

Ministère de L'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université SaadDahlab–Blida



Faculté des sciences de la Nature et de la Vie

Département des Sciences Agronomiques

Mémoire en vue de l'obtention du Diplôme de Master 2

Domaine : Science de la Nature et de la Vie.

Option : *Biotechnologies des Plantes Aromatiques et Médicinales et des Produits*

Naturels

Thème

**La Contribution à une formulation galénique à base
D'extrait D'une plante hypoglycémiant
(*ajuga iva .l*) Schreber**

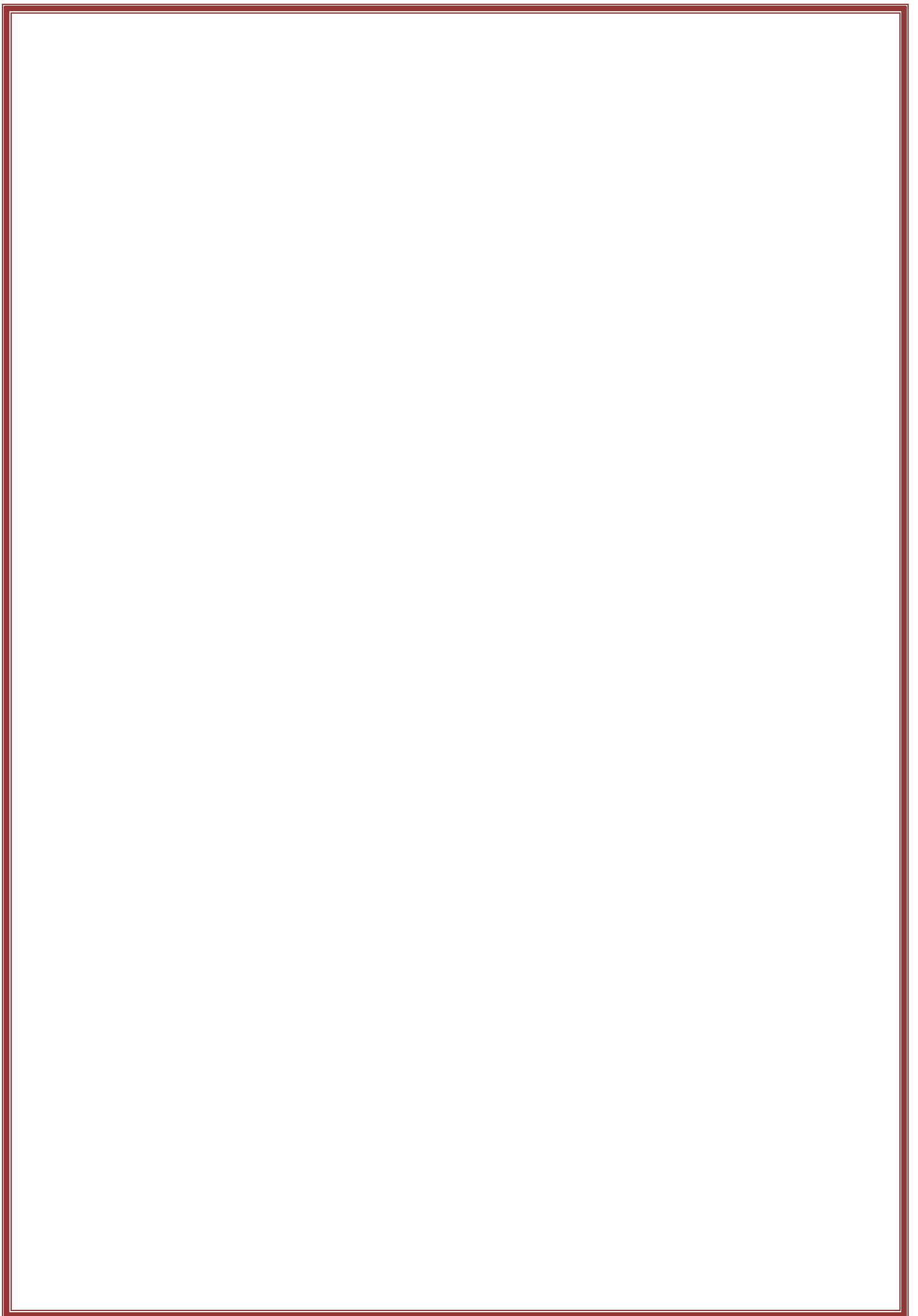
Présenté par :

AissaKhadidja

Devant le jury composé de :

M ^{me} HOUMANI Z.	Professeur	USDB	Présidente.
M ^{me} FAIDI H.	MAB	USDB	Examinatrice.
M ^{me} MOUMENE S.	MAA	USDB	Examinatrice.
M ^{me} AYACHI N.	MAA	USDB	Promotrice.

2012/2013.



Résumé

Ajuga Iva L.Schreber est utilisé en médecine traditionnelle dans le traitement du diabète. Le présent travail a porté sur l'extraction de l'extrait hydro alcoolique des polyphénols totaux de cette plante afin de l'utiliser pour l'évaluation des activités in-vitro et in-vivo qui sont respectivement l'activité antioxydante et hypoglycémiant avec la mise en forme galénique selon la technique de microencapsulation d'extrait de la plante hypoglycémiant.

L'effet antioxydant d'extrait de la plante a été évalué en utilisant le test du DPPH, les polyphénols totaux ont montré un pouvoir inhibiteur très important (98.01%), cette valeur est comparable à celle de l'acide ascorbique, d'autre part l'administration par voie orale d'extrait hydro alcoolique et de l'infusé aux lapins Albinos montre une réduction et une régulation du taux de glycémie après gavage d'une surcharge de glucose.

Mots clés : *Ajuga Iva*, polyphénols totaux, activité antioxydante, activité hypoglycémiant, microencapsulation.

Summary

Ajuga Iva L.Schreber is used in traditional medicine in the treatment of the diabetes. This work concerned the extraction of the alcoholic hydro extract of total polyphenols of this plant in order to use it for the evaluation of the activities in-vitro and in-vivo which are respectively the antioxydant activity and hypoglycémiant with the setting obviousness of the technique of microencapsulation of extract of the plant hypoglycémiant.

The antioxydant effect of extract of the plant was evaluated by using the test of the DPPH, polyphenols total showed a very important inhibiting capacity (98.01 %), this value is comparable with that of the ascorbic acid, in addition the administration by oral way of alcoholic hydro extract and of infused into the Albinos rabbits shows a reduction and a regulation of the rate of important glycemia induced by the cramming of an overload of glucose.

Key words: Total *Ajuga Iva*, polyphenols, antioxydant activity, activity hypoglycémiant, microencapsulation.L

GLOSSAIRE

Anti-inflammatoire : qui combat l'inflammation.

Antimicrobienne : qui s'oppose au développement des microorganismes.

Anthelminthique : (vermifuge) : chasse les vers intestinaux.

Dépuratif : qui purifie l'organisme en le débarrassant des toxines et des déchets organiques.

Antimitotique : qui inhibe la multiplication des cellules malades.

Antibactérienne : qui s'oppose au développement des bactéries.

Cardiotonique : qui a une action tonique sur le cœur.

Antifongique : qui empêche l'évolution des champignons ou les détruit.

Antispasmodique : qui agit contre les spasmes, les convulsions, les crampes ...

Tonique : qui stimule de façon durable certains organes, ou l'organisme dans son ensemble, reconstituant.

Fébrifuge : qui combat la fièvre, qui la fait baisser.

Antiseptique : qui détruit les microbes et empêche leur prolifération.

Astringente : qui resserre les tissus, modère les sécrétions, assèche les écoulements et facilite la cicatrisation.

Antirhumatismale : qui calme les douleurs rhumatismales.

Hypoglycémiante : qui fait baisser le taux de sucre du sang.

LISTE DES FIGURES

Figure 01 : Image d'Ajuga Iva.....	07
Figure 02 : Structure de l'insuline.....	12
Figure 03 : Structure de glucagon.....	13
Figure 04 : Morphologie de particules obtenues par microencapsulation.....	15
Figure 05 :Ajuga Iva	18
Figure 06 : Lapins Albinos.....	19
Figure 07 : Protocole d'extraction des polyphénols totaux.....	21.
Figure 08 :Structure développée de l'alginate de	22.
Figure 09 :Procédé de gélification de gouttes d'alginate	23
Figure 10 : Réaction du radical DPPH*avec un antioxydant AH.....	24.
Figure 11 : Protocole expérimentale de l'activité antioxydant.....	26
Figure 12 : Gavage des lapins à l'aide d'une seringue en plastique équipée d'uneSonde œsophagique.....	28
Figure 13 : Prélèvement du sang et détermination du taux de la glycémie.....	29
Figure 14 : Extrait Hydro alcoolique d'Ajuga Iva.....	30
Figure15 : Infusé d'Ajuga Iva.....	30
Figure16 : Pourcentage d'inhibition des polyphénols totaux en fonction du volume.....	31
Figure17 : Variation de la glycémie chez le lot sain et témoin négatif en fonction du temps33	
Figure18 : Variation de la glycémie chez les lots de témoin positif, témoin d'extrait et Témoin d'infusé en fonction du temps.....	33
Figure19 : microcapsule d'extrait d'Ajuga Iva sous Microscope photonique (G x10)	36
Figure20 : Extrait d'Ajuga Iva	36

Figure 21 : Alginate de sodium	37
Figure22 : Microencapsulation d'Ajuga Iva.....	37

LISTE DES TABLEAU

Tableau 01 : les espèces d'Ajuga L	05
Tableau 02 :Systématique de l'espèce Ajuga Iva L.....	06
Tableau03 : Quelques classes de molécules phénoliques.....	09
Tableau 04 : les procédés d'encapsulation.....	17
Tableau 05 : Répartition des lots de lapins et de la dose de traitement administrée pour chaque lot.....	29
Tableau06 : les résultats de l'activité antioxydante.....	31
Tableau07 : les moyennes des résultats de l'activité hypoglycémiant de chaque lot de lapins.....	32
Tableau08 : les fonctions actives de microencapsulation et de l'extrait de la plante.....	38

SOMMAIRE

INTRODUCTION	1
--------------------	---

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

1. Historique	3
2. Définitions.....	3
2.1.La phytothérapie.....	3
2.2. Place de la phytothérapie en Algérie.....	3
2.3. Les plantes médicinales.....	4
2.4. La cueillette des plantes médicinales.....	4
2.5. Le séchage des plantes médicinales.....	4
2.6. La conservation des plantes médicinale.....	5
3. Etude ethnobotanique de la plante	5
3.1. Introduction sur la famille des lamiacées.....	5
3.2. Les espèces du genre Ajuga L	5
3.3. Identification de l'espèce Ajuga Iva (L).....	6
3.4. Systématique de l'espèce Ajuga Iva L.....	6
3.5. La répartition géographique et l'habitat de l'espèce Ajuga Iva L	6
3.6. La description de la plante.....	7
3.7. La composition chimique de la plante	7
3.8. Propriétés et Usages	8
4. Les métabolites secondaires de la plante.....	8
4.1. Les métabolites secondaires d'Ajuga Iva L.....	8
5. L'activité hypoglycémiant	11
5.1. Le métabolisme glucidique et sa régulation dans le corps humains	11

5.2. Définition du diabète sucré	11
5.3. Les types du diabète	11
5.4. Les hormones du pancréas	12
5.5. Traitement du diabète	13
6. Microencapsulation.....	14
6.1. Définitions.....	14
6.2. Classification des microparticules.....	14
6.3. Microparticule et ses composés	15
6.4. Matière enrobante	16
6.5. Les molécules encapsulées – la matière active.....	16
6.6. Techniques d'encapsulation.....	17
MATERIELS ET METHODES	
1. Matériel	18
1.1. Matériel végétale	18
1.2. Matériel animale.....	18
1.2.1. Conditions d'élevage	19
1.3. Matériel non biologique.....	19
2. Méthodes	20
2.1. Extraction des polyphénols totaux	20
2.2. Préparation de l'infusé	21
3. Préparation des microcapsules à base d'extrait végétale	21
3.1. Procédé de fabrication des microcapsules	21
3.2. Description générale d'Alginate de sodium	21
3.3.Procédé de gélification	22
4. Caractérisation de la microcapsule.....	23
5. Etude des activités in –vitro,in- vivo.....	24
5.1. ActivitéAntioxydante	24
5.2. Activité hypoglycémiante	26

RESULTATS ET DISCUSSION :

1. Résultat de l'extraction	30
1.1. Caractéristiques organoleptiques d'extrait et de l'infusé.....	30
2. Mise en évidence de l'activité antioxydante des polyphénols totaux.....	31
3. Mis en évidence de l'activité hypoglycémiante.....	32
4. Résultat de la microencapsulation et la caractérisation microscopique et par FTIR..	35
4.1. Caractérisation des microcapsules par Microscope Photonique.....	36
4.2. Caractérisation des microcapsules par FT-IR	36
CONCLUSION	39

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUESL

ANNEXES.

Introduction

L'Algérie possède un patrimoine végétal important par sa richesse et sa diversité dans les régions côtières, les massifs montagneux, les hauts-plateaux, la steppe et les oasis sahariennes : on y trouve plus de 3000 espèces végétales. Parmi ces ressources naturelles les plantes aromatiques et médicinales occupent une large place et jouent un grand rôle dans l'économie nationale. Elles sont utilisées dans différents domaines : industriel, alimentaire, conserverie, pharmaceutique, et phytothérapie (**Duraffourd et al. 1997**).

En effet, les plantes possèdent des milliers de substances actives à l'intérieur de leurs Organes (feuilles, fleurs, racines,...) et peuvent, selon des techniques chimiques (extraction, Distillation,..), permettre l'isolation du principe actif pour l'utiliser en pharmacie. Ces remèdes naturels sont bien souvent très efficaces avec moins d'effets secondaires reconnus que beaucoup de médicaments de synthèse, mais peuvent néanmoins être mortels ou toxiques pour l'organisme lorsqu'ils sont mal utilisés (**Duraffourd et al. 1997**),

Depuis toujours, les plantes médicinales ont été utilisées pour prévenir ou traiter diverses maladies, dont le diabète (**Rai et al ; 2007**) qui est aujourd'hui une maladie métabolique grave menaçant d'une manière croissante la santé publique dans le monde (**kebièche et al ;2011**) ,l'organisation mondiale de la santé (**OMS**) estimait à 220 millions le nombre d'individus affectés en 2011 .

Selon des études ethnopharmacologiques plus de 1200 plantes sont utilisées à travers le monde en médecine traditionnelle pour leurs activités biologiques et diverses études s'intéressent à leurs effets sur la prévention /traitement de certaines maladies (**Bisht et al ; 2009**) comme les plantes antidiabétiques , parmi ces plantes : *Ajuga Reptans* c'est une plante herbacée de petite taille, de 5 à 20 cm de long, elle est vivace par des stolons elle montre une odeur musquée, elle évolue dans les endroits arides , sur les vieux murs , les coteaux pierreux et en bordure des champs .(**Bonnier ;1990**) .

C'est dans cette optique que notre étude a été réalisée, à savoir l'étude de l'activité hypoglycémisante des extraits d' *Ajuga Reptans* par la méthode de surcharge glycémique d'une part et la mise en forme galénique de l'extrait de plante par la technique de microencapsulation.

Introduction

A cet effet ce manuscrit est scindé en trois parties :

- La première partie, est une synthèse bibliographique qui résume les principales Caractéristiques de l'espèce *Ajuga iva*.L, appartenant à la famille de lamiacées, avec un rappel sur le diabète et la technique de microencapsulation.

- La deuxième partie du travail est expérimentale, elle est consacrée à :

- ✓ L'extraction des polyphénols totaux d'*Ajuga Iva*.
- ✓ L'évaluation in vitro de l'effet antioxydant d'extrait hydro alcoolique des polyphénols totaux Correspond à la plante selon la méthode du piégeage du radical libre DPPH
- ✓ L'évaluation du pouvoir hypoglycémiant de l'extrait hydro alcoolique des polyphénols totaux d'*Ajugaiva* et de l'infusé
- ✓ formulation galénique des microcapsules à base de l'extrait de plante.

- Dans la troisième partie, nous discutons les résultats obtenus lors de cette étude et notre travail est achevé par une conclusion et des perspectives.

1. Historique :

On estime que l'utilisation des plantes dans l'histoire de l'humanité remonte à environ soixante mille ans, les premières preuves de cet usage ont été mises au jour sur un site archéologique en Irak, les vestiges d'un homme de Neandertal découvert dans des grottes préhistoriques, étaient accompagnés d'une couronne de plantes qui poussent encore aujourd'hui dans cette région et sont toujours utilisées en médecine, dans toutes les cultures et dans le monde entier, les plantes ont constamment servi aux rituels, aux pratiques médicales et à la confection des cosmétiques.

Dans le monde Arabe : au Moyen Âge, la civilisation arabe était réputée pour ses compétences en matière de soins. Le médecin iranien Avicenne (980-1037) rédigea « un canon de la médecine » qui répertorie les ingrédients en usage à son époque. **(Harding, 2004)**.

Dans les pays occidentaux : la médecine occidentale par les plantes doit beaucoup aux Grecs anciens qui eux-mêmes tenaient leur savoir des Égyptiens, Hippocrate né en Grèce vers 460 avant J-C, préconisait par exemple : l'opium comme narcotique, la grenade pour arrêter les hémorragies, établit un catalogue des plantes et épices disponibles en son temps.

Malgré l'intérêt croissant pour les médicaments de synthèse et le pouvoir des grands groupes pharmaceutiques, l'herboristerie survit et joue d'un regain de popularité. **(Harding, 2004)**.

2. Définitions :

2.1. La phytothérapie

La phytothérapie est une discipline allopathique destinée à prévenir et à traiter certains troubles fonctionnels et/ou certains états pathologiques au moyen de plantes, de parties de plantes ou de préparations à base de plantes.

Ce n'est ni une thérapie (spéciale), ni une médecine (alternative), car elle fait partie intégrante de la thérapeutique. **(Wichtl, 1999) (Bruneton, 2009)**.

2.2. Place de la phytothérapie en Algérie

Depuis des siècles en Algérie comme dans tous les pays du Maghreb, les plantes médicinales et aromatiques sont utilisées surtout dans les milieux ruraux par des personnes âgées qui connaissent encore certaines recettes de tisanes.

Dans le Hoggar, et en l'absence de médecine dans certaines contrées isolées, les Touaregs se soignent avec les plantes médicinales et aromatiques dont ils connaissent le secret transmis de père en fils.

De même en Kabylie, les montagnards utilisent des plantes médicinales et aromatiques pour se soigner. Comparé à d'autres pays africains, notre pays a très peu de praticiens reconnus et d'herboristes âgés (**Quezelet al ; 1962**).

2.3. Les plantes médicinales

On appelle plante médicinale un végétal dont un ou plusieurs organes possèdent des activités pharmacologiques qui permettent son utilisation en thérapeutique (**Boullard ; 2001**).

Les plantes médicinales ou pharmaceutiques interviennent dans la préparation des médicaments. En médecine les remèdes à base de plantes portent le nom de préparation galénique du nom de Galien, médecin du premier siècle (**Ramawat ; 2008**).

2.4. La cueillette des plantes médicinales

Les fleurs et les feuilles des plantes ne doivent être cueillies que lorsque la rosée s'est totalement évaporée au soleil, dans de nombreux cas il est conseillé de ne prélever qu'une partie des feuilles et des fleurs afin de ne pas endommager la plante et de permettre aux fleurs restantes de former de nouvelles graines.

Les graines doivent en générale être récoltées lorsqu'elles sont à maturité.

Les racines sont quant à elle prélevées au début du printemps ou à l'automne, c'est-à-dire lorsque la plante est en phase de repos (**Hans ; 2011**).

2.5. Le séchage des plantes médicinales :

Les plantes doivent être séchées le plus rapidement possible après la récolte, il faut choisir une pièce chaude, ombrée et bien aérée, le temps de séchage dépend de la teneur en eau et de l'épaisseur des différentes parties de la plante. Les parties pourries doivent être enlevées immédiatement et retournez de temps en temps les plus gros tronçons. Il est également possible de faire sécher les plantes au four à environ 50°C par exemple les racines, ou au four à micro-onde, mais les arômes et les propriétés thérapeutiques ne resteront alors pas intacts. (**Hans ; 2011**).

2.6. La conservation des plantes médicinales :

On peut commencer à stocker les plantes séchées quand elles deviennent très légères et cassantes. (Hans ; 2011). Ces plantes se rangent soigneusement et séparément dans des récipients portant le nom de la plante et la date de cueillette, il faut choisir des boîtes ou des bocaux propres, et fermer hermétiquement. (Debouigue ; 1984).

3. Etude ethnobotanique de la plante

3.1. Introduction sur la famille des lamiacées

La famille des lamiacées (Lamiaceae) ou labiées (Labiatae) est une importante famille de plantes dicotylédones qui comprend environ 6000 espèces et près de 210 genres répartis dans le monde entier, mais surtout dans la région méditerranéenne.

Le genre *Ajuga* comprend environ 40-50 espèces herbacées annuelles et vivaces, ce sont des plantes à fleurs appartenant à la famille des lamiacées dont la majorité des espèces sont natives de l'Europe, l'Asie et l'Afrique. (El Hilaly ; 2006).

3.2. Les espèces du genre *Ajuga* L : Selon (Ait Youssef ; 2006), la répartition des espèces se fait comme suit :

Tableau 01 : les espèces d'*Ajuga* L.

Espèce	Répartition dans le monde
<i>Ajugachameapitys</i> L. Schreber	ouest, centre et sud de l'Europe, sud-ouest de l'Asie, et nord de l'Afrique.
<i>Ajugagenevensis</i> L.	l'Europe, nord et ouest de l'Asie, Amérique du nord.
<i>Ajugaoccidentalis</i>	en occident
<i>Ajugaruptans</i>	presque toute l'Europe, ouest de l'Asie, Algérie et Tunisie

3.3. Identification de l'espèce *Ajuga Iva* (L)

Le nom scientifique : *Ajuga Iva* (L).Schreber .(Tifouraet al ; 2009).

Les noms communs :

En Algérie : chendgoura,meusq el qobour. (Baba Aissa ; 2011)

En France : Ivette musquée. (Burnie ; 2006)

En Angletaire : Musky- bugle,Herb –Ivy.(Ait Youssef ;2006)

3.4.Systématique de l'espèce *Ajuga Iva* L

Tableau 02: Systématique de l'espèce *Ajuga Iva* L.(Hermenn et al ;2004)

Règne	Plantae
Embranchement	Phanérogames
Sous-embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous classe	Astérides
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiaceae (Labiées)
Sous famille	Ajugoideae
Genre	<i>Ajuga</i>
Espèce	<i>Ajuga Iva</i> (L)

3.5.La répartition géographique et l'habitat de l'espèce *Ajuga Iva* L :

Ajuga Iva pousse à une altitude de 0 à 1600m dans les régions arides ou elle croit dans les champs(El Hilaly ;2006) ,elle est présente dans les régions méditerranéenne ,dans l'ensemble des pays du Maghreb :l'Algérie,laTunisie et elle est trèsconnue au Maroc (Boukef ; 1986) ,en Algérie elle est très répandue dans les pelouses, les forêts du tell et très rare ailleurs (Quezel et al ;1963)

Cette plante est retrouvé sur les sols sec et caillouteux, au bord des pistes friches et lieux herbeux secs.

3.3.La description de la plante

C'est une plante herbacée de petite taille, de 5 à 20 cm de long, elle est vivace par des stolons elle montre une odeur musquée, elle évolue dans les endroits arides, sur les vieux murs, les coteaux pierreux et en bordure des champs. (**Bonnier ; 1990**).



Figure 01 : Image d'*Ajuga Iva*.

La tige : elle est étalée, rameuse, ligneuse vers la base, les rameaux sont couchés et redressés. la plante se perpétue par des bourgeons qui naissent à la base des tiges ligneuses. (**Bonnier ; 1990**).

Les feuilles : elles sont denses, très serrées et sessiles, leur forme est étroite linéaire et lancéolée (5 à 20 fois plus longues que larges), elles sont entières plus au moins crénelées ou finement dentelées au sommet, enroulées sur leurs bords. (**Ait Youssef ; 2006**).

La fleurs : les fleurs sont groupées par 2 ou 4 dans les aisselles des feuilles et formant une inflorescence dense, corolle pourpre, rose ou jaune de 1,2 à 2 cm de long, pourvue d'une couronne de poils à l'intérieur, lèvre supérieure très courte, lèvre inférieure beaucoup plus longue et 3 lobes, saillantes en dehors de la corolle. (**Shonfelder ; 1988**).

3.4.La composition chimique de la plante :

L'ivette contient principalement des tanins (tanins catéchique, tanins galliques) flavonoïdes, stéroïdes et terpènes (**El Hilaly ; 2006**) et des traces d'huile essentielle. Elle contient aussi des acides phénoliques, caféine (acide caféique ; acide chlorogénique) et des principes actifs : ajugarine (**Beloud ; 2005**) et le 15-dihydroajugapitine. (**Bondi et al ; 2000**).

3.8 Propriétés et usages

Ajuga Iva est utilisée dans la médecine traditionnelle en Algérie pour le traitement du diabète, elle est connue comme anti-inflammatoire, antifièvre, antimicrobienne, et antihelminthique **(Bondi et al ; 2000)**.

Au Maghreb la plante est employée comme une panacée, actuellement elle est utilisée en usage interne comme remède dépuratif contre les maladies d'estomac, maladies gastroduodénales, les entérites ou les diarrhées infectieuses **(Ait Youssef ; 2006)**.

Elle utilisée comme remède pour le mal de dents et de dysenterie **(Kokwaro ; 1976)**, antimotile **(Takasaki et al ; 1999)**, antibactérienne **(Chen et al ; 1997)**, cardiotonique **(Kuria et al ; 1984)** et antifongique **(Kariba ; 2001)**.

Elle est utilisée aussi Pour le traitement du stress et l'hypertension artérielle **(Boukef ; 1986)**, antispasmodique, tonique, et fébrifuge **(Beloud ; 2005)**.

En usage externe elle est utilisée en cataplasme pour la cicatrisation **(Bnouham et al ; 2002)**.

Elle est antiseptique, astringente et antirhumatismale **(Baba Aissa ; 2011)**.

4. Les métabolites secondaires de la plante

Les plantes produisent un grand nombre de composés pour lesquels on ne sait pas toujours le rôle qu'ils jouent exactement pour la plante, ces composés ne sont pas produits directement lors de la photosynthèse mais résultent des réactions chimiques ultérieures on les appelle des métabolites secondaires, un métabolite est un composé organique intermédiaire ou issu du métabolisme.

4.1. Les métabolites secondaires d'*Ajuga Iva* L

- **Les polyphénols** : les molécules phénoliques sont des composés qui contiennent un groupe phénol (anneau aromatique avec un groupe hydroxyle) ils peuvent avoir plusieurs différents substituants ils sont composés de :
 - Des acides phénoliques
 - Les flavonoïdes
 - Des tanins (la forme la plus condensé). **(Vercantern et Al ; 1996)**

Les polyphénols peuvent être regroupés en de nombreuses classes. (Harborne ; 1980)

Tableau03 : Quelques exemples de molécules phénoliques.

Squelette carboné	Classes
C6	Phénols simples
C6-C1	Acides hydroxybenzoïques
C6-C3	Acides hydroxycinnamiques
C6-C3-C6	Flavonoïdes
(C3-C3-C6) n	Tannins condensés

Les acides phénoliques : les acides phénoliques sont définis par l'existence d'un seul noyau benzoïque portant un ou plusieurs groupements hydroxyles.(Ribereau-Gayon ;1968).

- Les flavonoïdes : les flavonoïdes présents dans la plupart des plantes, sont des pigments poly phénoliques qui contribuent entre autres, à colorer les fleurs et les fruits en jaune ou en blanc, ils ont un important champ d'action et possèdent de nombreuses vertus médicinales (Iserin ; 2001).

Plusieurs flavonoïdes ont montrés des activités antioxydantes, anti-inflammatoire, inhibitrices d'enzymes et de prévention des maladies cardiovasculaires (Sarni-Manchado ;2006)

- Les tanins : les tanins existent dans presque chaque parties de la plante (écorce, bois, feuilles, fruits et racines) (Mohammedi ; 2006).

Les tanins sont des molécules à poids moléculaire relativement élevé, ils constituent le 3^{ème} groupe important des composés phénoliques, les tanins possèdent deux sous-groupes :

Tanins hydrolysables et tanins condensés (Madi ; 2010)(in Medjdoub et al ; 2011).

- **Les saponines** : c'est un ensemble de composés chimiques définis comme des hétérosides d'alcool aliphatiques (saponosides),l'hydrolyse des saponines libère des oses variés.

Les saponines sont de deux types : triterpénoïdes utilisées comme agents émulsionnants et comme détergents, et stéroïdales, qui comme leur nom l'indique, ont une ressemblance avec les hormones animales (stéroïdes), à certaines doses les saponines sont considérées comme expectorantes et comme émétiques (Baba Bissa ; 2011).

- **Les alcaloïdes :** formant un groupe très large, les alcaloïdes possèdent presque tous une molécule d'Azote (-N-) qui les rends pharmaceutiquement très actifs (**Iserin ;2001**), ils sont le plus souvent localisés dans les tissus périphériques des organes des plantes (écorces,téguments, divers....) dans les graines et dans les racines (**Dietrich et al ; 2009**).
- **La caféine :** La caféine est un alcaloïde d'origine végétale, appartenant à la famille des bases puriques ou plus précisément des méthylxanthines. C'est une substance présente dans les graines, les feuilles et les fruits de différentes plantes où elle agit comme mécanisme de défense naturel. En effet, la caféine est toxique pour les insectes, paralysant ou tuant ceux qui s'en nourrissent. En 1819, le chimiste allemand Friedrich Ferdinand Runge a isolé pour la première fois de la caféine relativement pure. Il la nomma « *kaffein* » en tant que composé chimique du café, qui en français devint caféine. La caféine n'est généralement pas synthétisée car elle est déjà disponible en grande quantité en tant que sous-produit de la décaféination. (**Chabaud ; 2010**).
- **Les principes amers :** les substances amères forment un groupe très diversifié de composants dont le point commun est l'amertume de leur goût , cette amertume stimule les sécrétions des glandes salivaires et des organes digestifs ,ces sécrétions augmentent l'appétit et améliorent la digestion ,et l'absorption des éléments nutritifs (**Iserin ;2001**).
- **Les huiles essentielles :**Le terme (huile essentielle),est défini à la fois par l'agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé (ANSM) pour les usages pharmaceutiques et cosmétique et par l'AFNOR/ISO pour les usages aromatiques et alimentaires.

L'huile essentielle est un produit odorant généralement de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par entraînement par la vapeur, soit par distillation sèche, ou par un procédé mécanique approprié sans chauffage. L'huile essentielle est le plus souvent séparée de la phase aqueuse par un procédé physique n'entraînant pas de changement significatif de sa composition. (**ANSM**).

5. L'activité hypoglycémiante :

5.1. Le métabolisme glucidique et sa régulation dans le corps humains :

Le glucose circulant dans le sang est capté par les cellules de l'organisme :

- -les cellules du système nerveux ;cellules β des ilots de Langerhans du pancréas et les cellules hépatiques où il pénètre librement.
- les cellules musculaires, cellules graisseuses (adipocytes) ou il doit subir un transport actif sous la dépendance de l'insuline.

Dans les cellules, le glucose est soit oxydé, soit polymérisé en glycogène, soit transformé en graisse (triglycérides) ou en alanine. **(Macabies et al ; 1978).**

5.2. Définition du diabète sucré : le diabète sucré est une affection métabolique caractérisée par la présence d'une hyperglycémie chronique résultant d'une déficience de sécrétion d'insuline, d'anomalie de l'action de l'insuline sur les tissus cibles, ou l'association de deux. **(Simon et al ; 1999).**

5.3. Les types du diabète : il existe deux types principaux de diabète :

1- **Le diabète insulino-dépendant (DID) :** On l'appelle aussi diabète de type 1, diabète juvénile ou diabète maigre, il résulte de la destruction sélective des cellules β d'îlot de Langerhans du pancréas, s'accompagnant d'un déficit en insuline qui est l'hormone hypoglycémiante. **(Boitar ; 2005).**

2- **Le diabète Non insulino-dépendant (DNID) :** il est appelé aussi diabète gras, diabète de type 2 et comme il survient généralement à l'âge adulte, on l'appelle aussi diabète des adultes ou de maturation. **(Richard ; 1999).**

Il résulte d'une mauvaise utilisation de l'insuline par l'organisme, le diabète de type 2 représente 90% des diabètes rencontrés dans le monde. **(OMS, 2009).**

5.4. Les hormones du pancréas :

1. L'insuline :

L'insuline est une hormone hypoglycémiant qui agit lorsqu'il y'a une augmentation de l'utilisation tissulaire du glucose, la teneur du sang en glucose (glycémie) est normalement comprise entre 0.8 et 1g /l. (Labrèze ; 2002).

L'insuline est une hormone de nature protéique qui a été établie par le groupement de sanger en 1955,et sa synthèse totale a été obtenue en 1966 par Katsoyanis.

L'insuline est un polypeptide, de poids moléculaire PM=5800DA constituée de 51acides aminés répartis en deux chaînes polypeptidiques:

La chaîne alpha :contient 21 acides aminés avec une glycine N-terminal.

La chaîne bêta :de 30 acides aminés avec phenyl-alanine N-terminale.

Ces deux chaînes sont reliées par deux ponts disulfures en position A7 et A20 de la chaîne alpha à leurs homologues B7 et B19 de la chaîne bêta. (Parlemuter ; 2003).

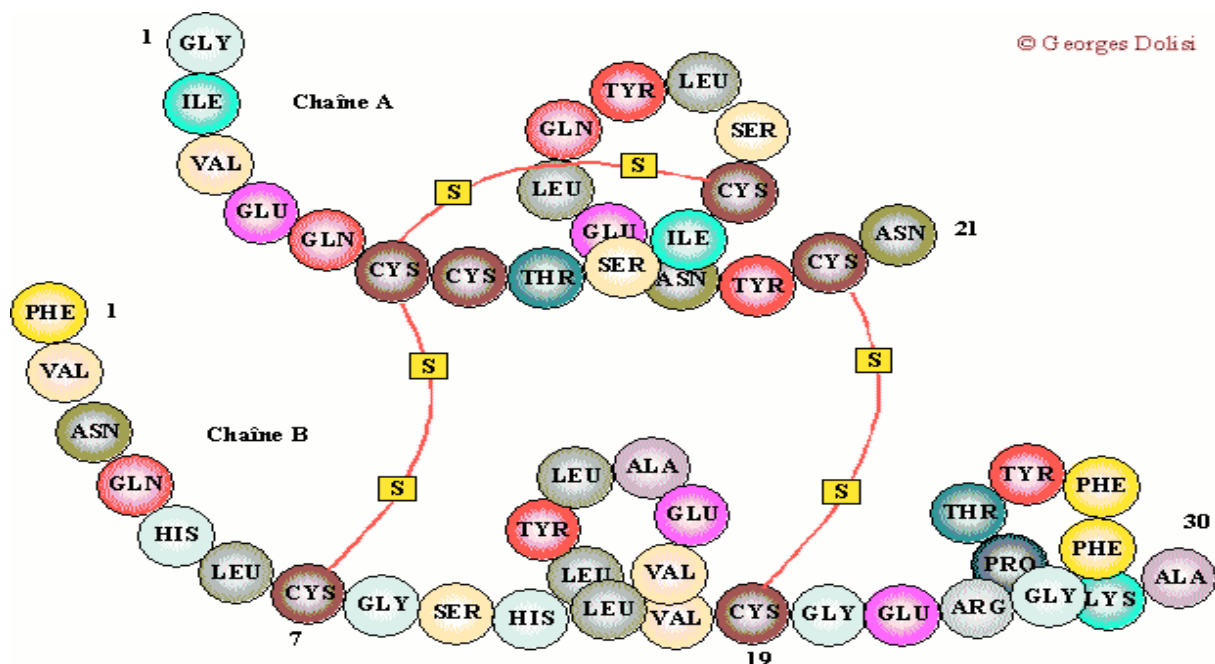


Figure 02 : Structure de l'insuline

2. Le glucagon :

Le glucagon est une molécule de structure simple constituée de 29 acides aminés sous forme d'une chaîne monocaténaire, son poids moléculaire est de 3,5 kDa. Il ne possède pas de ponts disulfures, sa structure secondaire étant formée d'une seule hélice α . Il ne possède pas de structure tertiaire. Cette hormone est sécrétée par les cellules α des îlots de Langerhans pancréatiques sous forme d'une molécule de 12 kDa, Le glucagon est une hormone importante pour maintenir la normoglycémie dans les conditions physiologiques comme le jeûne et l'exercice physique. C'est l'hormone du besoin énergétique. (Grimaldi A ; 2005).

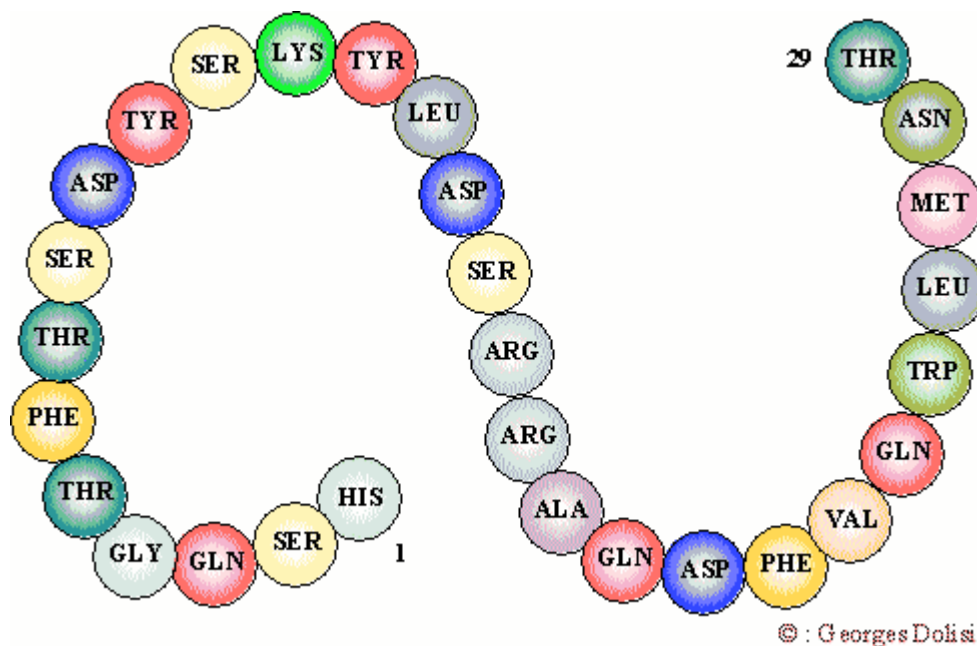


Figure 03 : Structure de glucagon.

5.5. Traitement du diabète :

- **Prise en charge non médicamenteuse**

La lutte active contre la sédentarité ainsi que la planification alimentaire représentent des interventions irremplaçables à toutes les étapes de la prise en charge du diabète de type 2.

- **les Activités physique :**

En facilitant l'utilisation du glucose et en augmentant la sensibilité à l'insuline endogène, l'activité physique participe au contrôle de la glycémie chez le

diabétique de type 2. Elle améliore aussi la dyslipidémie en augmentant les HDL et en diminuant les triglycérides.

L'activité physique consiste en des modifications réalistes du mode de vie quotidien et autant que possible repose sur trois fois 45 minutes par semaine d'activité plus intensive adaptée au profil du patient. Elle entretient l'appareil ostéo-articulaire et permet le maintien d'une masse musculaire satisfaisante, et contribue à l'hygiène de vie générale. L'exercice physique doit être régulier, adapté, prescrit après une évaluation cardiovasculaire et représenter une certaine détente pour le patient.

- **Surveillance de l'équilibre glycémique.**
- **Prise en charge médicamenteuse :**

Jusqu'en 2008, 5 types d'agents hypoglycémisants oraux étaient disponibles : les sulfonylurées (ou sulfamides), les glinides, les biguanides, les thiazolidinediones et les inhibiteurs des alpha-glucosidases. L'action hypoglycémisante de ces 5 classes de médicaments est bien établie, leurs mécanismes d'action différents.

Deux autres classes thérapeutiques ont été récemment mises à disposition, il s'agit des analogues du glucagon-like peptide 1 (GLP1) et des inhibiteurs de l'enzyme dipeptidyl peptidase 4 (DPP4).

6. La microencapsulation

6.1. Définitions :

La pharmacie galénique :

la pharmacie galénique est la science et l'art de préparer, conserver et présenter les médicaments, et trouver pour chaque principe actif la présentation la mieux adaptée au traitement d'une maladie déterminée. **(Ben Youssef S, 2013)**.

La microencapsulation :

La microencapsulation est une technique de protection de matières sensibles (à l'état solide liquide ou gazeux) appelées aussi matières actives à l'aide d'une matière enrobante par formation de particules de taille micrométrique **(Augustin M.A et al, 2009)**. Ce procédé permet de créer une barrière de protection pour les molécules encapsulées et de contrôler leur relargage dans un milieu donné. Le contenu d'une capsule individualisée est protégé de l'environnement par la matière enrobante et peut être libéré sous l'action de la température, d'enzymes, du changement de pH du milieu, de l'action mécanique ou simplement par la diffusion à travers la matière enrobante poreuse.

6.2. Classification des microparticules

Le type de particules obtenues par microencapsulation dépend des propriétés physicochimiques de la matière active et de la matière enrobante, de leur composition et de la technique utilisée. Les microparticules peuvent se présenter sous différentes structures dont les deux plus simples sont la structure réservoir (microcapsule) et la structure matricielle (microsphère)(Richard J et al, 2000) :

- la microcapsule est une particule réservoir constituée d'un cœur de matière active liquide ou solide entouré d'une enveloppe solide continue de matériau enrobant ;
- la microsphère est constituée d'un réseau macromoléculaire continu, formant une matrice dans laquelle la matière active est finement dispersée, à l'état de fines particules solides ou encore de gouttelettes liquides.

Ces deux types de morphologie de microparticules ainsi que quelques variantes plus complexes sont présentés sur la Figure :

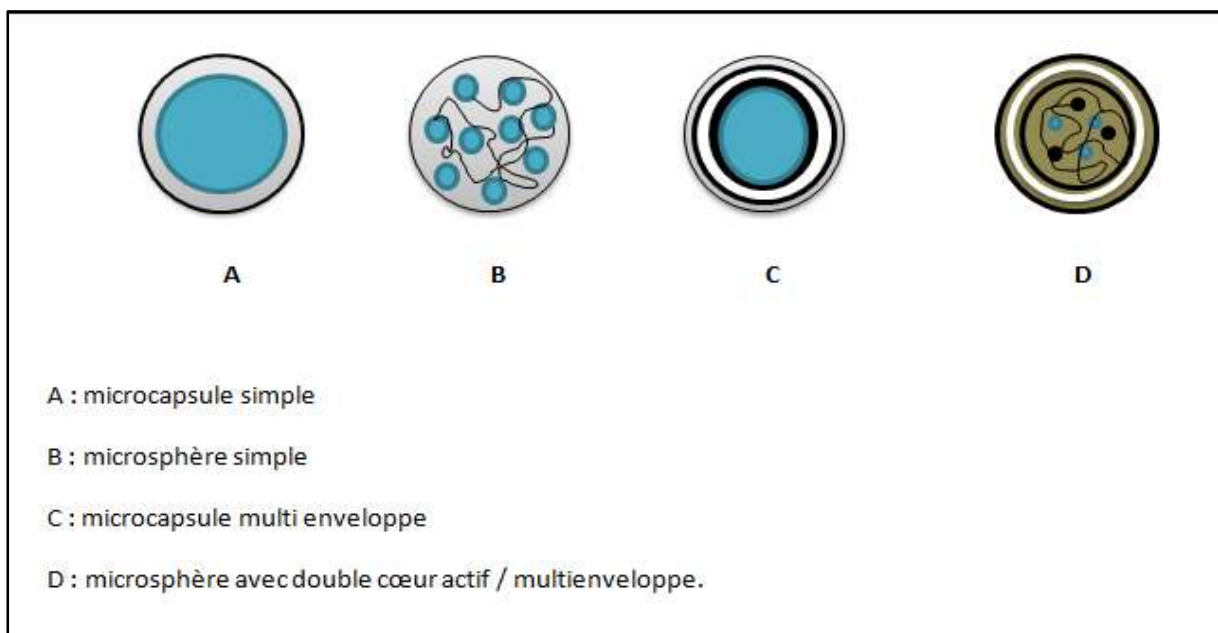


Figure 04 : Morphologie de particules obtenues par microencapsulation

En ce qui concerne leur forme, les microparticules ne sont pas nécessairement sphériques, elles peuvent également avoir une forme irrégulière. Lorsqu'une particule solide est encapsulée, la matière enrobante épouse généralement les contours de la particule, ce qui conduit à une grande variété de formes. En revanche, la taille est un dénominateur commun à ces systèmes : elle est comprise entre 1 et 1000 μm .

6.3. Microparticule et ses composés

Les constituants principaux d'une particule obtenue par microencapsulation sont la matière

enrobante et la matière active. Afin d'améliorer la stabilité du système et/ou lui apporter des fonctionnalités désirées, des additifs peuvent également être ajoutés.

6.4.Matière enrobante

Le système enrobant joue un rôle principal sur l'efficacité, la stabilité des microparticules et sur le degré de protection de la matière active. En général, les critères de choix des matériaux enrobants sont basés sur leurs propriétés physico-chimiques (stabilité, humidité, pH, oxydation), thermiques et mécaniques. L'enrobage permet de modifier radicalement l'aspect du produit encapsulé : masquer le goût et l'odeur, changer l'état de surface, la solubilité,

la rhéologie ou l'état fondamental, comme par exemple transformation des liquides ou des gaz en poudres fluides (**Lazko J, 2004**). Suivant le procédé utilisé, le matériau enrobant est constitué d'un ou plusieurs polymères. L'avantage des systèmes enrobants polymériques (à base des polymères naturels ou synthétiques) réside dans la possibilité de fonctionnalisation des chaînes ce qui permet l'obtention de nouvelles propriétés telles que la résistance aux températures élevées et aux agents chimiques.

6.5. Les molécules encapsulées – la matière active

La matière active est la partie qui détermine l'utilisation suivante des microparticules produites. La nature des substances actives utilisées dans la microencapsulation est très variable. Parmi les ingrédients que l'on peut protéger et isoler se trouvent :

- des arômes, des huiles essentielles et des substances aromatisantes volatiles (**Dardelle G et al, 2007**) (**Marcuzzo E et al, 2010**).
- des vitamines, comme l'acide ascorbique (vitamine C). (**Wilson N et al, 2007**) (**Pierucci A.P.T.R et al, 2006**).
- des lipides sensibles à l'oxydation tels que des acides gras polyinsaturés (**Keogh M.K et al, 1999**) (**Kapusniak J et al, 2006**) (**Wehrle K et al, 1999**).
- des acides et bases alimentaires (acide citrique, bicarbonate de sodium). (**Abbasi S et al, 2009**).
- des additifs alimentaires (colorants, conservateurs). (**Rascon M.P et al, 2011**)
- des bactéries et des enzymes. (**Hammill T.B et al, 1997**) (**Anjani K et al, 2007**).
- des principes actifs pour l'industrie pharmaceutique. (**Benita S et al, 1985**) (**Sefton M.V et al, 1982**) (**Sugamori M.E et al, 1989**).
- des principes actifs cosmétiques. (**El-Zawahry M.M et al, 2007**) (**Ge X et al, 2009**).

- des minéraux (sels du calcium ou du fer). (Abbasi S et al, 2011).

6.6. Techniques d'encapsulation

Les procédés de micro encapsulation sont variés ; il existe plusieurs classifications de ces Techniques (Richard J et al, 2000). Elles peuvent être classées selon l'utilisation ou non de solvants organiques, selon le coût énergétique des techniques ou encore selon leur application dans un domaine ou un autre. Cependant, la classification la plus courante est présentée dans le Tableau 04.

Tableau 04: les procédés d'encapsulation

Procédés chimique.	Procédés physico-chimique.	Procédés physico-mécanique.
Polymérisation interfaciale	Coacervation (simple ou complexe).	-atomisation -gélification ou congélation de gouttes.
Polymérisation en milieu dispersé	Evaporation-extraction de solvant.	-enrobage en lit fluidisé -extrusion
Polymérisation radicalaire ou anionique	Gélification thermique.	-procédé basé sur la technologie des fluides supercritiques.

Notre travail a été effectué au niveau de laboratoire de recherche des plantes médicinales et aromatiques du département d'agronomie université SAAD DAHLEB BLIDA ainsi qu'au niveau du laboratoire de pharmacotoxicologie et le laboratoire de pharmacie galénique du CRD –SAIDAL d'EL MOHAMMADIA (Alger).

La période de notre stage c'est étalée du mois de Juin jusqu'au mois de Novembre.

1. Matériel :

1.1. Matériel végétale :

Ajuga Iva a été récoltée au mois de mai 2013 à la station de sidi Rabah (wilaya de Médéa)

La plante a été séchée à température ambiante et dans des endroits bien aérés (pour éviter les moisissures), et conservées dans des sacs en papier.



Figure 05 : *Ajuga Iva. L* (Originale.,2013)

1.2. Matériel animale :

Pour la réalisation de notre expérimentation nous avons utilisés des lapins de laboratoire qui ont été fournies par l'institut Pasteur d'Algérie à Kouba, Il s'agit des lapins albinos dont les caractéristiques sont comme suit :

- Souche : Albinos
- Poids : 2300 g-3015g.
- Sexe : mâle et femelle



Figure 06 :Lapins Albinos (Original, 2013).

1.2.1. Conditions d'élevage :

Les lapins utilisés au cours de notre expérimentation ont été soumis à des conditions d'élevage et à un régime alimentaire spécifique :

- ✓ Température ambiante de 20 à 24°C.
- ✓ Humidité : 50%.
- ✓ Eclairage : 10 heures / Jours.
- ✓ Alimentation : Granulés (O.N.A.B).
- ✓ Boisson : Eau de robinet.

1.3.Matériel non biologique :

❖ Matière première :

- Polymère d'alginate de sodium
- Ca cl₂

❖ Équipements de fabrication

- Rotavapor,
- agitateur magnétique,
- agitateur à Hélice IKA WERK.

❖ Équipements de contrôle

- FTIR.
- Microscope photonique
- Glucomètre.
- Spectrophotomètre UV-Visible.

❖ réactifs :

- Ethanol.
- Méthanol.
- DPPH. (2,2 diphényl 1 picrylhydrazyl)
- surcharge de glucose.

2. Méthodes :

2.1.Extraction des polyphénols totaux :

Dans le but d'extraire les polyphénols totaux nous avons suivi le protocole **d'Owenet John (1999)** :

-Mélanger 5g de la poudre végétale à 100ml d'éthanol 70°.

-Agiter le mélange pendant 24h.

-Filtrer la solution avec du papier filtre. (Wattman).

-Evaporerle filtrat sous pression réduite à 60°C.

-Récupérer d'extrait avec 5 ml à 10ml du méthanol et conserver au réfrigérateur à 4°C.

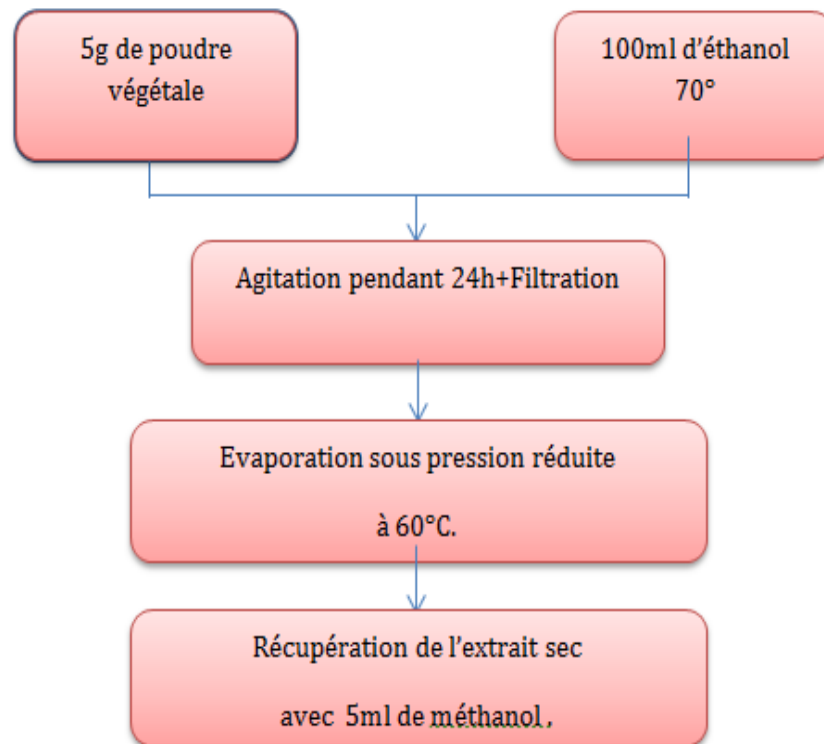


Figure 07 : Protocole d'extraction des polyphénols totaux(Owen et John, 1999).

2.2. Préparation de l'infusé :

La plante est broyée à l'aide d'une moulinette électrique jusqu'à l'obtention d'une poudre fine.

La poudre est mise dans un bécher puis remplie d'eau distillée. Le mélange est mis sous agitation avec un agitateur magnétique jusqu'à l'ébullition.

3.Préparation des microcapsules à base d'extrait végétale :

3.1.Procédé de fabrication des microcapsules

Lors de notre expérimentation nous avons exploré le procédé de microencapsulation par gélification ionotropique de l'alginate de sodium à travers :Une méthode directe de complexation : par extrusion puis complexation,Par le polymère alginate de sodium :

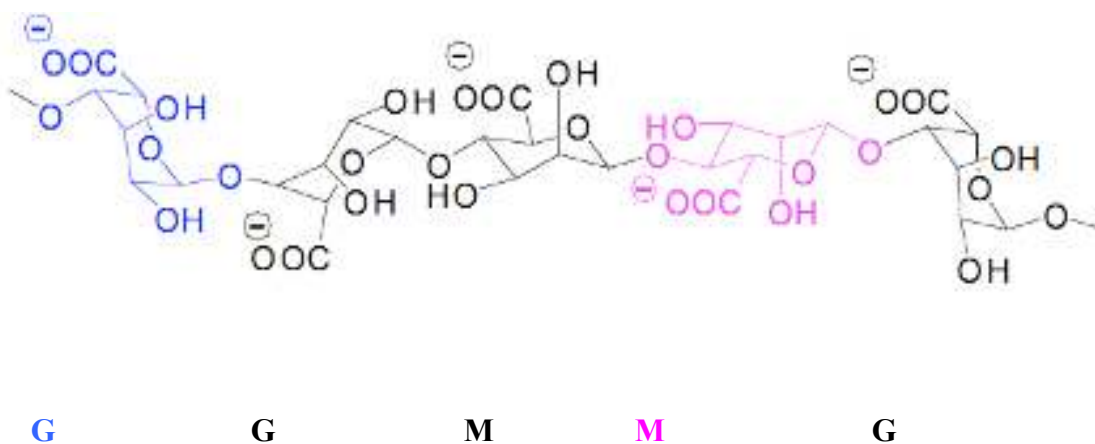
3.2.Description générale d'Alginate de sodium :

L'alginate de sodium est un polysaccharide naturel mucilagineux issu des algues brunes. En effet ces dernières sont constituées pour plus de 40% de leur poids sec de polysaccharides, C'est le polymère le plus couramment employé dans le domaine d'encapsulation, en raison

notamment de l'absence de toxicité et de sa dispersion aisée dans l'eau en formant une solution colloïdale.

Les alginates peuvent facilement être purifiés sans perte de leur composition moléculaire, plusieurs techniques de purification d'alginate (filtration, précipitation et extraction) ont été décrites par Klock.

Les alginates sont des copolymères binaires linéaires dont les monomères, l'acide β -D-mannuronique (noté par la suite M) et l'acide α -L-gluronique (noté G), sont liés par des liaisons glycosidiques β -(1-4) et α -(1-4). (Mouhamed Mostafa T M. 2007)



- l'acide α -L-gluronique (G)
- l'acide β -D-mannuronique (M)

Figure 08 : Structure développée de l'alginate de sodium (Christine Mclunis ;2008)

3.3 Procédé de gélification

Les solutions d'alginate de sodium sont préparées en dissolvant 3g du polymère dans 100ml d'eau distillée sous agitation magnétique jusqu'à l'obtention d'une solution colloïdale homogène.

La solution d'extrait hydro alcoolique d'Ajuga Iva sont préparées en dissolvant 1ml de l'extrait dans 10ml d'éthanol sous agitation manuelle jusqu'à l'obtention d'une solution homogène.

On mélange les deux solutions (alginate/extrait) sous agitation magnétique jusqu'à l'obtention d'une solution colloïdale homogène.

-d'autre part nous avons préparé des solutions de CaCl_2 à 5% qui va servir à la complexation de l'alginate.

-Une quantité de 25 ml du mélange alginate de sodium et d'extrait, ont été ajoutées goutte-à-goutte par l'intermédiaire d'une seringue hypodermique de 1ml dans une quantité de 250ml de la solution de l'agent gélifiant CaCl_2 , sous agitation magnétique.

-Laisser les solutions sous agitation pendant 15 minutes pour que les sphères se solidifient,

- Filtrer et laver 3 fois avec de l'eau distillée les microsphères obtenues puis récupérer les microcapsules par sédimentation. Ces dernières sont ensuite séchées à l'étuve à une température de 40°C .

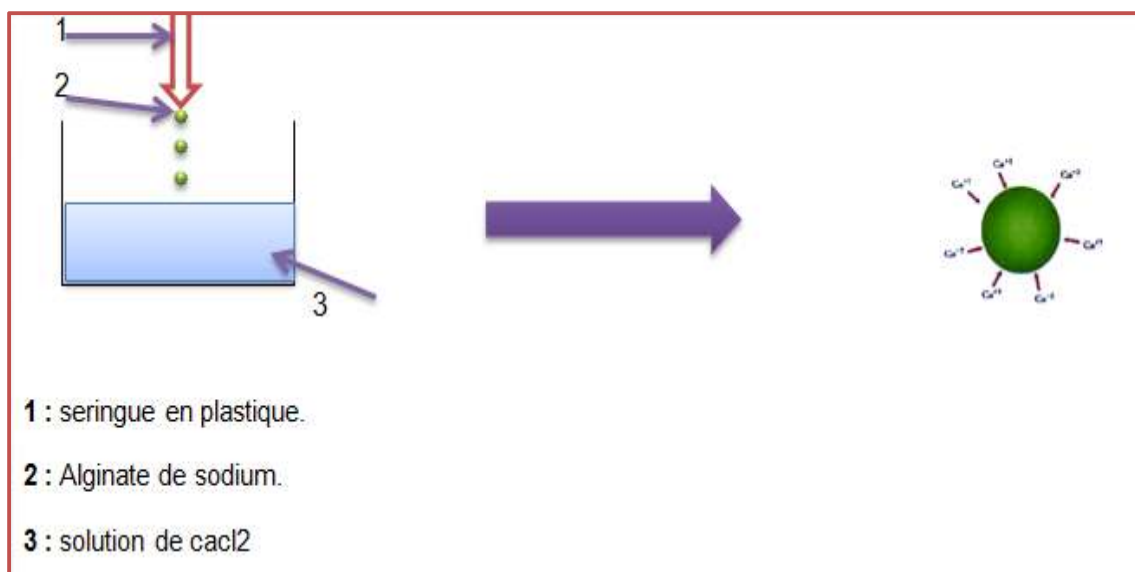


Figure 09 : Procédé de gélification de gouttes d'alginate (Vincent ;2010).

4. Caractérisation des microcapsules :

- caractérisation Par microscope photonique :
Les microcapsules obtenus ont été visualisées au microscope optique au grossissement (G :x 10).
- Caractérisation par FTIR :

Principe de FTIR :

Les spectres infrarouges des molécules ont été réalisés par un spectrophotomètre

Les échantillons sont déposés sur des pastilles de KBr. Pour cela, une quantité de 2 mg d'échantillon a été mélangée à 200 mg de KBr. Les nombres d'ondes sont exprimés en cm^{-1} .

C'est l'une des techniques d'analyse physico-chimique qui permet d'identifier les groupements fonctionnels présents dans un composé organique (**Jacque., 2002**).

Ces composés organiques ont la particularité de posséder des liaisons inter-atomiques qui entrent en vibration sous l'action d'un rayonnement infrarouge à des longueurs d'onde caractéristiques.

Ce phénomène s'accompagne d'une consommation de l'énergie lumineuse à la longueur d'onde considérée. Cette longueur d'onde va dépendre de la liaison elle-même (C-H, CO, C-C etc....) mais aussi de l'environnement moléculaire dans lequel elle se trouve. Ainsi, une molécule donnée va présenter plusieurs longueurs d'onde d'absorption caractéristiques dans le spectre infrarouge. L'intensité de l'absorption est directement proportionnelle à la concentration de la molécule considérée (Dubrnet. 2000).

5. Etude des activités in-vivo, in-vitro :

5.1. Activité Antioxydante :

Principe :

En présence des piègeurs de radicaux libres, le DPPH (2,2 diphényl 1 picrylhydrazyl) de couleur violette se réduit en 2,2 diphényl 1 picryl hydrazine de couleur jaune (**Maataoui et al ; 2006**).

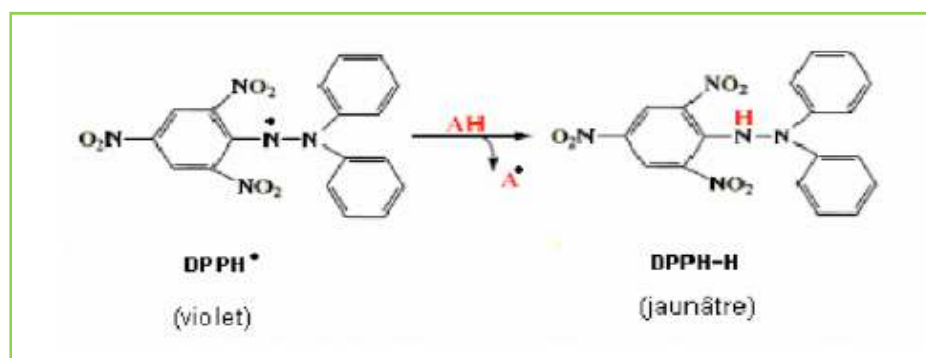


Figure 10: Réaction du radical DPPH* avec un antioxydant AH

Mode opératoire :

L'activité de piégeage des radicaux libres par les extraits végétaux est mesurée en utilisant le radicale libre DPPH, premièrement une solution de DPPH est préparée en ajoutant 50ml du méthanol à 2mg de poudre de DPPH, cette solution possède une couleur violette.

on prépare ensuite la solution qui est à base d'extrait végétale utilisé, à partir d'extrait végétale on prépare 5 dilutions de concentration suivantes : 0.02 mg/ml, 0.005mg/ml, 0.007mg/ml, 0.009mg/ml, 0,01mg/ml.

de chaque dilution on prend 100 µl et on ajoute à chaque tube 2ml de la solution de DPPH préparé précédemment : deux répétitions sont faites pour chaque tube, on prépare aussi trois tubes témoins qui comportent 100 µl de méthanol et 2ml de la solution de DPPH. Les tubes sont incubés à température ambiante à l'abri de la lumière pendant 30 minutes (**Benhamou et al ;2009**).

En parallèle, on évalue l'activité antioxydante par la méthode de DPPH en mesurant sa réduction par la vitamine C (l'acide ascorbique) comme référence.

Enfin, l'absorbance de chaque tube est lue à 517nm, le graphique de la variation de l'absorbance en fonction des concentrations permet de déterminer la CI (la concentration d'inhibition des radicaux libres), les différentes étapes sont notées sur la figure.

La concentration d'inhibition des radicaux libres (CI) exprimée en pourcentage est calculée selon la formule suivante :

$$CI (\%) = \frac{A0 - A1}{A0} \times 100$$

A0 : Absorbance du témoin.

A1 : Absorbance pour chaque dilution.

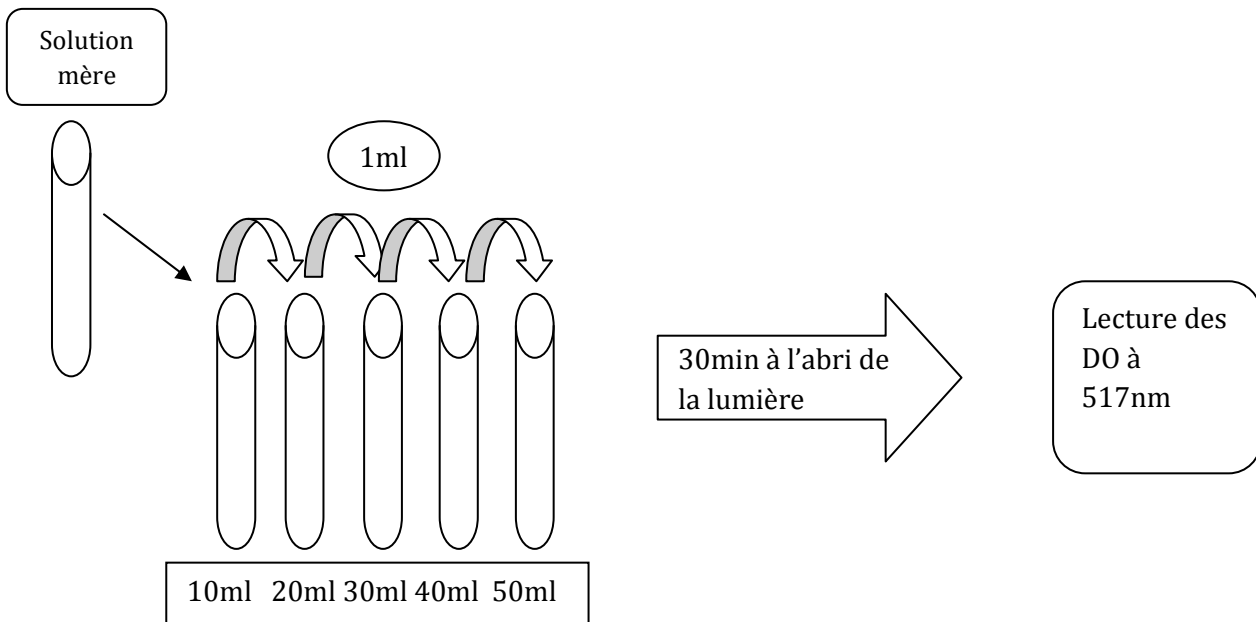


Figure 11 : Protocole expérimentale de l'activité antioxydante.

5.2. Activité hypoglycémiant :

L'étude de l'activité hypoglycémiant d'extrait et de l'infusé de la poudre d'Ajugaiva L .a été réalisée sur 15 lapins Albinos.

Le protocole expérimental est inspiré à partir des travaux de **Lawson-Evi et al. (1997)** et **Keita et al. (1998)**, qui ont travaillé sur des lapins.

Echantillon de plante testée :

Nous avons testé l'activité hypoglycémiant en utilisant deux extrait qui sont, l'extrait hydro alcoolique des polyphénols totaux et l'infusé de poudre d'ajugaiva à 10% (100g de poudre végétale).

Préparation de la surcharge de glucose :

L'épreuve hyperglycémiant est réalisée par l'utilisation d'une solution aqueuse de D⁺ glucose monohydrate pure (C₆ H₁₂ O₆ H₂O) à 50%, à raison de 2g de glucose /kg de poids de l'animal (**Keita et al ; 1998**).

Répartition des lots de lapins :

Les lapins sont répartis de manière aléatoire en Cinq lots à raison de trois lapins /lot .tous les lapins ont été soumis à jeun 18h avant l'expérimentation.

➤ Lots témoins :

- lot 1 : Lapins sains non traités (**témoin sain**)
- lot 2 : Lapins en état d'hyperglycémie et non traités (**témoin -**)
- lot 3 :Lapins en état d'hyperglycémie traités par un médicament hypoglycémiant (DCI : Glimépiride de la spécialité Amarel®) à une dose de 1.84×10^{-4} mg/Kg(**témoin +**)

➤ Lots traités par les extraits d'Ajugaiva L :

- lot 4 : Lapins en état d'hyperglycémie traités par l'extrait hydro alcoolique d'Ajugaiva. (10 ml d'une solution de 0,33g/ml pour chaque lapin)
- lot 5 : Lapins en état d'hyperglycémie traités par l'infusé de la poudre végétale à 5% à raison de 2ml /kg

Administration des traitements :

Les extraits de plante, à savoir l'extrait hydro alcoolique et l'infusé de la poudre d'Ajugaiva . ont été administrés aux lapins par gavage 15minutes avant l'épreuvehyperglycémiant(**Lawson-Evi et al . ,1997**).le produit de référence(Glimépiride) a été administré aux lapins 60mn avant l'épreuve hyperglycémiantepour faire coïnciderla concentration maximale C_{max} d'absorption du médicament avec la concentration maximale de glucose provoqué par la surcharge glycémique (**Keita et al.,1998**).

Le gavage des lapins, est réalisé à l'aide d'une seringue en plastique équipée d'une sonde œsophagique (sonde gastrique).



Figure 12: Gavage des lapins à l'aide d'une seringue en plastique équipée d'une Sonde œsophagique.

Détermination de la glycémie :

La détermination de la glycémie est faite à l'aide d'un glucomètre (appareil de mesure de glycémie).une goutte de sang (2 μ l) est prélevée par ponction au niveau de la veine marginale de l'oreille avant le gavage pour déterminer la glycémie à jeun à T0 de chaque lapin puis à 30 ,60,90,120 ,160,180,210 et 240 minutes après le gavage de la surcharge de glucose.

La goutte de sang ponctionnée est déposée sur la zone active de bandelette, la lecture de la glycémie se fait automatiquement 10 secondes après le résultat est exprimé en g /l.



Figure 13: Prélèvement du sang et détermination du taux de la glycémie

Tableau 05 : Répartition des lots de lapins et de la dose de traitement administrée pour chaque lot

Lot des lapins	Poids moyen des lapins	Dose de la surcharge de Glucose	Dose de traitement administré par gavage
Lot sains	2300g	–	–
Lot non traité (témoin négatif)	2500g	2ml /Kg de solution à50%	
Lot traité par le médicament (témoin positif)	3010g		1.84×10^{-4} mg /Kg
Lot traité par l'extrait hydro alcoolique des polyphénols Totaux	3015g		3.3 g par lapin
Lot traité par l'infusé à10%	2700g		2 ml /kg

(- : non traité).

Annexe 1

Matériel non biologique :



Balance analytique (**Original 2013**). Balance pour les animaux de laboratoire



(**Original 201**)



Seringue de gavage(Original 2013) .Agitateur mécanique (Original 2013).



Agitateur magnétique (Original 2013).

Etuve (Original 2013).



Spectrophotomètre UV.V(Original 2013).Microscope photonique(Original 2013).



Cage pour la stabilisation des lapins.

Rotavapor (Original 2013).

(Original 2013)

1. Matériel utilisé dans notre expérimentation

• Equipement

- Broyeur électrique.
- Balance analytique SARTORIUS.
- Etuve.
- Papier filtre.
- Papier aluminium.
- Agitateur mécanique à Hélice IKA WERK .
- Agitateur magnétique à IKA-COMBIMAG RET.
- Balance pour les animaux de laboratoire.
- Cage de stabilisation des lapins.
- Glucomètre et les Bandelettes.
- Spectrophotomètre PERKINELMER.
- Seringue en plastique équipé d'une sonde œsophagique.
- Seringue en plastique.
- Rotavapor.
- Microscope photonique (NOVEX ,HOLLAND) .

• Verreries

- Bécher.
- Erlen.
- Tubes à essais.
- Spatule.

- Fioles jaugées.
- Les portoirs.
- Boites de pétries.
- Micropipette.

- **Réactifs et Solution**

- Eau distillée.
- Ethanol.
- Méthanol.
- DPPH .
- Acide Ascorbique (vitamine C).
- Solution de la surcharge de glucose.
- Solution de médicament hypoglycémiant.

- **Matière première :**

- Alginate de Sodium.
- Ca cl₂.

Annexe 2

Préparation de solution à tester

❖ Activité hypoglycémiante

Selon les protocoles expérimentale suivie pour la réalisation de l'activité hypoglycémiante, nous avons administré 2ml /kg du poids corporelle de l'infusé d'Ajuga Iva L.

Pour arriver à la dose donnée par voie orale pour un lapin de 1 kg nous avons suivi les calculs suivants :

🚦 Cas de l'infusé à 10%

10g —————> 100ml

X? —————> 2ml

X= 0.2 g = 200mg.

200 mg/kg est la dose de l'infusé à donner aux lapins.

🚦 Cas de médicament

65kg —————> 4mg (1 comprimé)

Poids de lapin —————> X ?

🚦 Cas de la Surcharge de glucose

2 ml —————> 1 kg

X ? —————> Poids de lapins

Annexe 3

Résultats de l'activité hypoglycémiante pour chaque lot de lapins

Tableau 01 : Résultats de l'activité hypoglycémiante du lot témoin sain :

Temps de mesure de glycémie N° : de lot	T₀	T₃₀	T₆₀	T₉₀	T₁₂₀	T₁₅₀	T₁₉₀	T₂₁₀	T₂₄₀
01	0.79	0.85	0.78	0.79	0.67	0.76	0.80	0.85	0.98
02	0.56	0.59	0.99	0.81	0.68	0.79	0.79	0.83	1.20
03	0.60	0.66	0.81	0.75	0.63	0.71	0.73	0.78	1.12

Tableau 02 : Résultats de l'activité hypoglycémiante du lot témoin négatif :

Temps de mesure de glycémie N° : de lot	Avant le gavage de la surcharge de glucose	Après le gavage de la surcharge de glucose							
	T₀	T₃₀	T₆₀	T₉₀	T₁₂₀	T₁₅₀	T₁₉₀	T₂₁₀	T₂₄₀
01	0.55	1.10	1.87	1.01	1.30	0.81	1.00	0.80	1.07
02	0.86	0.78	1.29	0.98	0.95	0.86	0.70	0.86	1.10
03	0.80	1.12	1.43	1.15	0.9	0.96	1.37	1.20	0.93

Tableau 03 : Résultats de l'activité hypoglycémiante du lot témoin positif :

Temps de mesure de glycémie N° : de lot	Avant le gavage de la surcharge de glucose	Après gavage	Après le gavage de la surcharge de glucose						
	T ₀	T ₃₀	T ₆₀	T ₉₀	T ₁₂₀	T ₁₅₀	T ₁₉₀	T ₂₁₀	T ₂₄₀
01	1.08	1.40	1.69	1.55	1.22	0.87	1.00	1.05	0.77
02	0.96	1.30	1.58	1.49	1.10	0.86	1.22	1.35	0.93
03	1.09	1.42	1.76	1.70	1.30	1.21	1.08	1.13	1.66

Tableau 04 : Résultats de l'activité hypoglycémiant des lots traités par l'extrait :

Temps de mesure de glycémie N° : de lot	Avant le gavage de la surcharge de glucose	Après le gavage de la surcharge de glucose							
	T ₀	T ₃₀	T ₆₀	T ₉₀	T ₁₂₀	T ₁₅₀	T ₁₉₀	T ₂₁₀	T ₂₄₀
01	0.61	0.75	1.21	1.09	0.70	1.17	1.30	1.57	1.35
02	0.97	1.44	1.28	0.98	0.78	0.80	1.54	1.22	1.13
03	0.94	1.21	1.20	1.18	0.95	1.22	1.31	1.48	1.62

Tableau 05 : Résultats de l'activité hypoglycémiant des lots traités par l'infusé .

Temps de mesure de glycémie N° : de lot	Avant le gavage de la surcharge de glucose	Après le gavage de la surcharge de glucose							
	T ₀	T ₃₀	T ₆₀	T ₉₀	T ₁₂₀	T ₁₅₀	T ₁₉₀	T ₂₁₀	T ₂₄₀
01	0.93	1.28	1.38	0.97	0.87	0.80	1.16	1.09	1.13
02	0.84	1.46	1.24	0.88	0.82	0.94	1.17	1.26	1.56
03	1.05	1.72	1.62	1.12	0.89	1.08	1.34	1.39	1.28

1. Résultat de l'extraction :

1.1. Caractéristiques organoleptiques :

- ✓ **Extrait Hydro alcoolique :**
 - **Aspect :** Liquide.
 - **Couleur :** verte.
 - **Odeur :** caractéristique de la plante.



Figure 14 : Extrait Hydro alcoolique d'*Ajuga Iva*.

- ✓ **Infusé :**
 - **Aspect :** Liquide.
 - **Couleur :** Vert foncé.
 - **Odeur:** caractéristique de la plante.



Figure15 : Infusé d'*Ajuga Iva*.

Résultat et discussion

2. Mise en évidence de l'activité antioxydante des polyphénols totaux :

Les résultats de l'évaluation de l'activité antioxydante des polyphénols totaux en comparaison avec ceux de l'acide ascorbique (produit de référence), sont indiqués sur le tableau ci-après et représenté dans l'histogramme (**Figure 16**).

Tableau06 : les résultats de l'activité antioxydante.

Volume (ml)	10	20	30	40	50
Extrait %	67.79	60.71	66.55	67.85	98.01
Acide Ascorbique%	94.97	96.65	96.81	76.46	74.54

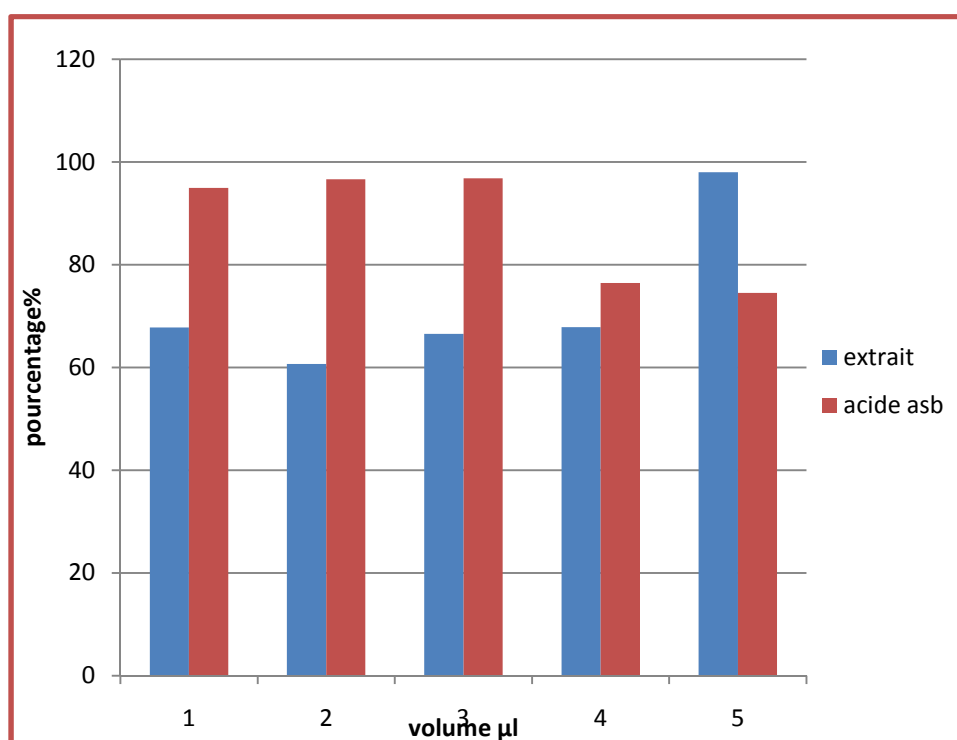


Figure16 : Pourcentage d'inhibition des polyphénols totaux en fonction du volume.

D'après l'analyse de la figure n° : nous remarquons que les polyphénols totaux d'AjugaIva.L présentent une importante inhibition des radicaux libres, ce pouvoir inhibiteur atteint son maximum 98.01% à la dilution de 50ml de DPPH.Ce taux très important est supérieur à celui de l'acide ascorbique qui est de 74.54%,par ailleurs, les dilutions de 10ml,20ml, 30ml et 40ml , les pourcentages d'inhibition sont respectivement de 67.79%, 60.71 ,66.55% ,67.85%ces

Résultat et discussion

valeurs sont inférieurs à celles de l'acide ascorbique qui sont de 94.97% ,96.65%,96.81% et 76.46% .

Les résultats de cette activité montrent que les polyphénols totaux possèdent un effet piègeur vis-à-vis du radical libre DPPH ce qui nous laisse proposer que ces polyphénols totaux possèdent un effet susceptible d'inhiber la formation de radicaux libre et de s'opposer à l'oxydation des macromolécules.

Il a été rapporté dans la bibliographie que l'extrait d'*Ajugaiva* possède un pouvoir antioxydant avec un effet plus prononcé pour l'extrait d'acétate d'éthyle. (Bouguandoura.N, 2011).

3. Mis en évidence de l'activité hypoglycémiant :

Les résultats des taux de la glycémie des différents lots de lapins sont indiqués dans le tableau ci-après et représenté dans les graphes (Figure17 ,18).

Tableau07 : les moyennes des résultats de la glycémie de chaque lot de Lapins en (g/l).

	Avant le gavage de la surcharge de glucose	Après le gavage de la surcharge de glucose							
Temps de mesure de glycémie	T ₀	T ₃₀	T ₆₀	T ₉₀	T ₁₂₀	T ₁₅₀	T ₁₉₀	T ₂₁₀	T ₂₄₀
N° : de lot									
01	0.65	0.70	0.86	0.78	0.66	0.75	0.77	0.82	1.09
02	0.73	1.00	1.53	1.04	1.05	0.87	1.02	0.95	1.03
03	1.04	1.37	1.67	1.58	1.20	0.98	1.10	1.17	1.12
04	0.84	1.13	1.23	1.08	0.81	1.06	1.38	1.42	1.36
05	0.94	1.48	1.41	0.99	0.86	0.94	1.22	1.24	1.32

Résultat et discussion

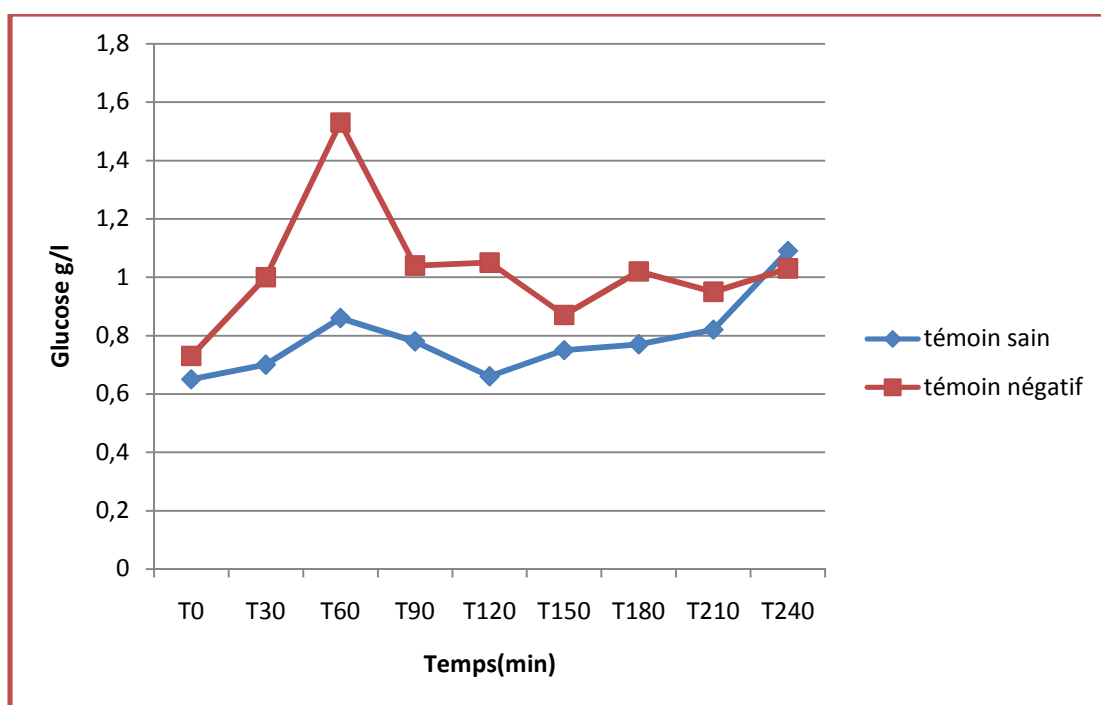


Figure17 : Variation de la glycémie chez le lot sain et témoin négatif en fonction du temps.

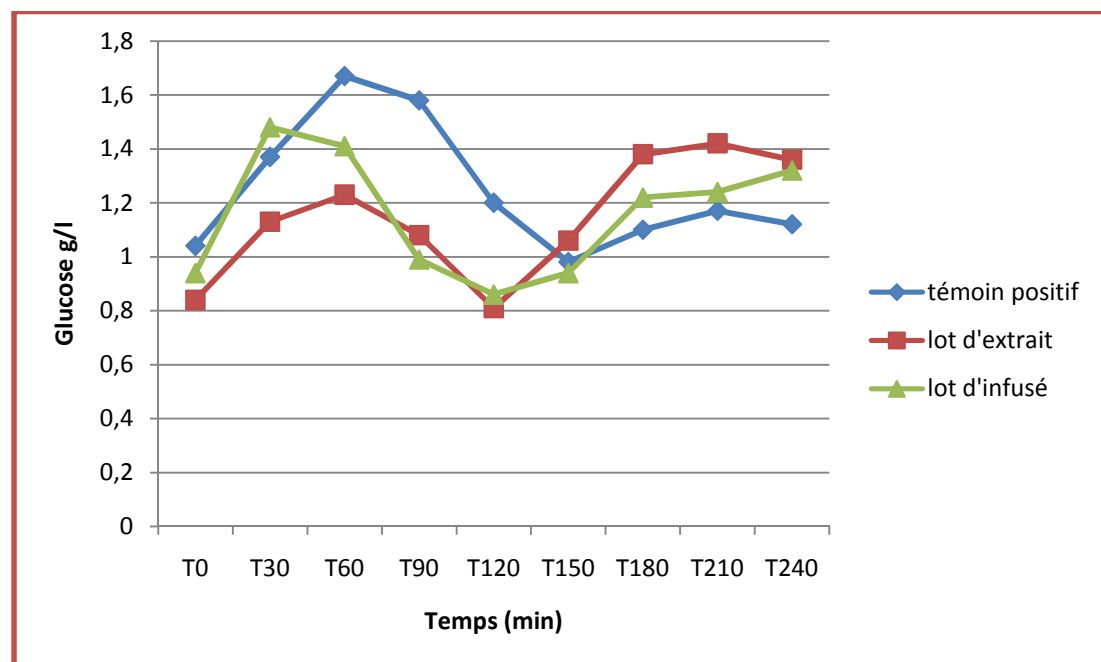


Figure18 : Variation de la glycémie chez les lots de témoin positif, témoin d'extrait et Témoin d'infusé en fonction du temps.

Commentaire et discussion:

L'analyse de la figure montre que l'administration de la solution de glucose par voie orale (gavage) entraîne une augmentation significative du taux de la glycémie entre 30 et 60 mn chez tous les lapins.

Le groupe de lapin témoins négatif, n'ayant reçu aucune surcharge de glucose présente une glycémie de 0.65g/l qui est restée stable (inférieure à 1g/l) pendant toute la durée du test.

Par ailleurs l'hyperglycémie atteint une valeur maximale de 1,53g /l à 90 mn pour le groupe de lapins non traités c'est à dire le témoin négatif, suivie d'une réduction progressive dans le temps expliqué par la sécrétion physiologique d'insuline qui fait abaisser normalement la glycémie dans le sang qui agit comme un transporteur actif du glucose dans les cellules périphérique.

S'agissant des groupes de lapins ayant reçu un traitement nous avons constaté ; une glycémie maximale de 1,41g/l pour l'infusé, de 1,23g/l pour l'extrait et 1,67g/l pour le médicament (Glimipéride). Ces pics hyperglycémiques sont suivis par une diminution progressive dans le temps avec des différences notables entre ces trois groupes.

Interprétation :

Au vu des résultats obtenus nous pouvons tirer les constatations suivantes :

L'extrait hydro alcoolique d'*ajugaiva* présente un pouvoir hypoglycémiant remarquable puisque la valeur maximale de glycémie reste relativement faible comparé au groupe de lapins non traités 1,41g/l pour l'infusé, de 1,23g/l pour l'extrait et 1,53g/l pour le médicament ce qui est intéressant pour les personnes diabétiques afin de réduire la glycémie post-prandiale. En ce qui concerne le groupe traité par le médicament, nous avons remarqué que la glycémie maximale après la surcharge glucosée est élevée car l'effet d'un antidiabétique par voie orale ne peut apparaître qu'après un traitement pendant plusieurs jours.

Résultat et discussion

Nous avons néanmoins remarqué que l'effet de l'extrait hydro alcoolique de la plante reste plus élevé que celui de l'infusé probablement en raison de l'effet de concentration de l'extrait par rapport à l'infusé mais aussi est lié aux principe actif présent dans l'extrait tel que les polyphénols est absent dans l'infusé, à cet effet une étude phytochimique est nécessaire pour l'extrait et l'infusé afin d'identifier les principales familles de métabolites présents dans chaqu'un .

Les études antérieures de la bibliographie ont rapporté une activité hypoglycémiant de l'extrait aqueux de la plante qui ramène la glycémie à une valeur de début de l'expérimentation. **(Chabane D et al, 2013)**.Le mécanisme d'action n'est pas identifié à l'heure actuelle puisque l'extrait de cette plante ne présente aucun effet sur la concentration plasmatique d'insuline. **(Jimens J et al, 1986)**.

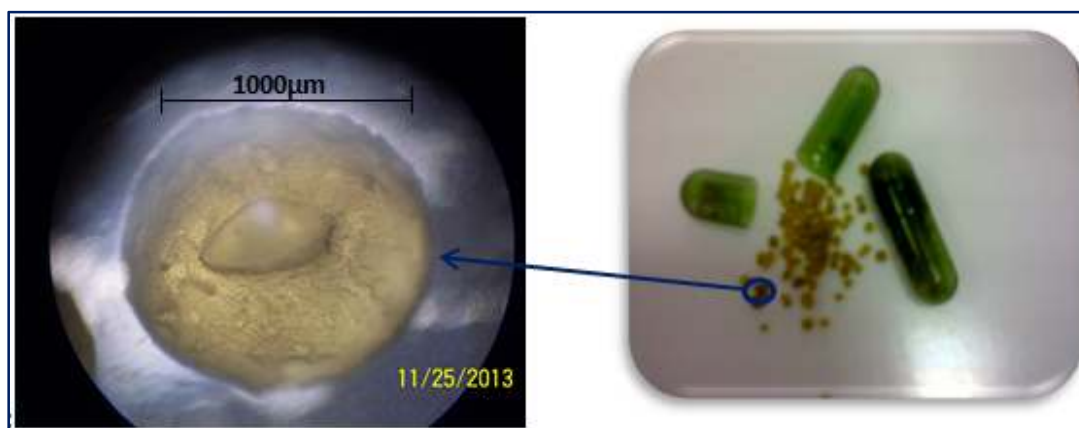
Des études sur l'effet hypoglycémiant d'autres espèces de la même famille ont démontré que cet effet est dû à un mécanisme extra-pancréatique, à savoir sur une sensibilisation des tissus périphériques quant à l'utilisation du glucose **(Eddouks M et al, 2005) (Alaoui JF, 1998)**.

des recherches récentes ont démontré que les hétérosides flavoniques en sont responsables **(Deutschlunder et al,2012)**.

4.Résultat de la microencapsulation et la caractérisation microscopique et par FTIR :

Les microcapsules obtenues sont représentés dans la photo ci-après, ils présentent une taille moyenne comprise entre(750-1000 μm) avec une forme sphérique parfois allongée de couleur proche de celle de l'extrait.

4.1. Caractérisation des microcapsules par Microscope Photonique



Résultat et discussion

Figure19 : microcapsule d'extrait d'*Ajuga Iva* sous Microscope photonique (G x10).

4.2. Caractérisation des microcapsules par FT-IR :

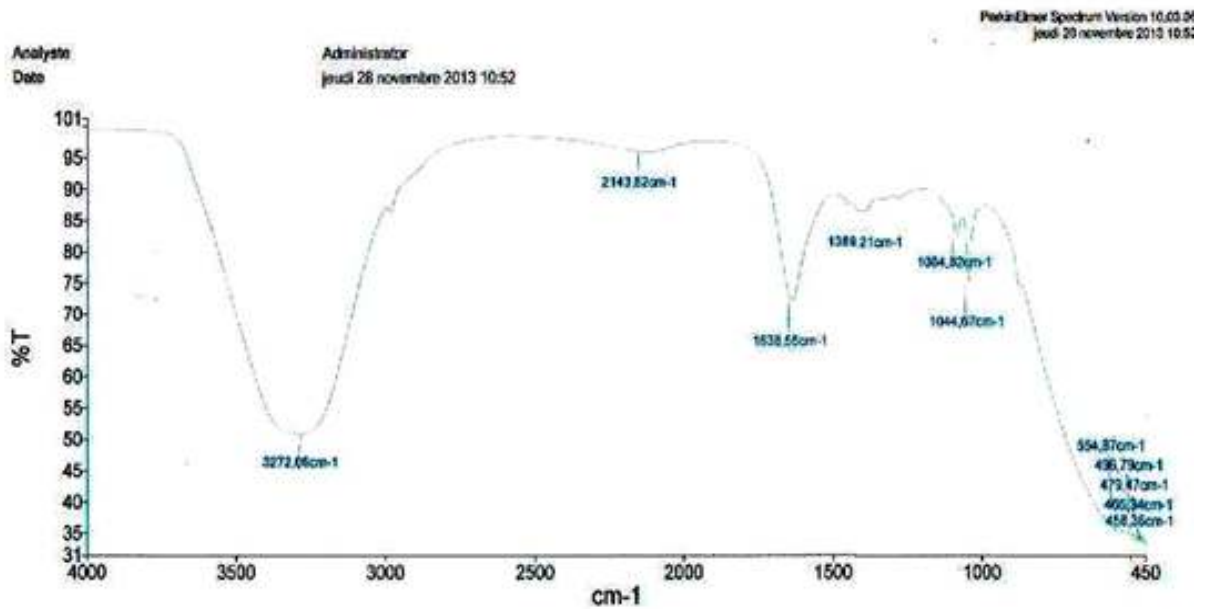


Figure20 : Extrait d'*Ajuga Iva*.

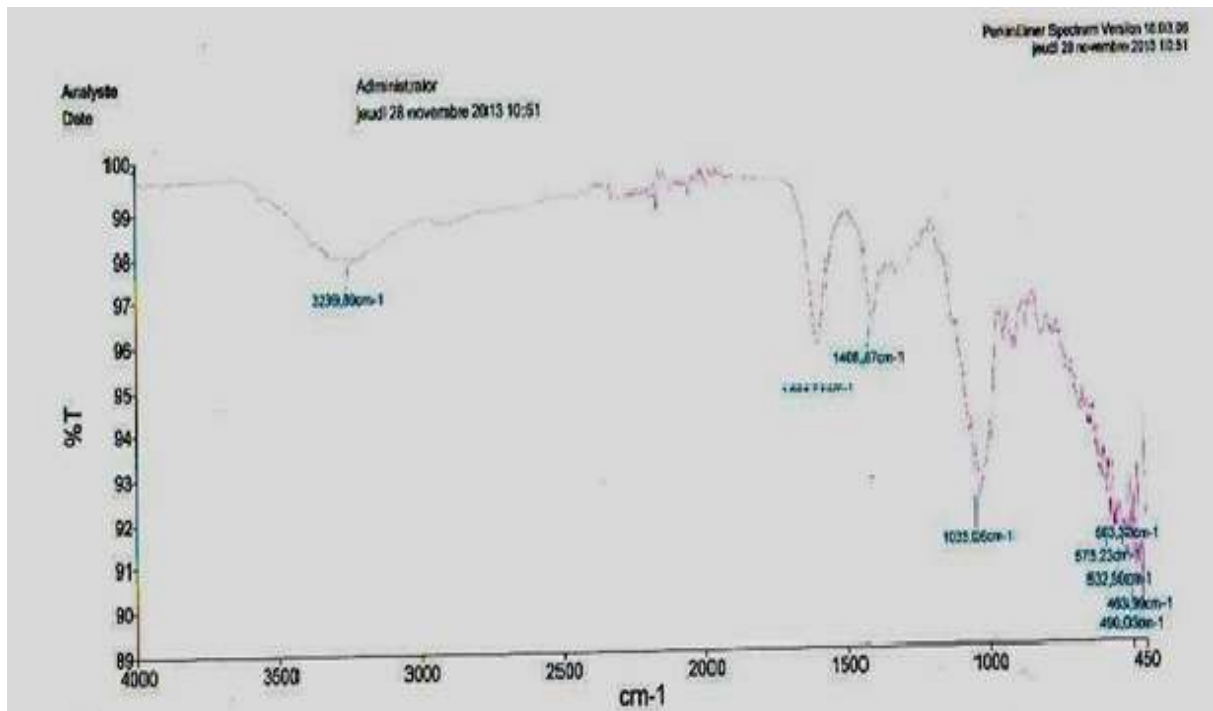


Figure 21 : Alginate de sodium.

Résultat et discussion

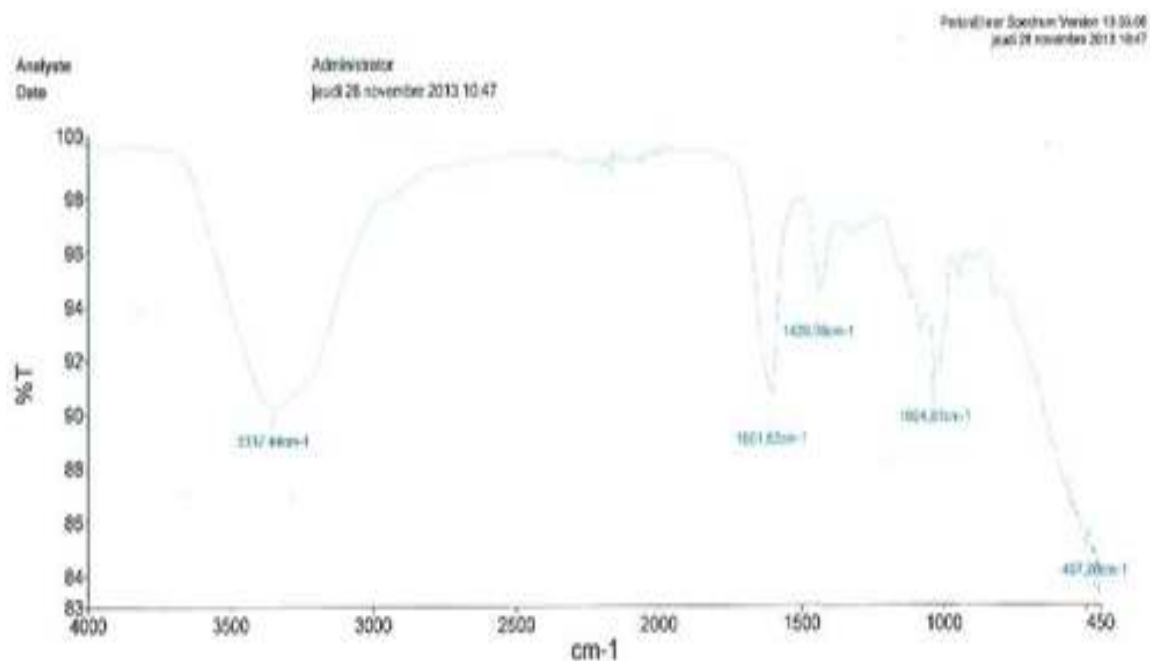


Figure22 : Microencapsulation d'*Ajuga lva*.

Au vue du spectre de l'extrait, des microcapsules et de l'alginate (agent d'enrobage) Les fonctions qui sont actives sont représentées dans le tableau (08)

Tableau08 : les fonctions actives de microencapsulation et de l'extrait de la plante.

Les bandes	Les fonctions	
Microcapsules Extrait /alginate	3337.44	Amide NH
	1601.83	Amine NH
	1420.08	/
	1024.81	Halogénures C-F
	457.20	Halogénures C-I
Extrait de la plante	3272	Amides N-H
	2143.82	Alcynes RC=CH
	1638.55	Amines (RNR ₂)
	1380.21	Acide carboxyliques
	1084.82	Halogénures C-F
	1044.67	
	554.87	Halogénures R-Br
	496.79	Halogénures R-Br
	479.47	Halogénures R-I
	465.34	Halogénures R-I
450.36	Halogénures R-I	

Résultat et discussion

Les fonctions repérées dans le spectre Infra - rouge pour l'extrait d'AjugaIvasont la fonction carboxylique qui représente une élongation importante, nous avons aussi des amines, les halogènes fluorés, les halogènes du Brome, les halogénures R-I ,et des Alcynes.

En comparaison entre l'extrait et les microcapsules extrait /alginate, le spectre FT-IR fait ressortir les mêmes fonctions principales à savoir la fonction amide, la fonction amine et les halogénures, c'est-à-dire qu'après encapsulation l'intégrité des fonctions a été conservé ce qui démontre que le procédé d'encapsulation n'affecte pas l'intérêt thérapeutique attribué aux molécules responsables des activités biologiques.

Conclusion

Dans le but de valoriser la plante *Ajuga Iva L .Schreber*, largement utilisé en médecine traditionnelle pour sa richesse en substances thérapeutiques. Nous nous sommes intéressés dans notre travail à l'étude des propriétés anti-oxydante et hypoglycémiantes de l'extrait hydro alcoolique des polyphénols totaux et de l'infusé de cette plante. Les extraits obtenus ont été encapsulés par la complexation de l'alginate de sodium

Le test de l'activité antioxydante par le radical libre DPPH montre une importante inhibition qui atteint 98.01 % à 50ml pour l'extrait hydro-alcoolique.

L'activité hypoglycémiantes par le test de la surcharge de glucose réalisée sur des lapins albinos a révélé un taux de glycémie de 1.23g/l pour l'extrait et 1.41g/l pour l'infusé comparé au groupe non traité et ayant reçu la surcharge glucosée qui a enregistré une glycémie de 1.53g/l cette réduction du taux de glycémie est très intéressante pour faire abaisser la glycémie en poste prandiale.

A la lumière des résultats obtenus, nous pouvons conclure que *Ajuga Iva L .schreber* est une plante médicinale à pouvoir antioxydant et à effet hypoglycémiant et que le procédé d'encapsulation qui a permis la mise en forme galénique de l'extrait, n'affecte pas l'intérêt thérapeutique attribué aux molécules responsables des activités biologiques comme le démontre les spectres caractéristiques des capsules extrait/ alginate.

En fin, ces résultats restent préliminaires, il serait donc judicieux de poursuivre par des études complémentaires, tel que l'isolement des substances actives responsables de l'activité hypoglycémiantes et la définition du mécanisme d'action mis en jeu, et la réalisation d'autres activités biologiques.

1. **Abbasi S. and Azari S. (2011)**.Efficiency of novel iron microencapsulation techniques: fortification of milk. *Int J Food Sci Techn*, 46. 1927-1933.
2. **Abbasi S., Rahimi S. and Azizi M.H. (2009)**. Influence of microwave-microencapsulated citric acid on some sensory properties of chewing gum. *J Microencapsul*, 26. 90-96.
3. **Ait youssef M. (2006)**. Plants médicinales de Kasylie. *Edition Ibis-press*.17p.
4. **Alaoui JF., Lagorce Y., Cherrah M., Amarouch H., Roquehert M. (1998)** Activité analgésique et antiinflammatoire des saponines d'argania spinosa.in : Annales pharmaceutiques Françaises. 220-228.
5. **Anjani K., Kailasapathy K. and Phillips M. (2007)**. Microencapsulation of enzymes for potential application in acceleration of cheese ripening. *Int Dairy J*, 17. 79-86.
6. **Augustin M.A. and Hemar Y. (2009)**. Nano- and micro-structured assemblies for encapsulation of food ingredients. *Chem Soc Rev*38.902-912.
7. **Baba Aissa F. (2011)**.Encyclopédie des plants utiles : plants médicinales, plants aromatiques, plants alimentaires. *Edition El Maarifa*.471p.
8. **Beloud A. (2005)** .Plantes médicinales d'Algérie. Département botanique à l'INA Algérie. P122-123.
9. **Benhammou et al. (2009)**
10. **Benhammou N., AtikBekkara F., Panovska R-K. (2009)**.Antioxydant activity of methanolic some bioactive compound of *Atriplexhalimis*.*C.R.CHIMIE*.
11. **Benita S., Hoffman A. and Donbrow M. (1985)**. Microencapsulation of paracetamol using polyacrylate resins (Eudragit Retard), kinetics of drug release and evaluation of kinetic model. *J PharmPharmacol*, 37- 391.
12. **Ben youssef S.(2013)**. Pharmacie galénique vétérinaire.Notion de base en sciences du médicament. ENMVST.P 2-69.
13. **Bisht K., Wagner K.H., Bulmer A.C. (2009)**. Curcumin, resveratrol and flavonoids as anti-inflammatory, cyto and DNA-protective dietary compounds. *Toxicology*.10:1016.
14. **Bmuneton J.J. (2009)**. Pharmacognosi, Phytochimie: plantes médicinales. Techniques et documentation. *Lavoisier*. 204p.
15. **Bnouham M., Mekhfi H., Legssyer A. , Ziyat A. (2002)** .Ethnopharmacology Forum Medicinal plants used in treatment of diabetes in Morocco 10. P 33- 50.
16. **Boitar C. (2005)**.traite diabétologie. Édition Flammarion. P113-185

17. **Bondi M.L., Al Hilo M.R.Y., Lamara K., Ladjel M., Bruno M., Piozzi F., Simmonds M.S.J. (2000).** Occurrence of the antifeedant 14, 15 dihydroajugapitin in the aerial parts of *Ajuga reptans* L. from Algeria. *Bio chemical systematics and ecology*.28: 1023- 1025.
18. **Bougandoura N. (2011).** Pouvoir antioxydant et antimicrobien des extraits d'espèces végétales *Salvia officinalis* L. (sage) et *Ajuga reptans* L. (chendgoura) de l'ouest d'Algérie. Magistère en Biologie. Université Abou Bekr Belkaid. Tlemcen.
19. **Boukef M.K. (1986).** Les plantes dans la médecine traditionnelle tunisienne. *Agence de coopération culturelle et technique*. P 159-161 .
20. **Boullard B. (2001).** Dictionnaire : Plantes médicinales du monde, réalités et croyances. Estem. 660P.
21. **Bruneton J. (1999).** Pharmacognosie, phytochimie : Plantes médicinales, technique et documentation. *Lavoisier*. 1120p
22. **Bruneton J. (2009).** Pharmacognosie, phytochimie : plante médicinale .technique et documentation. *Lavoisier*. 402p.
23. **Burmeier G., Forriester S., Greig D. (2006).** Botanica, Encyclopédie de Botanique et l'horticulture, plus de 10000 plants de monde entier. *Edition place des victoires, paris*.
24. **Chabane D., Saidi F., Rouibi A., Azine K. (2013).** Activité hypoglycémique de l'extrait aqueux d'*Ajuga reptans* L. Schreber chez les rats diabétiques induite par l'alloxane. *Afrique Science* 09 (1) :120-127.
25. **Chabaud M. (2010).** Antenne médicale de prévention du dopage. *Languedoc Roussillon*.
26. **Chen R.X., Tan Z.L., Liu C.Y., Zhao et Sun J. (1997).** Aclerodan diterpène with antibacterial activity from *Ajuga reptans* L. *Acta crystallographica- section C –Crystal Structure Communications*. P814-816.
27. **Dardelle G., Normand V., Steenhoudt M., Bouquerand P., Chevalier M. et al. (2007).** Flavour-encapsulation and flavour-release performances of a commercial yeast-based delivery system. *Food Hydrocolloid* 21. 953-960
28. **Debouigie G. (1984).** Larousse des plantes qui guérissent. *Larousse*.
29. **Deutschländer M S., Lall N., Van de Venter M., Dewanjee S. (2012).** The hypoglycemic activity of *Euclea undulata* Thunb. var. *myrtina* (Ebenaceae) root bark evaluated in a streptozotocin–nicotinamide induced type 2 diabetes rat model. *South African Journal of Botany*. 80 9–12.

30. Dietrich F., Fander H.J.P., Auton R. (2009). Plantes à risque. 3ème édition. *Tec & Doc, PPXLIXLVI*.
31. Duraffourd C., Lapraz J-C., Chemili . (1997) .La plante médicinale de la tradition à la science. 1^{er} congrès International. Tunis .Ed :Granche. Paris. 222.
32. EddouksM., Lemhadri A., Zegghwagh NA., Michel J.B.(2005). Potent hypoglycemic activity of the aqueous extract of *Chamaemelumnobile* in normal in normal and streptozotocin-induced diabetic rats. *Diabetes Res. Clin. Pract.* .7189-195.
33. El hilaly J. (2006). Les propriétés pharmacologiques, ethnobotaniques et phytochimiques d'*Ajuga Iva*. UFR physiologie-pharmacologie Fac des science Dhar Mehraz, Fès
34. El-Zawahry M.M., El-Shami S. and El-Mallah M.H. (2007). Optimizing a wool dyeing process with reactive dye by liposome microencapsulation. *Dyes Pigments*, 74. 684-691
35. Ge X., Wan Z., Song N., Fan A. and Wua R. (2009). Efficient methods for the extraction and microencapsulation of red pigments from a hybrid rose. *J Food Eng*, 94. 122-128.
36. Grimaldi A. (2005). Traité de diabétologie, glucagon. Paris : *Flammarion*. Pp 67-89.
37. Hammill T.B. and Crawford R.L. (1997). Bacterial microencapsulation with three algal polysaccharides. *Can J Microbiol*, 43. 1091-1095.
38. Hans N., Kothe. (2011). Encyclopédie essentielle des herbes (plantes aromatiques). *Komet*
39. Harborne. (1980). Plant phenolics in secondary plant products, *Encyclopedia of plant physiology*, vol: 8. Bell EA. Charl wood BVV.Ed. Springer-verlang. Berlin.p 329-402.
40. Hermenn T., Wunsh V. (2004). Encyclopédie, bordas nature : le règne végétale. *SGED. Paris*. 440p.
41. Iserin P. (2001). Encyclopédie des plantes médicinales. *Larousse*. p335.
42. Jimen J., Risco S., Ruiz T., Zareulo A. (1986) hypoglycemic activity of *Salvia lavandulalifolia*. *Planta Med*. 4 260-262.
43. Kapusniak J. and Tomasik P. (2006). Lipid microencapsulation in starch. *J Microencapsul*, 23.341-348.
44. Kariba R.M. (2001). Antifungal activity of *Ajuga remota* .*Fitoterapia* 72 (2). P177.

45. **Kebièche M., Lakroun Z., Mraïhi Z., Soulimani R. (2011).** Effet anti diabétogène et cytoprotecteur de l'extrait butanolique de *Ranunculus repens* L. et de la quercétine sur un modèle expérimentale de diabète alloxanique. *phytothérapie* .9 :274-282.
46. **Keita A., Marico E., Haidara T.K.(1998)** .Etude de l'activité hypoglycémiant des feuilles de *Sclerocarya birrea* (A.Rich) Hochst . (ANACARDIACEAE) .Pharm. Méd.Tard. Afr .Vol-10pp 16-25. **Keogh M.K. and O'Kennedy B.T. (1999).** Milk fat microencapsulation using whey proteins. *Int Dairy J*, 9.657-663.
47. **Kokwaro J.O. (1976).** Medicinal plants of east Africa. *East African Literature Bureau*, Nairobi, Kenya. P106.
48. **Kuria A., Muriuki G. (1984).** A new cardiogenic agent from *Ajuga remota* Benth. *East medical journal* 67. P 533-538.
49. **Labrez L. (2002).** Rédaction Elisabeth Fame. Service des professionnels de la santé.
50. **Lawson- Evi P., Eklu-Gadegbeku ., Aklikokou K., Akpgaga K. , Koumaglo K. ,et Gbeassor M.(1997).** Activité hypoglycémiant de quelques plantes médicinales. *Pharm .Méd.Tard.Afr.* Vol-9 pp60 -69.
51. **Lazko J. (2004).** Etude des mécanismes et de procédé de formation des microparticules à partir des protéines végétales. In *Thèse de doctorat* .Université de Nantes.
52. **Maataoui B.S .,Hmyene A et Hilali S.(2006).**Activiteantiradicalaires d'extrait de jus de fruits du figuier de barbarie (*Opuntia ficus indica*); *Lebance Science journal*.7(1) : p3-8.
53. **Macabies J., Orsetti A. (1978).** La digestion, la régulation de la glycémie. Loréal tom1
54. **Madi A. (2010).** Caractérisation et comparaison du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales (Thym et Saugé) et la mise en évidence de leurs activités biologique. Mémoire de magistère en biotechnologie végétale.
55. **Marcuzzo E., Sensidoni A., Debeaufort F. and Voilley A. (2010).** Encapsulation of aroma compounds in biopolymeric emulsion based edible films to control flavour release. *Carbohydr Polym*, 80. 984-988
56. **Mohammedi Z. (2006).** Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen. Thèse magistère en biologie. P15.

57. **Owen P.L., John T. (1999).** Xanthine oxidase inhibitory of north eastern North American plant remedies used for gout. *Journal of ethnopharmacology*. 849p.
58. **Parlemuter L., Collin G. (2003).** Diabète et maladies métabolique 4^{ème} édition.p385.
59. **Pierucci A.P.T.R., Andrade L.R., Baptista E.B., Volpato N.M. and Rocha-Leao M.H.M. (2006).**New microencapsulation system for ascorbic acid using pea protein concentrates as coat protector. *JMicroencapsul*. 23, 654-662.
60. **Quezel R., Santa S. (1962).** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertique et méridionales. centre national de la recherche scientifique. Tome 2 .786-787P.
61. **Rai P.K., Rai N.K., Watal G. (2007).** Role of LIBS in elemental analysis of Psidium guajava responsible for glycemic potential .35: 507-522.
62. **Ramawat K.G., Merillon J.M. (2008).** Bioactive Molecule and Medicinal plants. Springer Verlag Berlin Helderberg. German. 379p
63. **Rascon M.P., Beristain C.I., Garcie H.S. and Salgado M.A. (2011).**Carotenoid retention and storage stability of spray-dried paprika oleoresin using gum arabic and soy protein isolate as wall materials. *FoodSci Technol*, 44. 549-557.
64. **Ribereau –Gayon P. (1968).** Les composés phénoliques des végétaux. Edition : Dumond, Paris. P245.
65. **Richard A. (1999).** Quest-ce que le diabète ? Canada .P15.
66. **Richard J. and Benoit J.P. (2000).**Microencapsulation. *Techniques d'Ingénieur. J 2 210*. 1-20.
67. **Sarni-Manchado P., Cheynier V. (2006).** Les polyphénols en agroalimentaire. Tec & Doc, Paris. 1-11p.
68. **Sefton M.V. and Broughton R.L. (1982).**Microencapsulation of erythrocytes. *Biochim Biophys Acta*, 717.473.
69. **Simon D., Fagot-Campagna A., Eschwege E et Etbalkau B. (1999).** Raport of a world health organisation consultation definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus an dits complication. World health organization. Department of non-communicable disease surveillance. Geneva. Who publication 1999. 59.
70. **Sugamori M.E. and Sefton M.V. (1989).** Microencapsulation of pancreatic islets in a water insoluble polyacrylate. *ASAIO Trans*, 35. 791.
71. **Takazaki M., Tokuda H., Nishino H et Konoshima T. (1999).**Cancer chemopreventive agents (antitumor-promoters) From Ajuga decumbens. *Journal of natural products* 62. P 972-975.

Références bibliographiques

- 72. Tifoura. (2009).** Caractérisation et étude pharmacotoxicologique et antibactérienne de l'extrait aqueux des feuilles d'Ajuga Iva L.Schreber. ingénieur en Biologie. Université Saad Dahlab de Blida.
- 73. Vercantern J., Cheze C., Trian J. (1996).** Les polyphénols 96. Edition : I.N.R.A, Paris. P289.
- 74. Wehrle K., Gallagher E., Neville D.P., Keogh M.K. and Arendt E.K. (1999).** Microencapsulated high-fat powders in biscuit production. *Eur Food Res Tech*, 208. 388-393.
- 75. Wichtl M., Anton R. (1999).** Plante thérapeutique. Tec et Doc. 689p.
- 76. Wilson N. and Shah N.P. (2007).** Microencapsulation of vitamins. Review paper. *ASEAN Food J.* 14, 1-4.
- 77. Mohamed Moustafa T M.(2007).** Microencapsulation des cellules chromaffines bovines dans le traitement des douleurs chroniques rebelles: Etude de faisabilité in vitro et in vivo.
- 78. Christine Mclunis .(2008) .**Black well Lab, *UW-Madison*, department of chemistry.
- 79. Vincent E.(2010).** Les alginates et leurs applications en pharmacie et en ingénierie.thèse de doctorat . Université Henri Poincaré-Nancy1 .