanolique

EAq : Extrait aqueuse

EChl : Extrait de chloroforme

EHex : Extrait d' hexane

EA-E : Extrait acétate d'éthyle

ROS : Espèces réactives de l'oxygène

SOD: Superoxyde dismutase

CAT: Catalase

MDA: Malondialdéhyde

GSH : Glutathion réduit

GPX : Glutathion peroxydase

PCO : Protéine carbonyle

AOPP : Protéine d'oxydation avancée

AST : Aspartame transaminase

ALT : Alanine transaminase

PAL : Phosphatase alcaline

CRT : Créatinine

CT : Cholestérol totale

Gly : Glycémie

HPLC : Chromatographie liquide à haute performance

TPC : Teneur des composés polyphénoliques

TFC : Teneur des composés flavonoïdes

DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle

FRAP : Pouvoir antioxydant réducteur ferrique

EGA : Equivalent en acide gallique

F C : Folin-Ciocalteu

QE : Equivalent en quercétine

CE : Equivalents en catéchines

BHA : Hydroxyanisolebutylé.

BHT : Butylhydroxy toluène

STZ : Streptozotocine

NC : Control normale

DC : Control diabétique

TP : Rat diabétiques traité par l'extrait de plante

FBG : Rat diabétique traité par gilberncamide

IC₅₀ : Concentration inhibitrice à 50%

UV-VIS : Ultra-Violet-Visible

Introduction

Introduction

Les dommages oxydatifs ont un rôle important dans l'initiation et la progression de nombreux troubles chroniques comme le diabète. Le diabète sucré (DS) est une maladie métabolique typique avec une morbidité et une mortalité humaines évidentes. Affectant 451 millions de personnes dans le monde en 2017, le DS devrait passer à 693 millions d'ici 2045. Le diabète sucré non traité ou mal traité peut être associé à plusieurs problèmes aigus et chroniques, notamment des maladies cardiovasculaires, des lésions rénales, des problèmes oculaires, des ulcères du pied, l'impuissance et même la mort (Asghari *et al.*, 2020). Plusieurs études ont montré que le développement des complications de diabète est attribué à la production incontrôlée d'espèces réactives de l'oxygène.

Les plantes médicinales sont utilisées par l'être humain depuis des siècles en médecine traditionnelle en raison de leur potentiel thérapeutique. Ces plantes peuvent prévenir les maladies, maintenir la santé ou guérir les maux, grâce à leurs effets promoteurs de la santé. La recherche sur les plantes médicinales ont conduit à la découverte de nouveaux médicaments candidat utilisé contre diverses maladies (Chedia *et al.*, 2013). Selon l'OMS, environ 80% de la population mondiale dépend essentiellement sur la médecine traditionnelle pour ses besoins de bases en médicaments.

L'Algérie est l'un des pays méditerranéens ayant une remarquable richesse floristique liée à sa diversité de ses écosystèmes et des paysages, Le nombre de Taxons de sa flore est estimé à environ 4000 dont 300 taxons endémiques dont environ 90 % sont présents dans le nord du pays (Sassoui *et al.*, 2020). Malheureusement, malgré ce grand patrimoine de la flore Algérienne ; jusqu'à présent, seulement quelques espèces ont été étudiés (Chabane *et al.*, 2020).

Le genre *Teucrium* (Lamiaceae) regroupe plus de 340 espèces réparties dans le monde, dont une vingtaine est trouvée en abondance dans la flore algérienne. *Teucrium polium* L. (Germande feutrée) appelée 'kheyata' est l'une des espèces de ce genre qui pousse de manière sauvage en Algérie. Cette espèce est traditionnellement utilisée en médecine populaire Algérienne en raison de ses propriétés hypoglycémiantes, hypolipémiants, anti-inflammatoires, antibactériennes et antioxydants. Des études antérieures ont décrit les extraits de *Teucrium polium* L. comme une source potentielle d'antioxydants naturels, tel que les polyphénols (Ait Chaouche *et al.*, 2018), les flavonoïdes, les terpénoïdes et les iridoïdes (Asghari *et al.*, 2020).

Le but de cette étude qui est basée sur la recherche et la synthèse bibliographique, est de collecter des informations scientifiques sur le profile phénolique et les propriétés antioxydants et antidiabétique de la plante *Teucrium polium* L.

Ce travail a été divisé en deux parties ; la première partie est consacrée à une synthèse bibliographique, en trois chapitres. Le premier commence par des généralités sur la plante étudiée, et leur utilisation en médecine traditionnelle. Le deuxième chapitre présente également des généralités sur le stress oxydant, les antioxydants, maladie liée au stress oxydant tel que le diabète, qui est présentée dans le chapitre trois. La deuxième partie consiste à une partie expérimentale qui regroupe le matériel (végétale, animale), les méthodes d'extraction, et les tests utilisés pour évaluer la capacité antioxydants et antidiabétique de *T.polium* L. et leurs résultats et discussion, en deux chapitres quatre et cinq.

Synthèse bibliographique

Chapitre 1

Généralité sur la plante

d'intérêt

1. Généralité sur la plante d'intérêt

1.1. Famille lamiaceae

Les Lamiaceae ou labiatae (labiaceae) est l'une des plus grandes familles de plantes à fleurs comprenant environ 250 genres et plus de 7000 espèces. La plupart des plantes de cette famille sont aromatiques, comme le *thym* (*Thymus herba-barona*) et la *lavande sauvage* (*Lavandula stoechas*), et donc sont une source importante des composés bioactifs. Les lamiaceae sont largement utilisées comme herbes culinaires et signalées comme plantes médicinales dans plusieurs traditions populaires (Chabane *et al.*, 2020). Les principaux genres de cette famille sont *Teucrium*, *Ajuga*, *Mentha* et *Marrubium*.

1.2. *Teucrium polium*

Le genre *Teucrium* comprend 340 espèces dont 20 ont été signalés en Algérie (Maizi *et al.*, 2019). C'est un genre très polymorphe, qui a été divisé en neuf sections identifiables par la forme du calice et la structure de l'inflorescence, parmi eux la section *polium*, qui comprend environ la moitié de ses espèces. La section *polium* était considérée comme une section complexe en raison des variations morphologique considérables au sein et entre les populations (Djabou *et al.*, 2012). En Algérie, *Teucrium polium* L. est représenté par 12 sous-espèces dont les plus communs sont *T. polium* L. *subsp. polium* et *T. polium* L. *capitatum* (Chabane *et al.*, 2020).

1.3. Nom Vernaculaire

Plusieurs noms sont donnés au *T. polium* L. ou la synonymie de l'espèce diffère en fonction de la région :

en Arabe: Jàada /Jaadah , Gattaba , Khayat / Khayat lajrah (Algérie) (Maizi *et al.*, 2019) Hamzoucha, Timzourin (Berbère-algerie), Takmazut (Touaregs-Algerie) (Meguellati *et al.*, 2019), Jaaida (Maroc), Elgaslam Elhelal (Yémen), Hachichet elrih (liban) (جعيدة) (Bendif *et al.*, 2018).

En Français : Germander tomentueuse, Poulitot des montagnes.

En Anglais : Felty germander.

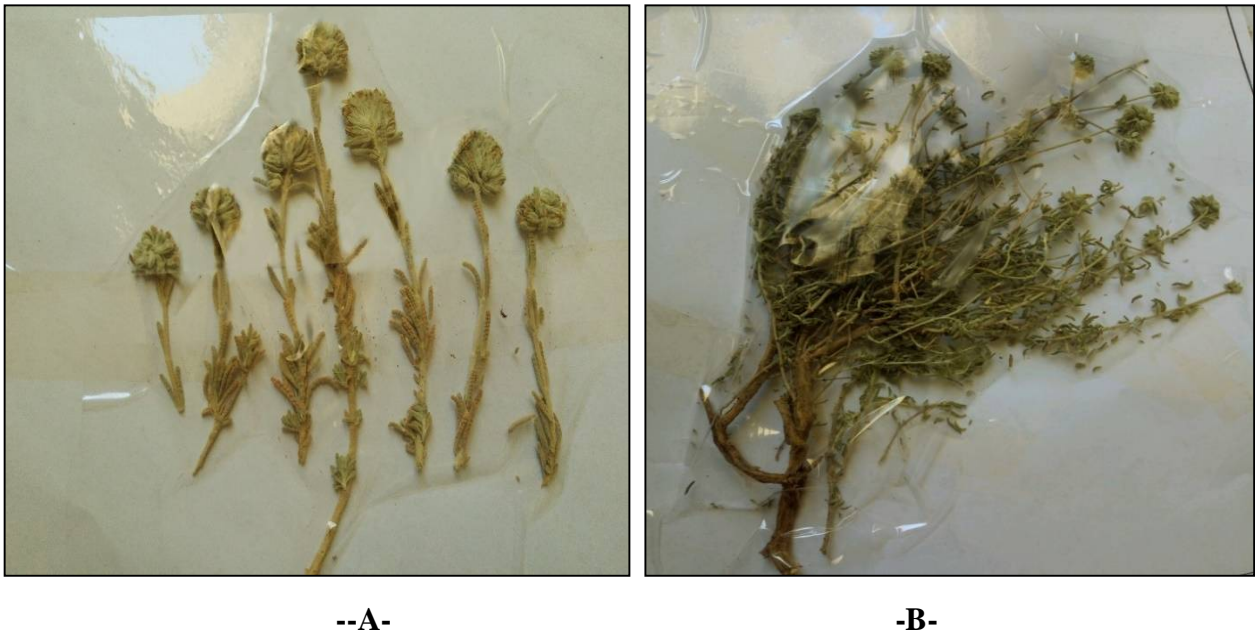


Figure 1. Photographie de *Teucrium polium* L. (A) les parties aériennes avant la pluie . (B) la plante après la pluie . A la région Djemorah-Biskra (originale).

1.4. Systématique de la plante

Teucrium polium L. est classé comme suit selon Quezel et Santa (1963).

Règne	plantae
Sous-règne	Tracheobionta
Division	Magnoliophyta
Embranchement	Phanérogrames
Sous-embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous -classe	Gamopétales
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiaceae
Genre	<i>Teucrium</i>
Espèce	<i>Teucrium polium</i> L.

1.5. Caractères morphologique, distribution Géographique et habitat

Teucrium Polium L. est un arbuste nain vivace herbacé, aromatique, très polymorphe et velue-laineuse, à tiges nombreuses et ramifiées, possédant des feuilles ovales à bords enroulés et des têtes denses de fleurs blanches à rose vif. Elle fleurit d'Avril à Juin (Bendif *et al.*, 2018).

T. polium L. *subsp. Polium* est la plus présent dans les montagnes de l'ouest de la région méditerranéenne, avec des fleurs blanches à rose vif. Les corolles latérales peuvent être glabres ou velues, les feuilles de moins de 15 mm et les tiges fleuries de 10-25mm. Dans le nord de l'Algérie, on a noté la présence de *T. polium* L. *subsp. Polium* avec deux couleurs de fleurs ; des spécimens à fleurs roses ont été localisés dans les régions littorales et montagneuses tandis que les spécimens à fleurs blanches n'étaient répandus que dans les régions de montagne (Djabou *et al.*, 2012).

T. polium L. est largement distribuée dans le bassin du Méditerranée (Chabane *et al.*, 2020), Asie du Sud-Ouest, centre et sud de l'Europe et Nord d'Afrique. Il pousse à l'état sauvage dans les bioclimats semi-arides et arides régions, et préfère la lumière et le soleil et les sols bien drainés (pousse sur les coteaux, les sables et dans les endroits arides) (Bendif *et al.*, 2018).

1.6. Composition chimique

Les plantes appartenant au genre *Teucrium* contiennent différentes classes de composés tels que les polyphénols, flavonoïdes, les ester d'acides gras, monoterpènes ,diterpénoïdes et sesquiterpènes (Bahramikia et Yazdanparast, 2012). Dans l'ensemble, les huiles essentiels (HE) de *T. polium* L. sont caractérisées par les sesquiterpène, en particulier, le germacrène D, β -eudesmol, bicyclogermacrène et le (E)-caryophyllène (Bendif *et al.*, 2018).

1.7. Utilisations traditionnelles

Les espèces *Teucrium* ont été utilisées comme plantes médicinales depuis plus de 2000 ans. et certains d'entre eux sont encore utilisés en médecine populaire. *T. polium* est utilisé comme remède traditionnel pour traiter divers maux, comme antispasmodique, antirhumatismal, carminatif, stimulant tonique, astringent, vulnéraire (Bendif *et al.*, 2018), analgésique, antipyrétique, activité antimicrobiennes, antifongique ,antioxydants, hypoglycémiant, hypolipidémiant, diurétique, anti-inflammatoire, cardio-protectrice (Maizi *et al.*, 2019) , hépatoprotectrice (Rahmouni *et al.*, 2017) anticancéreuse et largement utilisé par la population algérienne pour le soins et cicatrisation de plaies (Chabane *et al.*, 2020) .

Une infusion de ses parties aériennes (feuille et fleurs) est utilisée pour l'estomac et les coliques abdominales, les maux de tête, comme vermifuge, dépuratif, et pour traiter les calculs rénaux. *T.polium* est également utilisé comme épice et appétitif dans les tisanes surtout chez les enfants (Bendif *et al.*, 2018), et aussi utilisé comme traitement des hémorroïdes (ÖZER *et al.*, 2018).

Chapitre 2

Généralités sur le stress

oxydant

2. Généralité sur le stress oxydant

2.1. Radicaux libres

Un radical libre est une espèce, atome ou molécule, contenant un électron non apparié. Ce déséquilibre n'est que transitoire, et il est comblé soit par l'acceptation d'un autre électron soit par le transfert de cet électron libre sur une autre molécule (Cano *et al.*, 2006). Les radicaux libres, tels que l'anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$), hydroxyle le radical (OH^{\bullet}) et le radical peroxyde (ROO^{\bullet}) sont particulièrement réactifs et sont connus pour être un produit biologique dans la réduction moléculaire l'oxygène (Sharififar *et al.*, 2009).

2.2. Stress oxydant

Le stress oxydant est défini par un grave déséquilibre entre la production de radicaux libres et le système de défense antioxydants, ce qui entraîne des lésions tissulaires fonctionnelles (Ardestani *et al.*, 2008). Ce déséquilibre est dû à la formation excessive et /ou une élimination incomplète des espèces réactives de l'oxygène (ROS) dans le corps humain à partir du métabolisme normale ou induits par des facteurs physiques et/ou chimique de l'environnement (Ait Chaouche *et al.*, 2018).

2.3. Antioxydants

Les antioxydants sont définis comme toute substance qui lorsqu'elles sont présentes dans les aliments ou dans l'organisme à de faibles concentrations par rapport à celles d'un substrat oxydable agissent comme piègeurs de radicaux, donneurs d'hydrogène, donneurs d'électrons, décomposeurs de peroxyde, extincteurs d'oxygène singlet, inhibiteurs d'enzymes, synergistes et agents chélateurs de métaux. Les antioxydants qui ont traditionnellement été utilisés pour inhiber l'oxydation dans les aliments éteignent également les radicaux libres redoutés et arrêtent les chaînes d'oxydation *in vivo*. L'utilisation de substances ayant une capacité antioxydants peut être très importante dans la prévention thérapeutique des maladies liées à l'augmentation du stress oxydants, telles que le cancer, les maladies cardiaques et le vieillissement (Ait Chaouche *et al.*, 2018).

Les antioxydants de type enzymatiques sont principalement représentés par Superoxyde dismutase (SOD) qui catalyse la dismutation des anions superoxyde ($O_2^{\bullet-}$) en oxygène O_2 et peroxyde d'hydrogène H_2O_2 ; Catalase (CAT) catalyse la dismutation de peroxyde d'hydrogène H_2O_2 en H_2O et O_2 ; Glutathion peroxydase (GPX), réduit les peroxydes organiques et inorganiques en utilisant le glutathion réduit (GSH) comme donneur de protons, ce qui

provoque l'oxydation de ce dernier. (Ardestani *et al.*, 2008). Alors que les antioxydants de type non enzymatique sont représentés par la Vitamine C (acide ascorbique) ; Vitamine E ; Polyphénols (Ardestani *et al.*, 2008) et huiles essentielles (Maizi *et al.*, 2019).

Les polyphénols sont des substances naturelles capables de neutraliser les radicaux libres et de réduire les dommages du stress oxydant sur le corps humain (Ait Chaouche *et al.*, 2018).

2.4. Maladies liées au stress oxydant

Les radicaux oxydants seraient une cause potentielle de mutation (Ait Chaouche *et al.*, 2018) et ils provoquent des dommages oxydatifs aux molécules biologiques, entraînent la perturbation de la fluidité des membranes, la dénaturation des protéines, la peroxydation des lipides, l'oxydation de l'ADN et l'altération des fonctions des plaquettes conduisant à de nombreuses maladies (Sharififar *et al.*, 2009). Ces maladies sont liées à l'âge tel que le cancer, les maladies cardiovasculaires, les inflammations, l'athérosclérose, le vieillissement et les maladies neurodégénératives comme la maladie d'Alzheimer et de Parkinson (Bendjabeur *et al.*, 2018).

Chapitre 3

Généralité sur le diabète

3. Généralité sur le diabète

3.1. Le Diabète

Le diabète est un trouble métabolique et multifactoriel qui se caractérise par une augmentation chronique du taux de glucose dans le sang et se développe en raison d'une perturbation de la sécrétion et/ou de la fonction de l'insuline (Naga *et al.*, 2019).

3.2. Classification de Diabète

Selon (Radenkovi'c *et al.*, 2015), Les principales formes de diabète sont :

3.2.1. Diabète de Type 1 :

Ce type de diabète est également connu sous le nom de "diabète insulino-dépendant" est caractérisé par l'incapacité du pancréas à produire de l'insuline elle se développe à la suite d'un processus auto-immun dans lequel la destruction des cellules β est la conséquence finale d'une attaque auto-immune médiée par les cellules T. Les personnes atteintes de ce type représentent environ 10 % de tous les cas de diabète et ils ont besoin d'injections régulières d'insuline comme traitement. Les principales caractéristiques du diabète de type 1 sont un taux élevé de glucose et un faible taux d'insuline dans le sang.

3.2.2. Diabète de type 2

Ce type "Diabète non insulino-dépendant", est connu comme un trouble progressif, et est associé à une diminution progressive de la fonction pancréatique sur une période de temps. Parfois lié à une carence absolue en insuline, au début. Le problème principal n'est généralement pas la sécrétion d'insuline mais la résistance périphérique à l'insuline. Il est représenté de plus de 90 % de tous les cas. Ce type peut également évoluer vers une insulino-dépendance pendant une certaine période de temps. C'est pourquoi le diabète de type 2 peut être associé à des taux d'insuline élevés, normaux ou faibles.

3.3. Stress oxydant et diabète

Il est de plus en plus évident que chez les personnes atteintes de diabète, l'excès de génération des radicaux libres hautement réactifs, en grande partie due à l'hyperglycémie, provoque un stress oxydant qui aggrave encore plus le développement et la progression du diabète et de ses complications. L'efficacité des mécanismes de défense des antioxydants est altérée dans le diabète, et par conséquent les radicaux libres s'accumulent dans le système, produisant finalement des effets destructeurs dans de nombreux tissus vitaux. Ces dommages se reflètent par une augmentation des niveaux de marqueurs de stress oxydant chez les patients

diabétiques, comme le malondialdéhyde (MDA) (un indice de peroxydation lipidique), et les marqueurs d'oxydation des protéines. Par conséquent, les biomarqueurs des réactions aux ROS ont le potentiel non seulement de déterminer l'étendue de la lésion oxydative, mais aussi de prédire l'efficacité potentielle des stratégies thérapeutiques visant à réduire le stress oxydant (Ardestani *et al.*, 2008).

Deuxième partie
Partie Expérimentale

Chapitre 4

Matériels et méthodes

4.1. Matériels

4.1.1. Matériel bibliographique

La présente étude consiste à rechercher dans la littérature des publications qui ont discuté l'activité biologique de différents extraits de l'espèce *Teucrium polium* L. par l'analyse quantitative de contenu chimiques de cette plante en métabolites secondaires (polyphénols, flavonoïdes), ainsi que de leur pouvoir antioxydants, antidiabétique, en se basant sur la recherche bibliographique de données scientifiques dans les plateformes : Google scolaire et Pub Med.

Parmi les 30 articles obtenus, nous avons utilisé 16 articles dans la partie expérimentale, dont 9 articles analysant les composés et l'activité antioxydant *in vitro* ; pour l'activité antidiabétique nous avons utilisé 7 articles étudié l'effet hypoglycémiant de *T.polium* L.

4.1.2. Matériel végétale

4.1.2.1. Récolte de la plante

La récolte de la plante d'intérêt a été réalisée à différentes périodes de l'année, au stade de floraison ou au stade végétative (Tableau 1), après une identification botanique qui était faite par un spécialiste en se basant sur des critères morphologiques.

Tableau 1. Dates et zones géographiques de récolte de *Teucrium polium* L. en Algérie.

Référence	Nom scientifique	Organe	Date de la récolte	Lieu
(Krache <i>et al.</i> , 2018)	<i>Teucrium Polium</i> L.	Les parties aériennes	Juin 2011	Bordj Bouarreridj
(Fertout-Mouri <i>et al.</i> , 2017)		Tige, feuilles, fleurs	Avril 2014	Tessala -Sidi Bil Abbès
(Ait Chaouche <i>et al.</i> , 2018)		Les parties aériennes	Mars 2015	Oum El Bouaghi (Est d'Algérie)
(Bendjabeur <i>et al.</i> , 2018)		Les feuilles Les parties aériennes	2017	Relizane et Bouira
(Chabane <i>et al.</i> , 2020)		Les parties aériennes fleuries	Mai 2018	M'Sila

Après la récolte, le matériel végétal (la partie aérienne de la plante : les feuilles et les fleurs) a été trié, nettoyé et séché à l'ombre à l'abri de l'humidité et à température ambiante pendant 15 jours (Ait Chaouche *et al.*, 2018), puis réduit en poudre et emballé dans des sacs en papier et conservé dans un endroit sombre et frais en vue de son utilisation ultérieure (Stefkov *et al.*, 2011).

4.1.3. Animaux

L'étude *in vivo* a été réalisée sur des rats mâles soit de race *Wistar albinos* (Esmaeili et Yazdanparas, 2004; Ardestani *et al.*, 2008), ou bien Sprague-Dawley (Shahraki *et al.*, 2007) pesant entre 200 et 250 g. Les rats ont été soumis aux conditions favorables d'hébergement, avec un accès *ad libitum* à la nourriture et à l'eau, et sous une photopériode contrôlée 12h/12h. Les animaux ont bénéficié d'une période de 10 jours d'acclimatation avant les expériences.

4.2. Méthodes

4.2.1. Extraction

L'extraction est la première étape de l'étude des composés phénoliques, elle consiste à isoler les composés bioactifs à partir de matières végétales par plusieurs procédées. En générale, l'extraction solide-liquide est la procédure la plus courante pour analyser les fractions phénoliques d'origines végétales, en raison de sa simplicité de son efficacité élevée et de sa facilité.

4.2.1.1. Préparation des extraits aqueux

La préparation d'extrait aqueux à partir *T. polium* L. a été réalisée par 2 méthodes d'extraction :

L'infusion qui consiste à utiliser (2 g) de la plante, avec 98 ml d'eau distillée bouillante et à laisser reposer pendant 15 minutes. Puis, le mélange a été filtré avec un papier filtre. Le filtrat (25 ml) a été dilué avec 25 ml d'eau distillée (ÖZER *et al.*, 2018).

La décoction, où le mélange du matériel végétal et l'eau distillée a été chauffés dans une bouilloire en acier. Pendant 15 minutes. Le tout a été filtré avec un papier filtre. Le filtrat (25 mL) a été dilué avec 25 mL d'eau distillée (ÖZER *et al.*, 2018).

Vahidi *et al.*(2010) ont été préparé deux extraits (2% ,4%) pour évaluer l'activité antidiabétique en utilisant la décoction. Ils sont trempé 2 et 4 g de *Teucrium polium* L. dans 10 ml d'eau, et ce mélange a été bouillit pendant 10 minutes. La solution a été refroidit et filtrée et

son volume a été ajusté à 100 ml par de l'eau distillée. Cet extrait a été donné aux groupes testés comme boisson *ad Libitum*.

4.2.1.2. Préparation des extraits organiques

L'extraction des molécules bioactive qui sont solubles dans les solvants organiques a été réalisée par deux techniques, la macération et le Soxhlet.

Une extraction continue au Soxhlet est réalisée pendant 6 h, où les parties aériennes (30 g) de *Teucrium polium* L. étaient extraites avec 400 ml de solvants. Six solvants différents (méthanol, éthanol, acétate d'éthyle, chloroforme, hexane et eau) ont été utilisés par Ait Chaouche *et al.* (2018), alors que Kerbouche *et al.* (2013) a utilisé l'éthanol absolu seulement. Le solvant a été évaporé à l'aide d'un évaporateur rotatif. Chaque extrait a été pesé et maintenu à 4 °C dans l'obscurité avant analyse. Chedia *et al.* (2013) a utilisé le 1gde plante avec 10 ml de méthanol pur pendant 30 min. Ensuite l'extrait a été maintenu 24 h à 4°C, filtré sur papier filtre Whatman n° 4, évaporé sous vide jusqu'à à sec et conservé à 4°C jusqu'aux analyses.

Selon Esmaeili et Yazdanparas (2004), et Stefkov *et al.* (2011), La matière végétale en poudre a été macérée avec l'éthanol, dont Shahraki *et al.* (2007) a préparé une macération aqueuse.

4.2.1.3. La percolation

Une méthode utilisée par Sharififar *et al.* (2009) ; où La poudre a été passée à travers un tamis afin de maintenir les particules en taille unitaire (300µm) et a été extraite par méthode de percolation avec de l'éther de pétrole, du chloroforme, du méthanol et de l'eau, successivement. Les solvants ont été éliminés par séchage à 35° C dans un évaporateur avant stockage à 2°C.

4.2.2. Teneur totale en polyphénols TPC

L'estimation des composés phénoliques totaux dans les extraits de plante a été effectuée par le test de Folin-Ciocalteu (FC), Cette méthode colorimétrique mesure le changement de couleur du réactif FC du jaune au bleu foncée en présence d'échantillons antioxydants à 750-765nm. L'acide gallique est le standard couramment utilisé et les résultats sont exprimés en mg d'équivalence d'acide gallique (EAG) par gramme d'échantillon (Denys, 2013).

Ce test a été utilisé par (Kerbouche *et al.*, 2013; Ait Chaouche *et al.*, 2018 ; Bendif *et al.*, 2018 et Bendjabeur *et al.*, 2018), avec quelques variations dans les volumes des réactifs.

Kerbouche *et al.* (2013) et Ait Chaouche *et al.* (2018) ont utilisé 0,25 ml d'extrait dissous dans du méthanol avec 1,25 ml de Folin-Ciocalteu. Après 3min de réaction, 1 ml de solution de

carbonate de sodium (Na_2CO_3) à une concentration de 75 g/l a été ajouté. Les échantillons ont été incubés pendant 30 minutes dans l'obscurité à température ambiante. L'absorbance a été déterminée en 765 nm.

4.2.3. Teneur en Flavonoïdes TFC

La teneur en flavonoïdes a été déterminée par la méthode trichlorure d'aluminium (AlCl_3), en utilisant la Quercétine comme composé de référence. Les résultats ont été exprimés en mg d'équivalent de Quercétine par g d'extrait (Ait Chaouche *et al.*, 2018) et l'absorbance mesuré à 420-430 nm.

Cette méthode a été utilisé par (Kerbouche *et al.* 2013 ; Ait Chaouche *et al.*, 2018 ; Bendjabeur *et al.*, 2018). L'échantillon de Ait Chaouche *et al.*(2018) contenait 1 ml d'extrait dissous dans du méthanol et 1 ml de solution de trichlorure d'aluminium (2% p/v). Kerbouche *et al.*(2013) a dissous l'extrait dans l'éthanol. Les échantillons ont été incubés pendant 1h à température ambiante et l'absorbance a été mesurée à 420 nm. La teneur totale en flavonoïdes des extraits a été exprimée en mg de Quercétine Equivalent (QE) par gramme d'extrait.

4.2.4. Analyse chromatographique par HPLC

L'analyse des polyphénols et des flavonoïdes des extraits de *T. polium* L. a été réalisée par chromatographie liquide à haute performance (High-performance liquide chromatographie : HPLC). Les extraits ont été dissous dans du méthanol (1 mg/ml) et filtré sur polyéthersulfone avant l'analyse.

ÖZER *et al.* (2018), a utilisé la chromatographie liquide couplée au Spectrométrie de masse (LC-MS/MS). Les expériences LC-MS/MS ont été réalisées par un Zivak® HPLC et un Zivak® Tandem Gold Spectrométrie de masse triple quadripôle (Istanbul, Turquie). La phase mobile était composée d'eau (A, 0,1 % d'acide formique) et du méthanol (B, 0,1 % d'acide formique). La même technique a été utilisée par Stefkove *et al.*(2011), avec un système HPLC Variant équipé d'un détecteur à matrice de diodes ultraviolet (UV). La phase mobile était de l'acide phosphorique (H_3PO_4 , pH 3,0) (A) et de l'acétonitrile (CH_3CN) (B).

4.3. Activité antioxydants

Dans cette partie nous nous intéressons à l'étude de l'activité antioxydants, *in vitro*, de différents extraits de *Teucrium polium* L.

4.3.1. Piégeage du radical libre DPPH

Il s'agit d'un test spectrophotométrie basé sur la neutralisation des radicaux libres DPPH (2,2- diphenyl-1-picrylhydrazyle). Le DPPH est un radical libre stable présentant une absorbance maximale 517nm, lorsqu'il rencontre un substrat donneur de protons comme un antioxydants, les radicaux sont piégés et l'absorbance est réduite,(Denys, 2013). Ce test a été utilisé par (Ait Chaouche *et al.*,2018; ÖZER *et al.*,2018).

Ait Chaouche *et al.*(2018) ont été testés les extraits préparés à différents concentrations 1, 3, 5, 10, 20, 50 et 100 mg/l, ces concentration sont été ajoutées à 975 µl de solution méthanoïque de DPPH (60µM). Après 30 min d'incubation dans l'obscurité à température ambiante, les mesures d'absorbance ont été enregistrées à 517 nm .L'absorption d'un échantillon contenant la même quantité de méthanol et de solution de DPPH a été utilisée comme contrôle négatif et butylhydroxy toluène (BHT) comme contrôle positif. La valeur IC₅₀ (concentration de l'échantillon fournissant 50 % d'inhibition) a été calculée en utilisant le graphique tracé le pourcentage d'inhibition par rapport à la concentration de l'échantillon. Une absorbance plus faible du mélange réactionnel indique un piégeage des radicaux libres plus élevé.

Alors que, ÖZER *et al.*(2018) ont été travaillés sur différents volumes (2 µl ,5 µl, 10 µl ,20 µl) et utilisés butylhydroxy toluène(BHT) et hydroxyanisolebutylé (BHA) comme control positif.

4.3.2. β-carotène

La méthode est basée sur la perte de la couleur orange du β-carotène en raison de sa réaction avec les radicaux qui sont formés par l'oxydation de l'acide linoléique dans une émulsion. Le blanchiment du β-carotène peut être ralenti en présence d'antioxydants. Ce test de blanchiment de β-carotènea été utilisé par Sharififar *et al.*, (2009) ;Tepe *et al.*, (2010) ;Bendjabeur *et al.*, (2018) et par ÖZER *et al.*, (2018).

Une solution d'émulsion de β-carotène et de l'acide linoléique a été préparée en dissolvant 0,5 mg d'β-carotène dans 1 ml de chloroforme et en ajoutant 25 µL d'acide linoléique ainsi que 200 mg de Tween. Le chloroforme a été évaporé à 40 °C pendant 4 minutes sous vide. 100 ml

d'eau distillée saturée en oxygène ont été ajoutés au résidu. À 2.5 mL de ce mélange, 300 µL de chaque extrait ont été ajoutés. Les tubes à essai ont été incubés pendant 2 h à 50 °C. Un blanc sans antioxydants a été utilisé comme contrôle négatif. Le butylhydroxy toluène (BHT) et le Trolox ont été utilisés comme contrôles positifs. L'absorbance a été mesurée à 470 nm (Bendjabeur *et al.*, 2018).

Pour Sharififar *et al.* (2009), une solution d'acide linoléique (10 ml de solution à 2 mg/ml dans l'éthanol) et une solution de β-carotène (10 ml, 2 mg/ml de solution acétone) ont été ajoutés à la gélose fondue (10 ml, solution à 1,2 % dans l'eau bouillante). Ensuite, le mélange a été agité pour donner une couleur orange. La gélose a été versée dans des boîtes de Pétri (25 ml par boîte) et ont été exclus de la lumière et laissés debout. Des trous (4 mm de diamètre) ont été percés dans la gélose, et chaque extrait (1 mg) dans l'alcool a été transféré dans les trous et les boîtes de Pétri ont été incubées à 45 °C pendant 4 h. Une zone de rétention de couleur autour du trou après incubation. Le diamètre de la zone a été mesuré à l'aide de pieds à coulisse.

4.3.3. Pouvoir réducteur FRAP

La méthode pouvoir antioxydants réducteur ferrique (FRAP) est un essai simple, rapide et reproductible. Il est universel, et peut être facilement appliqué à des extraits organiques et aqueux de plantes. La méthode FRAP est basée sur la réduction de complexe tripyridyltriazine ferrique (Fe^{3+} -TPTZ) à la forme de fer (Fe^{2+} -TPTZ) de couleur bleue avec une augmentation de l'absorbance à 700 nm (Li *et al.*, 2008).

Ait Chaouche *et al.* (2018) et Bendjabeur *et al.* (2018), ont été utilisés la méthode d'Oyaizu (1986) pour évaluer le pouvoir réducteur. Un volume de 125 µL de solutions éthanoïques des échantillons ont été mélangés avec un tampon phosphate (2,5 ml, 0,2 M, pH 6,6) et du ferricyanure de potassium [$\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$; 2.5 ml, 1%]. Le mélange a été incubé à 50 °C pendant 20 minutes. Après l'incubation 2.5 mL d'acide trichloracétique (10%) ont été ajoutés et le mélange est a été centrifugé pendant 10 min à 3000 rpm. Le surnageant (2.5 mL) a été mélangé avec de l'eau distillée (2.5 mL) et du FeCl_3 (0.5 mL, 0.1% w/v), et l'absorbance a été mesurée à 700 nm. L'acide ascorbique et le hydroxytoluène butylé (BHT) ont été utilisés comme contrôles positifs.

4.4. Activité antidiabétique *in vivo*

Le diabète sucré expérimental chez les animaux de laboratoire peut être induit par des manipulations chimiques, chirurgicales, génétiques ou immunologiques. Les composés chimiques les plus importants et les plus fréquemment utilisés pour l'induction du diabète expérimental sont l'alloxane et la streptozotocine (STZ). Il existe plusieurs autres composés qui possèdent également une activité diabétogène et ils sont également utilisés pour l'induction du diabète expérimental chez les animaux (Radenković *et al.*, 2015).

Dans les 6 articles étudiés l'activité antidiabétique de la plante d'intérêt, l'induction de diabète se fait par streptozotocine (STZ) dissous dans un tampon citrate de sodium de 0,1 M à PH : 4,5.

Le protocole expérimentale appliqué dans les publication analysées est initié par la sélection des groupes des animaux utilisées : Groupe témoin non induit, groupe induit sans traitement utilisé comme contrôle négatif, groupe induit et Co-traité par un médicament antidiabétique de référence comme contrôle positif, et le groupe testé qui reçoit les extraits étudiés de plante *T.polium* L.

Esmaeili et Yazdanparas (2004) ont utilisé 30 rats divisé en 3 groupes : Les rats sains témoins (groupe 3, n = 8) et les rats diabétiques de contrôle négatif (groupe 1, n = 8) ont reçu le même volume d'eau distillée par voie orale. 12 rats du groupe 2 ont reçu par gavage une dose 0,5 g de poudre végétale/kg de poids corporel/ jour pendant 6 semaines consécutives.

Aussi Ardestani *et al.* (2008) ont réparti les 30 rats en 3 groupes : Rats témoins sain (groupe 1, n=8) ont reçu un volume (1 ml) de tampon citrate, les restes diabétique sont été sélectionnés et répartis en deux groupes (2 et 3).Le groupe 2 a été signalé comme control diabétique .L'extrait végétal a été administré au rats de groupe 3 par gavage (intra-gastrique) à une dose de 1 ml par rat (équivalente à 0,5 g de poudre de plante/kg de poids corporel) pendant 30 jours consécutifs.

Tabatabaie *et al.*(2017) ont utilisé 24 rats ; 6 rats normaux et 18 rats diabétiques ont été répartis en quatre groupes en fonction du poids corporel et les niveaux de glucose sanguin des rats. Le groupe 1 et le groupe 2 ont servi de contrôle normal (NC) et le contrôle diabétique (DC), respectivement, et ont été traités avec le véhicule (eau) ; Groupe 3 (TP) : les rats diabétiques traités avec l'extrait hydroalcoolique de *T. polium* L. à une dose de 0,5 g/kg pendant 42 jours de la période expérimentale ; Groupe 4 (GLB) : les rats diabétiques ont été traités avec

600 mg/ kg de glibenclamide comme témoin positif. Les taux de glucose sanguin des rats de chaque groupe ont été déterminés toute la période expérimentale, à l'aide d'un kit de glucose oxydase.

4.4.1. Analyse des paramètres séro-biochimiques liées au diabète

A la fin de l'expérience différents paramètres séro-biochimique, tels que glycémie, insulinémie, cholestérol, triglycérides (TG), l'alanine transaminase (ALT), l'aspartame transaminase (AST), la phosphatase alcaline (PAL), urée, acide urique et créatinine (CRT)(Vahidi *et al.*, 2010) HDL, LDL (Tabatabaie *et al.*, 2017)et l'insuline (Ali Esmaeili *et al.*,2004) , ont été mesurés par les méthodes cinétique (enzymatique) et méthodes colorimétriques en utilisant des Kit commerciale(Stefkov *et al.*, 2011).

Tableau 2. Paramètres biochimiques analysés pour évaluer l'effet des extraits *T. polium* L.

Référence	Paramètres analysés
(Vahidi <i>et al.</i> , 2010)	Glycémie(Gly), cholestérol Total (CT), triglycérides (TG), alanine transaminase (ALT), aspartame transaminase (AST), phosphatase alcaline (ALP), urée, acide urique et créatinine (CRT)
(Esmaeili et Yazdanparas, 2004)	Glycémie Insuline
(Tabatabaie <i>et al.</i> , 2017)	Glycémie, Cholestérol totale TG, HDL, LDL
(Stefkov <i>et al.</i> , 2011)	glycémie, cholestérol, triglycérides (TG), alanine transaminase (ALT), aspartame transaminase (AST), phosphatase alcaline (ALP), urée, acide urique et créatinine (CRT), HDL, LDL.

4.4.2. Analyses des paramètres liés au stress oxydant

Parmi les 7 articles utilisés pour évaluer l'activité antidiabétique des extraits de *Teucrium polium* L., certaines études sont étudiées les marqueurs liés au stress oxydant chez les rats diabétiques dans une tentative à recherche une corrélation entre le diabète et le stress oxydant (Ardestani *et al.*, 2008 ;Tabatabaie *et al.*, 2017).

Le niveau de malondialdéhyde (MDA) du pancréas a été mesuré sur la base de la réactivité du TBA selon la méthode de Draper et Hadley (1990). La concentration de glutathion

réduit (GSH) a été évaluée par la méthode d'Ellman (1959). L'activité catalase (CAT) a été mesurée selon la méthode d'Aebi à 240 nm (1984). L'activité de superoxyde dismutase (SOD) a été déterminée sur la base du taux d'inhibition de la formation de colorant formazan (formation de l' amino bleu tétrazoliumformazan dans le nicotinamide adénine dinucléotide (NADH), du méthosulfate de phénazine (PMS) et du bleu nitro tétrazolium (NBT) selon la méthode de Kakkar *et al.* (1984), (Ardestani *et al.*, 2008 ; Tabatabaie *et al.*, 2017).

Ardestani *et al.* (2008), De plus ont été déterminés les niveaux de protéine d'oxydation avancée (AOPP) selon la méthode de Kayali *et al.* (2006), la teneur en protéine carbonyle (PCO) qui est mesurée en utilisant la méthode de Reznick et Packer (1994), Le niveau d'oxyde nitrique (NO) déterminé par spectrophotométrie en mesurant l'accumulation de ses produits de dégradation stables le nitrite et le nitrate. Le taux de nitrite sérique a été déterminé par le réactif de Griess selon la méthode de Hortelano *et al.* (1995).

Chapitre 5

Résultats et discussion

5.1. Rendement d'extraction

Le tableau 3 résume les rendements d'extraction rapportée dans les différentes études.

Pour Ait Chaouche *et al.*(2018), le rendement d'extraction par Soxhlet obtenu à partir des parties aériennes de *Teucrium polium* L. en utilisant différents solvants d'extraction varie de 8,47±0,79 à 23,33±0,61 % (g/g) et diminue comme suit : Méthanol > éthanol > eau > chloroforme > hexane > acétate d'éthyle. Le méthanol ayant montré le plus grand rendement d'extraction (23,33 ± 0,61 % (g/g)) par rapport aux autres solvants.

Tableau 3.Rendement de différents extraits de *Teucrium polium* L.

Référence	Type d'extraction	Rendement %
(ÖZER <i>et al.</i> , 2018)	-infusion -Décoction	n.d. n.d.
(Vahidi <i>et al.</i> , 2010)	Décoction	n.d.
(Ait Chaouche <i>et al.</i> , 2018)	Soxhlet	EMet 23,33±0,61 EEth 21,97±0,28 EE-A 8,47±0,79 EChF 10,62±1,15 E Hex 9,80±0,43 EAq 20,15 ±085
(Kerbouche <i>et al.</i> , 2013)	Soxhlet	EEth 21 ,0
(Esmaeili et Yazdanparas, 2004).	Macération	EEth 6
(Stefkov <i>et al.</i> , 2011)	Macération	n.d.
(Shahraki <i>et al.</i> ,2007)	Macération	n.d.
(Sharififar <i>et al.</i> , 2009)	Percolation	Ether de pétrole (11,8 g, 5,9 %) EChl (7,4g, 3,7 %) EMet (29,8 g, 14,9 %) EAq (16 g, 8%).

EMet: Extrait métnolique ,**EEth** : extrait éthanoïque ; **EA-E:**Acétate d'éthyle ;**EChl:** Extrait de chloroforme;**EHex** : extrait d'hexane ; **EAq** : extrait aqueuse; **n.d.:** non déterminer

Ces résultats sont en accord avec Sharififar *et al.*(2009) qui ont utilisés la percolation pour extraire la matière végétale avec de l'éther de pétrole, du chloroforme, du méthanol et de l'eau, successivement. Après évaporation du solvant l'éther de pétrole a donné (11,8 g, 5,9 %), chloroforme (7,4g, 3,7%), méthanol (29,8 g, 14,9 %) et l'extrait aqueux (16 g, 8%). L'extrait méthanoïque est toujours le solvant qui donne le plus grand rendement.

Le rendement est dépendant de plusieurs facteurs à savoir le temps d'extraction, la température, le solvant d'extraction ainsi que son volume ; pour obtenir des extraits avec un rendement élevé, il est nécessaire de sélectionner la méthode d'extraction appropriée ainsi que le choix de solvant d'extraction en fonction la solubilité du composé d'intérêt.

Les variations du pourcentage de récupération des composés extractibles sont probablement liées à la polarité du solvant d'extraction. La différence de polarités des solvants d'extraction peuvent influencer la solubilité des constituants chimiques dans un échantillon et son rendement d'extraction (Ait Chaouche *et al.*, 2018).

5.2. Teneur en polyphénols totaux et en flavonoïdes

La teneur en polyphénols totaux et en flavonoïdes obtenus par dosage colorimétrique en utilisant les différents solvants d'extraction est mentionnée dans le tableau 4.

Tableau 4. Teneur en polyphénols totaux et en flavonoïdes des différents extraits de *T. polium* L.

Référence	Méthode d'extraction	TPC (mg EAG/g)	TFC (mg QE/g)
(ÖZER <i>et al.</i> , 2018)	Décoction (mg/Kg)	2482,6	4895,6
	Infusion (mg/Kg)	1729,2	1651,4
(Ait Chaouche <i>et al.</i> , 2018)	Soxhlet	EMet 206.95±1.82 EEth 157.42±4.12 EE-A 113.23±3.54 EChl 102.36±2.83 EHex 83.7±0.15 EAq 184.84±2.25	EMet 42.16±0.61 EEth 34.46±2.24 EA-E 5.74±0.19 EChl 12.83±1.92 EHex 23.65±0.60 EAq 38.95±1.13
(Kerbouche <i>et al.</i> , 2013)	Soxhlet	EEth 175±1.4	EEth 29.3±0.7
(Bendjabeur <i>et al.</i> , 2018)	Soxhlet	EMet 108.60 ± 1.62	EMet 25.33 ± 0.29
(Chedia <i>et al.</i> , 2013)	Macération	EMet 34.7±0.01	EMet 2.67 ±0.05
(Esmaeili et Yazdanparas, 2004)	Macération	n.d.	n.d.

EMet: Extrait méthanoïque ; **EEth :** extrait éthanoïque ; **EA-E:** extrait acétat d'éthyle ; **EChl:** Extrait de chloroforme; **EHex :** extrait d'hexane ; **EAq :** extrait aqueuse; **n.d.:** non déterminer.

L'utilisation de la décoction a permis d'obtenir une quantité de flavonoïdes égal à 4895,6mg /kg poudre de plante et 2482,6 mg/kg poudre de plante de polyphénols, tandis que l'infusion a donné seulement 1651,4 mg/kg poudre de plante de polyphénols et 1729,2mg/kg poudre de plante de flavonoïdes. Donc la décoction donne un meilleur rendement en flavonoïdes par rapport à l'infusion.

Selon Ait Chaouche *et al.*(2018), la teneur totale en polyphénol dans les différents extraits testés était comprise entre 83,7±0,15mg EGA/g pour l'extrait d'hexane (EHex)et 206,95±1,82 mg GAE/g pour l'extrait méthanoïque (EMe). Cette teneur diminue dans l'ordre suivant : méthanol > eau > éthanol > éthyle d'acétate > chloroforme > hexane. La teneur en flavonoïdes des extraits examinés est comprise entre 5,74 ± 0,19mg QE/g d'extrait d'éthyle acétate (EE-A) et 42,16 ± 0,61 mg QE/g d'extrait méthanoïque, et diminue dans un ordre différent de celui des polyphénols : Méthanol > eau > éthanol > hexane > chloroforme > acétate d'éthyle. Avec le méthanol présentant la meilleure teneur en flavonoïdes et l'acétate d'éthyle présentant la plus faible teneur. Ces résultats ont indiqué une grande variation des teneurs totales en polyphénols et flavonoïdes dans les différents extraits de *Teucrium polium* L. (tab4), cela pourrait être dû à la solubilité des composés phénoliques dans le solvant d'extraction utilisé. Ces constatations étaient en bon accord avec les rapports précédents de Chedia *et al.*(2013) qui montre que l'extrait méthanoïque de *T.polium* L. était plus riche en polyphénols. En effet, la teneur totale en polyphénols était de 34,7 ± 0,01 mg d'acide gallique par ml (GAE/ ml), tandis que la teneur totale en flavonoïdes était de 2,67 ± 0,05 mg d'équivalents catéchines par ml (CE/ml). Cette observation est en accord avec les études précédentes d'Esmaeili et Yazdanparas (2004), où le méthanol était toujours le solvant le plus efficace dans l'extraction des composants phénoliques des plantes. La récupération des polyphénols des matières végétales est influencée par la solubilité des composés phénoliques dans le solvant utilisé pour le processus d'extraction. Ils ont été signalés qu'avec l'augmentation de la polarité du solvant, la teneur totale en polyphénols et en flavonoïdes est augmentée dans l'extrait. Les composés phénoliques sont souvent extraits en plus grande quantité dans des solvants les plus polaires. Une justification possible serait due à la formation de complexes par une partie des composés phénoliques avec des glucides et des protéines, qui sont plus extractibles dans le méthanol que dans d'autres solvants (Ait Chaouche *et al.*, 2018).

5.3. Analyse chromatographique (HPLC)

ÖZER *et al.* (2018) ont été fait l'analyse des composants phénoliques des extraits de la décoction et de l'infusion de *T. polium* L. par Chromatographie liquide couplée au Spectrométrie de masse (LC-MS/MS). Total 20 composés ont été identifié : 9 acides phénoliques, 9 flavonoïdes et 2 des glycosides flavonoïdes ont été déterminés dans les échantillons.

Les résultats ont été donnés dans le tableau (voir Annexe 1). La décoction s'est avérée riche en flavonoïdes, et l'infusion était riche en acides phénoliques. La lutéoline-7-O-glucoside était le principal flavonoïde trouvé dans les thés de *T. polium* L. de plus, l'acide fumarique a été dosé dans un rapport élevé dans les échantillons de décoction et d'infusion (2060,1 ; 1456,2 mg/kg d'herbes séchées, respectivement). Les principaux composés et quantités ont été déterminés comme suit pour décoction ; acide fumarique (2060,1mg/kg d'herbes séchées), lutéoline-7-O-glucoside (1167,0mg/kg d'herbes séchées), lutéoline-5-O-glucoside (835,2mg/kg d'herbes séchées) ; et pélargonine ; (829,9 mg/kg d'herbes séchées). Pour l'infusion les principaux composés et quantités des échantillons étaient les suivants ; acide fumarique (1456,2 mg/kg herbes séchées), lutéoline-7-O-glucoside (431,1mg/kg herbes séchées), pélargonine (312,5mg/kg herbes séchées) et lutéoline-5-O-glucoside (278,4 mg/kg herbes séchées) .Dont Stefkov *et al.*(2011) , ont été identifiés : Les flavonoïdes lutéoline, apigénine, cirsimaritrine, cirsilineolet la diosmétine par analyse HPLC de l'extrait éthanoïque, Le cirsilinol a été identifié par isolement et identification par spectrométrie de masse et RMN.

Selon Tepe *et al.*(2010) Les constituants des échantillons identifiés par les données spectrales UV et les données spectrales MS sont présentés dans la Figure 2. Le système analytique développé a permis de séparer et d'identifier la majorité des constituants appartenant à plusieurs classes représentatives de constituants : dérivés de l'acide quinique, les glycosides de phényléthanol et les flavonoïdes.

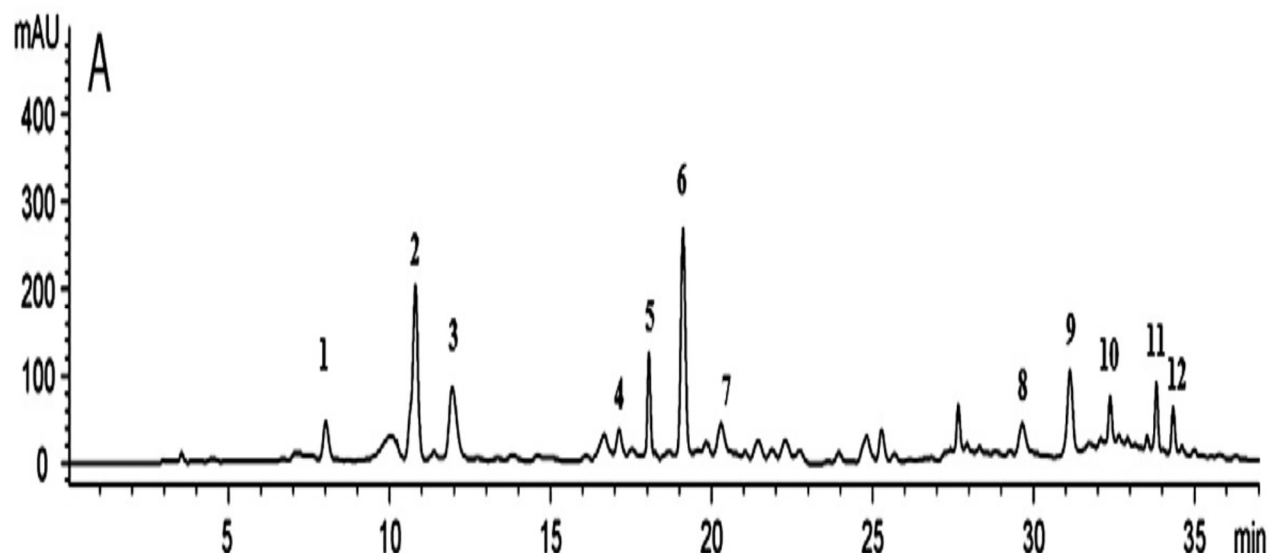


Figure 2. Chromatogramme de *T. polium* L. (A) enregistré à 330 nm. (A1 : acide caféique, A2 : glycoside phényléthanoïde, A3 : 7-O-glycoside de lutéoline, A4 : 7-O-rutinoside de lutéoline 7-O-rutinoside, A5 : Teucreside, A6 : Verbascoside, A7 : Diosmetin 7-O glycoside, A8 : apigenin 7-O-glucuronide, A9 : Tetrahydroxyflavone 7-O-glycoside, A10 : Dihydroxyméthoxyflavone glycoside, A11 : lutéoline, A12 : Diosmentin) (Tepeet *et al.*, 2010).

D'après ces résultats et le chromatogramme obtenu qui a révélé la présence de plusieurs composés, ces composés ont été précédemment signalés dans plusieurs travaux scientifiques comme celle de De Marino *et al.* (2012), qui ont trouvés une abondance en : glycoside phényléthanoïde (nouveau déterminer), poliumoside, 8-O-acétylharpagide, teucardoside ainsi que des glycosides flavonoïdes : lutéoline 7-O-rutinoside, lutéoline 7-O-néohesperidoside, lutéoline 7-O-glucoside, et lutéoline 40-O-glucoside. Glycosides diéterpénoïdes néo-clérodane teulamifine et teusalvine. Les structures des composés naturels isolés sont présentées dans la figure (voir Annexe 2).

Donc on constate que les flavonoïdes glycosides et leurs dérivés étaient les principaux constituants des extraits.

5.4. Activité antioxydants

La capacité antioxydants *in vitro* de tous les extraits de *Teucrium polium* L. a été évaluée par les tests suivants : DPPH, blanchiment du β -carotène et de pouvoir réducteur avec le hydroxytoluène butylé (BHT), hydroxyanisole butylé(BHA) et le Trolox comme standards positif. Les résultats sont montrés dans le tableau 5.

Tableau 5.Résultats de l'activité antioxydants *in vitro* de différnts extraits de *Teucrium polium* L.

Référence	DPPH IC ₅₀ (mg/l)	FRAP (µg/ml)	B-carotène IC ₅₀ (µg/ml)
(Ait Chaouche <i>et al.</i> , 2018)	EMeth 6.77±0.15 EEth 8.01±0.069 EE-A 8.02±0.07 EChl 8.61±0.32 EHex 9.90±0.04 EAq 8.37±0.28 BHT 27.99±0.0	Figure 3	/
	DPPH(µg/ml)		
(Bendjabeur <i>et al.</i> , 2018)	EEth 47.45 ± 0.29 BHT 22.32 ± 1.19	EEth 76.35 ± 2.01 BHT 61.67 ± 0.4 A A 9.01 ± 1.46	EEth 44.04 ± 0.67 Trolox 1.00 ± 0.02 BHT 1.03±0.01
			Zone moyenne d'inhibition (mm)
(Sharififar <i>et al.</i> , 2009)	EP-EP 73.2 ± 6.3 EChl 85.4 ± 7.8 EMet 20.1 ± 1.7 EAq 40.6 ± 4.0 BHT 18.3 ± 1.9	/	EP-EP 9.2 ± 0.7 EChlo 5.1 ± 0.6 EMet 25.8 ± 1.2 EAq 19.2± 0.8 BHT 28.1 ± 2.3

IC₅₀ :cocentration inhibitrice à 50 % ;**EMet**: Extrait méthanoïque ,**EEth** : extrait éthanolique ; **EA-E**:extrait acétate d'éthyle ;**EChlo**: Extrait de chloroforme;**EHex** : extrait d'hexane ; **EAq** : extrait aqueuse; **BHT** :hydroxytoluène butylé. **AA** : acide ascorpique .

Tableau 6.inhibition (%) du DPPH des extrait , du BHA et du BHT.

	2 µl	5 µl	10 µl	20 µl
Infusion	43.5±18.2	63.9±0.8	61.8±3.0	62.6±0.8
Décoction	64.0±0.6	65.3±0.7	63.9±0.5	61.9±0.8
BHA	22.7±2.1	30.9±4.1	48.2±3.9	62.4±2.9
BHT	73.1±2.6	77.7±0.7	78.8±0.8	80.8±1.6

5.4.1. Activité anti-radicalaire

La capacité de piégeage des radicaux libres DPPH des six extraits testés utilisé par Ait Chaouche *et al.* (2018) sont présentées dans la Figure 3. Tous les extraits examinés étaient capables de réduire le radical libre DPPH d'une manière dose dépendante en raison du don d'un atome d'hydrogène. Les valeurs IC₅₀ (concentration requise pour une inhibition de 50 %) de chaque extrait sont présentées dans le tableau 5 ; Une valeur IC₅₀ plus faible indique une capacité de piégeage plus élevée des extraits. Tous les extraits de *Teucrium polium* L. Ont révélé différentes capacités de piégeage du DPPH, avec des valeurs d'IC₅₀ comprises entre 6,77±0,15mg/l pour l'extrait méthanoïque et 9,90±0,04mg/l pour l'extrait d'hexane. La capacité de piégeage du DPPH des extraits testés à diminuer dans l'ordre suivant : méthanol > éthanol > acétate d'éthyle > eau > chloroforme > hexane. Tous les extraits examinés ont montré une capacité de piégeage plus élevée que le standard synthétique hydroxytoluène butylé(BHT) (IC₅₀ = 27,99mg/l). ÖZER *et al.* (2018) trouve aussi que tous les échantions de l'infusion et décoction ont une bonne activité, sauf les échantillons d'infusion à un volume de 2 µL (tab 6).

L'extrait méthanoïque a montré la plus grande capacité de piégeage du radical DPPH avec une valeur IC₅₀ de 6,77±0,15mg/l (Ait Chaouche *et al.*, 2018). Ces résultats étaient en accord avec ceux trouvés par Sharififar *et al.* (2009), ou l'extrait méthanoïque a été capable de réduire le radical libre stable DPPH avec un IC₅₀ de 20,1 ± 1,7 lg/ml, presque proche du hydroxyanisole butylé(BHT) (IC₅₀ de 18,3 ± 1,9 lg/ml). Bendjabeur *et al.* (2018), à trouver aussi une bonne capacité pour l'extrait éthanoïque(EEth) avec une valeur IC₅₀ de 47,45±0.29 µg/ml contre le BHT 22,32± 1,19µg/ml.

Les flavonoïdes isolés de cet extrait comme la rutine et l'apigénine sont également des antioxydants actifs (IC₅₀ de 23,7 ± 1,9 et 30,3 ± 2,1 µg/ml, respectivement) (voir Annexe 3). Le mécanisme de la réaction entre l'antioxydants et le DPPH dépend de la conformation structurelle de l'antioxydants. Certains composés réagissent très rapidement avec le DPPH, en réduisant un nombre de molécules de DPPH égal au nombre de groupes hydroxyle. L'activité de piégeage des radicaux libres des flavonoïdes dépend de la présence de groupes OH libres, en particulier de groupes 3-OH. Les flavonoïdes avec un 3-OH et avec des groupes catéchol sont rapportés 10 fois plus puissants que le catéchol correspondant et que les flavonoïdes 3-OH libres (Sharififar *et al.*, 2009).

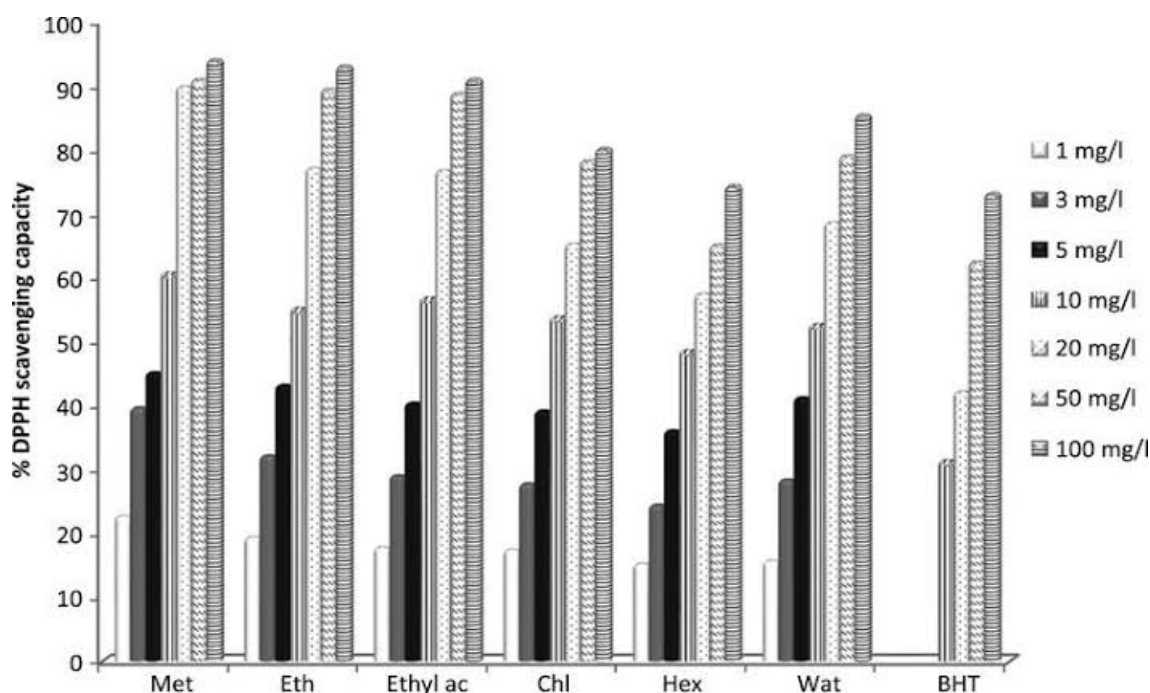


Figure 3. Capacité de piégeage des radicaux DPPH des extraits de *Teucrium polium* L. **EMet** : extrait méthanoïque, **EEth** : extrait éthanoïque, **EA-E**: extrait Acétate d'éthyle, **EChl** :extrait de Chloroforme, **EHex** : extrait d'Hexane ; **EAq** : extrait aqueuse .

5.4.2. Pouvoir réducteur (FRAP) et blanchiment du β -carotène

Dans le test du pouvoir réducteur, la présence d'antioxydants dans les extraits de plantes provoque la réduction du fer ferrique (Fe^{3+}) en fer ferreux (Fe^{2+}) en cédant un électron. Les capacités réductrices de différents extraits de *Teucrium polium* L. sont montrées dans la Figure 4. Tous les extraits examinés ont montré une bonne capacité de réduire les ions de fer. Le pouvoir réducteur ferrique augmente avec l'augmentation de la concentration de l'extrait. La capacité antioxydants des extraits examinés par le test du pouvoir réducteur peut être classée dans l'ordre suivant : méthanol > chloroforme > éthanol > acétate d'éthyle > hexane > eau. Ces résultats rapportent que l'extrait méthanoïque possède un pouvoir réducteur plus élevé que les autres extraits et le standard BHT (figure 4) (Ait Chaouche *et al.*, 2018).

L'inhibition de la peroxydation lipidique par l'extrait éthanoïque (EEth) de *T. polium* L. a été évaluée par le test non enzymatique de blanchiment de β -carotène (oxydation couplée du β -carotène et de l'acide linoléique). Le mécanisme impliqué dans cette méthode est un phénomène médié par les radicaux libres résultant des hydroperoxydes générés par l'oxydation de l'acide

linoléique. En l'absence d'antioxydants, le β -carotène est attaqué par le radical libre de l'acide linoléique et subit une décoloration rapide résultant de la perte de ses doubles liaisons.

Bendjabeur *et al.*, 2018 ont été trouvé que tous l'échantillon testé a montré des niveaux de capacités de don d'électrons ($IC_{50} = 76.35 \pm 2.01 \mu\text{g/ml}$) qui été beaucoup inférieur à celui de l'acide ascorbique ($9.01 \pm 1.46 \mu\text{g/ml}$) qui est bien connu comme le réducteur le plus actif, avec une activité similaire à celle du BHT ($61.67 \pm 0.4 \mu\text{g/ml}$).

Dans l'étude de Sharififar *et al.* (2009), l'extrait méthanolique, rutine, apigénine et la 30,6-diméthoxyapigénine ont été capables d'inhiber la décoloration du bêta-carotène avec des inhibitions de $25,8 \pm 1,2$; $26,7 \pm 1,9$; $27,4 \pm 2,2$ et $20,2 \pm 2,2$ mm de zone moyenne de rétention de la couleur respectivement (Tab 5). Les résultats de l'effet antioxydants de différents échantillons de la plante sur l'autoxydation de l'acide linoléique sont présentés dans les Figure 5 et 6. Tous les échantillons testés ont montré une activité antioxydants dans ce système. L'extrait méthanoïque, la rutine et l'apigénine ont présenté la plus grande inhibition de la peroxydation lipidique.

L'inhibition de la peroxydation lipidique par les antioxydants peut être due à leur capacité à piéger les radicaux libres. Les piègeurs de radicaux peuvent réagir directement et éteindre les radicaux peroxydes pour mettre fin à la réaction en chaîne de la peroxydation lipidique. Les différences de solubilité des flavonoïdes, à la fois aglycones, glycosides et des dérivés méthyles, dans un système micellaire eau-lipide peuvent influencer les résultats obtenus par ce test. Parmi les échantillons testés, l'extrait de méthanol a montré l'activité antioxydants la plus grande, ce qui peut être attribué aux effets antioxydants collectifs d'autres flavonoïdes présents ou des autres composés tels que les acides phénoliques ou les iridoïdes qui peuvent potentialiser les activités antioxydants. Ces métabolites secondaires ont été signalés dans cette plante. La présence de la rutine et de l'apigénine peut expliquer l'effet antioxydants élevé de l'extrait méthanoïque de la plante. L'activité antioxydants de ces deux flavonoïdes a été précédemment rapportée.

Les résultats de cette étude ont démontré que le type de solvant utilisé affecte significativement l'efficacité de l'extraction des composés bioactifs et le pouvoir antioxydants des parties aériennes de *Teucrium polium* L. Les variations du contenu en composés phénoliques et de la capacité antioxydants entre les extraits étaient probablement liées à la polarité du solvant d'extraction. Tous les extraits examinés contenaient des teneurs appréciables en composés phénoliques et flavonoïdes totaux et en composés antioxydants mais l'extrait méthanoïque s'est avéré avoir la plus forte capacité antioxydants lorsqu'il a été évalué par les tests DPPH, β -carotène et le pouvoir réducteur (Ait Chaouche *et al.*, 2018).

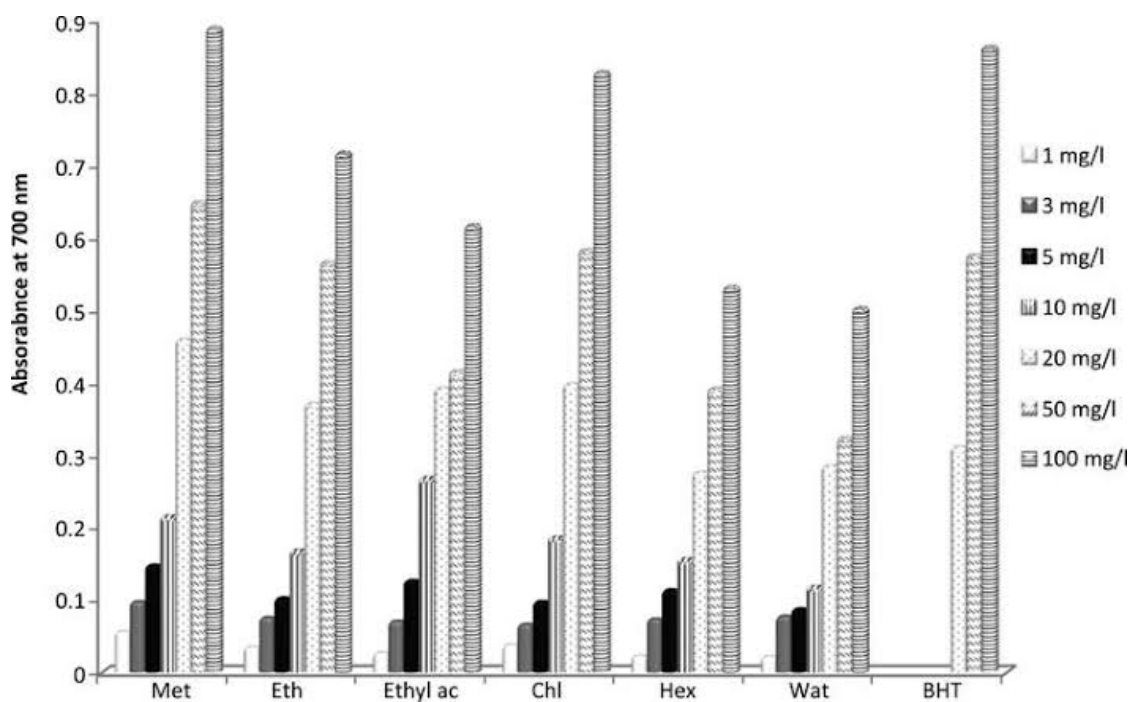


Figure 4. Pouvoir réducteur des extraits de *Teucrium polium* L. **EMet** : extrait méthanoïque, **Eth**: extrait éthanoïque, **EA-E**: extrait Acétate d'éthyle, **EChl** : extrait de Chloroforme, **Hex** : extrait d'Hexane, **EAq**: extrait aqueuse

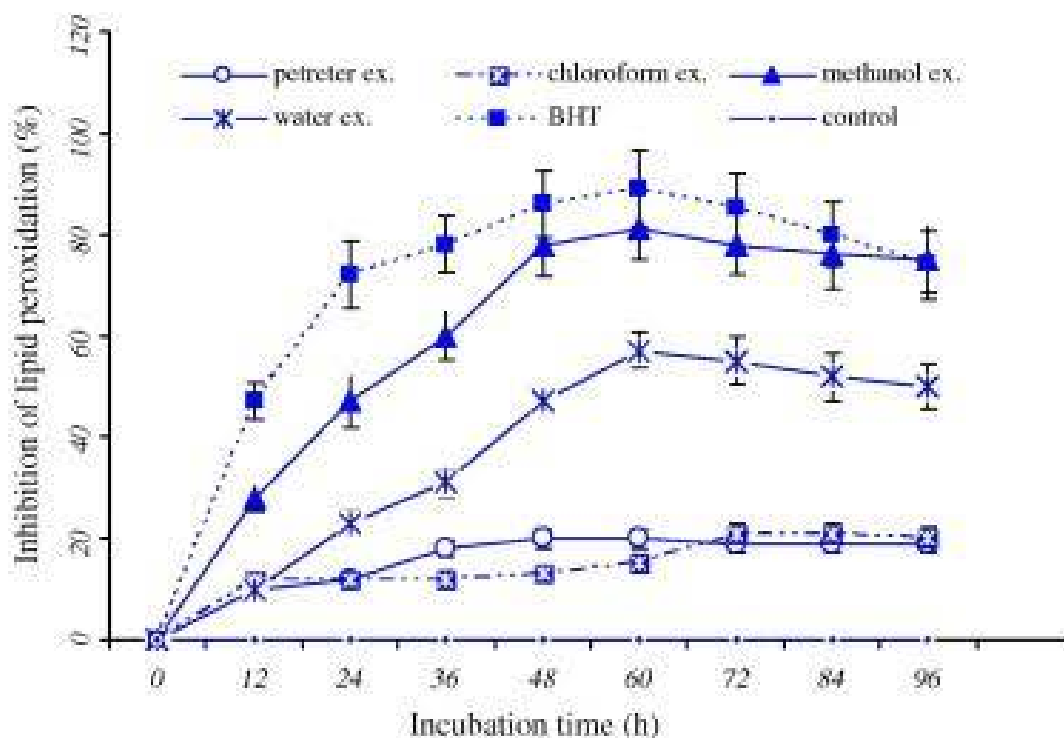


Figure 5. Activité antioxydants de divers extraits de *T. polium L.* (FRAP).

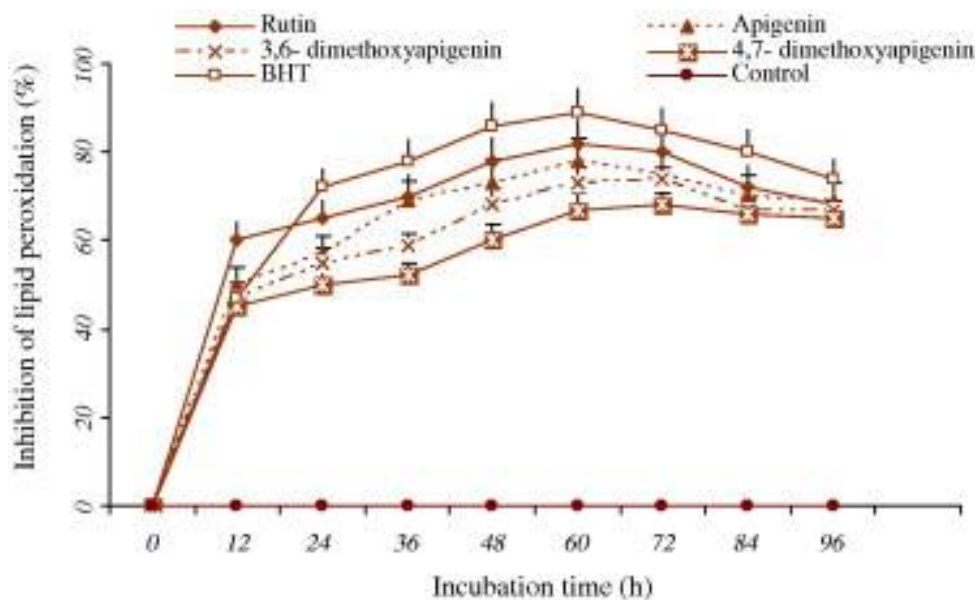


Figure 6. Activité antioxydants des flavonoides isolés de l'extrait méthanolique de *T. polium L.*

5.5. Activité antidiabétique *in vivo*

5.5.1. Effet hypoglycémiant

Ardestani *et al.* (2008) ont montré qu'avant l'administration de streptozotocine (STZ), le niveau initial de glucose sanguin ne différait pas entre les groupes, alors que 1 semaine après l'administration de streptozotocine (STZ) les niveaux de glucose sanguin étaient significativement plus élevés chez les rats diabétiques. Après 30 jours les niveaux de glucose sanguin des rats traités par la plante étaient significativement plus faibles (98 mg/dL) que dans le groupe diabétique et (294mg/dL).

Dont Esmaeili et Yazdanparas (2004), après 6 semaines d'administration orale d'extrait de *T. polium* L., les niveaux de glucose sanguin des rats traités ($6,2 \pm 1,64$ mmol/L) étaient significativement inférieurs à ceux des témoins et ($27,7 \pm 5,1$ mmol/L). En revanche, la glycémie des rats diabétiques non traités est restée élevée pendant toute la période expérimentale alors que la glycémie du groupe sain est restée inchangée au cours de l'étude.

Ces résultats ont été confirmés l'étude de Tabatabaie *et al.* (2017) qui au terme d'un traitement de 6 semaines, l'hyperglycémie provoqué par voie orale (HGPO) a été réalisée sur les rats à jeun depuis 12 heures par administration intragastrique de glucose (2 g/kg). Les résultats sont présentés dans la Figure 7, l'injection intrapéritonéale de streptozotocine (STZ) a induit une augmentation remarquable des niveaux de la glycémie à jeun (FBG) tout au long des 42 jours de l'expérience, allant de 300 à 450 mg/dL. L'administration orale de l'extrait de *T. polium* L. a provoqué une réduction significative du niveau de la glycémie à jeun (FBG) de 32% au jour 28, comparé au groupe control diabétique (DC). A la fin du traitement, le groupe diabétique traité par l'extrait (TP) a montré une réduction du niveau de la glycémie proche des rats normaux. La réduction était de 63% par rapport au groupe control diabétique (DC). Ces données montrent clairement que l'extrait de *T. polium* L. a une activité anti-hyperglycémique chez les rats diabétiques induits par le (STZ) et une fonction régulatrice de glycémie similaire au glibenclamide.

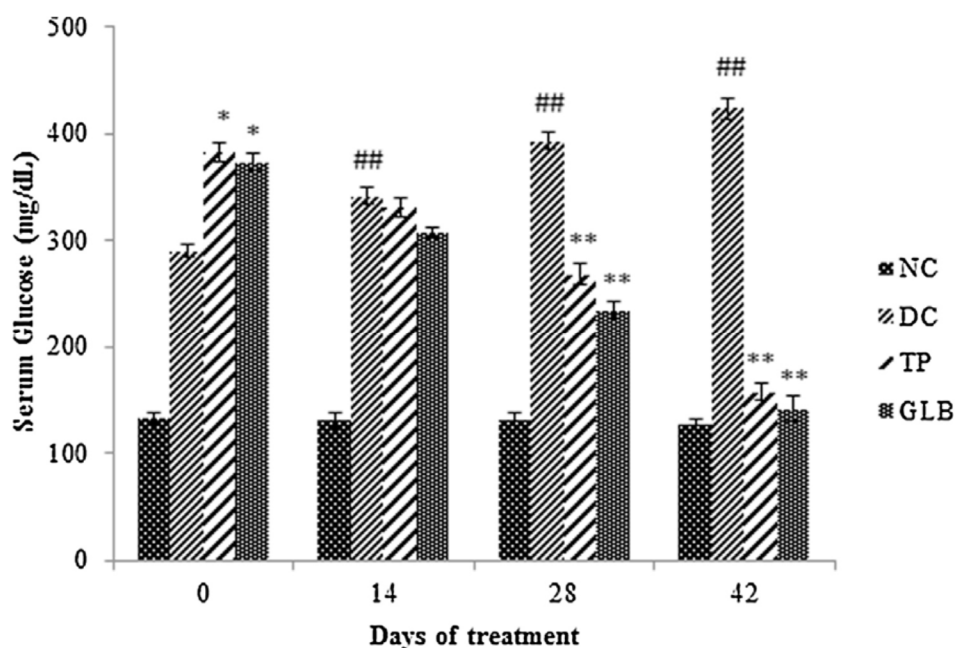


Figure 7. Glycémie à jeun des rats diabétiques induits par le (STZ). NC : contrôle normal ; DC : contrôle diabétique ; TP : rats diabétiques traités avec un extrait de *T. polium* 0,5 g/kg ; GLB : rats diabétiques traités avec du glibenclamide 600 µg/kg.

La figure 7 montre l'épreuve d'hyperglycémique provoquée par voie orale (HGPO) chez les rats diabétiques. Le traitement avec l'extrait de *T. polium* L. a provoqué une diminution graduelle de la glycémie après 30 minutes. A la fin du test (120 min après l'ingestion de glucose), une réduction de 64% a été obtenue chez les rats du groupe testé par rapport au groupe control normal (NC). Selon les résultats, le traitement avec *T. polium* L. et le glibenclamide ont eu une fonction régulatrice similaire sur la glycémie.

5.5.2. Effet sur les paramètres séro-biochimiques liés au diabète

Selon Vahidi *et al.* (2010), Les données de l'analyse biochimique sont résumées dans le tableau 6, on observe des changements significatifs entre les rats sains et les rats diabétiques dans tous les paramètres biochimiques mesurés, sauf pour la créatinine (CRT). Après 2 Semaines de procédure expérimentale, chez les rats traités avec 4% de *T. polium* L. les niveaux de glucose et de triglycérides(TG) dans le sang étaient significativement inférieurs à ceux du groupe témoin diabétique ($216 \pm 84,7$ mg/dl contre $557 \pm 149,8$ mg/dl et $17,8 \pm 4,8$ contre $41,4 \pm 16,9$ mg/dl, respectivement). Tandis que le phosphatase alcaline (PAL) sérique était significativement augmenté chez les animaux ayant reçu 2 % et 4 % de *T. polium* L.. Mais le cholestérol total, Alanine transaminase (l'ALT), Aspartam transaminase(AST), l'urée, l'acide urique et la créatinine (CRT) n'étaient pas significativement différents après l'administration de

T. polium L. par rapport aux animaux non traités. Les résultats ont également révélé que triglycérides (TG) du sérum a diminué de manière significative.

Ces résultats confirment le rapport précédent mais sont en désaccord avec Shahraki *et al.*(2007) qui ont montré que l'extrait de *T. polium* L.a conduit à une augmentation des TG et du cholestérol.

D'après les résultats de Tabatabaie *et al.*(2017) qui montre que à la fin de l'expérience, les niveaux de cholestérol(TC) , TG, LDL et VLDL sériques étaient considérablement élevés alors que le HDL était réduit dans le groupe control diabétique (DC), par rapport au groupe control normal (NC). Les taux de TC/HDL et Les rapports LDL/HDL (marqueurs de dyslipidémie) du groupe (DC) ont augmenté de manière significative après 28 jours. En revanche le traitement avec l'extrait de *T. polium* L. a contrecarré de manière significative ces anomalies. Ainsi, l'extrait de *T. polium* L. peut être classé comme un puissant régulateur métabolique en raison de son impact remarquable sur les niveaux de lipides et de glucose sanguins proches de la normale.

Tableau 6. Comparaison des paramètres biochimiques entre les différents groupes des rats (Vahidi *et al.*, 2010)

Paramètre (mg/dl)	Rats sains	Control diabétique	Rats traité par extrait de 2%	Rats traité par extrait de 4%
Gly	97 ± 14	557 ± 148.8	435.5 ± 55	216 ± 84.7
CT	57 ± 24	67 ± 13.9	85 ± 15.4	66 ± 8.6
TG	74 ± 16	41 ± 16.9	44 ± 18.9	18 ± 4.8
Urée	39 ± 9	117 ± 35	123 ± 10.2	130 ± 11
A U	0.06 ± 0.01	1.17 ± 0.7	1.75 ± 0.8	1.22 ± 0.4
CRT	1 ± 0.2	1.02 ± 0.19	120 ± 67.3	101 ± 17.4
ALT	43 ± 15	148 ± 127	134 ± 25.3	168 ± 35.4
AST	106 ± 32	411 ± 312	1437 ± 216.9	1707 ± 142.4
PAL	182 ± 21	1082 ± 270	1.22 ± 0.05	1.1 ± 0.08

Gly : glycémie ; **CT**: cholestérol total ; **TG** :triglyciride ; **A U** : Acide urique ; **CRT** :créatinine **ALT**: Alanine transaminase; **AST**: Aspartam transaminase; **PAL**: phosphatase alcaline.

5.5.3. Effet sur les paramètres liés au stress oxydant chez les rats diabétiques

Pour étudier l'effet de l'extrait brut sur la fonction pancréatique des rats diabétiques, la peroxydation des lipides, les capacités du système de défense antioxydants et l'oxydation des protéines ont été évaluées selon les méthodes appropriées rapportées dans Matériaux et Méthodes.

Les résultats obtenus par Tabatabaie *et al.*(2017) ont montré que le traitement avec l'extrait de *T. polium* L. a fait une réduction de 64% de la teneur en malondialdéhyde(MDA), par rapport aux rats diabétiques. De plus, l'extrait de *T. polium* L. a augmenté les contenus de superoxyde dismutase (SOD), catalase (CAT) et Glutathion réduit(GSH) pancréatiques : 45%, 52% et 105%, respectivement ,par rapport au groupe DC. Ces données sont les mêmes que celles rapportées par Ardestani *et al.*(2008) (Tableau 7) et qui évalue en plus le niveau de : oxyde nitrique(NO) sérique des rats diabétiques traités par la plante, après 30 jours de traitement, ces niveaux était significativement plus faible et similaire au niveau des rats sains normaux, par rapport aux rats diabétiques non traités. D'autre part, le tableau indique également que les niveaux de protéine carbonyle(PCO) et de protéine d'oxydation avancée (AOPP) pancréatique sont significativement plus élevés chez les rats diabétiques que chez les rats de contrôle normaux .Le traitement avec l'extrait de la plante a permis de réduire les niveaux de PCO et d'AOPP de 48% et 56%, respectivement, par rapport aux rats diabétiques non traités.

Sur la base de ces données, on peut conclure que l'extrait de *T. polium* Protège contre les dommages pancréatiques induits par le stress oxydant.

Tableau 7.Résultats du dosage des paramètres liés au stress oxydants.

	Groupe		
	Normal	Diabétique	Traité
MDA (nmol/mg of protein)	0.335 ± 0.030	0.675 ±0.080	0.458 ±0.040
GSH (mg/100 g of tissue)	15.930± 1.210	6.610 ±0.590	13.580 ± 0.870
CAT (k/second/mg of protein)	0.047± 0.002	0.025 ± 0.002	0.038 ± 0.003
SOD (U/mg of protein)	4.110 ± 0.090	2.210 ± 0.050	3.220 ± 0.200
Serum NO (_mol/L)	5.270 ± 0.900	9.150 ±0.400	5.050 ± 0.500

MDA : malondialdéhyde ; **GSH** : Glutathion réduit ; **CAT** : catalase ; **SOD** superoxyde dismutase ;**NO** :oxyde nitrique.

5.5.4. Mécanisme d'action de *Teucrium polium* L.

De nombreuses études *in vitro* et *in vivo* ont montré que l'extrait de *Teucrium polium* L. possède de puissantes propriétés antioxydants. Ces activités peuvent être attribuées à ses constituants, en particulier les composés phénoliques, tels que les flavonoïdes, les tanins et les acides phénoliques.

Les dommages oxydatifs ont un rôle important dans l'initiation et la progression de nombreux troubles chroniques comme le diabète. Plusieurs études ont montré que le développement des complications du diabète sucré (DS) est attribué à la production incontrôlée d'espèces réactives de l'oxygène. Ce dernier est caractérisé par le dysfonctionnement des cellules β pancréatiques, et donc une perturbation dans la sécrétion d'insuline et dans la voie de transport du glucose. Il a été rapporté que les extraits *T. polium* L. pourraient atténuer les dommages oxydatifs, réduire la peroxydation lipidique du pancréas et augmenté les activités du superoxy dismutase (SOD), de la catalase (CAT) et a augmenté les teneurs en glutathion réduit (GSH). De plus, les niveaux d'oxyde nitrique (NO) ont également été restaurés au niveau du groupe non diabétique par traitement avec l'extrait (Ardestani *et al.*, 2008). L'extrait de la plante a aussi un effet sur la régénération des cellules β ce qui normalise la libération d'insuline et le métabolisme périphérique qui abaisse la glycémie.

Plusieurs études ont montré que les extraits *T. polium* L. possèdent une efficacité anti-glucosidase et anti- α -amylase (Asghari *et al.*, 2020).

Conclusion

Conclusion

Dans le but de la valorisation de la plante *Teucrium polium* L. nous avons collecté des études au sujet de l'effet antioxydants et antidiabétique.

L'analyse des résultats des 16 publications sélectionnées dans la présente étude, démontre, que méthanol est le meilleur solvant pour l'extraire des composés bioactifs de cette plante. Les différents extraits obtenus par les différentes méthodes d'extraction ont montré une bonne activité antioxydants, L'analyse quantitative de différents extraits de plante montre leur richesse en polyphénols et flavonoïdes, dont l'analyse qualitative par HPLC a montré la présence de grande quantité en : Les flavonoïdes lutéoline, apigénine, cirsimarine, cirsilineolet la diosmétine.

L'activité antioxydants *in vitro* des extraits de *Teucrium polium* L. reflète un potentiel antioxydants important. Les résultats obtenus est différent d'un test a un autre et d'un extrait a un autre ; Le meilleur résultat a été obtenu avec l'extrait méthanoïque qui a montré, selon sa grande teneur en polyphénols la plus grande puissance antioxydants (DPPH, β - carotène, FRAP).

L'évaluation de l'activité antidiabétique *in vivo* et *in vitro* a montré un effet hypoglycémiant puissant sur les rats diabétiques en diminuant le taux plasmatique de glucose, stimulant la sécrétion d'insuline dans les ilots pancréatique, réduisant les déséquilibres lipidiques. En plus, le traitement des rats diabétiques par l'extrait aqueuse induit une amélioration importante dans tous les paramètres séro-biochimiques avec la réduction de taux des indicateurs du stress oxydant et au même temps il augmente les capacités de défense antioxydant. En effet, la régénération des cellules β pancréatiques dysfonctionné par l'effet de STZ au cours la provoquant de diabète.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

1. Ait Chaouche F.S. , Mouhoucheb F. , Hazzita M. 2018 .Antioxidant capacity and total phenol and flavonoid contents of *Teucrium polium* L.grown in Algeria. *Mediterranean Journal of Nutrition and Metabolism*.
2. Ammar S., Noui H. ,Djamel S.,Madani S. , Maggi F. , Bruno M.2020. Essential oils from three Algerian medicinal plants (*Artemisia campestris* ,*Pulicaria arabica* , and *Saccocalyx satureioides*)as new botanical insecticides ?. *Environmental Science and Pollution Research*.
3. Ardestani A., Yazdanparast R., Jamshidi Sh. 2008.Therapeutic Effect of *Teucrium polium* Extract on Oxidative Stress in Pancreas of Streptozotosin-Induced Diabetic Rats. *Journal of Medicinal Food* 11(3) : 525-532.
4. Asghari A. A., Mokhtari-Zaer A., Niazmand S., Mc Entee K., Mahmoudabady M.2020. Anti-diabetic properties and bioactive compounds of *Teucrium polium* L.*Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* 10(10) : 433-441.
5. Bahramikia S., Yazdanparast R . 2012. Phytochemistry and Medicinal Properties of *Teucrium polium* L. (Lamiaceae).*PHYTOTHERAPY RESEARCH*.
6. Bendif H., Lazalic M. , Souilahd N., Miarae M.D, Kazernavièiutef R.2018. Supercritical CO₂ extracts and essential oils from chemical *Teucrium polium* L. growing in Algeria: chemical composition and antioxidant activity. *Journal of Essential Oil Research*.
7. Bendjabeur S., Benchabane O.,Bensouici Ch. ,Hazzit M.,Baaliouamer A.,Bitam A. 2018.Antioxidant and anticholinesterase activity of essential oils and ethanol extracts of *thymus algeriensis* and *Teucrium polium* from Algeria. *Journal of food Measurement and Characterization* 12 (2018): 2278-2288.
8. Chabane S., Boudjelal , Napoli E. , Benkhaled A. ,Ruberto G. 2020. Phytochemical composition, antioxidant and wound healing activities of*Teucrium polium* subsp. *capitatum* (L.) Briq. essential oil. *Journal of Essential Researche*.
9. Chedia A ., Ghazghazi H. , Brahim H., Abderrazak M. 2013.*Teucrium polium* L Methanolic ExtractSecondary Metabolite, antioxidant and Antibacterial Activities of. *International Journal of Agronomy and Plant Production* 4(8) : 1790-1797.
10. De Marino S.,Festa C. , Zollo F. , Incollingo F.,Raimo G. 2012. Antioxidant activity of phenolic and phenylethanoid glycosides from *Teucrium polium* L.*Food Chemistry* 133(2012): 21-28.

11. Denys, Ch.J. 2013. *Antioxidant Properties of Spices, Herbs and Other Sources*. Springer,
12. Djabou N., Muselli A., Allali H., Dib M.EI- A., Tabti A., Varesi L., Costa J. 2012. Chemical and genetic diversity of two Mediterranean subspecies of *Teucrium polium* L. *Phytochemistry* 83(2012) : 51–62.
13. Esmaeili M.E., Yazdanparast R. 2004. Hypoglycaemic effect of *Teucrium polium*: studies with rat pancreatic islets. *Journal of Ethnopharmacology*, 27-30.
14. Fertout-Mouri N., Latrèche A., Mehdadi Z., Toumi-Bénali F., Khaled M.B. 2017. Composition chimique et activité antibactérienne de l'huile essentielle. *Phytothérapie* 15 (2017): 346-353.
15. Kabouche A., Kabouche Z., Ghannadi A., Sajjadi S.E. 2011. Analysis of the Essential Oil of *Teucrium polium* ssp. *aurasiacum* from Algeria. *Journal of Essential Oil Research*, 44-46.
16. Kerbouche L., Hazzit M., Ferhat M.A., Baaliouamer A., Miguel M.G. 2013. Biological Activities of Essential Oils and Ethanol. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 1197 - 1208.
17. Krache I., Boussoualim N., Trabsa H., Ouhida S. 2018. Antioxidant, Antihemolytic, Antihyperuricemic, Antiinflammatory. *Annual Research & Review in Biology*.
18. Li H-B., Wong Ch-Ch, Cheng Ka-W., Chen F. 2008. Antioxidant properties in vitro and total phenolic contents in methanol extracts from medicinal plants. *LWT-Food Science and Technology* 41(2008): 380-395.
19. Maizi Y., Meddah B., Meddah A.T.T., Hernandez J.A.G. 2019. Seasonal Variation in Essential Oil Content, Chemical Composition and Antioxidant Activity of *Teucrium polium* L. Growing in Mascara (North West of Algeria). *Journal of Applied Biotechnology Reports* 6(4) : 151-157.
20. Meguellati H., Ouafi S., Saada S., Djemouai N. 2019. Evaluation of acute, subacute oral toxicity and wound healing activity of mother plant and callus of *Teucrium polium* L. subsp. *geyrii* Maire from Algeria. *South African Journal of Botany* 127(2019): 25-34.
21. N.Cano, D. Barnoud, S.M. Schneider, M.P. Vasson, M. Hasselmann, X. Lerverve. 2006. *Traité de nutrition artificielle de l'adulte*. Édité par Springer Science and Business.
22. Naga, B. R. M. Khateib, A. H. A. Ahmed. 2019. The Effect of *Teucrium Polium* Extract on Diabetic Nephropathy in Rats. *Journal of Specific Education and Technology (Scientific and applied research)*, 493-503.

23. ÖZER Z., KILIÇ T.,ÇARIKÇI S., YILMAZ H. 2018. Investigation of phenolic compounds and antioxidant activity of *Teucrium polium* L. decoction and infusion. *Arastırma Makalesi* 20(1): 212-218.
24. Radenković M., Stojanović M., Prostran M. 2015 . Experimental diabetes induced by alloxan and streptozotocin: The current state of the art. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*.
25. Rahmouni F., Hamdaoui L. , Rebai T. 2017. In vivo anti-inflammatory activity of aqueous extract of *Teucrium polium* against carrageenan-induced inflammation in experimental models. *The Journal of Metabolic Diseases* , 1744-4160.
26. Shahraki M.R., Arab M.R , Mirimokaddam E.2007. The Effect of *Teucrium polium* (Calpoureh) on Liver function, Serum Lipids and Glucose in Diabetic Male Rats. *Iranian Biomedical Journal*, 65-68.
27. Sharififar F., Dehghn-Nudeh Gh. , Mirtajaldini M. 2009. Major flavonoids with antioxidant activity from *Teucrium polium* L. *Food Chemistry* 112 (2009): 885-888.
28. Stefkov G., Kulevanova S., Miova B., Kjovkarovska S.D., Mølgaard P. , Jäger A.K. ,Josefsen K. 2011 . Effects of *Teucrium polium* spp. capitatum flavonoids on the lipid and carbohydrate metabolism in rats. *Pharmaceutical Biology* 49(9) : 885-892.
29. Tabatabaie P.S., Yazdanparast R. 2017. *Teucrium polium* extract reverses symptoms of streptozotocin-induced diabetes in rats via rebalancing the Pdx1 and FoxO1 expressions. *Biomedicine Pharmacotherapy*, 1033–1039.
30. Tepe B., Degerli S. , Arslan S. , Malatyali E., Sarikurkcü C. 2010. Determination of chemical profile, antioxidant, DNA damage protection and antiamebic activities of *Teucrium polium* and *Stachys iberica*. *Fitoterapia* 82 (2011): 237–246.
31. Vahidi A.R., Dashti-Rahmatabadi M.H. , Bagheri S.M. 2010. The Effect of *Teucrium Polium* Boiled Extract in Diabetic Rats. *IRANIAN JOURNAL OF DIABETES AND OBESITY*.

Annexes

Annexes

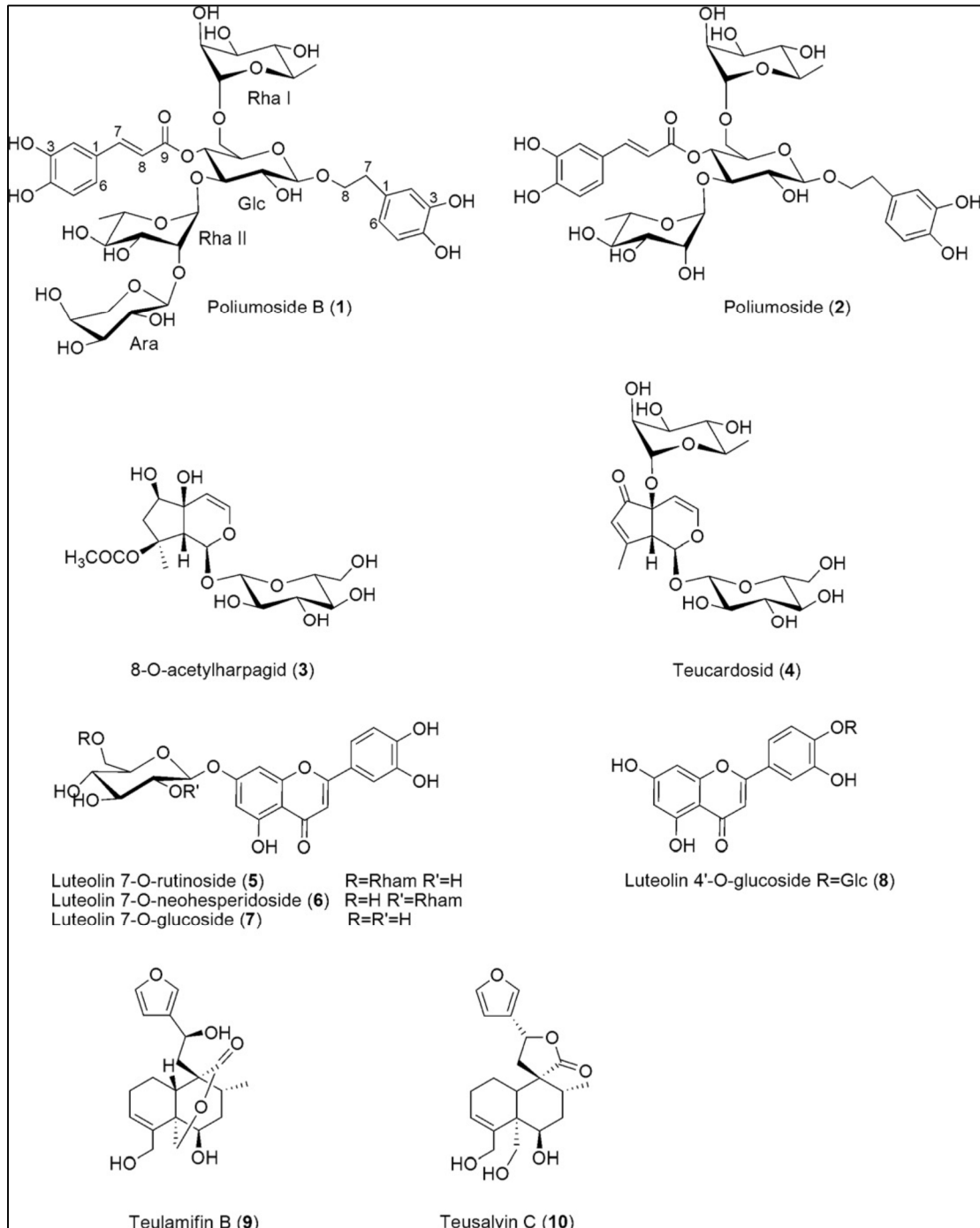
Annexe 1. Contenu phénolique de la décoction et de l'infusion de *T. polium* (ÖZER *et al.* , 2018)

	Parent ion	La fille ion	Collisionénergie (V)	Décoction	Infusion
Flavonoïdes et dérivés					
Pélargonine	271.2	121	34	829.9±84.4	312.5±15.9
Penduletine	345.2	311	25	241.4±2.5	65.3±6.6
Quercitrine	471.9	309.9	16	-	36.2±2.3
Lutéoline	285	132	30	356.4±91.5	112.6±14.5
Apigénine	269	151	22	614.0±49.5	160.4±12.9
Isorhamnétine	315	300	15	97.5±8.6	5.4±0.5
Quercétagétine-3,6-diméthyléther	345.1	329.5	16	29.9±5.6	-
lutéoline-7- O-glucoside	447	284.5	14	1167.0±118.7	431.1±21.9
lutéoline-5- O-glucoside	447	289.5	20	835.2±53.7	278.4±17.9
Kaempférol	287	152.3	30	682.9±48.2	178.3±12.6
Rutine	609	301	16	41.4±2.7	71.2±4.7
Total (mg/kg d'herbes séchées)	-	-	-	4895.6	1651.4
Acides coumariques et dérivés					
acide caféique	179	135	10	45.5±9.0	18.5±3.7
acide t-férulique	193	133	15	18.7±1.3	10.2±0.7
l'acide chlorogénique	353	191	14	23.2±3.2	23.5±3.3
acide rosmarinique	359.2	160.5	15	194.5±14.9	17.3±1.3
acide p-coumarique	163.2	118.7	14	13.9±2.1	1.2±0.9
Total (mg/kg d'herbes séchées)	-	-	-	101.3	70.7

Suite Annexe 1. Contenu phénolique de la décoction et de l'infusion de *T. polium* (ÖZER *et al.*, 2018).

Phénols simples et autres					
acide gallique	168.6	-	-	-	4.4±0.3
acide syringique	196.7	-	-	388.3±26.1	232.3±15.6
l'acide fumarique	115	-	-	2060.1±142.9	1456.2±101
pyrogallol	125	-	-	34.2±2.3	36.3±2.4
Total (mg/kg d'herbes séchées)	-	-	-	2482.6	1729.2
Curcumine*	369.3	176.9	20	-	-
				7478.9	3451.1

Annexe 2. Les structures des composés naturels isolés par (Marino *et al.*, 2012).



Annexe 3. Temps de rétention (Rt) en minutes des flavonoïdes dans les mélanges standards "1" et "2" et dans l'extrait (Sharififaret *al.*, 2009).

Composant	Standard mélange 1(RT)	Standard mélange 2 (RT)	Extrait (Rt)
Lutéoline	10.16	-	10.16
Apigénine	15.73	15.70	15.22
Cirsiliol	-	-	16.57
Diosmétine	17.13	-	17.24
Cirsimaritine	-	26.77	26.47
Cirsilinéol	-	28.40	28.17

الملخص

من أجل دراسة النشاط المضاد للأكسدة والمضاد لمرض السكري لنبته الخياطة *Teucrium polium* L. وملفها الكيميائي الحيوي، أجرينا دراسة ببلوغرافية اخترنا فيها 16 مقال علمي. يشير التحليل الكمي والنوعي لمستخلصات مختلفة لهذا النبات *T. polium* L. إلى ثراءها ب polyphénols ($206.95 \pm 1.82 \text{mgEAG/g}$) و Flavonoïdes ($42.16 \pm 0.61 \text{mgQE/g}$). أظهرت المستخلصات قوة ممتازة ضد للجذور الحرة ضد ($IC_{50}: 6.77 \pm 0.15 \text{mg/l}$) و DPPH وتنشيط جيد لبيروكسيد الدهون ($76.35 \pm 2.01 \mu\text{g/ml}$). أظهرت أيضًا تأثيرًا واضحًا جدًا في مكافحة مرض السكري في الجسم الحي. يمكن أن تعود هذه الأنشطة المختلفة إلى المركبات الفينولية المختلفة التي تم تحديدها مثل. Flavonoïdes lutéoline, apigénine, cirsimaritrine, cirsilineol et la diosmétine تؤكد الدراسة الحالية الاستخدام التقليدي لـ *Teucrium polium* كعلاج لمرض السكري.

الكلمات المفتاحية: *Teucrium polium* L., flavonoïdes , polyphénols: مضاد اكسدة , مضاد السكري.

Résumé

Dans le but d'étudier l'activité antioxydants et antidiabétique de *Teucrium polium* L. et son profile biochimique, nous avons mené une étude bibliographique dans laquelle nous avons choisis 16 publications. L'analyse quantitative et qualitative de différent extrait de *T. polium* L. indique la richesse de cette plante en polyphénols ($206.95 \pm 1.82 \text{mgEAG/g}$) et flavonoïdes ($42.16 \pm 0.61 \text{mgQE/g}$). Les extraits ont montré un excellent pouvoir anti radicalaire contre le DPPH ($IC_{50} : 6.77 \pm 0.15 \text{mg/l}$) et une bonne inhibition de la peroxydation lipidique ($76.35 \pm 2.01 \mu\text{g/ml}$). Les extraits ont aussi montré un effet antidiabétique *in vivo* très prononcé. Ces différentes activités peuvent être attribué aux différents composés phénoliques identifiés tel que : flavonoïdes lutéoline, apigénine, cirsimaritrine, cirsilineol et la diosmétine. La présente étude confirme l'usage traditionnel de *Teucrium polium* comme traitement pour le diabète.

Mots clés : *Teucrium polium* L., polyphénols, flavonoïdes, Activité antioxydants, activité antidiabétique.

Abstract

In order to study the antioxidant and antidiabetic activity of *Teucrium polium* L. and its biochemical profile, we have conducted a bibliographic study in which we have selected 16 publications. The quantitative and qualitative analysis of different extracts of *T. polium* L. indicates the richness of this plant in polyphenols ($206.95 \pm 1.82 \text{mgEAG/g}$) and flavonoids ($42.16 \pm 0.61 \text{mgQE/g}$). The extracts showed an excellent anti-radical power against DPPH ($IC_{50}: 6.77 \pm 0.15 \text{mg/l}$) and a good inhibition of lipid peroxidation ($76.35 \pm 2.01 \mu\text{g/ml}$). The extracts also showed a very pronounced antidiabetic effect *in vivo*. These different activities can be attributed to the different phenolic compounds identified such as luteolin flavonoids, apigenin, cirsimaritin, cirsilineol and diosmetin. The present study confirms the traditional use of *Teucrium polium* as a treatment for diabetes.

Keywords: *Teucrium polium* L. Polyphenols, flavonoids, antioxidant, antidiabetic.