

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE DE FARHAT ABBAS –SETIF-

## **MEMOIRE**

Présenté à la Faculté des Sciences  
Département de Biologie  
Pour l'obtention du Diplôme de

## **MAGISTER**

EN BIOCHIMIE ET PHYSIOLOGIE EXPERIMENTALES

Option : Effets Biologiques des Substances Naturelles

Par : Mlle **KRACHE IMANE**

## **THEME**

**EVALUATION DES EFFETS TOXIQUES DES EXTRAITS  
METHANOLIQUES DE *TAMUS COMMUNIS* L. ET *TEUCRIUM  
POLIUM* L. SUR DES RATS BLANCS *ALBINO WISTAR***

Soutenu le :

Devant le jury :

<b>Président :</b>	<b>Pr. TOUABTI Abderrezak</b>	<b>Prof</b>	<b>Université de Sétif</b>
<b>Encadreur :</b>	<b>Pr. ARRAR Lekhmici</b>	<b>Prof</b>	<b>Université de Sétif</b>
<b>Examineur</b>	<b>Dr. BAGHIANI Abderrahmane</b>	<b>M.C</b>	<b>Université de Sétif</b>
	<b>Dr. DAHANMA Saliha</b>	<b>M.C</b>	<b>Université de Sétif</b>

## RESUME

*Tamus communis* et *Teucrium polium* L. sont communément utilisées comme plantes médicinales en Algérie contre une variété de pathologie humaine. Dans la présente étude, l'extraction de rhizomes de *T. communis* et de parties aériennes de *T. polium* par le méthanol a donné un rendement en matière sèche égal à 6.45 % et 8.24 % respectivement. L'action de ces extraits méthanoliques a été évaluée expérimentalement *per os* sur les rats femelles *Albino Wistar* pendant six semaines de traitement, et fut également étudiée sur d'autres facteurs ; dosage des paramètres sériques biochimiques, hématologiques et évaluation de l'état physique et histopathologique des organes des rats traités par rapport aux témoins. L'étude de la toxicité aiguë par voie orale a montré une faible toxicité des plantes étudiées avec une  $DL_{50} > 12000$  mg/kg et 2400 mg/kg de poids corporel des rats traités respectivement par les extraits méthanoliques de *T. communis* et *T. polium*. Ces données permettent de classer ces deux plantes en peu toxique et/ou légèrement toxique, par conséquent leurs extraits présentent une bonne marge de sécurité. Cependant, le traitement subaigu des rats avec les doses 75, 150 et 300 mg des extraits méthanoliques /kg de poids pendant les six semaines a permis d'établir une augmentation significative des paramètres hématologiques suivants : RBC, MCV, RDW, HCT, PLT, MPV, MCH et HGB. Les analyses biochimiques ont révélé une augmentation des valeurs du bilan rénal (Urée, Créat, AU, Na et K) témoignée par la masse relative augmentée des reins, lipidique (Chol T) et hépatique (TGO) chez les rats traités par l'extrait méthanolique de *T. polium*. D'autre part, l'extrait méthanolique de *T. communis* n'a pas marqué de modifications importantes des ces paramètres, néanmoins une baisse significative ( $P \leq 0.05$ ) de la masse relative des ovaires des rats traités pour les trois doses exploitées. L'examen histopathologique a confirmé les tests biochimiques par l'observation de foyers de nécrose périlobulaire, infiltrat inflammatoire et prolifération ductulaire du foie avec une présence de vacuoles intracytoplasmiques au niveau du rein principalement avec la dose 300 mg d'extrait méthanolique de *T. polium* / kg de poids d'animaux. L'utilisation de *Teucrium polium* pourra être à l'origine d'anomalies hépatotoxiques et/ou néphrotoxiques après administration prolongée de l'herbe.

**Mots clés :** *Tamus communis* L., *Teucrium polium* L., extrait méthanolique,  $DL_{50}$ , paramètres hématologiques, biochimiques et histopathologiques.

## SUMMARY

*Tamus communis* L. and *Teucrium polium* L. are commonly used as medicinal plants in Algeria against a variety of human disease. In this study, the extraction of rhizomes of *T. communis* and aerial parts of *T. polium* with methanol gave a dry matter yield of 6.45% and 8.24 % respectively. The effects of methanolic extracts were examined *per os* on female rats *Albino Wistar* for six weeks. Determination of serum parameters biochemical, haematological and evaluation of physical and histopathology of organs of treated rats were studied. The study of acute toxicity showed a low toxicity with  $LD_{50} > 12000$  mg / kg and 2400 mg / Kg of body weight of rats treated with *T. communis* and *T. polium*, respectively. These data can be used to classify these two plants in low toxicity and / or slightly toxic. However, the subacute treatment of rats with the doses of 75, 150 and 300 mg of methanolic extract / kg body weight of rats for six weeks resulted in significant increases of haematological parameters: RBC, MCV, RDW, HCT, PLT, MPV, MCH and HGB. Biochemical analysis revealed significant increase of renal (Urea, Creat, AU, Na and K), accompanied by increased relative weight of kidney, lipidic (T Chol) and hepatic (TGO) values in rats treated with methanolic extract of *T. polium*. On the other hand, the methanolic extract of *T. communis* did not cause significant changes of these parameters; but a significant decrease ( $p \leq 0.05$ ) of relative mass of ovaries in rats treated with the three doses exploited. Histopathological examination confirmed the biochemical tests by the observation of perilobular necrosis areas, bile duct and inflammatory infiltration of the liver with presence of marked intracytoplasmic vacuoles in kidneys with the dose 300 mg of methanolic extract of *T. polium* / kg of animal body weight. Use of *Teucrium polium* L. may cause hepatotoxicity and / or nephrotoxic after prolonged herb administration.

**Key words:** *Tamus communis* L., *Teucrium polium* L., methanolic extract,  $LD_{50}$ , hematologic, biochemical and histopathological parameters.

تستعمل النبتتان الطبيتان *Tamus communis* و *Teucrium polium* بشكل واسع في الجزائر في علاج العديد من الأمراض. في هذه الدراسة، أعطى الاستخلاص الميثانولي لجذور نبتة *Tamus communis* والجزء الهوائي لـ *Teucrium polium* مردودا يساوي 6،45 و 8،24 % على التوالي.

تمت دراسة تأثير هذين المستخلصين المستعملين عن طريق الفم على إناث جردان من نوع *Albino Wistar* خلال ستة أسابيع من العلاج تم خلالها دراسة تأثيرهما على العوامل المصلية البيوكيميائية والدموية وتقدير الحالة الفيزيولوجية والتشريحية المرضية لأعضاء الجردان المعالجة مقارنة مع الشواهد. أظهرت دراسة السمية الحادة للنباتات المدروسة سمية ضعيفة حيث قدرت الجرعة القاتلة لـ 50 % من الجردان ( $DL_{50}$ ) بـ 12000 مغ و 2400 مغ/كغ من الوزن الجسدي للجردان المعالجة بمستخلصات الميثانولية لكل من *Tamus communis* و *Teucrium polium* على الترتيب. سمحت هذه النتائج بتصنيف هذين النبتتين إلى قليلة و/أو ضعيفة السمية. وبالتالي فإن مستخلص كلتا النبتتين ليس لهما تأثير سمي.

أظهرت المعالجة شبيه الحادة للجردان بتركيز 75 و 150 و 300 مغ من المستخلص الميثانولي في الكيلوغرام من وزن الجردان خلال ستة أسابيع ارتفاعا محسوسا في العوامل الدموية التالية RBC، MCV، RDW، HCT، PLT، MPV، MCH، HGB. أبدت التحاليل البيوكيميائية ارتفاعا معنويا في قيم المعايير الكلوية (البولة، كرياتينين، حمض اليوريا، الصوديوم و البوتاسيوم) مما يفسر ارتفاعا نسبيا في وزن الكلى والكوليسترول والإنزيم الناقل للأمنيات الكبدية عند الجردان المعالجة بمستخلص *Teucrium polium*. بينما لم تظهر المعالجة بنبتة *Tamus communis* تغييرا واضحا في العوامل المدروسة سابقا، غير أن هناك انخفاضا في ( $p < 0,05$ ) الكتلة النسبية لمبيض الجردان عند المعالجة بالتركيز الثلاثة. أكد الفحص النسيجي المرضي النتائج البيوكيميائية المتحصل عليها بواسطة ملاحظة بؤر النخر ما بين الفصوص ووجود رشح التهابي و تضاعف القنوات الناقلة للصفراء في الكبد ووجود فجوات داخل خلوية على مستوى الكلى خاصة عند استعمال *Teucrium polium* بتركيز 300 مغ/كغ. يمكن أن يكون استعمال *T. polium* سببا في السمية المؤثرة على الكبد والكلى بعد المعالجة بالنبات لفترة طويلة.

**الكلمات المفتاحية :** *Tamus communis*، *Teucrium polium*، المستخلص الميثانولي، العوامل الدموية، البيوكيميائية و التشريحية المرضية.

## REMERCIEMENTS

*Ce travail a été réalisé dans le laboratoire d'Immunologie et a profité du financement du Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique (MESRS) et de l'Agence Nationale pour le Développement de la Recherche en Santé (ANDRS).*

*Je remercie Pr. **ARRAR Lekhmici**, maître de conférence à l'université de Sétif de m'avoir accueilli au sein de son laboratoire pendant trois ans, durant lesquels j'ai beaucoup appris grâce à ses conseils et son suivi.*

*Je tiens à remercier Pr. **TOUABTI Abderrazek**, de m'avoir fait honneur de présider le jury de soutenance. Je remercie vivement Dr. **DEHAMNA Saliha** et Dr. **BAGHIANI Abderrahmane** d'avoir accepté de juger mon travail de magister.*

*J'exprime ma gratitude à Dr. **BOUZIDI Abdelouaheb** et Dr. **BOUMERFAG Sabah** qui ont toujours été à mes côtés dans le laboratoire ainsi que dans les sorties ce qui m'a permis de profiter de leurs expériences et soutien.*

*Je remercie Dr. **ABDELOUCHE Djamel**, maître assistant au laboratoire d'anatomie pathologique du CHU de Sétif, Dr. **KRACHE Samira** ainsi que tous les techniciens et stagiaires du laboratoire pour leur aide précieuse dans la réalisation des coupes histologiques.*

*Mes sincères remerciements vont également à tout le personnels du laboratoire Central de l'Hôpital Universitaire de Sétif pour leur aide, spécialement à Mr. le professeur **A. TOUABTI** et Mr. **R. Benadi***

*Que toute personne ayant participé de près ou de loin dans l'élaboration de ce travail, trouve ici l'expression de mes très vifs remerciements.*

# *Dédicace*

*JE DEDIE CE TRAVAIL*

*A DIEU NOTRE TOUT PUISSANT*

*A Mon père et à ma mère KRACHE Djamil et KHABAT Chahrazed*

*Vous n'avez ménagé aucun effort pour nous donner une meilleure éducation. Vous avez su créer en nous l'amour du travail bien fait. Vous nous avez guidés avec rigueur mais aussi avec amour. Vous avez été toujours là quand nous avons besoin de vous et sans vous, nous ne serions pas devenus ce que nous sommes aujourd'hui.*

*Je t'aime papa, Je t'aime maman. Puisse l'Eternel vous récompensez et vous garder longtemps parmi nous.*

*Mon frère unique " Zinnedine "*

*Mes sœurs Rima, Nouha et Rania.*

*A mon époux " Zinnedine " de m'avoir soutenu et témoigné durant tout ce temps.*

*A mon fidèle amie Naouel Bousoualim*

*A la pensée de ma grand mère "Zouina "*

*Tu nous as été arraché au moment où nous nous y attendions le moins. Tu nous as vus grandir et tu nous as guidés dans la voie du seigneur et dans la voie de la réussite.*

*Tu resteras à jamais gravé dans nos cœurs. Paix à ton âme.*

*A toute ma famille, mes amis et mes collègues de travail.*

*Ainsi qu'à toute ma promotion de Magister 2006.*

*KRACHE Imane*

## RESUME

*Tamus communis* et *Teucrium polium* L. sont communément utilisées comme plantes médicinales en Algérie contre une variété de pathologie humaine. Dans la présente étude, l'extraction de rhizomes de *T. communis* et de parties aériennes de *T. polium* par le méthanol a donné un rendement en matière sèche égal à 6.45 % et 8.24 % respectivement. L'action de ces extraits méthanoliques a été évaluée expérimentalement *per os* sur les rats femelles *Albino Wistar* pendant six semaines de traitement, et fut également étudiée sur d'autres facteurs ; dosage des paramètres sériques biochimiques, hématologiques et évaluation de l'état physique et histopathologique des organes des rats traités par rapport aux témoins. L'étude de la toxicité aiguë par voie orale a montré une faible toxicité des plantes étudiées avec une  $DL_{50} > 12000$  mg/kg et 2400 mg/kg de poids corporel des rats traités respectivement par les extraits méthanoliques de *T. communis* et *T. polium*. Ces données permettent de classer ces deux plantes en peu toxique et/ou légèrement toxique, par conséquent leurs extraits présentent une bonne marge de sécurité. Cependant, le traitement subaigu des rats avec les doses 75, 150 et 300 mg des extraits méthanoliques /kg de poids pendant les six semaines a permis d'établir une augmentation significative des paramètres hématologiques suivants : RBC, MCV, RDW, HCT, PLT, MPV, MCH et HGB. Les analyses biochimiques ont révélé une augmentation des valeurs du bilan rénal (Urée, Créat, AU, Na et K) témoignée par la masse relative augmentée des reins, lipidique (Chol T) et hépatique (TGO) chez les rats traités par l'extrait méthanolique de *T. polium*. D'autre part, l'extrait méthanolique de *T. communis* n'a pas marqué de modifications importantes des ces paramètres, néanmoins une baisse significative ( $P \leq 0.05$ ) de la masse relative réduite des ovaires des rats traités pour les trois doses exploitées. L'examen histopathologique a confirmé les tests biochimiques par l'observation de foyers de nécrose périlobulaire, infiltrat inflammatoire et prolifération ductulaire du foie, ainsi une présence de vacuoles intracytoplasmiques au niveau du rein principalement avec la dose 300 mg d'extrait méthanolique de *T. polium* / kg de poids d'animaux. L'utilisation de *Teucrium polium* pourra être à l'origine d'anomalies hépatotoxiques et/ou néphrotoxiques après administration prolongée de l'herbe.

**Mots clés :** *Tamus communis* L., *Teucrium polium* L., extrait méthanolique,  $DL_{50}$ , paramètres hématologiques, biochimiques et histopathologiques.

## SUMMARY

*Tamus communis* L. and *Teucrium polium* L. are commonly used as medicinal plants in Algeria against a variety of human disease. In this study, the extraction of rhizomes of *T. communis* and aerial parts of *T. polium* with methanol gave a dry matter yield of 6.45% and 8.24 % respectively. The effects of methanolic extracts were examined *per os* on female rats *Albino Wistar* for six weeks. Determination of serum parameters biochemical, haematological and evaluation of physical and histopathology of organs of treated rats were studied. The study of acute toxicity showed a low toxicity with  $LD_{50} > 12000$  mg / kg and 2400 mg / Kg of body weight of rats treated with *T. communis* and *T. polium*, respectively. These data can be used to classify these two plants in low toxicity and / or slightly toxic. However, the subacute treatment of rats with the doses of 75, 150 and 300 mg of methanolic extract / kg body weight of rats for six weeks resulted in significant increases of haematological parameters: RBC, MCV, RDW, HCT, PLT, MPV, MCH and HGB. Biochemical analysis revealed significant increase of renal (Urea, Creat, AU, Na and K), accompanied by increased relative weight of kidney, lipidic (T Chol) and hepatic (TGO) values in rats treated with methanolic extract of *T. polium*. On the other hand, the methanolic extract of *T. communis* did not cause significant changes of these parameters; but a significant decrease ( $p \leq 0.05$ ) of relative mass of ovaries in rats treated. Histopathological examination confirmed the biochemical tests by the observation of perilobular necrosis areas, bile duct and inflammatory infiltration of the liver with presence of marked intracytoplasmic vacuoles in kidneys with the dose 300 mg of methanolic extract of *T. polium* / kg of animal body weight. Use of *Teucrium polium* L. may cause hepatotoxicity and / or nephrotoxic after prolonged herb administration.

**Key words:** *Tamus communis* L., *Teucrium polium* L, methanolic extract,  $LD_{50}$ , hematologic, biochemical and histopathological parameters,

# ÕÎÛÜæ

? ÚÓæ áßÔE*Teucrium polium* æ *Tamus comminus* äçÏËä äçÏËä äáÚÏË  
*Tamus* ÉÏËÑæÐ? ? æçÏËÇ Õ? Î Ï? Ç ì ÒÛ ;ÉÓÏÏ ð äðà ? .ÖÑà?Ç ää Ì Ì Û Ì ? Ú? ÑÐ? Ç  
ì ð % 8,24 æ 6,45 Ì æÇÓÏ ÇÏäÏÑä *Teucrium polium*á Ì æç?Ç ÁÓ? Ç æ *comminus*  
. ? ÇæÏ

*Albino* Úæä ää äÐÏÏ ÉÇä ì ð ä ÿ Þ Ñ Ò ä Û ? ä ÛÏ? ? Õä Ï? æ ðà ? ÏËÉÓÏÏ É?  
Éæá ðæ É ÏË ÆæÏË ÉäÇ? ääÇæÛ ì ð Ç? ? ÏËÉÓÏÏ Ç?? Î ? Ì ? Û ää ÛÏËÏ É Ï á? Î *Wistar*  
ÉÓÏÏ ÉÑä Û . Ì ä ÇæÏä Û ÉäÏÇæ É? ÇÛ? äÐÏ? Ç ÁÇÓÛ? ÉÏÏ? É? ÑÏËæ É Ì ææ Ò Ñ É? Ç ÑÏÏ Ææ  
(DL50) äÐÏ? Ç ää % 50á ÉäÏ ÉÛ? Ç ÉÑÏÏ ÆÉ Ì É ÛÏÉ? ÉÓÏÏ? Ç ÉÇÏæäÉÏ? Ç Éä Óæ  
äßáÉäæÏË ÉÇÏä Ï? É? ÇÛ? äÐÏÏ ää Ì Ó? Ç äðæä ää Òß /Ûä 2400 æ Ûä 12000 ÛÉ  
ÿ ÒËË ÏË äðà ÉÏ? . É ÏË ì ð *Teucrium polium* æ *Tamus comminus* ää  
ì ? ? ÏËä? Ó Ìä? ÏËä ÇÏß Õä Ïä ääÿ? ÇÏËæ .Éä Óæ É ÛÏæÿæ Éäð? Ä? ÏËä ä ðà

äÐÏËæßä? ? æçÏËÇ Õä Ï? ää Ûä 300 æ 150æ 75 ð ÒßÏËÉäÐÏÏ ääÉÏ? Ç ä ÏÉ? ÇÛ? ÉÑä Ûä  
;RDW ;MCV ;RBC ÉÏËË Éæá ð ääÇæÛ? ÇÓæÓ? ÇÛÏËË ÛÏËÏ É Ï á? Î äÐÏ? Ç äðæ ää  
.HGB æ MCH ; MPV ; PLT ;HCT

äæÏæÇ ì ÇÏäÉä Õ? ì? äÏÏß ;ÉæÏË Éææßä? ÇÛ? ä ð? Çæäá ÇÛÏËË É ÏË ÆæÏË ääÏÏ Ë É Ì Ë  
Ìä Ë Ì Ëæ ÉÇä? á äÏä? ðæ Çæ äæÏËæßæ ì ðä äðæ ? ÇÏËä ÇÛÏËË ÑÓÿ? Ç (ææÓËËæ æ  
*Tamus comminus* ÉÏË? ÇÛ? Ñä ÛÉ? Çä äË *Teucrium polium* Õä Ï? É? ÇÛ? äÐÏ? Ç  
É? ÇÛ? Ìä äÐÏ? Ç ÕËÉÉÏäæ Éäßä? ÇÏÿÇ ÆÇä äç? Û ;ÇÏËÉÓÏÏ? Ç ääÇæÛ? ÇÏ Çæ? Ç ÌÉ  
ÑÄÉÛÏ? ä ÉÓÓæÉÇä Ìä á ÕÏÏ É? ÉäÇä ÆæÏË Ì ÏË Ì ÒÏ? Ì Ì Òä Õ Ì ÿ Ì Æä .ÉË Ë ð ÒßÏËËÉ  
ÉÇæÏ ÿäË æ Ì Ëæ? ÄÏÏÛä ÉäÏä ÉÇæð ÿÛÏËæ? Çä Ë Ì ÇÏÏ ÌäË ææ ÕæÏÿ? ÉÇä ÑÏ ää  
. Òß/Ûä 300 ð ÒßÏËÉ *Teucrium polium* äÇäÛË? Ìä ÉÇÏÏ Ì ðä ì æÏä Ìä Ëæá äÏÇÏ  
ÉÑËÉÇÏæÉ? ÇÛ? ÌÛË ðæ Ì Ëæ Ìä ËÑË? Éä Óæ? ÇÏË *T. polium* äÇäÛË? äæß Ì äç äß?  
.Éæð

ääÇæÛ? æçÏËÇ Õä Ï? *Teucrium polium* ,*Tamus comminus* : Ì ÏË? ÉÇäßä

ÉÏÏ? É? ÑÏËæ ÉäÇä ÆæÏË ,Éæá ð

## LISTE DES ABBREVIATIONS

ANOVA	Analyse de variance
AU	Acide urique
Chol T	Cholestérol total
Créat	Créatine
CYP	Cytochrome
DL <sub>50</sub>	Dose létale qui tue 50% de la population
EAG	Equivalent d'acide gallique
EDTA	Ethylène-diamine-tétra-acétate
EQ	Equivalent quercétine
FNS	Formule numérique sanguine
GSH	Glutamylcysténylglycine
Glu	Glucose
HAP	Hydrocarbures polycycliques
HCT	Hématocrite
HeLA	Henrietta Lack's Cells
HGB	Hémoglobine
MCH	Teneur corpusculaire en Hémoglobine
MCHC	Concentration corpusculaire moyenne en Hémoglobine
MCV	Volume globulaire moyen
mEq/L	Milliequivalent par litre
MPV	Volume plaquettaire moyen
O.M.S	Organisation mondiale de santé
PAL	Phosphatase alcaline
PLT	Plaquette
RBC	Red Blood Cells ou Globules rouges
RDW	Mesure de l'homogénéité du globule rouge
SEM	Erreur standard de la moyenne
SPZ	Streptozotocine
SD	Standard déviation
TG T	Triglycérides totaux
TGO	Transaminase Glutamate Oxalo-acétate
TGP	Transaminase Glutamate Pyruvate
UI/L	Unité internationale par litre
WBC	White Blood Cells ou Globules blancs
γ GT	Gamma glutamyl transférase

# SOMMAIRE

<b>Introduction générale</b> .....	<b>1</b>
<b>1 Revue bibliographique</b> .....	<b>5</b>
1.1 <i>Tamus communis</i> L. et <i>Teucrium polium</i> L. ....	6
1.1.1 Présentation des plantes .....	6
1.1.1.1 Nom scientifique .....	6
1.1.1.2 Systématique .....	6
1.1.1.3 Description de la plante.....	7
1.1.1.4 Origine et répartition géographique .....	10
1.1.2 Propriétés d'utilisation traditionnelles et médicales .....	10
1.1.3 Données phytochimiques.....	12
1.1.3.1 Détermination des composés.....	12
1.1.3.2 Structure chimique et classification des composés.....	13
1.1.4 Données pharmacologiques .....	17
1.1.5 Données toxicologiques.....	20
1.2 Foie et rein, Rappels anatomiques et structuraux .....	22
1.2.1 Foie .....	22
1.2.1.1 Organisation du foie .....	22
1.2.1.2 Fonctions du foie .....	25
1.2.1.3 Métabolisation des xénobiotiques .....	25
1.2.1.4 Hépatotoxicités médicamenteuses .....	28
1.2.2 Reins .....	32
1.2.2.1 Morphologie générale .....	32
1.2.2.2 Fonctions rénales.....	34
1.2.2.3 Marqueurs biochimiques de la fonction rénale.....	36
<b>2 Matériels et Méthodes</b> .....	<b>38</b>
2.1 Matériel .....	39
2.1.1 Matériel biologique.....	39
2.1.2 Réactifs chimiques.....	40
2.2 Méthodes .....	40
2.2.1 Technique d'extraction .....	40
2.2.2 Etude phytochimique .....	42
2.2.3 Effets des extraits de <i>T. communis</i> et <i>T. polium in vivo</i> :.....	44
2.2.3.1 Evaluation de la toxicité des plantes : .....	44
2.2.3.2 Prélèvements sanguins .....	48
2.2.3.3 Réalisation des coupes histologiques .....	49
2.2.4 Analyses statistiques.....	49
<b>3 Résultats</b> .....	<b>50</b>
3.1 Evaluation de la technique d'extraction de <i>Tamus communis</i> et <i>Teucrium polium</i> .....	51

3.2	Analyse de l'extrait méthanolique de <i>T. communis</i> et <i>T. polium</i> .....	52
3.3	Effets des extraits méthanoliques de <i>T. communis</i> et <i>T. polium in vivo</i> .....	53
3.3.1	Toxicité aiguë .....	53
3.3.2	Toxicité subaiguë.....	54
3.3.2.1	Chronologie de l'évolution pondérale.....	54
3.3.2.2	Masses relatives des organes.....	55
3.3.2.3	Effets sur les paramètres biochimiques.....	58
3.3.2.4	Effets sur les paramètres hématologiques .....	59
3.3.2.5	Histopathologie :.....	61
<b>4</b>	<b>Discussion</b> .....	<b>64</b>
4.1	Données phytochimiques.....	65
4.2	Effets des extraits méthanoliques de <i>T. communis</i> et <i>T. polium in vivo</i> .....	66
4.2.1	Toxicité aiguë .....	66
4.2.2	Toxicité subaiguë.....	68
	<b>Conclusion générale et perspectives</b> .....	<b>76</b>
	<b>Références bibliographiques</b> .....	<b>78</b>

## Liste des figures

<b>Figure. 1 :</b>	Aspect morphologique de la plante <i>Tamus communis</i> et de ses graines	8
<b>Figure. 2 :</b>	Aspect morphologique de <i>Teucrium polium</i> L.	9
<b>Figure. 3 :</b>	Phénanthrènes identifiés des extraits de rhizomes de <i>Tamus communis</i>	14
<b>Figure. 4 :</b>	Structure générale des composés polyphénoliques	15
<b>Figure. 5 :</b>	Structure générale des néoclérodanes diterpénoides isolés de <i>Teucrium polium</i>	16
<b>Figure. 6 :</b>	Mécanisme d'action toxique des furano-diterpénoides extraits à partir de <i>Teucrium polium</i>	22
<b>Figure. 7 :</b>	Organisation structurale et anatomique du foie	24
<b>Figure. 8 :</b>	Interactions biochimiques des xénobiotiques	26
<b>Figure. 9 :</b>	Réactions d'éliminations de quelques médicaments	27
<b>Figure. 10 :</b>	Effets de médicaments sur les facteurs de risque génétiques et environnementaux	30
<b>Figure. 11 :</b>	Segmentation anatomique et fonctionnelle du néphron	34
<b>Figure. 12 :</b>	Conditions d'installation des rats au niveau de l'animalerie de l'université.	40
<b>Figure. 13 :</b>	Etapes du fractionnement méthanolique de l'extrait brut de <i>Tamus communis</i> et <i>Teucrium polium</i> .	41
<b>Figure. 14 :</b>	Droite d'étalonnage de la quercétine et la rutine	42
<b>Figure. 15 :</b>	Droite d'étalonnage de l'acide gallique.	43
<b>Figure. 16 :</b>	Effets et réponses aux substances toxiques	47
<b>Figure. 17 :</b>	Changement du poids corporel (poids – poids initial) des rats femelles témoins et traités dans les conditions de toxicité subaiguë par l'extrait brut méthanolique de (a) <i>T. communis</i> et (b) <i>T. polium</i> .	55
<b>Figure. 18 :</b>	Variations des valeurs de la masse relative des organes pour les différentes doses au cours du traitement subaigu avec l'extrait brut méthanolique de <i>T. communis</i>	56
<b>Figure. 19 :</b>	Variations des valeurs de la masse relative des organes pour les différentes doses au cours du traitement subaigu avec l'extrait brut méthanolique de <i>T. polium</i> .	57
<b>Figure. 20 :</b>	Coupes histologiques des tissus hépatiques des rats traités avec les doses D <sub>0</sub> (0 mg/kg) et D <sub>3</sub> (300 mg/kg) par l'extrait méthanolique de <i>Tamus communis</i> .	62
<b>Figure. 21 :</b>	Coupes histologiques du tissu rénal des rats traités avec les doses D <sub>0</sub> (0 mg/kg) et D <sub>3</sub> (300 mg/kg) par l'extrait méthanolique de <i>Teucrium polium</i> .	62
<b>Figure. 22 :</b>	Coupes histologiques des tissus hépatiques des rats traités avec les doses D <sub>0</sub> (0 mg/kg), D <sub>1</sub> (75 mg/kg), D <sub>2</sub> (150 mg/kg), D <sub>3</sub> (300 mg/kg) par l'extrait méthanolique de <i>Teucrium polium</i> .	63
<b>Figure. 23 :</b>	Bioactivation proposé par la teucriine A de la germandrée <i>Teucrium chamaedrys</i> .	74

## Liste des Tableaux

<b>Tableau. 1</b> : Position systématique de <i>Tamus communis</i> et <i>Teucrium polium</i> _____	7
<b>Tableau. 2</b> : Intoxication accidentelle chez l'homme par les différentes parties de <i>Tamus communis</i> _____	21
<b>Tableau. 3</b> : Fonctions principales du foie _____	25
<b>Tableau. 4</b> : Principales hépatotoxicités associées à la phytothérapie _____	29
<b>Tableau. 5</b> : Classes de toxicité selon l'échelle de Hodge et Sterner chez les rats de laboratoire _____	45
<b>Tableau. 6</b> : Dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes dans l'extrait brut méthanolique de <i>T. communis</i> et <i>T. polium</i> . _____	52
<b>Tableau. 7</b> : Détermination de la DL50 de l'extrait brut méthanolique de <i>T. communis</i> et <i>T. polium</i> selon Karbar et Behrens _____	53
<b>Tableau. 8</b> : Symptômes observés de toxicité aiguë des extraits de <i>T. communis</i> et <i>T. polium</i> basés sur l'ordre de gravité. _____	54
<b>Tableau. 9</b> : Analyses biochimiques de traitement subaigu des rats femelles par l'extrait brut méthanolique de <i>T. communis</i> avec les doses D <sub>0</sub> (0 mg/kg), D <sub>1</sub> (75 mg/kg), D <sub>2</sub> (150 mg/kg), D <sub>3</sub> (300 mg/kg). (n = 8). _____	58
<b>Tableau. 10</b> : Analyses biochimiques de traitement subaigu des rats femelles par l'extrait méthanolique de <i>T. polium</i> avec les doses D <sub>0</sub> (0 mg/kg), D <sub>1</sub> (75 mg/kg), D <sub>2</sub> (150 mg/kg), D <sub>3</sub> (300 mg/kg). (n = 7). _____	59
<b>Tableau. 11</b> : Analyses hématologiques des rats femelles après traitement subaigu avec les doses D <sub>0</sub> (0 mg/kg), D <sub>1</sub> (75 mg/kg), D <sub>2</sub> (150 mg/kg), D <sub>3</sub> (300 mg/kg) de <i>T. communis</i> (n = 8). _____	60
<b>Tableau. 12</b> : Analyses hématologiques des rats femelles après traitement subaigu avec les doses D <sub>0</sub> (0 mg/kg), D <sub>1</sub> (75 mg/kg), D <sub>2</sub> (150 mg/kg), D <sub>3</sub> D <sub>3</sub> (300 mg/kg) de <i>T. polium</i> (n = 7). _____	60
<b>Tableau. 13</b> : Etude comparative des rendements des différentes techniques d'extraction de <i>T. communis</i> et <i>T. polium</i> . _____	65
<b>Tableau. 14</b> : Quantification comparative des taux de polyphénols et flavonoïdes des extraits bruts méthanoliques de <i>T. communis</i> et <i>T. polium</i> . _____	65

# *Introduction générale*

L'utilisation thérapeutique des plantes (phytothérapie) est très ancienne et connaît actuellement un regain d'intérêt auprès du public. Il est possible d'utiliser les plantes entières ou les produits d'extraction qu'elles fournissent.

Les plantes médicinales constituent une alternative idéale aux médicaments chimiques ou spécialités trop chers à fabriquer ou à acheter pour les pays en voie de développement. Aujourd'hui, en Algérie, comme partout en Afrique on constate que les populations face au problème des coûts et/ou d'accessibilité des spécialités notamment en zone rurale, se retournent de plus en plus vers les pharmacies traditionnelles et les tradipraticiens (herboristes).

Selon l'organisation mondiale de la santé (O.M.S); la médecine traditionnelle se définit comme l'ensemble de toutes les connaissances pratiques explicables ou non pour diagnostiquer ou éliminer un déséquilibre physique, mental en s'appuyant exclusivement sur l'expérience vécue et l'observation, transmises de génération en génération (oralement ou par écrit) (Gouille *et al.*, 2004). Sachant qu'une plante peut contenir plusieurs milliers de substances et différents principes actifs qui représentent 25% des médicaments prescrits soit un total de 120 composés d'origine naturelle provenant de 90 plantes différentes (Bruneton, 1999) la valorisation scientifique de la médecine traditionnelle doit conduire notamment à la mise au point de médicaments à base de plantes. Les mots clés, dans ce domaine, doivent être : *sécurité, efficacité et qualité.*

Des mots tels que « nature » ou « naturellement » ne sont pas forcément des synonymes de sécurité. En effet, notre belle nature abrite toute une série de plantes toxiques, comprenant des plantes vénéneuses et hallucinogènes, sont capables de provoquer des symptômes graves

causant des perturbations des métabolismes des différents organes et pouvant même provoquer la mort.

L'intoxication liée aux plantes se fait généralement par l'ingestion directe de plantes, dans la majorité des cas l'individu veut utiliser une plante qu'il croit comestible ou qu'il perçoit comme bénéfique pour sa santé. Dans d'autres cas beaucoup plus rares, il connaît la toxicité et l'exploite dans un but de suicide (Manahan, 2002).

Le sujet d'une étude phyto-toxicologique se fait sur l'effet délétères d'une substance sur les organismes vivants, tissus, cellules ou organites ; consiste à cerner les circonstances qui ont déclenché l'appel, à évaluer les conséquences réelles de l'accident, à inventorier les composants en cause. Le concept central est que la toxicité dépend de la dose.

Dans ce contexte s'inscrit ce présent travail dont l'objectif essentiel consiste à l'étude toxicologique, chez les rats blancs femelles, des extraits bruts méthanoliques de : *Tamus communis* L. et *Teucrium polium* L. vendues sur les marchés par les herboristes et qui ont montré des effets antioxydants et *scavenger* des radicaux libres très intéressants (Boumerfeg *et al.*, 2009 ; Ljubuncic *et al.*, 2006 ; Ardestani et Yazdanparast, 2007) ; ces plantes employées en médecine traditionnelle dans le traitement de certaines maladies (anti-inflammatoire, antidiabétique, antitumorale..). Nous avons éprouvé également d'évaluer, *in vivo*, l'effet de l'extrait brut méthanolique sur les paramètres sériques et histologiques des animaux.

Dans ce présent travail, nous avons fixé les objectifs suivants :

- Analyse quantitative et qualitative du contenu en polyphénols et en flavonoïdes des extraits méthanoliques des rhizomes de *Tamus communis* L. et des parties aériennes de *Teucrium polium* L.

- Etude de l'effet des extraits bruts méthanoliques sur les facteurs physiques (masse corporelle et relative des organes), paramètres sériques biochimiques (bilans rénaux, lipidiques et hépatiques) et hématologiques des rats traités.
- Détermination de la variation des facteurs liés aux complications engendrées suite au traitement par les extraits méthanoliques des plantes (toxicité aiguë et subaiguë).
- Evaluation histopathologique de l'action de l'extrait méthanolique de *T. communis* et *T. polium* (foie et reins).

Notre travail s'inscrit dans cette perspective et a été motivé par : (i) la volonté de promouvoir et de valoriser les plantes médicinales en Algérie, plus précisément à Sétif, (ii) la nécessité de faciliter l'accès du public aux médicaments à moindre coût compte tenu du coût élevé des médicaments conventionnels et (iii) la sécurité d'utilisation des ces plantes qui doit être le critère primordial du choix des plantes médicinales. Les professionnels de la santé et le public doivent recevoir des informations à jour et vérifiées tant sur les effets bénéfiques que nocifs des plantes médicinales.

# *1 Revue bibliographique*

## 1.1 *Tamus communis* L. et *Teucrium polium* L.

### 1.1.1 Présentation des plantes

#### 1.1.1.1 Nom scientifique

##### a. *Tamus communis* L. :

**Nom commun :** Tamier commun, Herbe aux femmes battues, vigne noire, haut liseron, racine de feu, Raisin du Diable, Racine vierge, Vigne Noire, Sceau de Notre-Dame, nommé par les anglophones 'Black Bryony', Karm barri, Karma sawda (El beyrouthy *et al.*, 2008).

**Nom latin :** *Tamus communis* L., synonymes *Tamus baccifera*, *Tamus cordifolia*, *Tamus cretica* L., *Tamus racemosa*, *Dioscorea communis*. Son nom *Tamus* vient du latin '*Tamnus*' qui désigne une plante similaire. Elle fait partie de la liste des espèces protégées (Caddick *et al.*, 2002).

##### b. *Teucrium polium* L. :

**Nom commun :** mountain germander (Anglais), pouliot de montagne, germandrée tomenteuse, germandrée blanc-grisâtre (Français); poliot, camendrio di montagna, timo bianco, polio primo (Italien), j'ada, khayata, Katabet ledjrah (Arabe).

**Nom latin :** *Teucrium polium* L, synonymes : *Teucrium tomentosum*, *Teucrium gnaphalodes*, *Teucrium chamaedrys* et *Teucrium capitatum* (Autore *et al.*, 1984 ; Rasekh *et al.*, 2005).

#### 1.1.1.2 Systématique

La classification botanique de *Tamus communis* et *Teucrium polium* est présentée dans le tableau 1.

**Tableau. 1** : Position systématique de *Tamus communis* et *Teucrium polium* (Caddick *et al.*, 2002 ; Autore *et al.*, 1984)

<b>Classification</b>	<i>T. communis</i>	<i>T. polium</i>
<b>Règne :</b>	<i>Plantae</i>	<i>Plantae</i>
<b>Ordre :</b>	<i>Liliales</i>	<i>Lamiales</i>
<b>Famille :</b>	<i>Dioscoreaceae</i>	<i>Lamiaceae</i>
<b>Genre :</b>	<i>Tamus</i>	<i>Teucrium</i>
<b>Espèce :</b>	<i>Tamus communis</i> L.	<i>Teucrium polium</i> L.

### 1.1.1.3 Description de la plante

#### a. *Tamus communis*

Le Tamier est une plante herbacée vivace, rhizomateuse, grimpante, lianescente de 2 à 3 m d'hauteur, dioïque, glabre, à tige grêle, cylindrique, striée, dépourvue de vrilles ; la racine est grosse noirâtre tubérisée, ressemblant à un gros navet et pouvant peser plusieurs kilos. Les feuilles sont alternes en forme de fer de lance ou cordiformes très effilées en pointe, aux nervures fortement marquées et pourvues de deux stipules épineux (Boulard, 2003). La floraison aura lieu au printemps (Avril-Juin selon le climat). Les fleurs femelles étoilées (5-7 mm) de couleur jaune verdâtre, les mâles sont réunis en panicules assez (Schols *et al.*, 2003). Les fruits sont sous forme de baies charnues rouges, juteuses, renfermant 5 graines sphériques (**Figure 1**).



Plante



Rhizome



Feuilles



Fruits



Graines

**Figure. 1 :** Aspect morphologique de la plante *Tamus communis* et de ses graines.

**b. *Teucrium polium***

Le genre *Teucrium*, encore dénommé les germandrées, regroupe environ 260 espèces de plantes herbacées ou de sous-arbrisseaux de la famille des Lamiacées.

*Teucrium polium* est une espèce très variable ; de nombreuses sous espèces ont été décrites dont certaines sont parfois érigées au rang d'espèce (Naghibi *et al.*, 2005). C'est une plante herbacée vivace à odeur poivrée par frottement. Les tiges sont de 10-30 cm de hauteur, blanches-tomenteuses portant des feuilles opposées sessiles, linéaires-lancéolées ou oblongues, en coin et entières à la base et à dents arrondies en haut. Ces feuilles, blanches-tomenteuses sur les deux faces ont les bords enroulés. Les fleurs forment des inflorescences compactes globuleuses ou ovoïdes serrées (**Figure 2**). Le calice brièvement tomenteux, à des dents courtes, la supérieure obtuse ; Corolle à lèvre supérieure tronquée et à lobes supérieurs pubescents (Boulard, 2003).



Partie végétative



Fleurs et feuilles

**Figure. 2 :** Aspect morphologique de *Teucrium polium* L. (Boulard, 2003)

#### **1.1.1.4 Origine et répartition géographique**

Le Tamier est une plante originaire d'Afrique du Nord, Asie occidentale, Europe centrale et méridionale et Proche-Orient, son demeure dans les bois et sous-bois, les haies, les taillis broussailles, barrières, à basse altitude (Kovács *et al.*, 2007). Pareillement, la Germandrée tomenteuse est originaire du sud-ouest d'Asie, d'Europe et d'Afrique du nord (abandonnément trouvée dans le secteur Irano-Turanien principalement méditerranéen et occidental). Elle pousse dans les pelouses arides, les rocailles de basse altitude, collines et les déserts arides (Abdollahi *et al.*, 2003).

#### **1.1.2 Propriétés d'utilisation traditionnelles et médicales**

##### **a. *Tamus communis***

Le Tamier est dans son ensemble un gros rhizome noirâtre contient un lait astringent (oxalates de calcium) qui peut provoquer des dermatites de contact (Schmidt et Moul, 1983). La pulpe était autrefois prescrite comme purgatif et diurétique, est principalement utilisée pour ses propriétés antinévralgiques en usage externe sous forme de cataplasme (racine cuite) pour traiter les hématomes et les ecchymoses, d'où son nom vernaculaire d'herbe aux femmes battues (Boulard, 2003).

Les racines sont douées d'activité diurétique, hémolytique, émétique, cathartique et rubéfiante. Elle est même recommandée dans le traitement de la coqueluche, bronchite et contusions (Capasso *et al.*, 1982). Les rhizomes et tubercules sont utilisés en médecine folklorique comme rubéfiant, dans le traitement du rhumatisme, arthrose, lumbago et dermatose (Leporatti et Ivancheva, 2003).

Les fruits de *Tamus communis* doués d'activité anti-inflammatoire sont frottés sur la peau pour soulager les douleurs arthritiques et rhumatismales (Guarrera et Lucia, 2007).

D'autres part, différentes parties de la plante sont utilisées en médecine traditionnelle pour le traitement des tumeurs et polypes (Kova'cs *et al.*, 2007).

### **b. *Teucrium polium***

Des espèces de *T. polium* ont été employées en tant qu'herbes médicinales pendant plus de 2000 années comme diurétique, inotropique et chronotropique (Niazmand *et al.*, 2008), tonique, antipyrétique, cholagogue et anorexiques (Khleifat *et al.*, 2001).

Le feuillage de *T. polium* légèrement poivré, était couramment utilisé pour relever les salades ou parfumer les fromages de chèvres. Une infusion des feuilles et des fleurs était ainsi consommée comme boisson régénératrice (Boulard, 2003). En médecine traditionnelle, la Germandrée tomenteuse est employée comme analgésique, antispasmodique et hypolipidémique. Cette plante peut avoir quelques intérêts d'ordre cliniques : cas de désordres stomacaux (Dehghani *et al.*, 2005 ; Kaileh *et al.*, 2007) et gastro-intestinaux tels que la colite. Ces résultats le soutiennent également pour son emploi folklorique pour soulager ces douleurs (Abdollahi *et al.*, 2003).

L'utilisation de l'extrait éthanolique de *T. polium* sur des milieux de culture de *Saccharomyces*, *in vitro*, a mené à diminuer le taux des acides gras et bloquent la peroxydation au niveau des érythrocytes, ainsi il a montré des effets antibactériens et antifongiques (Shahraki *et al.*, 2006).

Cette plante est largement distribuée comme agent hypoglycémiant. Sa décoction dispose un effet hypoglycémiant chez les rats normoglycémiques par rapport aux modèles

hyperglycémiques induits par le streptozotocine (Gharaibeh *et al.*, 1988). Cependant, des épreuves de sûreté sont exigées pour confirmer son action hypoglycémisante.

### **1.1.3 Données phytochimiques**

#### **1.1.3.1 Détermination des composés**

##### **a. *Tamus communis***

Les investigations phytochimiques réalisées sur *T. communis* ont indiqué la présence de nombreux composants tels que : spirostanes, furostanes, glycosides, stérols (les plus importants identifiés sont :  $\beta$ -sitostérol, stigmastérol, campestérol), caroténoïdes et substitués hydroxy/alkoxyphénanthrènes (Goodwin, 1952 ; Reisch *et al.*, 1972, Coxon *et al.*, 1983 ). Cette espèce renferme ainsi des cristaux d'oxalate de calcium et des histamines (Schmidt et Moul, 1983) et des flavonoïdes telles que : la diosgénine (Capasso *et al.*, 1983).

##### **b. *Teucrium polium***

Plusieurs chercheurs ont évalué la composition chimique de *T. polium* développée dans différents secteurs géographiques. La plupart de ces études, basées sur l'analyse des extraits par les méthodes chromatographiques en phase gazeuse, ont indiqué la présence de plusieurs composés incluant principalement les flavonoïdes, polyphénols (Proestos *et al.*, 2004), iridoïdes, tannins, huiles essentielles et alcaloïdes (Shakhanbeh et Atrousse, 2000 ; Parsaee et Shafiee-Nick, 2006). De plus, Rasekh et ses collaborateurs (2001) ont rapporté la présence des glycosides tels que verbascoside et poliumoside (connus sous le nom de phénylethanoïde) au niveau des parties aériennes de la plante.

Les flavonoïdes qui ont été isolés incluent luteoline, apigénine, diosmétine (Kadifkova Panovska *et al.*, 2005), cirsimaritrine, cirsilole, cirsiléol, 5-hydroxy-6,7,3',4'-

tétraméthoxyflavone, salvigenine, apigénine 5-galloylglucoside, apigénine-7-glucoside, vicénine, luteoline-7-glucoside (Hasani *et al.*, 2007).

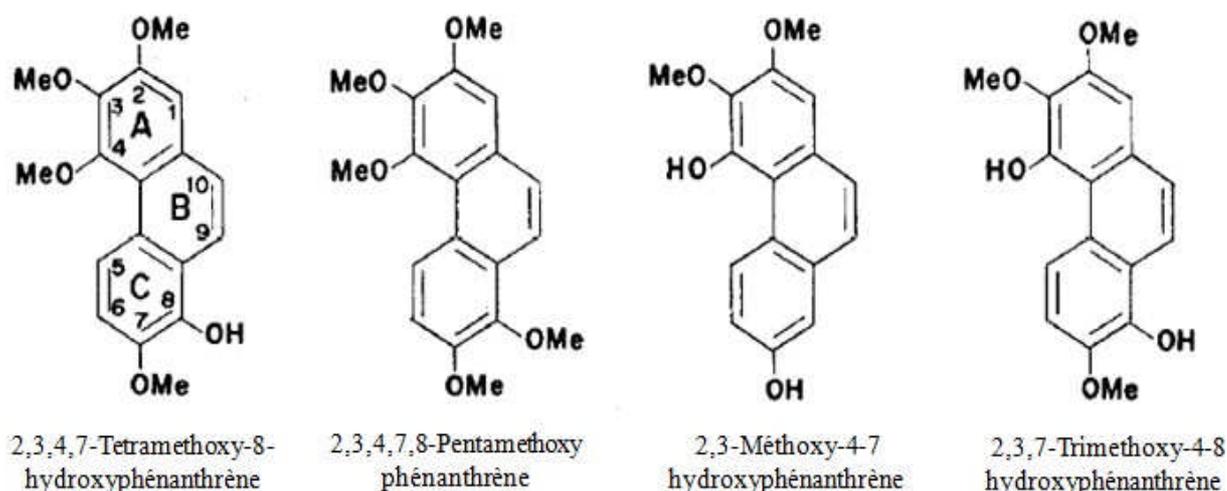
*Teucrium polium* constitue une source riche en diterpénoïdes, particulièrement les furano néoclérodanes. L'un de ces composants majeurs est la teucrine A (Ramnathan *et al.*, 2005).

### 1.1.3.2 Structure chimique et classification des composés

#### a. *Tamus communis* :

Cette espèce, dont les principes actifs seraient surtout les phénanthrènes et des saponosides dérivés de la diosgénine, sont responsables de plusieurs effets biologiques (Guarrera et Laporatti ; 2007).

Les **phénanthrènes** isolés des extraits de rhizomes de *T. communis* proviennent probablement des précurseurs de diterpénoïdes (**Figure 3**). Ces composés sont des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP), composés de trois cycles benzène fusionnés et de formule brute  $C_{18}H_{16}O_5$ . Les phénanthrènes, déjà identifiés, sont classés en quatre principaux groupes : monophénanthrènes, diphénanthrènes, triphénanthrènes et tétraphénanthrènes (Aquino *et al.*, 1985 ; Kova'cs *et al.*, 2007).



**Figure. 3 :** Phénanthrènes identifiés des extraits de rhizomes de *Tamus communis* (Reisch *et al.*, 1972)

Ces composés sont connus comme des phyto-alexines régulateurs efficaces endogènes de croissance. Certain nombre de phénanthrènes peuvent exercer une action antivirale. D'autres montrent des effets antitumoraux et cytotoxiques (Kovács *et al.*, 2007).

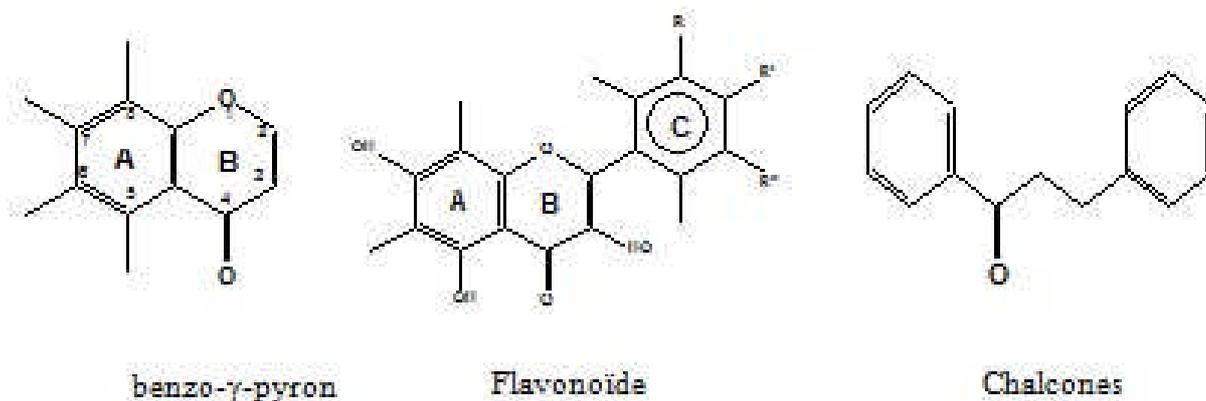
#### **b. *Teucrium polium* :**

Les études phytochimiques sur les espèces de *T. polium* ont montré la présence de divers composés bioactifs qui sont principalement les flavonoïdes et les diterpénoïdes néocléroïdes (Khader *et al.*, 2007).

**Les flavonoïdes** sont des composés polyphénoliques naturels. Ce sont des pigments, souvent hydrosolubles largement distribués dans le règne végétal. Plus de 6500 flavonoïdes ont été identifiés dont plusieurs sont responsables des couleurs vives des fleurs et des fruits (Middleton *et al.*, 2000). Les flavonoïdes sont des dérivés benzo- $\gamma$ -pyrone (anneaux A et C). Ils sont subdivisés en 14 classes différentes dont 6 sont les plus répandues et les mieux

caractérisés. Ce sont les flavanones, les flavones, les flavanonols, les flavonols, les flavanols et les isoflavones.

La structure de base de ces molécules est caractérisée par 15 atomes de carbone arrangés en trois cycles. A l'exception des chalcones, ces métabolites secondaires sont toujours tricycliques : deux cycles benzoïques A et B et un hétérocycle C (squelette carboné C6-C3-C6). L'ouverture du cycle oxygéné B caractérise les chalcones (Pietta, 2000 ; Yao *et al.*, 2004). Dans les flavonoïdes, le deuxième cycle benzène (B) se lie à l'hétérocycle (C) en position 2 (**Figure 4**). Lorsque la liaison s'effectue en position 3, les composés résultants sont appelés iso-flavonoïdes. Les flavonoïdes se distinguent entre eux par les substituants hydroxyles, méthoxyles ou glucidiques sur leurs cycles.



**Figure. 4 :** Structure générale des composés polyphénoliques (Yao *et al.*, 2004)

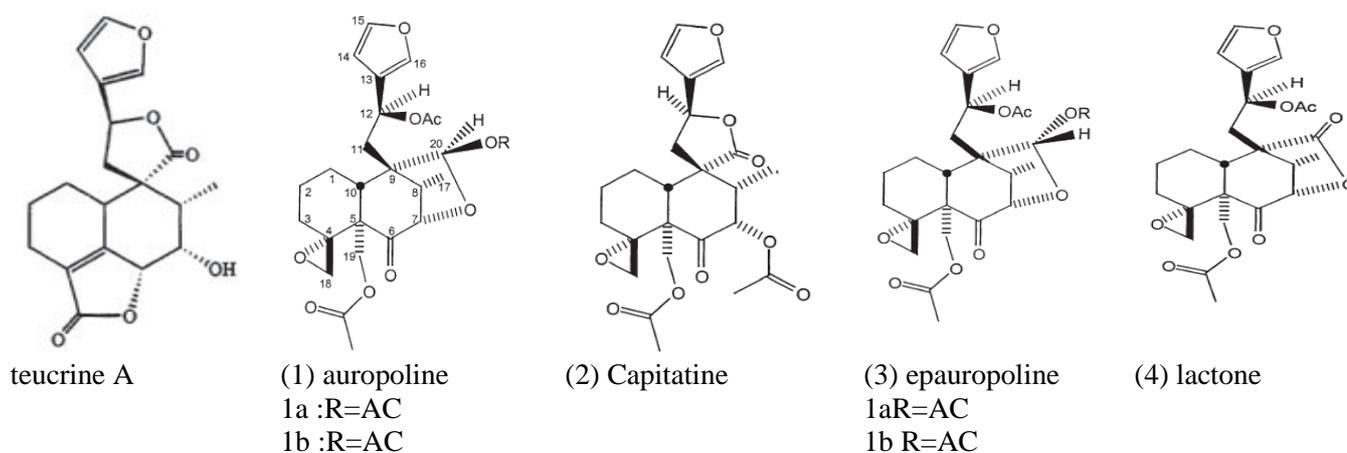
De nos jours, les propriétés des flavonoïdes sont largement étudiées dans le domaine médical où on leur reconnaît des activités antivirales, antimicrobiennes, anti-tumorales, anti-inflammatoires, antiallergiques, anti-oxydantes, antiprolifératives et anticancéreuses (Middleton *et al.*, 2000).

**Les néoclérodanes diterpénoïdes :** Les terpénoïdes, appelés parfois isoprénoïdes forment une classe large et diverse de métabolites secondaires, similaires aux terpènes, dérivant d'unité isoprénique à cinq carbones assemblées et modifiées par des réactions de cyclisation et réarrangements pour donner naissance aux monoterpènes (C<sub>10</sub>), sesquiterpènes (C<sub>15</sub>), diterpènes (C<sub>20</sub>) et sesterpènes (C<sub>25</sub>) (Bruneton, 1999).

Les néoclérodanes diterpénoïdes sont caractérisés par la présence d'un cycle furanique issu de la cyclisation d'un précurseur désigné labdanique. La composition en diterpénoïdes varie nettement en fonction de l'origine géographique (chimiotypes).

Le principal néoclérodane diterpénoïde est la teucrine A de formule chimique brute C<sub>19</sub>H<sub>20</sub>O<sub>6</sub> (**Figure 5**) qui semble être responsable de plusieurs actions toxicopharmacologiques (Ramnathan *et al.* , 2005).

Les autres néoclérodanes diterpénoïdes isolés de *T. polium subsp. polium* sont : auropoline (**1a /1b**), représentant environ 80% du total d'extrait acetate d'ethyle de *T. polium*, (**1a**) montre l'importance de l'estérfication du groupe hydroxyle au C-20, donne par acétylation l'acétyle-auropoline (**1b**) ; capitatine (**2**), épi-auropoline (**3**) et lactone (**4**) (**Figure 5**) (Maurizio *et al.*, 2003).



**Figure. 5 :** Structure générale des néoclérodanes diterpénoïdes isolés de *Teucrium polium* (Maurizio *et al.*, 2003).

### 1.1.4 Données pharmacologiques

#### a. *Tamus communis*

Des études ont démontré que des extraits de rhizomes et racines de *T. communis* contiennent des glycosides stéroïdiens et phénanthrènes ayant un potentiel cytotoxique, anticancéreux, antiviraux et anti-inflammatoires (Capasso *et al.*, 1982 ; Kova'cs *et al.*, 2007).

- **Effets anticancéreux :** Des études *in vitro* ont démontré l'activité cytotoxique des phénanthrènes dérivés des rhizomes de *T. communis* contre les cellules cancéreuses du col de l'utérus (Kova'cs *et al.*, 2007).
- **Effets anti-inflammatoires :** Les études réalisées par Capasso et ces collaborateurs (1983) ont illustré des effets anti-inflammatoires et analgésiques de l'extrait éthanolique de racines de *T. communis* chez les animaux représentant déjà une inflammation proliférative. Comme agent anti-inflammatoire, le Tamier est capable de moduler la réponse inflammatoire à des degrés variables de sévérité tels que la formation d'œdème, la perméabilité vasculaire et la dégranulation. Les travaux accomplis sur les extraits de racines ont indiqué la présence des constituants de stérol pourraient être responsables des ces actions rapportées. Toutefois, les essais pharmacologiques préliminaires ont également indiqué que les extraits éthanoliques de feuilles et de baies pouvaient empêcher la formation d'œdème induit par le carragénine. La diosgénine,  $\beta$ -sitostérol, stigmastérol, campestérol isolés de *T. communis* sont les composés responsables de ces actions (Capasso *et al.*, 1983).
- **Effets antiviraux :** Les phénanthrènes dérivés de rhizomes de *T. communis* ont une activité inhibitrice contre les virus de la stomatite vésiculeuse et humaine de type rhinovirus 1B (Aquino *et al.*, 1991).

- **Effets cytotoxiques :** Beaucoup de dérivés hydroxy/alkoxyphénanthrènes isolés des extraits de rhizomes de *T. communis* présentent des effets cytotoxiques observés, *in vitro*, sur des lignées cellulaires d'adénocarcinome humain (*HeLa*), (Kovács *et al.*, 2007).

#### **b. *Teucrium polium***

Plusieurs recherches ont démontré certains effets pharmacologiques attachés à l'utilisation de Germandrée tomenteuse, parmi lesquelles on invoque l'action antibactérienne, anti-inflammatoire, anti-ulcerogène, anti-nociceptive, antispasmodique, antidiabétique, diurétique, hypolipidémique, antifongique, antagoniste du calcium et cytotoxique (Autore *et al.*, 1984 ; Suleiman *et al.*, 1988 ; Abdollahi *et al.*, 2003 ; Esmaeili et Yazdanparast, 2004). Récemment, quelques rapports dans la littérature dévoilent des effets antioxydants des extraits bruts de *T. polium* (Ljubuncic *et al.*, 2006).

Par conséquent, d'autres investigations sont nécessaires maintenant pour élucider le mécanisme de l'action pharmacologique et identifier les composants bioactifs responsables de telles actions afin d'expliquer leur efficacité thérapeutique.

- **Anti-nociceptive, antispasmodique :** l'extrait aqueux des parties aériennes de *T. polium* a montré des effets antispasmodiques et anti-nociceptifs. D'autres études affirment des propriétés antiscérales de son extrait éthanolique contre la douleur comparables à ceux de l'hyoscine et de l'indométhacine ; et suggère son emploi en thérapies antispasmodiques chez l'homme. La présence des flavonoïdes et des stéroïdes pourrait être responsable de l'activité anti-inflammatoire de cette plante (Abdollahi *et al.*, 2003 ; Kaileh *et al.*, 2007).

- **Antidiabétique** : L'extrait aqueux de *T. polium* a montré un effet hypoglycémiant chez les rats. La propriété insulinothropique de cet extrait a été encore évaluée, *in vitro*, en utilisant des îlots pancréatiques de rat (Esmaili et Yazdanparast, 2004). Les données ont indiqué l'extrait brut aqueux est capable de réduire le taux du glucose sérique principalement en augmentant la sécrétion d'insuline par le pancréas par comparaison aux îlots témoins. Cependant, les composés responsables de l'activité hypoglycémique ne sont pas encore élucidés (Rasekh *et al.*, 2001 ; Shahraki *et al.*, 2006).
- **Antifongique** : l'extrait de *T. polium* a été employé dans le traitement des abcès fongiques (Esmaili et Yazdanparast, 2004).
- **Antipyrétique, Antimicrobien** : L'extrait éthanolique de *T. polium* présente un effet antipyrétique contre la levure et le pyrexia de carragénine. Le mécanisme de l'hyperthermie de carragénine a été liée à un dégagement des prostaglandines au site de l'injection par l'irritant en inhibant la synthèse de prostaglandines au niveau périphérique (Shakhanbeh et Atrousse, 2000). Cette hypothèse est renforcée par le fait que cet extrait peut empêcher la formation d'œdème. Cependant, l'extrait de *T. polium* a montré une remarquable activité antibactérienne contre les bactéries Gram positive et Gram négative. D'autre part, il présente des degrés élevés de résistance à nombreux agents antimicrobiens (Autore *et al.*, 1984 ; Aggelis *et al.*, 1998).
- **Cytotoxique** : les résultats montrent que l'extrait éthanolique de *T. polium* dispose un potentiel antitumoral très efficace par l'inhibition, *in vivo*, de la génération de colonies de quelques lignées cellulaires en milieu d'agarose et la suppression leurs croissance (Nematollahi-Mahani *et al.*, 2004). Toutefois, l'extrait aqueux de *T. polium* augmente la cytotoxicité négociée contre *N*-méthyl-*N*-nitro-*N*-nitrosoguanidine sur des cultures

de cellules primaires des hépatocytes des rats et réduit significativement les index mitotiques et les cellules nécrotiques (Khader *et al.*, 2007).

### 1.1.5 Données toxicologiques

#### a. *Tamus communis*

Les grands tubercules de *T. communis* peuvent causer une irritation une fois frottée sur la peau. La plante bénéficie d'une réputation, totalement usurpée, d'action curatrice des ecchymoses ; cet usage est à proscrire formellement, les risques de dermatites étant bien supérieurs aux bénéfices attendus (Schmidt et Moul, 1983).

Les analyses chimiques ont montré la présence d'histamine dans le mucilage de rhizome de *T. communis*, ce qui peut contribuer à des réactions de dermatite de contact chez l'homme (Capasso *et al.*, 1983). En outre, les glycosides stéroïdes et les phénanthrènes isolés des rhizomes de *T. communis* suggèrent que ces éléments exercent une activité cytotoxique chez les animaux de laboratoire, mais leurs effets sur l'homme ne sont pas encore connus (Kovács *et al.*, 2007).

Suivant les manuels de plantes et d'herbes, toutes les parties de la plante sont toxiques en raison de la saponine contenue. Les jeunes pousses sont parfois consommées comme des asperges (parfois confondues avec les asperges sauvages), la saveur est très amère mais aucune toxicité n'est constatée. (Lentini et Venza ; 2007). La racine, dont la pulpe est rubéfiante et vésicante (provoque des ampoules sur la peau) était employée en médecine populaire pour soigner les contusions. La consommation des baies ou de tubercules peut provoquer des troubles digestifs graves. Elle est donc considérée comme toxique. (**Tableau 2**)

**Tableau. 2 :** Intoxication accidentelle chez l'homme par les différentes parties de *Tamus communis* (Schmidt et Moul, 1983).

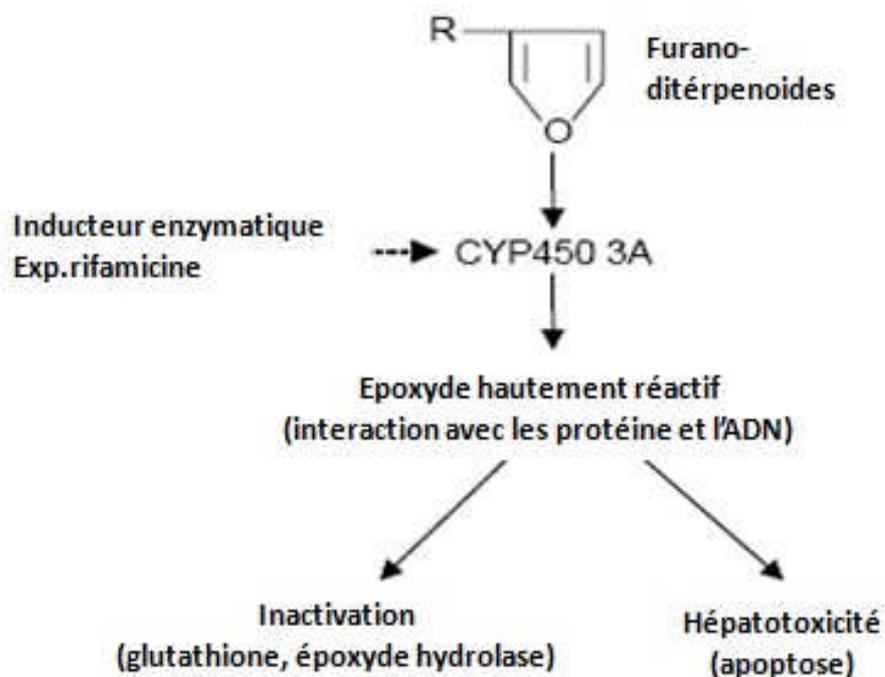
<b>Intoxication par <i>Tamus communis</i></b>
<i>Nature du toxique :</i>
Oxalates de calcium
Saponosides
<i>Organes incriminés :</i>
Plante entière
Tubercules
Baies
Rhizomes crus
<i>Symptômes :</i>
Dermatites par contact local inflammation, œdème, brûlures
Troubles respiratoires, hyperthermie.
Troubles digestifs graves : nausées, vomissements, diarrhées, irritations des muqueuses digestives.

### **b. *Teucrium polium***

Les auteurs ont pu démontrer expérimentalement que la nécrose hépatique peut être provoquée par un extrait de Germandrée tomenteuse enrichi en diterpènes et que l'administration préalable d'activateurs ou d'inhibiteurs du cytochrome P<sub>450</sub> augmente ou diminue la toxicité (Mattéi *et al.*, 1995 ; Mazokopakis *et al.*, 2004); l'activation des furano néoclérodanes semble donc le préalable indispensable à l'action toxique.

Les diterpènes provoquent la mort rapide et massive des cellules par apoptose en augmentant le calcium intracellulaire en stimulant diverses enzymes calcium dépendantes (endonucléases, transglutaminase). Cette implication du noyau furanique n'est pas surprenante : le mécanisme de l'hépatotoxicité reporté par Stickel *et al.*, 2005 stipule que le cytochrome P<sub>450</sub> 3A active les furano néoclérodanes de la germandrée tomenteuse en époxydes toxiques qui peuvent être neutralisés par conjugaison avec le glutathion ; en cas

contraire, les époxydes provoquent une déplétion en glutathion et thioprotéines, interagissent avec les protéines hépatiques et mènent à la mort de cellules de foie par l'induction de l'apoptose



**Figure. 6 :** Mécanisme d'action toxique des furano-ditérpénoïdes extraits à partir de *Teucrium polium* (Stickel *et al.*, 2005).

## 1.2 Foie et rein, Rappels anatomiques et structuraux

### 1.2.1 Foie

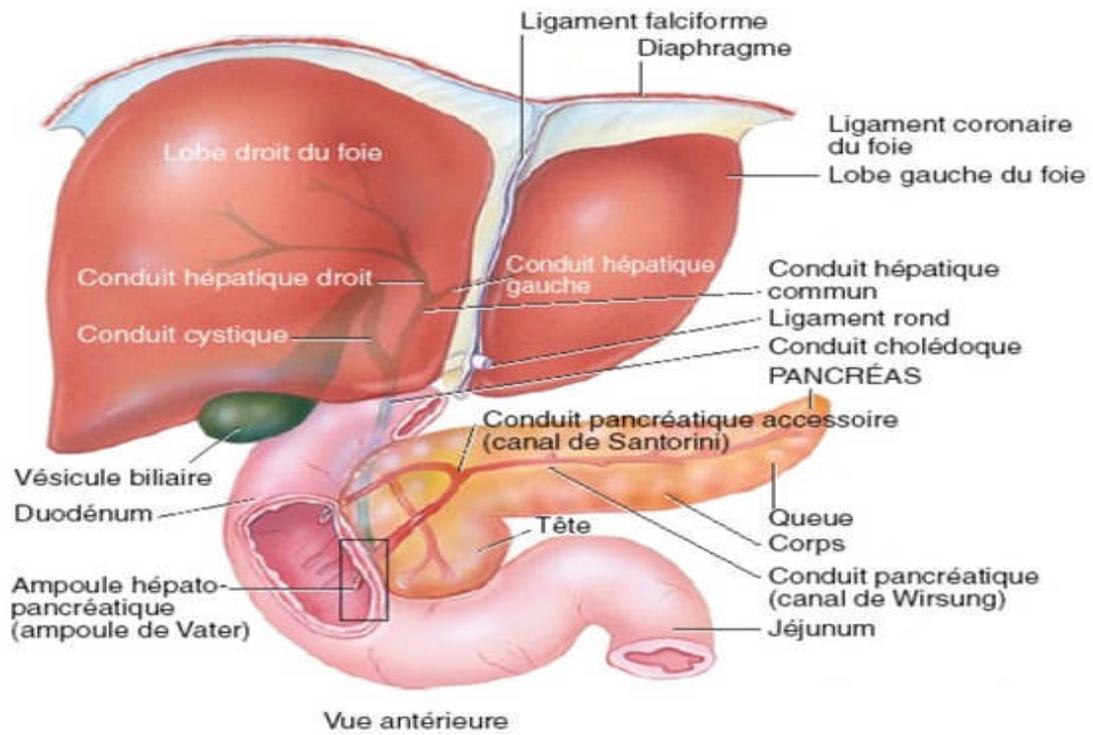
#### 1.2.1.1 Organisation du foie

Chez l'homme, le foie est un organe abdominal impair et asymétrique, logé dans l'hypocondre droit, la loge sous-phrénique droite, la partie supérieure du creux épigastrique puis atteint l'hypocondre. C'est le plus volumineux des viscères humains (2 % du poids

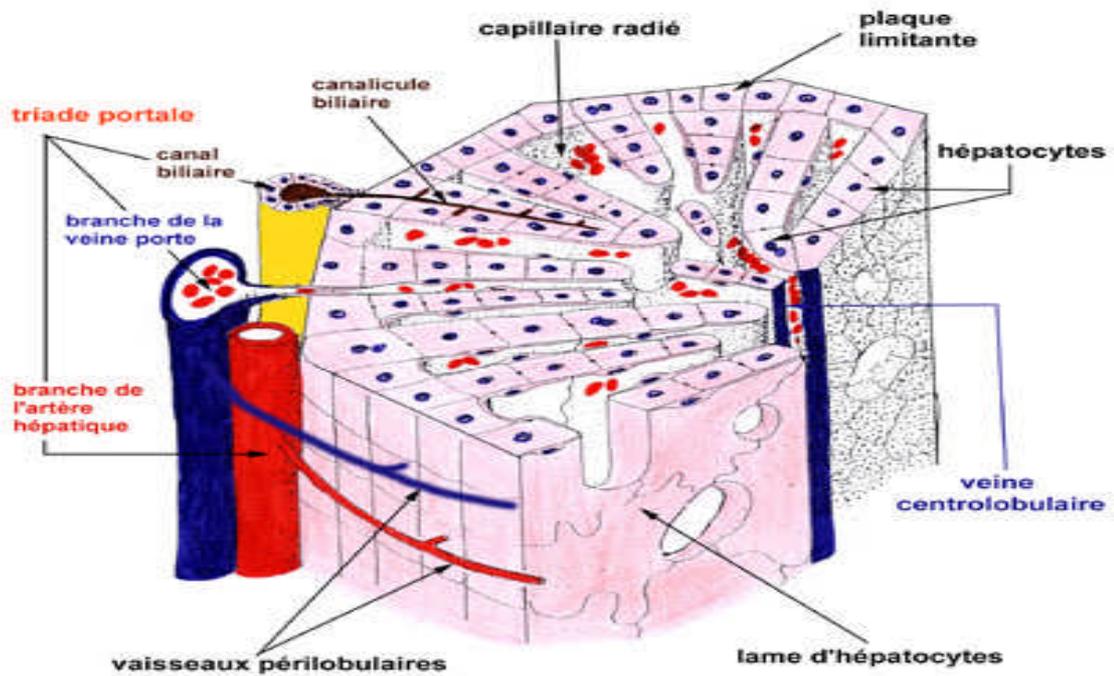
corporel) et l'organe du corps humain qui effectue le plus grand nombre de transformations chimiques (Lüllmann *et al.*, 1998).

Le foie adulte est séparé en deux lobes anatomiques par l'insertion du ligament falciforme, en outre, sur la face postéro-inférieure du lobe droit, on connaît en avant le lobe carré et en arrière le lobe caudé (**Figure 7a**) (Marchall et bangert ; 2004).

De point de vue histologique, le foie est constitué de cellules hépatiques (hépatocytes) organisées en travées autour des sinusoides. L'unité fonctionnelle du foie est le lobule hépatique. Le lobule hépatique est entouré d'espaces portes, où sont groupées les branches de l'artère hépatique, de la veine porte et des canaux biliaires. Le sang circule à travers les hépatocytes des espaces portes vers les veines centro-lobulaires. A l'inverse, les canalicules biliaires sont constitués de sillons ménagés entre les faces accolées d'hépatocytes adjacents. Ses échanges avec le reste du corps se font pour la plupart à travers sa double irrigation sanguine (veine porte et artère hépatique), qui se termine par une multitude de capillaires jusqu'à l'intérieur du foie (**Figure 7b**). 80 % des cellules du foie sont des hépatocytes mais il existe d'autres types cellulaires, on note la présence des lymphocytes hépatocytaires, cellules biliaires et endothéliales, cellules de *Küppfer*, cellules *Ito* (fonction métabolique de la vitamine A et des lipides, et synthèse la matrice extracellulaire autour de cellules endothéliales) (Lüllmann *et al.*, 1998).



a



b

**Figure. 7 :** Organisation structurale et anatomique du foie (Marchall et Bangert ; 2004).

### 1.2.1.2 Fonctions du foie

Le foie assure plusieurs fonctions biologiques qui sont récapitulées dans le **Tableau 3**.

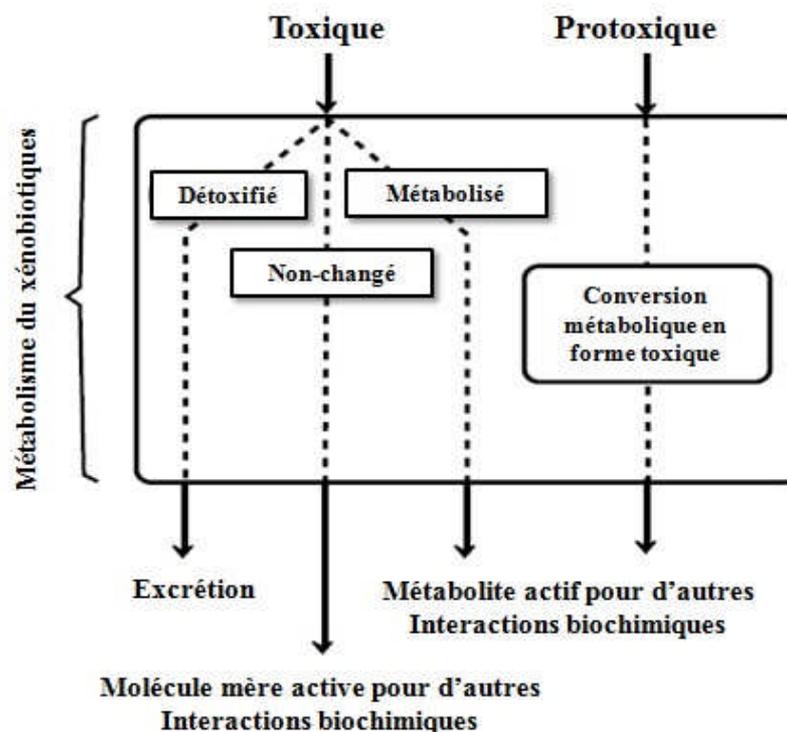
**Tableau. 3 :** Fonctions principales du foie (Marchall et Bangert ; 2004).

<b>Fonctions du foie</b>
Métabolisme glucidique
Néoglucogenèse
Synthèse de catabolisme du glucose
Métabolisme lipidique
Synthèse des acides gras et des lipoprotéines
Synthèse et excrétion du cholestérol
Synthèse des acides biliaires
Cétogenèse
25-Hydroxylation de la vitamine D
Métabolisme protidique
Synthèse des protéines plasmatiques (Albumine et facteurs de coagulation)
Synthèse de l'urée
Métabolisme hormonal
Métabolisme et excrétion des hormones stéroïdiennes
Métabolisme des hormones polypeptiques
Stockage
Glycogène
Vitamine A, B <sub>12</sub>
Fer
Métabolisme et excrétion de la bilirubine
Fonctions défensives
Détoxification des déchets métaboliques et toxiques
Défence antitumorale et antivirale

### 1.2.1.3 Métabolisation des xénobiotiques

Le foie est l'organe principal du métabolisme des médicaments puisque la majorité des enzymes responsables de ces actes se trouvent principalement au siège hépatique. Pour cela plusieurs processus biochimiques sont mis en jeu, ils aboutissent en général à la formation de

produits plus polaires (hydrophiles) que la molécule d'origine, par conséquent facilement éliminables par le rein (Marchall et Bangert ; 2004). Le processus opposé par lequel les substances sont métabolisées en produits toxiques ou par la libération de métabolites dont les toxicités sont augmentées suite aux des interactions biochimiques, ces réactions s'appellent toxification (**Figure 8**) (Manahan, 2003).



**Figure. 8 :** Interactions biochimiques des xénobiotiques (Manahan, 2003).

Ces réactions de détoxification sont subdivisées en deux groupes :

Réactions de **phase I** dites dégradation. On regroupe sous ce terme toutes les réactions qui impliquent une modification de la molécule active soit par oxydation, hydrolyse ou réduction.

Réactions de **phase II** dites conjugaison : les conjugués en général sont plus hydrosolubles donc facilement excrétables que la substance mère. Elles englobent des réactions de

glucuroconjugaison, sulfoconjugaison, méthylation, acétylation et conjugaison au glutathion (Figure 9) (Manahan, 2003).

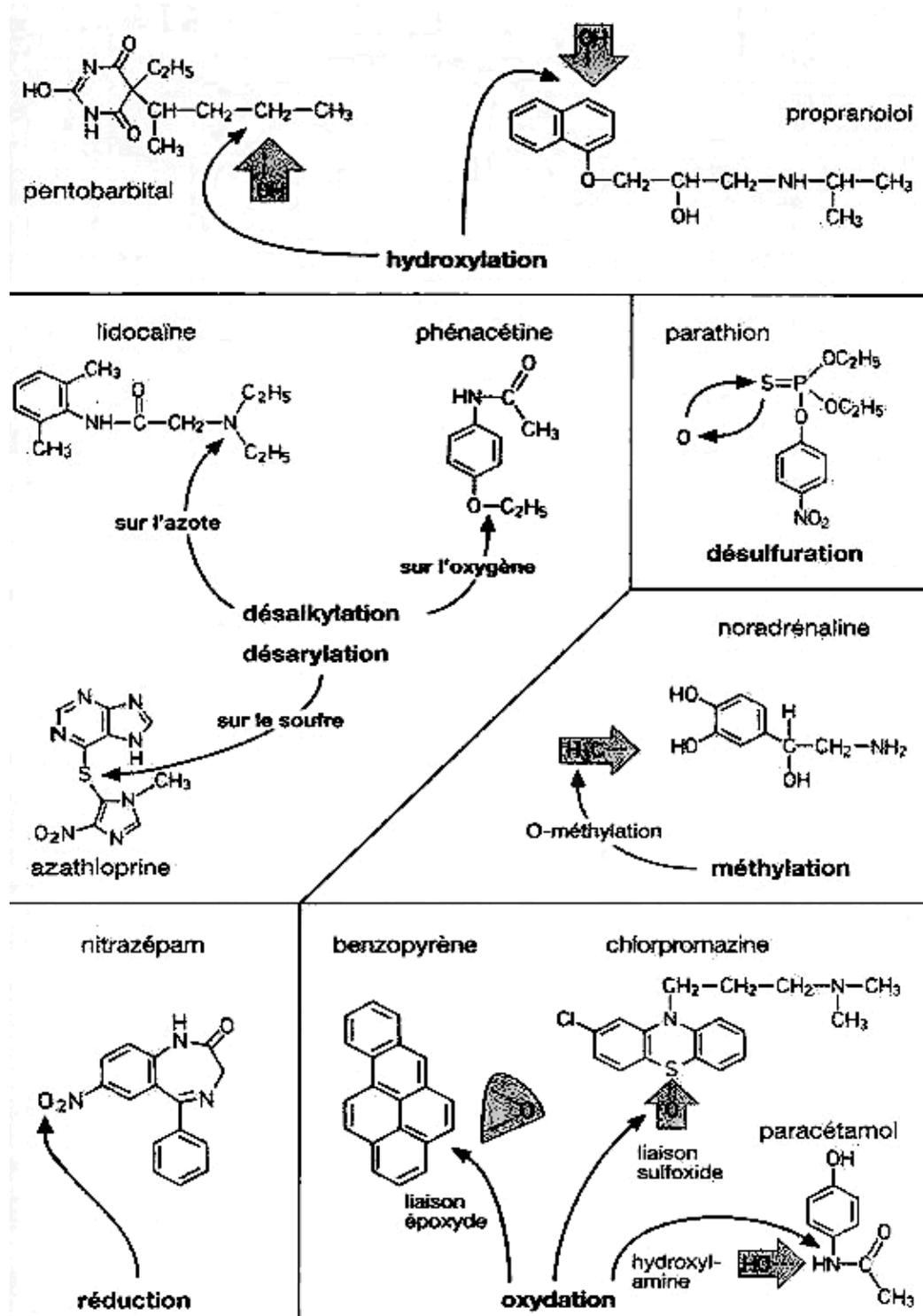


Figure 9 : Réactions d'éliminations de quelques médicaments (Lüllmann *et al.*, 1998).

#### 1.2.1.4 Hépatotoxicités médicamenteuses

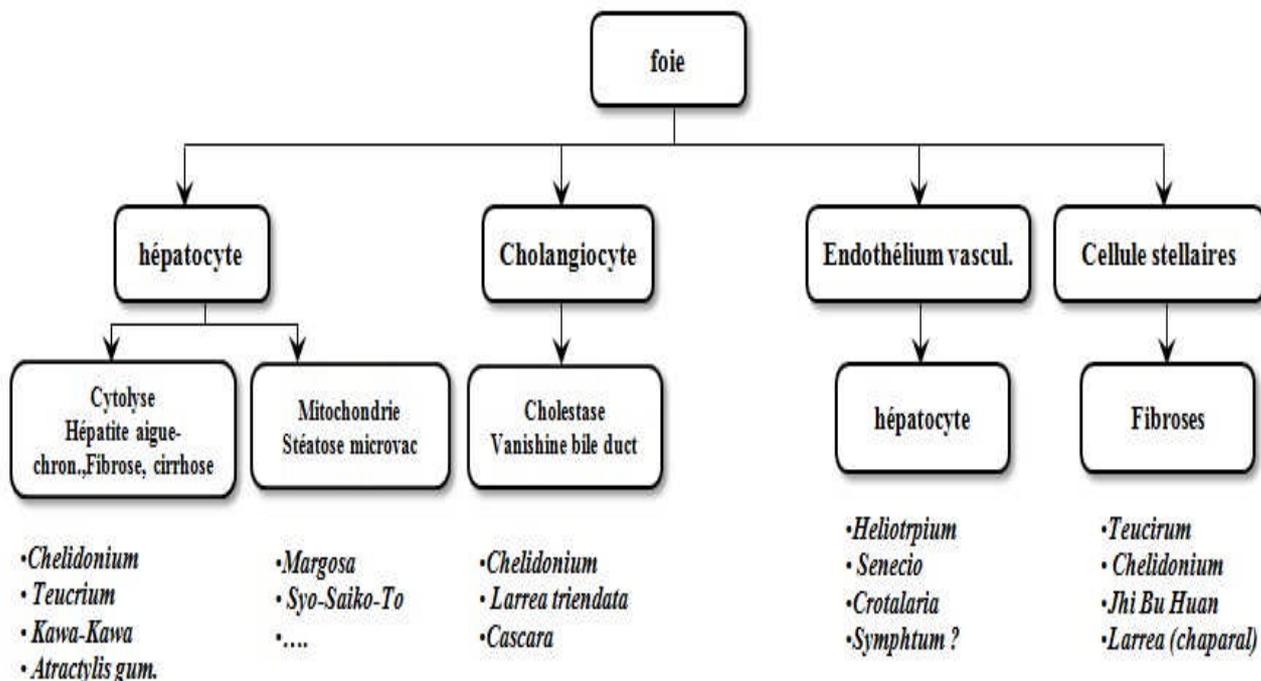
Le foie est, dans l'organisme, figure la cible la plus habituelle des atteintes toxiques. Les pathologies hépatiques d'origine médicamenteuse sont fréquentes. Dans la gamme pharmacologique, les antibiotiques et les anti-inflammatoires non-stéroïdiens sont les plus fréquemment impliqués et la question du rôle d'une origine médicamenteuse dans la genèse des anomalies biologiques observées doit être systématique. Les lésions hépatiques médicamenteuses restent un défi quant à leur physiopathologie, leur approche diagnostique et thérapeutique (Kaplowitz, 1997 ; Mégarbane *et al* ; 2007).

Les principales atteintes hépatiques d'origine toxique sont subdivisées en deux :

**Atteintes aiguës** : Stéatose (surcharge graisseuse), Cholestase (arrêt de l'écoulement biliaire), Nécrose hépatique (cytolysse hépatique ou hépatite).

**Atteinte chronique** : Hépatite chronique qui peut à l'origine d'une insuffisance hépatique telle que la fibrose, Cirrhose et Cirrhose lobulaires, tumeurs (Kaplowitz, 1997 ; Lüllmann *et al.*, 1998).

Les autres facteurs pouvant déclencher ces phénomènes pathologiques, s'en ajoutent d'autres, liées à l'oubli des médications consommées, aux interactions médicamenteuses, à la mise sur le marché de molécules de toxicité encore imparfaitement connue, à la consommation de substances végétales et/ou de composition incertaine (Geubel et Rahier, 2006). Un exemple typique des hépatotoxicités associées aux végétaux exposé par *Teucrium polium* ; qui peut engendrer des complications d'ordre cytolytique aiguë et/ou chronique (**Tableau 4**).

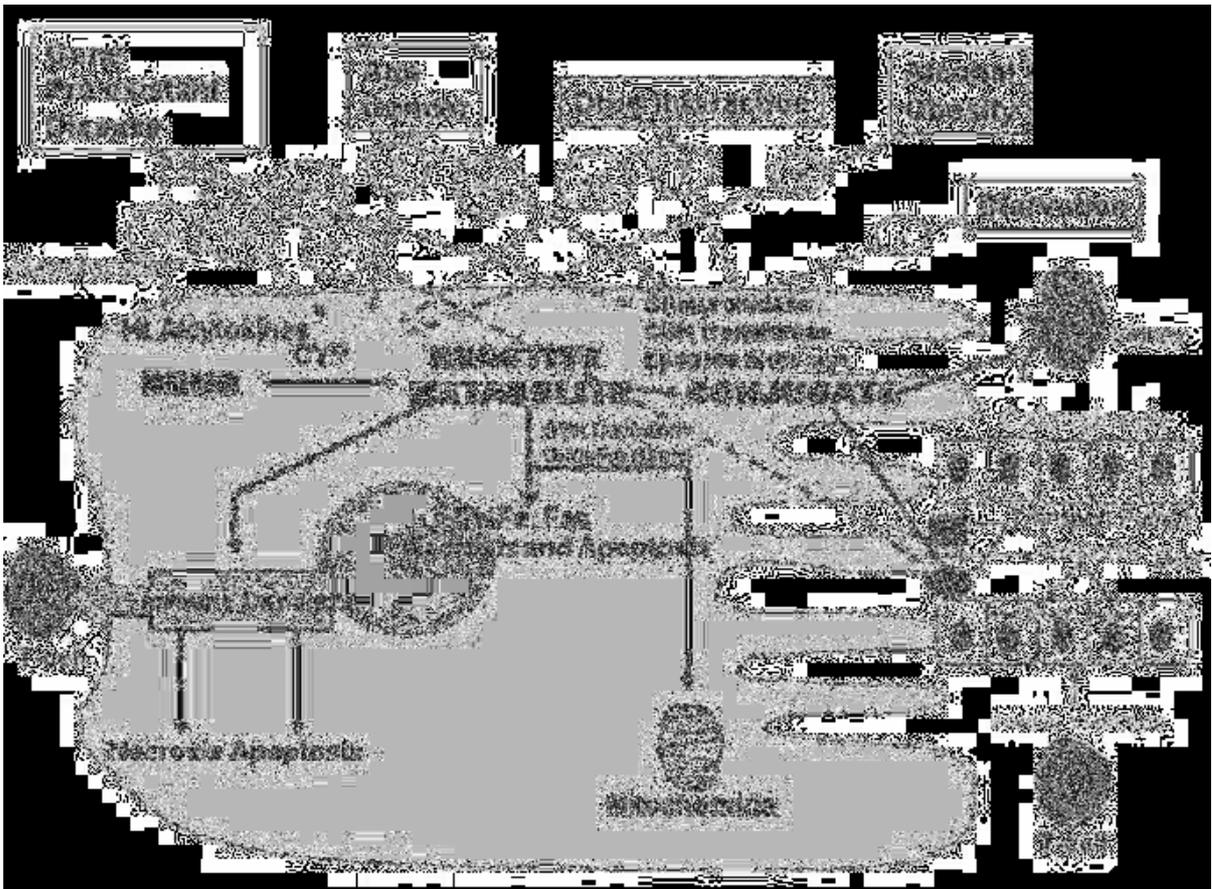
**Tableau. 4 :** Principales hépatotoxicités associées à la phytothérapie (Geubel et Rahier, 2006).

#### a. Mécanisme d'action d'hépatotoxicité

Les mécanismes impliqués dans le dysfonctionnement hépatiques (ex. nécrose) par les toxines sont mal admis. Au niveau des hépatocytes, toutes les substances étrangères qui franchissent la barrière intestinale (nécessairement lipophiles), devraient les rendre plus hydrophiles, avant d'être excrétés en urine ou en bile (Lüllmann *et al.*, 1998). Ce processus entoure diverses étapes métaboliques, commençant habituellement par des réactions d'oxydation par Cytochrome P<sub>450</sub> (CYP), ensuite une inactivation par un ensemble de système enzymatique par le glucuronide, sulfate, époxyde hydrolase et glutathione (GSH). Enfin, les métabolites hydrophiles de drogues seront exportés vers la circulation sanguine et filtrés par le glomérule ou vers la bile par transport des protéines situées sur la membrane apicale des canalicules biliaires et des hépatocytes (Ingwale *et al.*, 2009).

Bien que quelques drogues puissent être directement toxiques aux hépatocytes (ex. inhibiteurs des nucléosides réverse transcriptase qui inhibent la production d'ADN

mitochondrial), dans la plupart des ces réactions néfastes, les dommages suivent vraisemblablement un ordre d'événements rares qui commenceraient par la génération des métabolites réactifs par les isoenzymes de CYP causant des ruptures des liaisons covalentes aux cellules liées entre elles par les protéines intercellulaires ou par la genèse du stress oxydant suite à l'épuisement des enzymes GSH (**Figure 10**). Ceci, plus tard, pourrait avoir divers effets sur les hépatocytes, y compris une réduction de la fonction mitochondriale, perte de gradients ioniques, chute des niveaux d'ATP, rupture des fils d'actine, gonflement de cellules, destruction totale de la cellule par l'induction de l'apoptose (Rajender et Faust, 2006).



**Figure. 10 :** Effets de médicaments sur les facteurs de risque génétiques et environnementaux (Rajender et Faust, 2006).

**b. Evaluation d'une hépatotoxicité**

Pour évaluer l'état du foie, un examen approfondi doit être mis en place, il comporte des tests biochimiques (enzymatiques et protéines plasmatiques) et histologiques (Rajender et Faust, 2006).

Les enzymes utilisées dans l'évaluation de la fonction hépatique sont l'aspartate et l'alanine aminotransférases (TGO et TGP), la phosphatase alcaline PAL et  $\gamma$  glutamyl transférase ( $\gamma$  GT). En général, ces enzymes ne constituent pas des marqueurs spécifiques du dysfonctionnement hépatique. L'isoenzyme hépatique des PAL est une exception, et l'activité TGP est plus spécifique du foie que TGO (c'est l'enzyme de l'exploration musculaire et se trouve également dans les muscles striés). L'augmentation des aminotransférases conduit une cytolysse, les activités plasmatiques peuvent être 20 fois plus élevées que la limite supérieure de la normale en cas d'hépatite. Dans le syndrome de cholestase l'activité de PAL s'élève, cela est dû principalement à l'augmentation de la synthèse de l'enzyme stimulée. Cependant, en pratique, l'augmentation de l'activité des aminotransférases et PAL est fréquente dans les pathologies hépatiques en général, même si l'une des deux prédomine parfois (Lüllmann *et al.*, 1998). Dans le syndrome de cholestase primaires, il peut y avoir des lésions hépatocellulaires secondaires et une élévation subséquente de l'activité de  $\gamma$  GT à la fois dans un marqueur très sensible mais non spécifique de pathologie hépatique. Ainsi, même si certains profils enzymatiques sont fréquemment observés dans des pathologies hépatiques variées, ils ne sont pas véritablement diagnostiques. L'enzymologie clinique est très utile dans le suivi des pathologies, une fois le diagnostic posé (Marchall et Bangert ; 2004).

La bilirubine totale est un pigment qui provient de la dégradation de l'hémoglobine présente physiologiquement dans le plasma sous forme non conjuguée (environ 95%) ; dans

la mesure où elle est liée aux protéines, elle n'est pas filtrée par les glomérules rénaux (Lüllmann *et al.*, 1998). Une hyperbilirubinémie reflète une augmentation de sa concentration plasmatique en bilirubine conjuguée, ceci peut être le signe d'un ictère, affections hépatiques, anémie et insuffisance cardiaque (Marchall et Bangert ; 2004).

## **1.2.2 Reins**

### **1.2.2.1 Morphologie générale**

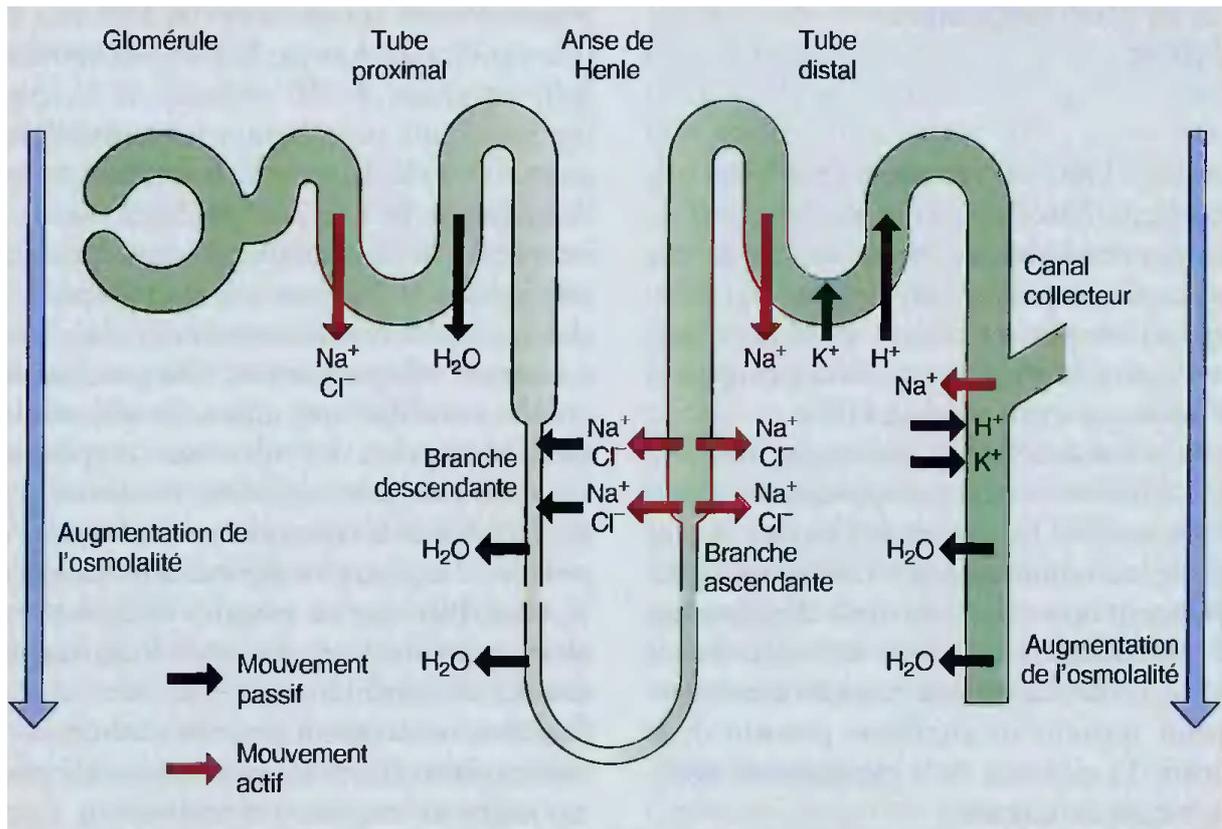
Les reins sont deux organes localisés dans la partie postérieure de l'abdomen, de part et d'autre de la colonne vertébrale. Chaque rein mesure environ 11 cm de long, 6 cm de large et a une épaisseur de 3 cm, et est relié à l'artère aorte et à la veine cave inférieure par l'artère et la veine rénale. Topographiquement, les reins ne sont pas exactement symétriques. Le rein droit est situé plus bas, le rein gauche souvent un peu plus volumineux et un peu moins large et plus allongé (Pellet, 1977).

**a. Aspect macroscopique :** on distingue

- *Une zone périphérique*, foncée, granuleuse, c'est la zone corticale, ou cortex du rein qui prolonge en direction du hile par des travées convergentes : les colonnes de Bertin.
- *Une zone centrale*, plus claire, striée longitudinalement, occupe les espaces compris entre les colonnes de Bertin : c'est la zone médullaire, cette zone possède 8 à 12 pyramides striées appelées *pyramides de Malpighi*, dont le nombre varie entre espèces. La base de ces pyramides est recouverte par le cortex alors que le sommet de chaque pyramide se projette vers le centre du rein donnant le calice mineur. Chaque calice mineur collecte l'urine d'une pyramide, et converge pour former les calices majeurs qui forment à leur tour le bassinnet qui se jette dans l'uretère (Lüllmann *et al.*, 1998).

**b. Aspect microscopique :** Le parenchyme rénal est essentiellement constitué par un très grand nombre d'unités anatomiques appelées *néphron*, il comporte deux parties physiologiquement et anatomiquement distinctes : un glomérule et un tubule (Pellet, 1977).

- *Le glomérule* est un réseau de petits vaisseaux sanguins, les capillaires, entourés d'une structure appelée capsule glomérulaire, qui sert de filtre. Dans le glomérule, la membrane basale du capillaire délimite deux espaces : l'un situé en dedans, appelé espace endocapillaire ou endomembraneux ; l'autre situé en dehors, appelé espace extracapillaire ou extramembraneux (Magali et al, 2008).
- *Le tubule* se subdivise en trois parties fonctionnelles ; *Tubule proximal* : situé après la capsule de Bowman et avant l'anse de Henle ; il participe à la réabsorption de certaines substances. *L'anse de Henle* c'est la section du néphron conduisant du tubule proximal au tubule distal. Elle est responsable en grande partie de la concentration des urines, ceci avec l'urée. *Tubule distal* sa partie contournée est en contact avec l'artériole afférente de son néphron au niveau d'une structure appelée l'appareil juxtaglomérulaire. C'est à ce niveau que se fait la sécrétion de rénine, hormone phare du contrôle de la tension artérielle par le rein. *Tubule collecteur* qui représente la portion droite terminale du tubule contourné distal (**Figure 11**) (Blanchard,2008).



**Figure. 11 :** Segmentation anatomique et fonctionnelle du néphron (Blanchard, 2008). PTH (parathormone), ADH (AntiDiuretique Hormone)

### 1.2.2.2 Fonctions rénales

Le rôle vital des reins est intimement lié à leur fonction dans l'homéostasie du milieu intérieur, permettant de protéger les cellules vis-à-vis des conséquences des variations environnementales de l'organisme (Lüllmann *et al.*, 1998). Le rein exerce plusieurs fonctions vitales :

- *Filtration glomérulaire* : forme la première étape dans la formation de l'urine. Le plasma filtre au travers du glomérule vers l'espace de Bowman selon un débit de filtration dans les capillaires glomérulaires (Bangert et Steven ; 2004).

- *Réabsorption et sécrétion tubulaire* : les glomérules filtrent par jour 180 litres de fluides dépourvus de protéines mais contenant de nombreux électrolytes et produit de déchets (Pellet, 1977).
- *Épuration du milieu intérieur* : élimination des déchets (urée, ammoniaque), des toxiques (substances médicamenteuses) et des fluides en excès dans l'organisme.
- *Contrôle et maintien de l'équilibre en certains minéraux et électrolytes* : sodium, potassium, calcium, phosphore, etc (Marchall et Bangert ; 2004).
- *Maintien de l'équilibre acido-basique de l'organisme* (concentration en ions H<sup>+</sup>). Ils remplissent cette fonction grâce à une réabsorption de bicarbonates et une élimination active de protons (Blanchard, 2008).
- *Rôle endocrine* : sécrétion de plusieurs hormones, parmi lesquelles la rénine, qui participe au maintien la tension artérielle. Ainsi, le rein produit les prostaglandines E et les prostacyclines (Bangert et Steven ; 2004).
- *Activation de la synthèse de la vitamine D*, qui permis l'absorption du calcium d'origine alimentaire par l'intestin et son utilisation dans la structure des os.
- *Fonction hématopoïétiques* : le rein est le principal effecteur du contrôle de l'érythropoïèse. Un état d'hypoxie, consécutif par exemple a une baisse du nombre des hématies, entraine la sécrétion par le rein de l'érythrogénine .Cette enzyme active immédiatement un facteur plasmatique : l'érythropoïétine qui stimule la production d'hématies par la moelle osseuse (Marchall et Bangert ; 2004).

### 1.2.2.3 Marqueurs biochimiques de la fonction rénale

Le bilan rénal “standard” sert à dépister un éventuel dysfonctionnement du rein. Il comprend en première approche quelques examens simples qui seront complétés par d’autres si besoin (Lüllmann *et al.*, 1998).

#### *a. Analyse sanguine :*

Différentes substances filtrées par le rein sont ainsi dosées dans le sang et dans les urines : des éléments minéraux (sodium, potassium, chlore, calcium, phosphore), les protides et les bicarbonates, mais aussi et surtout, l’urée et la créatinine, dont les taux sanguins augmentent en cas de dysfonctionnement rénal (Blanchard, 2008).

La créatinine est une molécule azotée produite par l’organisme par l’intermédiaire du catabolisme de la créatine qui est un composé protéique contenu dans le tissu musculaire. La créatinine est une molécule physiologiquement inerte. Cela signifie qu’elle n’est ni métabolisée, ni utilisée d’une quelconque manière par l’organisme. Elle est strictement éliminée par les reins. Son dosage est employé dans l’évaluation de la fonction rénale et plus particulièrement dans l’estimation du débit de filtration glomérulaire. Cette estimation s’obtient, en pratique, par le calcul de la clearance de la créatinine. Une élévation de sa concentration dans le sang est une indication de dysfonctionnement rénal ; des données sur sa concentration sanguine et urinaire peuvent être utilisées pour estimer le taux de filtration glomérulaire (Marchall et Bangert ; 2004).

L’urée est une molécule de 60 daltons. Elle représente la forme principale d’élimination de l’azote, synthétisée lors du catabolisme des protéines par le foie, c’est un des premiers marqueurs qui a été utilisé pour mesurer le débit de filtration glomérulaire. L’urée passe dans les néphrons quelle que soit sa concentration dans le sang : c’est une substance sans seuil. Cette molécule est filtrée librement dans le glomérule mais est réabsorbée au

niveau des tubes proximaux et distaux (Bangert et Steven ; 2004). Une teneur élevée indique généralement une atteinte glomérulaire, mais la concentration peut être aussi modifiée par une alimentation inadéquate ou par une hépatotoxicité fréquente (Frank, 1992).

***b. Analyses des urines***

Les urines sont composées d'eau à 95% et contiennent principalement de l'urée et du chlorure de sodium (NaCl). On trouve aussi (en moindre quantité) du potassium, du calcium, du phosphore, de la créatinine. Le bilan urinaire pratiqué en routine sert à s'assurer qu'il n'y pas de protéines (protéinurie), de sucre (glycosurie), de sang (hématurie), de pus (leucocyturie) ou de germes (recherche de nitrites) dans les urines (Frank, 1992).

La protéinurie en raison de leur taille seulement une faible partie des protéines de faible poids moléculaire passe le filtre glomérulaire. Ces protéines sont facilement réabsorbées par les tubules proximaux et leur présence en grande quantité dans l'urine est une indication de la perte de la fonction de réabsorption tubulaire. Par contre, l'excrétion de protéines de poids moléculaire élevée indique une perte de l'intégrité des glomérules (Lüllmann *et al.*, 1998).

La glycosurie représente le glucose présent dans le filtrat glomérulaire est totalement réabsorbé dans les tubules. La glycosurie en l'absence d'hyperglycémie indique une déficience tubulaire (Marchall et Bangert ; 2004).

***c. Examens histologiques*** : se subdivise en examens macroscopiques qui traduisent les modifications pondérales de l'organe, suggèrent souvent des lésions rénales. De nombreuses autres lésions pathologiques peuvent être détectées à l'examen macroscopique ; les examens microscopiques peuvent révéler le site, l'étendu et l'apparence morphologique des lésions rénales (Frank, 1992).

## ***2 Matériels et Méthodes***

## 2.1 Matériel

### 2.1.1 Matériel biologique

Les parties souterraines (rhizomes) de *Tamus communis* et aériennes de *Teucrium polium* ont été récoltées en Novembre 2007 aux environs de Bouandes et Bougaa (les deux régions sont situées au nord de Sétif), respectivement.

Le modèle animal choisi est le rat blanc, *Albino Wistar* issus de l'institut Pasteur d'Alger. Cette étude a été réalisée sur des rats femelles de poids moyens de  $186.37 \pm 11.53$  gr pour *T. communis* et  $201.61 \pm 7.04$  gr pour *T. polium*. Un élevage est effectué dans l'animalerie du département de Biologie, Université de Sétif. Les animaux sont maintenus en période de stabulation deux semaines avant l'expérimentation, ils sont installés dans des cages en plastique transparentes de longueur égale à 55cm, d'une largeur de 33cm et d'une hauteur de 19cm munies d'un porte étiquette où est mentionné le nom du lot, le traitement subi et les dates des expérimentations. Les rats reçoivent un aliment standard provenant de l'ONAB, El-Kseur Bejaia et de l'eau. La température de l'animalerie est entre 20-25°C (**Figure 12**). La litière utilisée est la sciure renouvelée deux fois par semaine pour assurer le bon état hygiénique des animaux.



Conditionnement des rats



Rats en cage

**Figure. 12 :** Conditions d'installation des rats au niveau de l'animalerie de l'université.

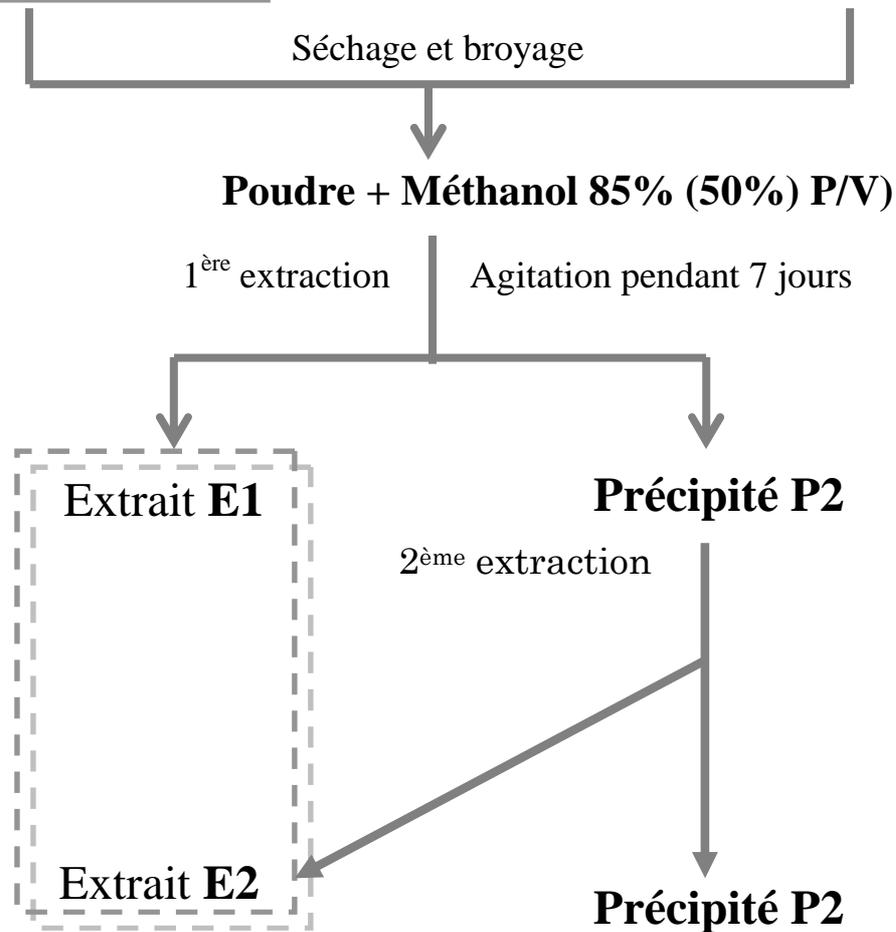
### 2.1.2 Réactifs chimiques

Les sels et les produits chimiques de grade analytique proviennent tous de Sigma, les autres réactifs et solvants sont obtenus au près de Prolabo, Aldrich, Organics et Janssen Chemica.

## 2.2 Méthodes

### 2.2.1 Technique d'extraction

Les parties des deux plantes ont été lavées avec de l'eau de robinet, séchées à l'ombre et broyées à l'aide d'un mortier. Ensuite, l'extraction est effectuée dans le méthanol à 85% (100 gr de plante sèche/ 500 ml de méthanol) sous agitation pendant 7 jours à température ambiante et à l'abri de lumière. Le tout est par la suite filtré sur verre fritté (N°03), le solvant est récupéré du filtrat par évaporation dans un rotavapor (BÜCHI). L'extrait obtenu est par la suite lyophilisé. Le procédé de la macération par le méthanol est le même pour la macération avec de l'eau. La solution méthanolique **est** distillée sous vide jusqu'à l'obtention d'un extrait brut sec **E1**, ensuite, le précipité **P1** serait repris de nouveau pour une seconde extraction afin d'obtenir un 2<sup>ème</sup> extrait brut sec **E2**. Enfin, les masses de **E1** et **E2** sont mélangées (Zabri *et al.*, 2009). L'extrait obtenu, d'une couleur marron-claire pour *T. communis* et vert-foncée pour *T. polium*, est considéré comme étant l'extrait brut (**Figure 13**).

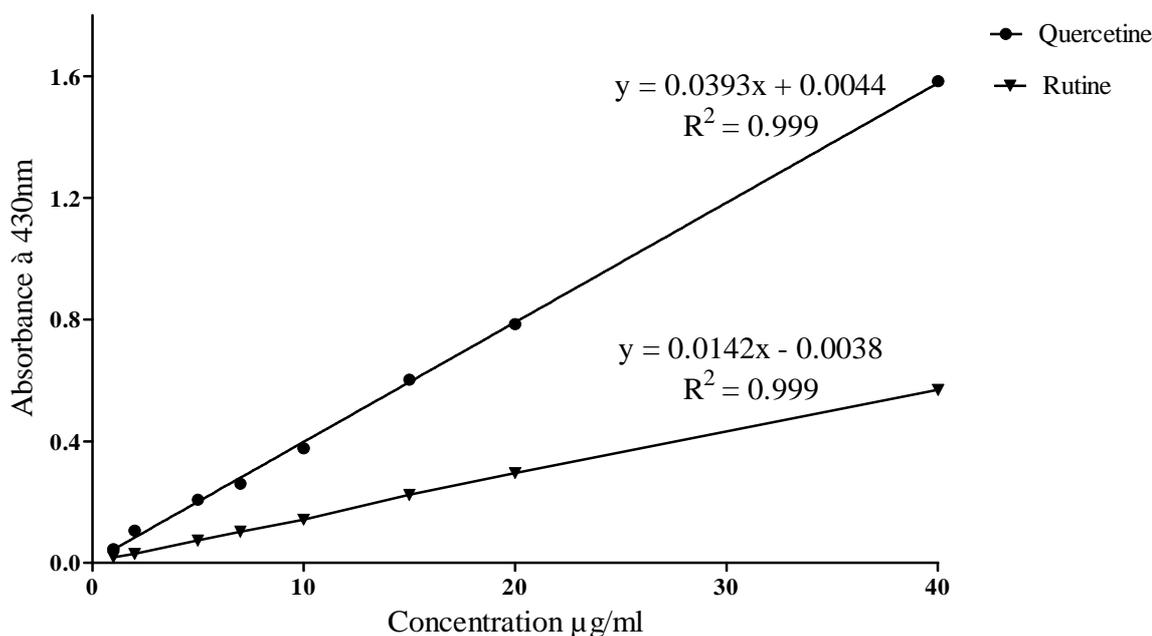
Parties aériennes de *T. polium*Rhizomes de *T. communis*

**Figure. 13 :** Etapes du fractionnement méthanolique de l'extrait brut de *Tamus communis* et *Teucrium polium*.

## 2.2.2 Etude phytochimique

### a. Dosage des flavonoïdes

La méthode du trichlorure d'aluminium (Baharun *et al.*, 1996) est utilisée pour quantifier les flavonoïdes dans l'extrait de *T. communis* et *T. polium*; à 1 ml d'échantillon ou de standard (préparés dans le méthanol avec dilutions convenables) est ajouté 1 ml de la solution d' $\text{AlCl}_3$  (2% dans le méthanol). Après 10 minutes de réaction, l'absorbance est lue à 430 nm par le spectrophotomètre Spectronic ® Genesys™. La concentration des flavonoïdes est déduite à partir la gamme d'étalonnage établie avec la quercétine (0-40  $\mu\text{g/ml}$ ) et est exprimée en microgrammes d'équivalent de quercétine et/ou rutine par milligramme d'extrait (Figure 14).



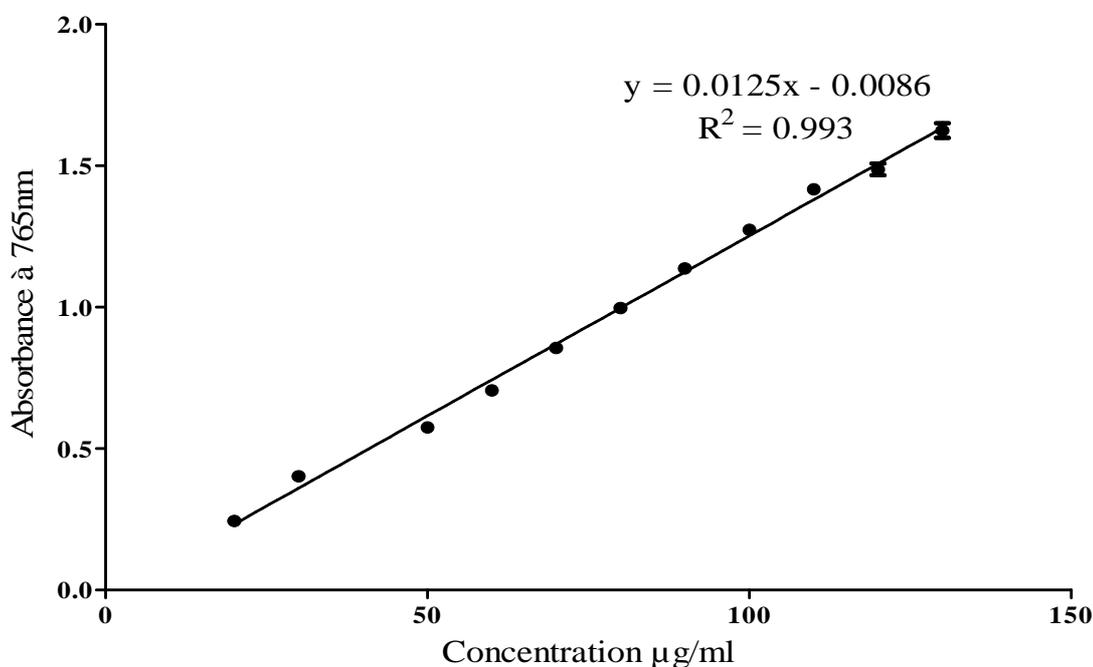
**Figure. 14 :** Droite d'étalonnage de la quercétine et la rutine (moyenne  $\pm$  SD de trois mesures).

### b. Dosage des polyphénols

La teneur en composés phénoliques des différents extraits de *T. communis* et *T. polium* a été estimée par la méthode de Folin-ciocalteu selon (Li *et al.*, 2007) basée sur la réduction

en milieu alcalin de la mixture phosphotungstic ( $\text{WO}_4^{2-}$ ) phosphomolybdic ( $\text{MoO}_4^{2-}$ ) du réactif de Folin par les groupement oxydables des composés polyphénoliques, conduisant à la formation de produits de réduction de couleur bleue. Ces derniers présentent un maximum d'absorption dont l'intensité est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans l'échantillon (Georgé *et al.*, 2005). Brièvement, 1 ml de réactif de Folin (dilué 10 fois) est ajouté à 200  $\mu\text{l}$  d'échantillon ou de standard (préparés dans le méthanol) avec des dilutions convenables, Après 4 min, 800  $\mu\text{l}$  d'une solution de carbonate de sodium (75 mg/ml) sont additionnés au milieu réactionnel. Après 2 heures d'incubation à température ambiante l'absorbance est mesurée à 765nm.

La concentration des polyphénols totaux est calculée à partir de la droite d'étalonnage établie avec l'acide gallique (0-200  $\mu\text{g/ml}$ ) et est exprimée en  $\mu\text{g}$  d'équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait (**Figure 15**).



**Figure. 15 :** Droite d'étalonnage de l'acide gallique (moyenne  $\pm$  SD de trois mesures).

### **2.2.3 Effets des extraits de *T. communis* et *T. polium* in vivo :**

#### **2.2.3.1 Evaluation de la toxicité des plantes :**

A fin de suivre l'évolution corporelle des animaux le long de l'expérimentation, leurs poids sont déterminés avant et après les semaines de traitement et 24 heures avant le sacrifice. Cette répartition est réalisée selon l'homogénéité de leurs poids.

##### **a. Toxicité aiguë**

Elle se manifeste rapidement, voire immédiatement, après une prise unique ou à court terme après plusieurs prises rapprochées. C'est l'étude qualitative et quantitative des phénomènes toxiques rencontrés après l'administration unique de la ou des substances actives contenues dans l'échantillon. Cette étude décrit les symptômes observés, y compris les phénomènes locaux et fournis, l'indication de la DL<sub>50</sub>. L'étude sur les rats de laboratoire est effectuée sur un nombre homogène d'animaux, la durée de l'observation des animaux est précisée par l'expérimentateur : en général elle n'est pas inférieure à une semaine (Diallo, 2005).

La dose létale 50 (DL<sub>50</sub>) est la dose d'une substance chimique qui, administrée à des animaux de laboratoire provoque la mort de la moitié d'entre eux ; elle peut être déterminée par plusieurs méthodes qui sont : méthode de *Dragstedt* et *Lang*, méthode de *Karber* et *Behrens* (Stowtchiva, 1988) et méthode de *Miller* et *Tainter* (Dupont, 1970). Dans notre approche, la méthode de *Karber* et *Behrens* est utilisée pour déterminer la DL<sub>50</sub> des deux extraits de plantes *T. communis* et *T. polium*. Le principe de cette technique consiste à administrer des doses croissantes de substance à des lots de rats de masses uniformes, la dose administrée est exprimée en mg/kg de masse corporelle des animaux et la différence entre les

doses voisines doit être constante. Pour chaque lot, on note le pourcentage de mortalité dans l'heure qui suit ou au bout du temps imparti.

La  $DL_{50}$  est obtenue par la formule :  $DL_{50} = DL_{100} - S(a.b) / n$

$DL_{100}$  : la plus petite dose tuant tous les animaux

a = la moyenne de la somme des morts à deux doses consécutives

b = la différence entre deux doses successives

n = nombre d'animaux utilisés par lot.

La  $DL_{50}$  permet de mesurer la toxicité d'une substance et d'établir des classes de toxicité (Stowtchiva, 1988 ; Oduola *et al.*, 2007). En général, plus la  $DL_{50}$  est petite, plus la substance est toxique. Le contraire est également vrai : plus la  $DL_{50}$  est élevée, plus la toxicité est faible comme le montre le **Tableau 5**.

**Tableau. 5 :** Classes de toxicité selon l'échelle de Hodge et Sterner chez les rats de laboratoire (Ulanova, 1975 ; Frank ,1992)

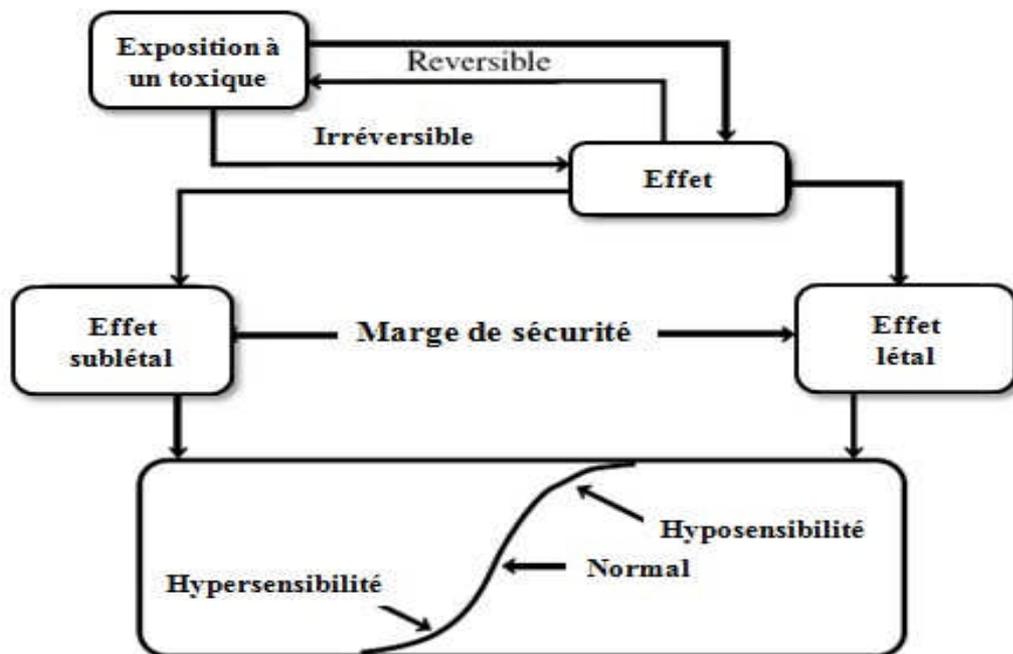
<b>DL<sub>50</sub> orale</b>	<b>Indice de toxicité</b>
Jusqu'à 1 mg/kg	1 = extrêmement toxique
1 à 50 mg/kg	2 = hautement toxique
50 à 500 mg/kg	3 = modérément toxique
500 à 5 000 mg/kg	4 = légèrement toxique
5 000 à 15 000 mg/kg	5 = presque pas toxique
Plus de 15 000 mg/kg	6 = relativement inoffensif

Les rats préalablement mis à jeun pendant 24 heures sont regroupés par lot de 10 pesants entre 120-200 gr. Les doses utilisées sont : 0, 1500, 3000 ,6000 et 12000 mg/kg d'extrait méthanolique de *T. communis* et 0, 300, 600, 1200 et 2400 mg/kg d'extrait méthanolique de

*T. polium*. Les extraits ont été repris dans NaCl 9 ‰ et administrés aux rats par gavage à raison de 1 ml de solution par 100 gr de masse corporelle. Le lot témoin ne recevait que du NaCl 9 ‰. Par la suite, les symptômes possibles sont observés ainsi que le nombre de morts au bout du temps imparti (les premières 15 min. ensuite les 1<sup>ère</sup> h, 2h, 24h, 72h jusqu'au 14<sup>ème</sup> jour).

#### **b. Toxicité subaiguë**

Ces épreuves ont pour objet de mettre en évidence les altérations fonctionnelles et/ou pathologiques consécutives aux administrations répétées des substances actives examinées et d'établir les conditions d'apparition de ces altérations en fonction de la posologie. Les expérimentations ont pris de 2 à 6 semaines. Le choix de la ou des voies d'administration doit tenir compte de la voie pour l'emploi thérapeutique et des possibilités de résorption. Le mode et le rythme des administrations ne sont pas codifiés strictement mais doivent être clairement indiqués ainsi que la durée des essais (Manahan, 2003). Il est utile de choisir la dose la plus élevée de façon à faire apparaître des effets nocifs, ainsi que les doses inférieures permettent alors de situer la marge de tolérance du nouveau produit chez l'animal (**Figure 16**). L'appréciation des effets toxiques est faite sur la base de l'examen du comportement, de la croissance pondérale, de la formule sanguine et des épreuves fonctionnelles particulièrement celles qui se rapportent aux organes extérieurs ainsi que la base des comptes rendus nécrosiques, accompagnés des examens histologiques qui s'y rattachent (Diallo, 2005).



**Figure. 16 :** Effets et réponses aux substances toxiques (Manahan, 2003).

Le poids des rats, *Wistar albinos*, femelles adultes de poids égal à  $193.84 \pm 10.56$  gr, sont répartis en quatre lots expérimentaux de huit animaux chacun. Les trois doses journalières administrées après des tests préliminaires de  $DL_{50}$  sont de 75, 150, 300 mg d'extrait /kg de poids de rats pour *T. communis* et *T. polium*. (**D**<sub>0</sub>) témoins, (**D**<sub>1</sub>) gavés avec la dose 1(75 mg/kg), (**D**<sub>2</sub>) gavés avec la dose 2 (150 mg/kg) et (**D**<sub>3</sub>) gavés avec la dose 3 (300 mg/kg). Cette répartition est réalisée selon l'homogénéité de leurs poids. Les extraits ont été dissous avec de le NaCl 9‰ à raison de 1 ml de solution par 100g de poids des rats, le lot témoin ne recevait que de NaCl 9‰.

Nous avons poursuivi l'administration jusqu'à la sixième semaine (6 applications/7). Au terme des 6 semaines, toutes les rattes ont été euthanasiées, et les organes prélevés : ovaires, reins, rate, foie, poumons, cœur, cerveau sont observés *in situ*.

### **2.2.3.2 Prélèvements sanguins**

Les prélèvements sanguins sont effectués chez les rats à jeun et sous anesthésie par l'éther diéthylique. Ils sont réalisés dans le jour d'euthanasie à partir du sinus caverneux par le biais des tubes de micro hématocrites. Au cours de chaque prélèvement, 2 à 3 ml de sang sont recueillis dans un tube hépariné et dans un autre tube contenant l'EDTA, ensuite les tubes héparinés sont centrifugés à 4000 g/ 5min. à 4°C. Le sérum obtenu est aliquoté et conservé à une température de -20°C jusqu'aux analyses biochimiques.

#### **a. Examens biochimiques**

Les paramètres sériques suivants : Glucose (Glu), Urée, Créatinine (Créat), Acide urique (AU), Sodium (Na), Potassium (K), Cholestérol total (Chol T), Triglycérides totaux (TG T), Transaminase Glutamate Oxalo-acétate (TGO), Transaminase Glutamate Pyruvate (TGP), Phosphatase alcaline (PAL) sont mesurés par des méthodes enzymatiques. Ces dosages ont été réalisés au niveau du Laboratoire Central de l'Hôpital Universitaire de Sétif (CHU).

#### **b. Examens hématologiques**

Les paramètres hématologiques pour la formule numération sanguine (FNS) sont : Red Blood Cells ou Globules rouges (RBC), volume globulaire moyen (MCV ou VGM), mesure de l'homogénéité du globule rouge (RDW), Hématocrite (HCT), Plaquette (PLT), volume plaquettaire moyen (MPV), White Blood Cells ou Globules blancs (WBC), Hémoglobine (HGB), teneur corpusculaire en Hémoglobine (MCH), concentration corpusculaire moyenne en Hémoglobine (MCHC) sont effectués par le Medonic (Beckman coulter-USA-) au niveau du Laboratoire Central du CHU de Sétif.

### 2.2.3.3 Réalisation des coupes histologiques

Les foie et reins prélevés sont fixés dans 10% formol pendant une semaine, puis. Les étapes suivantes : inclusion, coupe et coloration sont effectuées au niveau du laboratoire d'anatomie pathologique, CHU de Sétif.

Les échantillons sont déshydratés par passage dans trois bains successifs de 30 min. d'éthanol (70-75°, 90-95° et 100°), puis éclaircies dans deux bains de 20 min. de toluène et inclus dans la paraffine (deux bains de 2 heures chacun) (l'opération est automatisée à l'aide d'un automate TISSUE-TEK® II). L'inclusion définitive est ensuite réalisée dans des moules métalliques (Shandon [O] Histocentre). Les blocs de paraffinés obtenus sont ensuite coupés par microtome (LEICA RM 2145). Les coupes de 5 µm d'épaisseur sont étalées sur des lames et séchées pendant une heure à 37°C, réhydratées, colorées à l'hématoxyline-éosine (SHANDON [O]) (Bensalem-Bendjelloul, 1998).

### 2.2.4 Analyses statistiques

Les valeurs sont en général exprimées en moyenne  $\pm$  SEM. Les résultats des différents tests sont analysés par le test *t* de *Student* pour les comparaisons simples, et ANOVA univariée suivie du test de *Dunnnett* pour les comparaisons multiples et la détermination des taux de signification. Les valeurs de  $p \leq 0.05$  sont considérées statistiquement significatives. La comparaison des moyennes et des variances est déterminée grâce au logiciel « SigmaStat 3.5 » version 3, « SigmaPlot 10.0 » et « Graphpad Prism » version 5.0.

## ***3 Résultats***

### 3.1 Evaluation de la technique d'extraction de *Tamus communis* et *Teucrium polium*

L'utilisation de l'extrait brut, soit pour le but de valoriser ce composé largement exploité en médecine populaire. L'extraction de ces deux plantes est réalisée sous pression et à froid. Cette méthode possède des avantages par rapport à l'extraction par les solvants organiques.

Dans ce présent travail, à partir de 870.50 gr des rhizomes de *T. communis* et 800 gr des parties aériennes de *T. polium* extraites et après évaporation sous vide et intensive du méthanol et lyophilisation, une poudre brune foncée de *T. communis* et vert foncée de *T. polium* est récupérée. L'extraction méthanolique a donné un rendement de 6.45 % pour *T. communis* et 8.24 %. Ces extraits bruts peuvent contenir la chlorophylle, les flavonoïdes, les polyphénols, les acides aminés, les terpènes, les tannins et d'autres composés.

Afin d'appliquer l'extrait brut de *T. communis* et *T. polium* pour des essais pharmacologiques et/ou toxicologiques sur les rats femelles traités, la conservation de l'état bioactif des molécules extraites à partir de ces dernières, semble intéressante. La bio-activité de l'extrait est limitée par trois facteurs ; (i) la nature du solvant appliquée, dont il va déterminer le type des molécules extraites, (ii) la période d'extraction dans laquelle le temps de contact des biomolécules avec leur solvant doit être minimisée et (iii) la température d'épuisement du solvant, qui ne doit pas dépasser 40°C. A cet égard, l'épuisement complet du solvant sous vide s'avère nécessaire, la présence même des traces du méthanol dans l'extrait peut entraîner des effets secondaires indésirables, et de ce fait l'effet positif ou curatif de la substance pharmacologique peut être masqué par l'action du solvant (Djeridane *et al.*, 2005 ; Boizot et Charpentier, 2006).

### 3.2 Analyse de l'extrait méthanolique de *T. communis* et *T. polium*

Dans le but de caractériser les extraits préparés à partir de *T. communis* et *T. polium*, un dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes a été effectué. La raison principale pour le choix de ces substances réside dans le fait que la majorité des effets pharmacologiques des plantes leur sont attribués.

Le dosage des polyphénols totaux a été effectué selon la méthode Folin-Ciocalciu. L'acide gallique a été utilisé comme standard et la teneur en polyphénols totaux est exprimée en microgramme d'équivalents d'acide gallique par milligramme d'extrait ( $\mu\text{g}$  EAG/mg d'extrait).

La teneur en flavonoïdes a été déterminée par la méthode de trichlorure d'aluminium (Bahorun *et al.*, 1996) en utilisant comme standard la quercétine et/ou rutine, et est exprimée en microgramme d'équivalents de quercétine et/ou rutine par milligramme d'extrait ( $\mu\text{g}$  EQ/mg d'extrait) (**Tableau 6**).

**Tableau 6 :** Dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes dans l'extrait brut méthanolique de *T. communis* et *T. polium*.

Extraits de plantes	Teneur en polyphénols	Teneur en flavonoïdes	
		Quercétine	Rutine
<i>T. communis</i>	31.77 $\pm$ 4.36	0.11 $\pm$ 0.05	0.33 $\pm$ 0.09
<i>T. polium</i>	18.63 $\pm$ 3.51	9.14 $\pm$ 2.39	26.27 $\pm$ 9.05

Les valeurs représentent la moyenne de 3 mesures  $\pm$  SD.

### 3.3. Effets des extraits méthanoliques de *T. communis* et *T. polium in vivo*

#### 3.3.1 Toxicité aiguë

Les résultats de la DL<sub>50</sub> chez les rats traités oralement par l'extrait brut méthanolique de *T. communis* et *T. polium* ont montré que la DL<sub>50</sub> est supérieure à 12000 mg/kg de poids corporel pour *T. communis* et à 2400 mg/kg de poids corporel pour *T. polium*.

Jusqu'à la dose 12000 mg/kg de traitement aigu à base d'extrait de *Tamus communis*, nous n'avons pas observé de mortalité importante, cependant vu la classification de la toxicité selon Hodge et Sterner (Ulanova, 1975 ; Frank, 1992), la plante est *presque* pas toxique. Par contre pour *Teucrium polium*, on n'a pas pu calculer la DL<sub>50</sub>; elle doit être supérieure à 2400 mg/kg de poids corporel des rats (**Tableau 7**). Les symptômes observés au cours du traitement aigu sont présentés dans le **Tableau 8**.

**Tableau. 7 :** Détermination de la DL<sub>50</sub> de l'extrait brut méthanolique de *T. communis* et *T. polium* selon Karbar et Behrens (Stowtchiva, 1988).

Plantes	Dose (mg/kg)	Nombre de rats (n)	Pourcentage de morts (%)
<i>Tamus communis</i>	0 (NaCl 9‰)	10	0
	1500	10	0
	3000	10	0
	6000	10	10
	12000	10	10
<i>Teucrium polium</i>	0 (NaCl 9‰)	10	0
	300	10	0
	600	10	0
	1200	10	10
	2400	10	20

**Tableau. 8 :** Symptômes observés de toxicité aiguë des extraits de *T. communis* et *T. polium* basés sur l'ordre de gravité.

Plantes	Dose (mg/kg)	Signes et symptômes	Temps
<i>Tamus</i>	0	Normal	-
<i>communis</i>	1500	Les rats sont calmes	30 min.
	3000	Respiration laborieuse, convulsion	1 h
	6000	Etat de somnolence, respiration laborieuse, convulsion.	24 h
	12000	Respiration laborieuse, rythme cardiaque accéléré, convulsion, état de somnolence important, paralysie des pattes.	1 <sup>eres</sup> min.
<i>Teucrium</i>	0	Normal	-
<i>polium</i>	300	Poils piqués, rats stressés	1 <sup>eres</sup> min.
	600	Respiration laborieuse, immobilisation des rats.	1 <sup>eres</sup> min.
	1200	Poils piqués, respiration laborieuse, immobilisation des rats,	6 jours
	2400	Poils piqués, respiration laborieuse, paralysie, mortalité.	30 min.

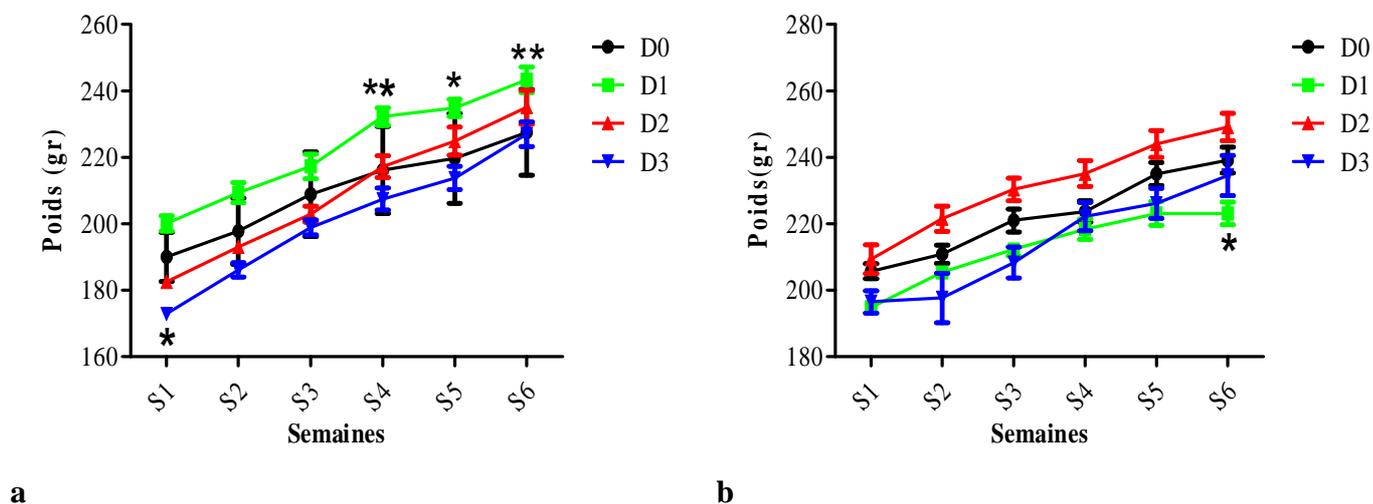
### 3.3.2 Toxicité subaiguë

La carte clinique des rats traités avec les doses est exempte de symptômes graves lors de l'intoxication rencontrée chez l'homme (vomissement, convulsion, paralysie, fréquence respiratoire accélérée) et de l'effet léthal (Roblot *et al.* , 1994) ; néanmoins, une diminution de vivacité et diarrhées des rats traités par rapport aux témoins ont été aperçus.

#### 3.3.2.1 Chronologie de l'évolution pondérale

Le suivi de la variation de la masse corporelle des animaux au cours de l'expérience de toxicité subaiguë a démontré qu'il y a une augmentation modérément significative (7%) au niveau du poids au cours de la 4<sup>ème</sup>, 5<sup>ème</sup> et 6<sup>ème</sup> semaines avec la dose 75 mg/kg et une diminution modérée de 10% au cours de la 1<sup>ère</sup> semaine avec la dose 300 mg/kg des rats

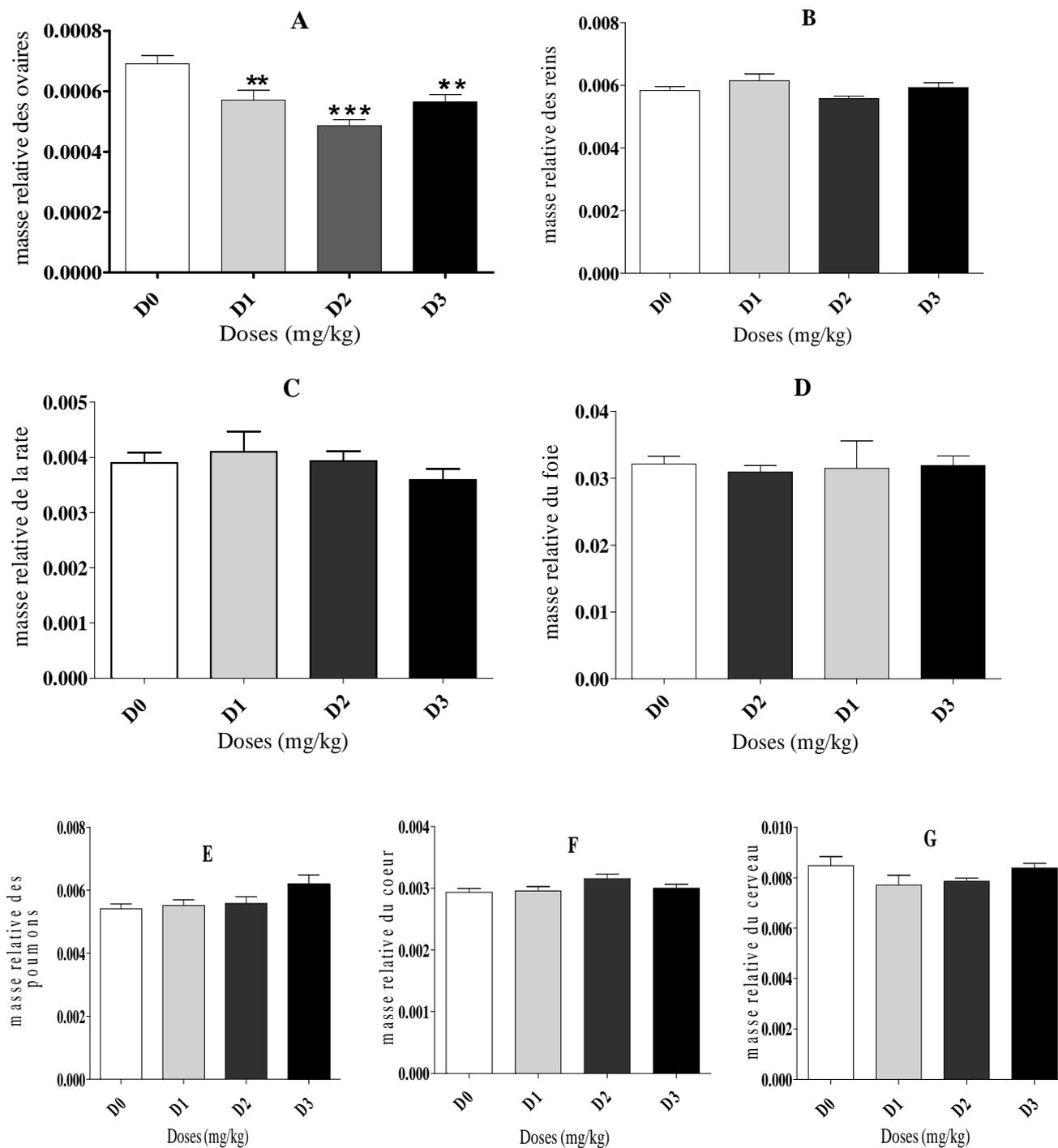
femelles traités par l'extrait méthanolique de *T. communis* (100 mg/ml) par comparaison aux blancs (**Figure a. 17**). Cependant, les rats traités par l'extrait méthanolique de *T. polium* présentent une perte modérément significative (3%) de leurs poids au cours de la 6<sup>ème</sup> semaine avec la dose 75 mg/kg par rapport aux témoins (**Figure b. 17**).



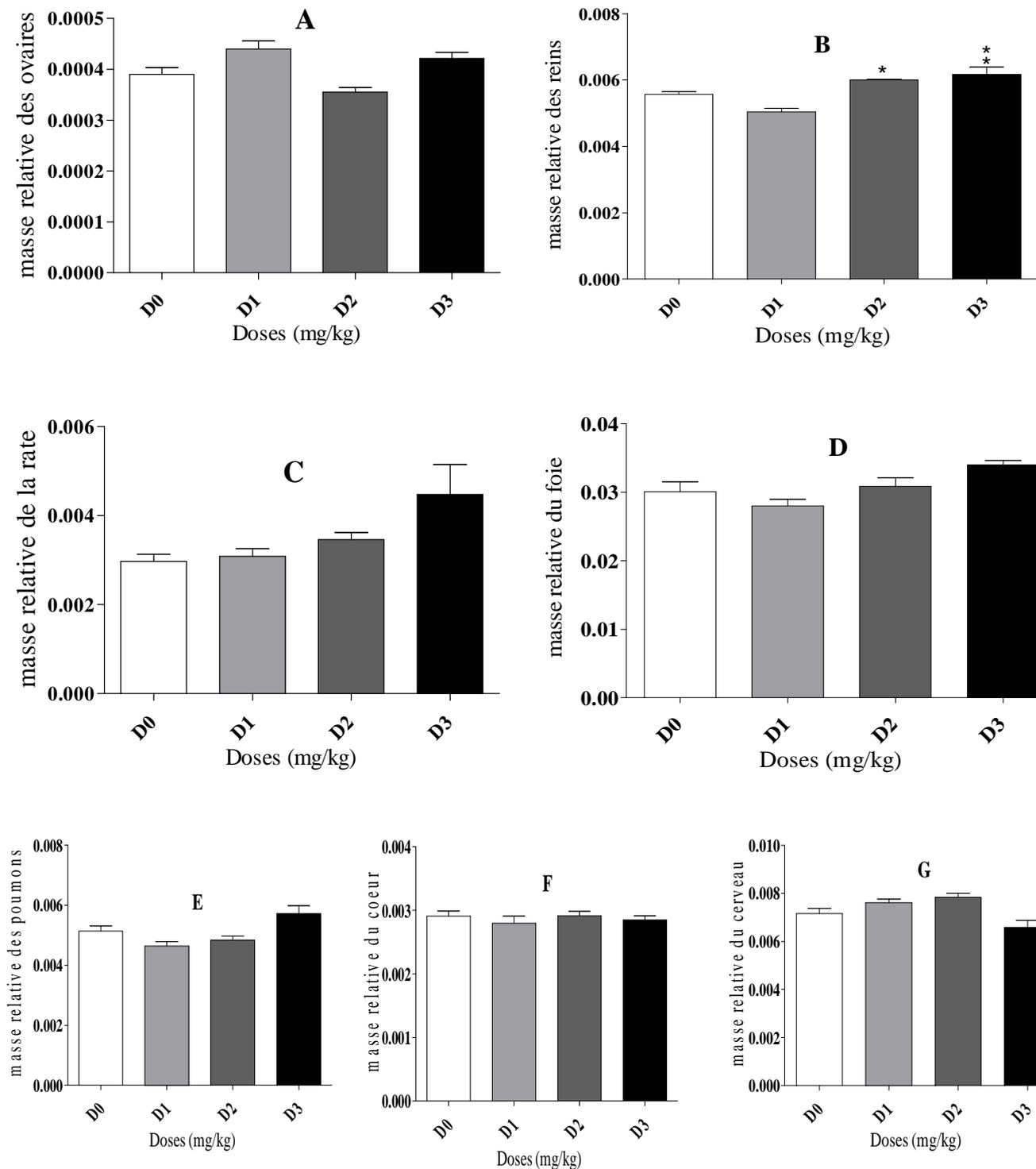
**Figure. 17 :** Changement du poids corporel (poids – poids initial) des rats femelles témoins et traités dans les conditions de toxicité subaiguë par l'extrait brut méthanolique de (a) *T. communis* et (b) *T. polium*. Les valeurs sont la moyenne  $\pm$  SEM. \*  $P \leq 0.05$ , \*\*  $P \leq 0.01$ . Doses : D0, témoin ; D1 (75 mg/kg), D2 (150 mg/kg), D3 (300 mg/kg).

### 3.3.2.2 Masses relatives des organes

Après l'examen macroscopique des différents organes prélevés *in situ*, on a observé que la taille, la forme et le poids sont normaux, néanmoins quelques taches bleuâtres et hémorragiques des poumons de quelques rats ont été observées. Les valeurs de la masse relative des organes (ovaires, reins, rate, foie, poumons, cœur et cerveau) montrent des modifications de certains organes par rapport aux témoins : on a trouvé une diminution hautement significative au niveau de la masse relative des ovaires des rats traités par l'extrait méthanoliques de *Tamus communis* avec les trois doses testées (**Figure 18**). Cependant, pour les animaux traités par l'extrait de *Teucrium polium*, des élévations significatives des valeurs de la masse relative des reins avec les doses 150 et 300 mg/kg sont observées. Pour le reste des organes, les valeurs paraissent normales par rapport aux témoins (**Figure 19**).



**Figure. 18 :** Variations des valeurs de la masse relative des organes pour les différentes doses au cours du traitement subaigu avec l'extrait brut méthanolique de *T. communis*. Les valeurs sont les moyennes  $\pm$  SEM (n = 7-8). Les étoiles représentent la signification selon le test d'ANOVA ; \* ( $P \leq 0.05$ ), \*\* ( $P \leq 0.01$ ), \*\*\* ( $P \leq 0.001$ ). Groupes : A (masse relative des ovaires), B (masse relative des reins), C (relative de la rate) et D (masse relative du foie), E (masse relative des poumons), F (masse relative du coeur) et G (masse relative du cerveau). Les doses D<sub>0</sub>: témoin ; D<sub>1</sub>, D<sub>2</sub>, D<sub>3</sub> les groupes traités avec les doses : 75mg/kg, 150 mg/kg et 300 mg/kg d'extrait (100 mg/ml).



**Figure. 19 :** Variations des valeurs de la masse relative des organes pour les différentes doses au cours du traitement subaigu avec l'extrait brut méthanolique de *T. polium*. Les valeurs sont les moyennes  $\pm$  SEM (n = 7-8). Les étoiles représentent la signification selon le test d'ANOVA ; \* ( $P \leq 0.05$ ), \*\* ( $P \leq 0.01$ ). Groupes : A (masse relative des ovaires), B (masse relative des reins), C (relative de la rate) et D (masse relative du foie), E (masse relative des poumons), F:(masse relative du coeur) et G (masse relative du cerveau). Les doses D<sub>0</sub>: témoin ; D<sub>1</sub>, D<sub>2</sub>, D<sub>3</sub> les groupes traités avec les doses : 75mg/kg ,150 mg/kg et 300 mg/kg d'extrait (100 mg/ml).

### 3.3.2.3 Effets sur les paramètres biochimiques

Les études sériques effectuées sur rats traités par l'extrait méthanolique de *T. communis* montrent une diminution significative des taux des paramètres suivants : Urée avec les doses **D<sub>1</sub>**, **D<sub>2</sub>** et **D<sub>3</sub>**, Na avec les doses **D<sub>2</sub>**, **D<sub>3</sub>** et AU avec les doses **D<sub>1</sub>** et **D<sub>2</sub>**, et TGP avec la 2<sup>ème</sup> dose par rapport aux groupes témoins **D<sub>0</sub>** (**Tableau 9**). Toutefois, les résultats des rats traités par l'extrait méthanolique de *T. polium* présentent une élévation significative des taux des paramètres suivants : Glu, Créat et K avec la 1<sup>ère</sup> dose ; Urée avec la 1<sup>ère</sup> et la 2<sup>ème</sup> dose ; Na et AU avec la 1<sup>ère</sup> et la 3<sup>ème</sup> dose ; TGO avec les doses **D<sub>1</sub>**, **D<sub>2</sub>** et **D<sub>3</sub>** et une diminution significative du taux de TGP avec la 1<sup>ère</sup> dose et du Chol T avec la 3<sup>ème</sup> par rapport aux témoins **D<sub>0</sub>** (**Tableau 10**).

**Tableau. 9 :** Analyses biochimiques de traitement subaigu des rats femelles par l'extrait brut méthanolique de *T. communis* avec les doses D<sub>0</sub> (0 mg/kg), D<sub>1</sub> (75 mg/kg), D<sub>2</sub> (150 mg/kg), D<sub>3</sub> (300 mg/kg). (n = 8). Les données sont exprimées par moyenne ± S.E.M. \* (P≤0.05), \*\* (P≤0.01).

Tests biochimiques	D <sub>0</sub>	D <sub>1</sub>	D <sub>2</sub>	D <sub>3</sub>
Glu (gr/ L)	1.40 ± 0.08	1.34 ± 0.07	1.23 ± 0.07	1.37 ± 0.13
Urée (gr/ L)	0.70 ± 0.01	0.57 ± 0.01*	0.51 ± 0.01**	0.63 ± 0.02*
Créat (mg/ L)	8 ± 0.62	8.93 ± 0.30	6.98 ± 0.25	8.87 ± 0.14
Na (mEq/L)	171.14 ± 3.67	167.83 ± 4.42	145 ± 1.24**	155.33 ± 5.04*
K (mEq/L)	3.40 ± 0.24	4.09 ± 0.26	2.88 ± 0.07	3.78 ± 0.31
AU (mg/ L)	24 ± 2.35	15 ± 1.10**	18.20 ± 1.32*	21.38 ± 1.93
Chol T (gr/ L)	0.26 ± 0.02	0.31 ± 0.03	0.26 ± 0.01	0.30 ± 0.02
TG T (gr/ L)	0.79 ± 0.06	0.92 ± 0.08	0.62 ± 0.08	0.95 ± 0.10
TGO (UI/L)	105.50 ± 7.30	105.29 ± 12.53	97.60 ± 6.84	108.17 ± 12.13
TGP (UI/L)	54.25 ± 2.59	48.57 ± 2.45	28.20 ± 1.27**	58.50 ± 3.28
PAL (UI/L)	94.17 ± 5.64	107.17 ± 12.43	120.43 ± 10.44	116.89 ± 10.94

**Tableau. 10 :** Analyses biochimiques de traitement subaigu des rats femelles par l'extrait méthanolique de *T. polium* avec les doses D<sub>0</sub> (0 mg/kg), D<sub>1</sub> (75 mg/kg), D<sub>2</sub> (150 mg/kg), D<sub>3</sub> (300 mg/kg). (n = 7). Les données sont exprimées par moyenne ± S.E.M. \* (P≤0.05), \*\* (P≤0.01).

Tests biochimiques	D <sub>0</sub>	D <sub>1</sub>	D <sub>2</sub>	D <sub>3</sub>
Glu (gr/ L)	1.47 ± 0.11	1.07 ± 0.11*	1.30 ± 0.06	1.24 ± 0.05
Urée (gr/ L)	0.51 ± 0.03	0.84 ± 0.05**	0.65 ± 0.03*	0.61 ± 0.06
Créat (mg/ L)	6.58 ± 0.37	9.15 ± 0.27**	6.79 ± 0.36	6 ± 0.45
Na (mEq/L)	134.57 ± 2.10	169.07 ± 4.74**	130.13 ± 1.32	165.55 ± 1.81**
K (mEq/L)	2.27 ± 0.37	4.41 ± 0.35**	2.10 ± 0.29	<b>ID</b>
AU (mg/ L)	8 ± 1.21	27.14 ± 1.97**	7.13 ± 1.29	16.53 ± 2.90*
Chol T (gr/ L)	0.34 ± 0.08	0.33 ± 0.026	0.35 ± 0.03	0.57 ± 0.041**
TG T (gr/ L)	0.47 ± 0.084	0.39 ± 0.02	0.49 ± 0.03	0.28 ± 0.04
TGO (UI/L)	43.86 ± 3.77	96.67 ± 7.84**	58.17 ± 4.39*	85.00 ± 16.16**
TGP (UI/L)	96.67 ± 8.66	35.57 ± 3.09**	89.43 ± 5.22	56.00 ± 16.76
PAL (UI/L)	93.80 ± 7.07	74.33 ± 2.67	97.83 ± 3.31	86.30 ± 41.98

**ID** : indéterminé

### 3.3.2.4 Effets sur les paramètres hématologiques

Les résultats effectués sur le sang total ont montré pour *T. communis*, une élévation significative dans les résultats des paramètres suivants : RBC avec les trois doses, MCV et MCH avec la 2<sup>ème</sup> dose , RDW avec la 1<sup>ère</sup> et 3<sup>ème</sup> dose et HCT, PLT, HGB avec la 2<sup>ème</sup> et 3<sup>ème</sup> dose par rapport aux témoins **D<sub>0</sub>** (**Tableau 11**). Cependant, les résultats de *T. polium* présentent une augmentation significative entre les résultats des paramètres suivants : RBC et MPV avec les trois doses, RDW, HCT, PLT et HGB avec la 1<sup>ère</sup> et 3<sup>ème</sup> dose par rapport aux témoins **D<sub>0</sub>** (**Tableau 12**).

**Tableau. 11 :** Analyses hématologiques des rats femelles après traitement subaigu avec les doses D<sub>0</sub> (0 mg/kg), D<sub>1</sub> (75 mg/kg), D<sub>2</sub> (150 mg/kg), D<sub>3</sub> (300 mg/kg) de *T. communis* (n = 8). Les données sont exprimées par moyenne ± S.E.M. \* (P≤0.05), \*\* (P≤0.01)

Tests hématologiques	D <sub>0</sub>	D <sub>1</sub>	D <sub>2</sub>	D <sub>3</sub>
RBC (10 <sup>6</sup> /mm <sup>3</sup> )	6.34 ± 0.25	7 ± 0.14*	7.54 ± 0.12**	7.40 ± 0.17**
MCV (µm <sup>3</sup> )	49.72 ± 0.52	49.89 ± 0.81	53.49 ± 0.50**	49.63 ± 0.61
RDW (%)	10.36 ± 0.25	11.76 ± 0.62*	10.27 ± 0.15	11.07 ± 0.19*
HCT (%)	32.79 ± 0.99	35.11 ± 0.75	40.80 ± 0.35**	38.31 ± 0.80**
PLT (10 <sup>3</sup> /mm)	346.50 ± 27.35	428.88 ± 42.32	550.33 ± 21.08**	482.57±19.36**
MPV (µm <sup>3</sup> )	6.71 ± 0.095	6.69 ± 0.07	6.91 ± 0.05	6.68 ± 0.08
WBC (10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	6.87± 0.46	7.41 ± 1.16	7.58 ± 0.44	6.57 ± 0.68
HGB (gr/dl)	10.53 ± 0.57	11.52 ± 0.63	14.27 ± 0.17**	13.26 ± 0.32**
MCH (pg)	17.15 ± 0.29	17.38 ± 0.23	18.72 ± 0.17**	17.56 ± 0.28
MCHC (g/dl)	34.49 ± 0.36	34.86 ± 0.37	34.90 ± 0.17	35.43 ± 0.45

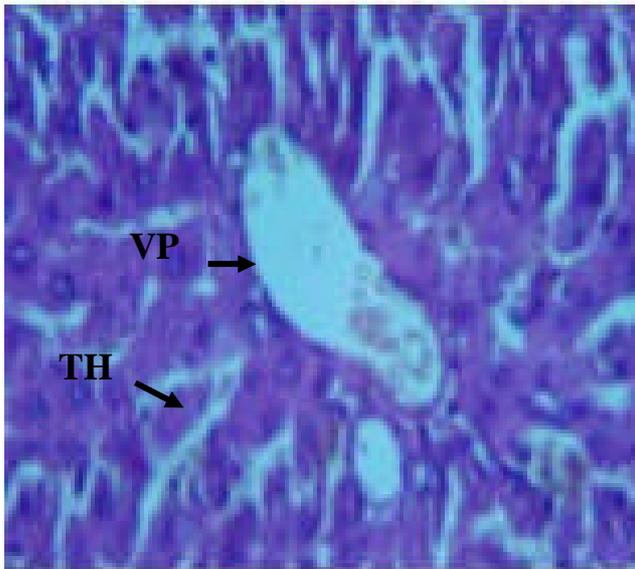
**Tableau. 12 :** Analyses hématologiques des rats femelles après traitement subaigu avec les doses D<sub>0</sub> (0 mg/kg), D<sub>1</sub> (75 mg/kg), D<sub>2</sub> (150 mg/kg), D<sub>3</sub> (300 mg/kg) de *T. polium* (n = 7). Les données sont exprimées par moyenne ± S.E.M. \* (P≤0.05), \*\* (P≤0.01)

Tests hématologiques	D <sub>0</sub>	D <sub>1</sub>	D <sub>2</sub>	D <sub>3</sub>
RBC (10 <sup>6</sup> /mm <sup>3</sup> )	5.41 ± 0.29	7.65 ± 1.03**	6.36 ± 0.16*	7.41 ± 0.32**
MCV (µm <sup>3</sup> )	50.84 ± 0.67	50.40 ± 0.50	49.29 ± 0.47	49.08 ± 1.11
RDW (%)	10.21 ± 0.39	13.69 ± 0.15**	10.76 ± 0.24	14.58 ± 0.52**
HCT (%)	29 ± 1.83	39.06 ± 0.32**	30.96 ± 0.71	36.52 ± 2.17*
PLT (10 <sup>3</sup> /mm)	303 ± 27.76	548 ± 19.78**	352.29 ± 20.93	638.60± 34.42**
MPV (µm <sup>3</sup> )	6.46 ± 0.07	7.04 ± 0.05**	6.71 ± 0.09*	7.12 ± 0.11**
WBC(10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	7.46 ± 0.82	5.80 ± 0.53	7.76 ± 0.55	6.48 ± 0.43
HGB (gr/dl)	9.90 ± 0.59	14.23 ± 0.08**	10.93 ± 0.25	13.62 ± 0.61**
MCH (pg)	17.81 ± 0.23	18.35 ± 0.13	17.42 ± 0.26	17.63 ± 0.37
MCHC (g/dl)	35.35 ± 0.41	36.32 ± 0.19	35.53 ± 0.23	35.93 ± 0.41

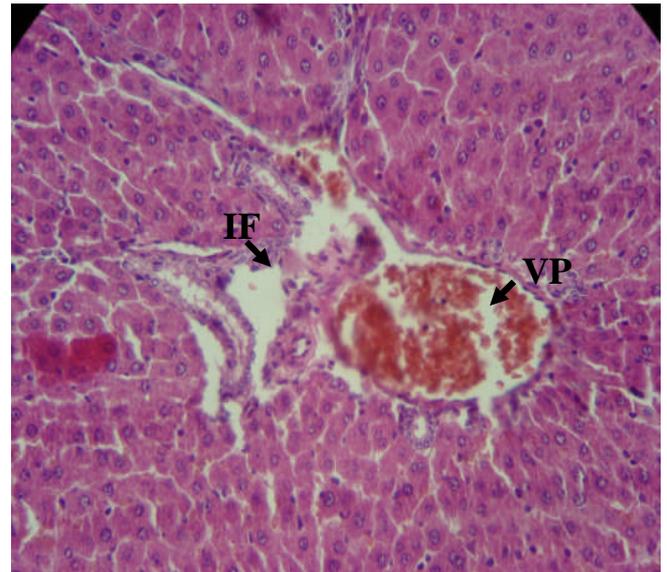
### 3.3.2.5 Histopathologie :

L'observation des coupes histologiques du foie et du rein des rats traités par rapport aux témoins a permis de constater la conservation de l'architecture cellulaire (lobulaire et tubulaire) de ces deux organes, cependant quelques particularités ont été envisagées. Une nécrose centro-lobulaire et un infiltrat inflammatoire autour de la veine et l'espace porte enregistrés sur quelques tissus hépatiques chez les rats traités par l'extrait méthanolique de *T. communis* avec la dose 300 mg/kg (**Figure 20**). De manière générale, les coupes histologiques du rein n'ont pas montré de modifications de la structure par rapport aux coupes témoins.

Cependant, l'examen du rein a révélé la présence de vacuoles intra-cytoplasmiques (vacuolisation), précisément au niveau de la région corticale lorsqu'on a exploité l'effet de la dose 300 mg/kg d'extrait de *T. polium* par rapport aux témoins (**Figure 21**). De plus, les coupes du foie des rats traités par l'extrait méthanolique de *T. polium* ont marqué de particularités importantes avec les trois doses. Une congestion vasculaire autour des vaisseaux, une nécrose lobulaire, une petite stéatose et un infiltrat inflammatoire ont été observés sur les coupes des rats traités avec la dose 75 mg/kg. Nécrose périlobulaire et ainsi un infiltrat inflammatoire autour de la veine porte des coupes des rats traités avec la dose 150 mg/kg. Infiltrat inflammatoire de l'espace porte, prolifération ductulaire des canaux biliaires et fibrose en pond (entre deux espaces portes) ont été reportés lors de l'examen microscopique des coupes histologiques des rats traités avec la dose 300 mg/kg (**Figure 22**).

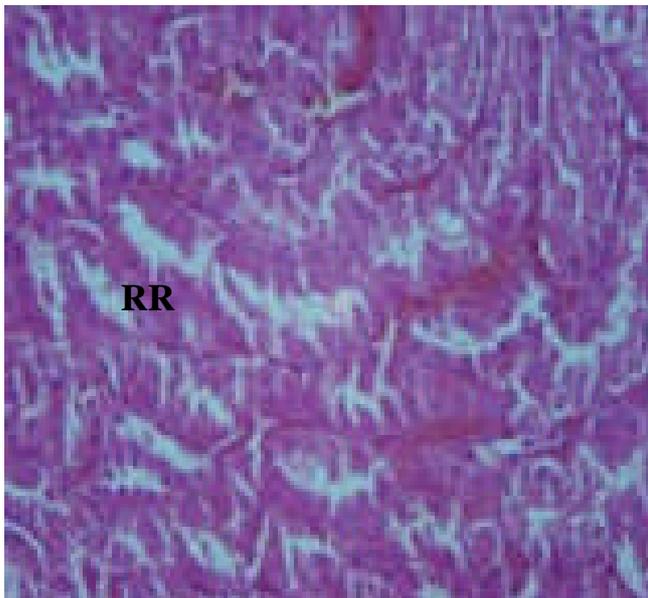


Témoins D<sub>0</sub>

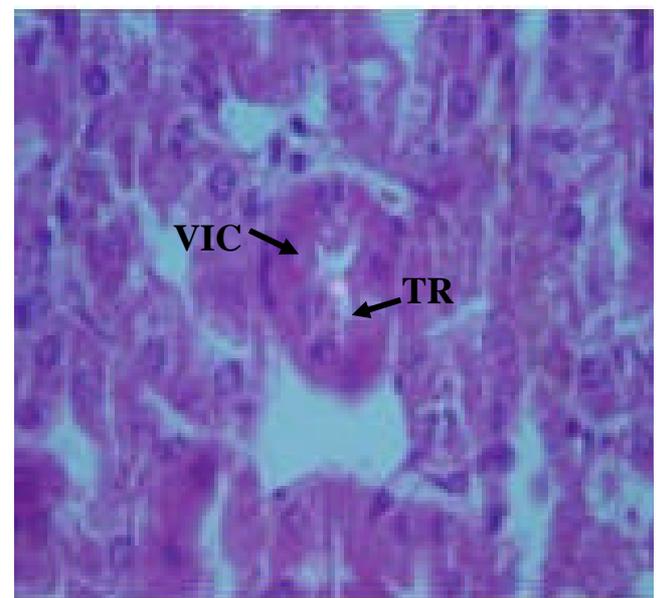


Traités D<sub>3</sub>

**Figure. 20 :** Coupes histologiques des tissus hépatiques des rats traités avec les doses D<sub>0</sub> (0 mg/kg) et D<sub>3</sub> (300 mg/kg) par l'extrait méthanolique de *Tamus communis*. Coloration éosine hématoxyline/Grossissement 600X. **TH** : travées d'hépatocytes, **IF** : Infiltrat inflammatoire, **VP** : veine porte

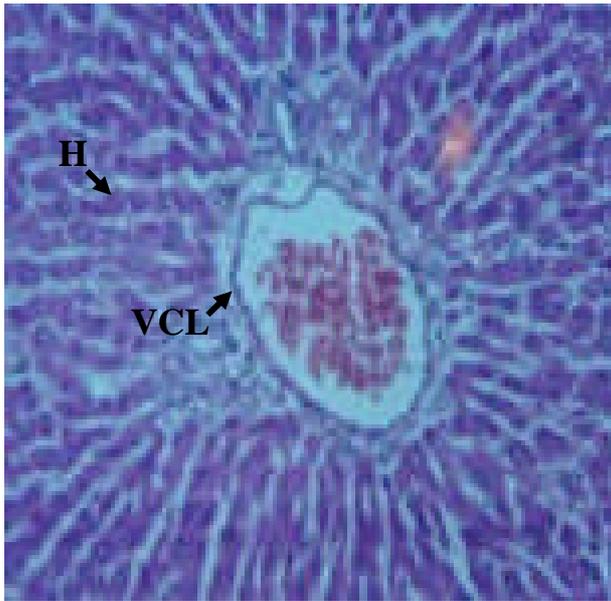


Témoins D<sub>0</sub>

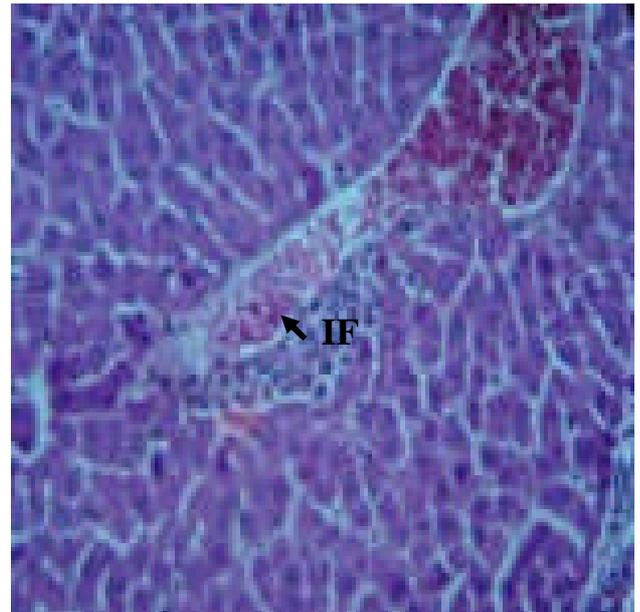


Traités D<sub>3</sub>

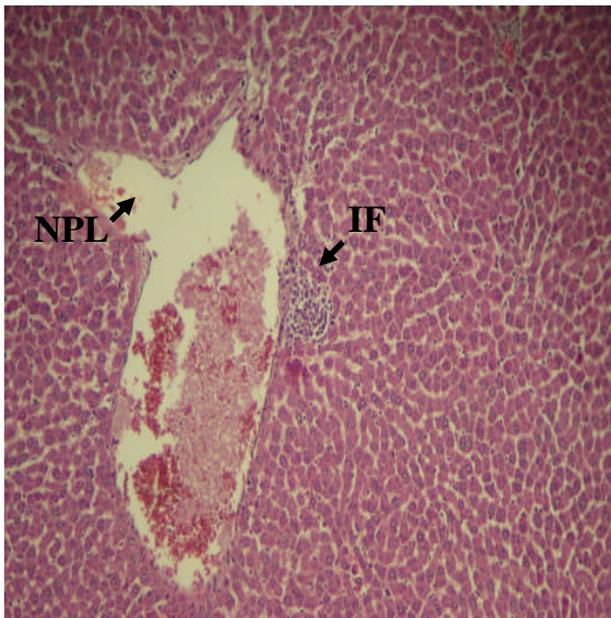
**Figure. 21 :** Coupes histologiques du tissu rénal des rats traités avec les doses D<sub>0</sub> (0 mg/kg) et D<sub>3</sub> (300 mg/kg) par l'extrait méthanolique de *Teucrium polium*. Coloration éosine hématoxyline/Grossissement 600X. **RR** : région corticale, **TR** : tube rénal, **VIC** : vacuoles intracytoplasmiques.



Témoins D<sub>0</sub>



Traités D<sub>1</sub>



Traités D<sub>2</sub>



Traités D<sub>3</sub>

**Figure. 22 :** Coupes histologiques des tissus hépatiques des rats traités avec les doses D<sub>0</sub> (0 mg/kg), D<sub>1</sub> (75 mg/kg), D<sub>2</sub> (150 mg/kg), D<sub>3</sub> (300 mg/kg) par l'extrait méthanolique de *Teucrium polium*. Coloration éosine hématoxyline/Grossissement 600X. **H** : hépatocyte, **VCL** : veine centrolobulaire, **IF** : Infiltrat inflammatoire, **NPL** : Nécrose péri-lobulaire, **EP** : espace porte, **PD** : Prolifération ductulaire, **FEP** : Fibrose en pont. RR : région corticale, TR : Tube rénal, VIC : Vacuoles intra-cytoplasmiques.

## *4 Discussion*

## 4.1 Données phytochimiques

L'extraction successive des plantes par le méthanol a donné un rendement égal à 6.45 % pour *T. communis* et 8.24 % pour *T. polium*. Ces taux sont faibles à ceux qui ont été rapportés (**Tableau 13**). Cette différence semble être liée aux caractères chimiotypiques ; de plus, aux propriétés génétiques des plantes, aux conditions et à la durée de stockage et de la récolte.

**Tableau. 13 :** Etude comparative des rendements des différentes techniques d'extraction de *T. communis* et *T. polium*. (1) : Mascolo *et al.* (1986), (2) : Boumerfeg *et al.* (2009), (3) : Ljubuncic *et al.* (2006), (4) : Hasani *et al.* (2007), (5) : Sharififar *et al.* (2008).

Type d'extraction	Rendement (%)	
	<i>T. communis</i>	<i>T. polium</i>
Méthanol	6.45	8.24
Ethanol	2.8 (1)	14.9 (3)
Méthanol	8.5 (2)	14 (4)
H <sub>2</sub> O	-	11.5 (5)

En se basant sur les résultats de l'analyse phytochimique des extraits méthanoliques, nous pouvons déduire que ces plantes sont riches en composés phénoliques par rapport aux flavonoïdes (**Tableau 14**). Cependant, le produit d'extraction peut contenir des substances non phénoliques telles que les sucres, les protéines et les pigments qui risquent d'interférer avec les composés polyphénoliques et flavonoïdes lors du dosage (Djeridane *et al.*, 2005).

**Tableau. 14 :** Quantification comparative des taux de polyphénols et flavonoïdes des extraits bruts méthanoliques de *T. communis* et *T. polium*.

Extraits de	Références	Polyphénols	Flavonoïdes
<i>T. communis</i>	Présente étude	31.77 ± 4.36	0.11 ± 0.05
	Boumerfeg <i>et al.</i> (2009)	26.55 ± 3.93	10.15 ± 0.1
<i>T. polium</i>	Présente étude	18.63 ± 3.51	9.14 ± 2.39
	Djeridane <i>et al.</i> (2005)	4.92 ± 0.21	4.63 ± 0.10

La méthode de Folin-Ciocalteu a été choisie pour doser les polyphénols pour les raisons suivantes ; (i) c'est une méthode qui satisfait aux critères de faisabilité et de reproductibilité, (ii) la disponibilité du réactif de Folin et la méthode est bien standardisée, (iii) la grande longueur d'onde (765 nm) d'absorption du chromophore permet de minimiser les interférences avec la matrice d'échantillon qui est souvent coloré, (iv) c'est un test largement pratiqué dans les laboratoires de recherche d'antioxydants alimentaires à travers le monde (Huang *et al.*, 2005). Si le dosage de Folin-Ciocalteu est simple à mettre en œuvre et très sensible, il n'est cependant pas spécifique des polyphénols car il réagit avec les acides aminés Tyrosine et Tryptophane des protéines. De telles interférences peuvent être négligées car ces acides aminés aromatiques sont en proportions trop faibles par rapport aux composés phénoliques non protéiques dans les extraits (Boizot et Charpentier, 2006).

Les teneurs élevées en composés phénoliques par comparaison aux flavonoïdes sont logiques étant donné que les flavonoïdes représentent les composés majoritaires des polyphénols. Ceci peut être aussi expliqué par une augmentation du métabolisme phénolique de ces deux plantes ; en plus, l'existence d'une liaison avec les conditions de culture et climatiques dures telles que les températures élevées, la durée d'exposition solaire, la nature du sol, la saison de croissance (Djeridane *et al.*, 2005 ; Boizot et Charpentier, 2006).

## **4.2 Effets des extraits méthanoliques de *T. communis* et *T. polium* *in vivo***

### **4.2.1 Toxicité aiguë**

La carte clinique des rats femelles traités par les extraits méthanoliques de *T. communis* et *T. polium* dans les conditions de toxicité aiguë, s'est caractérisée par une accélération de rythme cardiaque due probablement à un blocage de récepteurs muscariniques M2 conduisant

à une suppression du tonus vagal, ces symptômes sont similaires à ceux observés lors d'intoxication par *Datura stramonium* (Kenneth, 2001), une détresse respiratoire, paralysie des pattes, des convulsions dues probablement à l'atteinte de système nerveux central par blocage de la production de l'acétylcholine dans les synapses du système nerveux central (Gouille *et al.*, 2004). Les animaux meurent généralement par arrêt respiratoire associé à des convulsions, alors que la majorité des animaux survivants recouvrent une apparence normale jusqu'aux 14<sup>ème</sup> jours.

Les essais de la toxicité aiguë effectués sur les rats traités par l'extrait méthanolique des plantes selon Karbar et Behrens (Stowtchiva, 1988) ont montré que la DL<sub>50</sub> est supérieure à 12000 mg/kg et 2400 mg/kg de poids corporel pour des rats traités par *T. communis* et *T. polium*, respectivement. Toutefois vu l'échelle de classification de toxicité selon Hodge et Sterner (Ulanova, 1975 ; Frank, 1992), *T. communis* est presque pas toxique et son extrait présente une bonne marge de sûreté. D'autre part, Capasso *et al.* (1983) ont déterminé la DL<sub>50</sub> chez les rats traités en utilisant les doses 100, 200, 400, 600, 800 et 1200 mg/kg *per os* ; elle a été estimée à 800 mg/kg à partir des mortalités après une semaine de traitement. Cette valeur est inférieure à celle trouvée dans la présente étude, cependant il faut noter que pour ces auteurs, la technique de détermination de DL<sub>50</sub> n'a pas été mentionnée et le sexe des rats choisi (mâle), en plus de la variabilité génétique et du chimiotype des rhizomes (Italie et Algérie).

On n'a pas pu observer pour les animaux traités par l'extrait méthanolique de *T. polium* de signes évidents de toxicité aiguë, ceci suggère que la DL<sub>50</sub> est supérieure à 2400 mg/kg de poids corporel des rats. Les résultats découverts vont en concordance avec l'étude d'Autore *et al.* (1984). Rasekh *et al.* (2005) ont utilisé une gamme similaire à la nôtre (0.5, 1, 2, 4 et 8

g/kg) d'extrait aqueux de *T. polium* pendant 14 jours et Hasani *et al.* (2007) démontent que l'administration de la plante est influencée par la nature du sexe : des rats mâles et femelles reçoivent oralement les doses 10, 100, 1000 et 2000 mg/kg d'extrait éthanolique de *T. polium*. Aucune létalité n'est signalée. Khleifat et ces collaborateurs (2001) ont déterminé une DL<sub>50</sub> de 262.0 mg/kg chez les rats traités par voie *intra péritonéale* par l'extrait éthanolique de *T. polium*. Cette valeur est corrélée à la voie d'administration adoptée qui cible directement le foie et au sexe d'animal (Lüllmann *et al.*, 1998 ; Sharp et La Regina ; 1998).

#### 4.2.2 Toxicité subaiguë

Les rats traités dans les conditions de toxicité subaiguë par l'extrait méthanolique de *T. communis* et *T. polium* n'ont montré de symptômes graves observés lors de l'intoxication immédiate (vomissements, détresse respiratoire, accélération du rythme cardiaque, convulsion et paralysie) et de l'effet léthal (Capasso *et al.*, 1982 ; Rasekh *et al.*, 2005). Néanmoins, une diminution de vivacité et diarrhées de quelques rats traités par rapport aux témoins ont été aperçus dès les premiers jours du traitement, ceci peut être à due aux conditions de manipulation qui soumettent les rats en état de stress, par conséquent ils changent leurs comportements physiologiques et métaboliques (agitation et/ou somnolence, consommation d'eau et d'aliments). Néanmoins après une période de stabulation, ils recommencent leurs cycles de vie habituels (Sharp et La Regina ; 1998 ; Muibat *et al.*, 2007).

Le suivi de la variation du poids total des animaux au cours du traitement subaigu a montré pour les rats traités par l'extrait méthanolique de *T. communis* (100 gr de poids total/ml NaCl 9‰): une élévation modérément significative (7%) du poids au cours de la 4,5 et 6<sup>ème</sup> semaine avec la dose 75 mg/kg; une diminution significative (10%) du poids enregistrée au cours de la 1<sup>ère</sup> semaine avec la dose 300 mg/kg par comparaison aux témoins.

Cette épreuve peut être due à la tolérance du traitement oral par cet extrait (adaptation des animaux) au cours des six semaines avec la dose 75 mg/kg ; tandis que la diminution légère du poids des rats du 3<sup>ème</sup> groupe s'est probablement produite suite aux possibilités d'interactions dose/absorption (Lüllmann *et al.*, 1998 ; Sharp et La Regina ; 1998). Dès la 2<sup>ème</sup> semaine, les rats restituent leur développement corporel courant (adaptation aux conditions de traitement). De ces arguments, on conclue que cet extrait présente une bonne marge de sécurité après administration subaiguë jusqu'à la dose 300 mg/kg.

Cependant, les rats traités par l'extrait méthanolique de *T. polium* présentent une diminution modérément significative (3%) de leurs poids total au cours de la 6<sup>ème</sup> semaine avec la dose 75 mg/kg. En effet, la perte du poids est corrélée à l'état physiologique de l'animal. Cette réduction du poids peut être expliquée par une réduction de la consommation des aliments, mais aussi à une diminution de la quantité de nourriture absorbée. Ce résultat concorde avec ceux édités par Rasekh *et al.* (2005) où les femelles montrent une diminution significative ( $p < 0.05$ ) du poids total avec la dose 100 mg/kg d'extrait aqueux de *T. polium* pour les 21<sup>ème</sup> et 44<sup>ème</sup> jours de l'étude. Les autres groupes montrent une évolution normale de leurs poids comme le montre par rapport aux témoins durant toute la durée de l'expérimentation comme le démontre Shahraki et autres (2005).

Après l'examen macroscopique des différents organes prélevés, les valeurs de la masse relative de certains organes (ovaires, reins et foie) rapportent des modifications par rapport aux témoins : une réduction hautement significative de la masse relative des ovaires des rats traités par l'extrait méthanolique de *T. communis* avec les trois doses. En fait, le cycle œstral de la ratte est sensible, il prend 4 à 5 jours accompagné par les caractéristiques cytologiques suivantes : Pro-œstrus et œstrus prennent 12 heures, Met-œstrus dure 21 heures et Di-œstrus

tient 57 heures (Sharp et La Regina ; 1998). Des produits chimiques d'estrogène sont connus pour causer l'infertilité en réduisant la période de l'ovulation, perturbation du cycle œstral, réduction du taux des hormones sexuelles telles que la progestérone et les hormones de développement de l'endomètre. Le traitement des rats par l'extrait méthanolique de *T. communis* a diminué le poids ovarien, ceci pourrait être attribué à la présence de principes phyto-estrogéniques, qui se lient aux mêmes récepteurs intracellulaires que l'œstradiol (mais à une affinité beaucoup inférieure) et engendrent des réponses physiologiques semblables à l'œstradiol comprenant l'hypertrophie des glandes accessoires chez le mâle, des effets anti-gonadotropiques des glandes hypothalamique-pituitaires et perturbation des niveaux des gonades des deux sexes chez les mammifères (Maruo *et al.*, 2003). D'autres parts, les phyto-estrogènes peuvent réduire les niveaux des hormones pituitaires par l'inhibition de dégagement rétro négatif (mécanisme feed back) des gonadotrophines pituitaires (Shibeshi *et al.*, 2006). Une autre possibilité explique que les hormones sexuelles (qui sont influencées à leurs tours par les niveaux du cholestérol total), peuvent agir sur le poids des organes reproducteurs (ovaires) extrêmement sensibles aux variations de ces hormones (Nakamura *et al.*, 2001).

La diminution significative des taux des valeurs du bilan rénal : Urée, Na et AU et du TGP rapportée avec les doses 75, 150 et 300 mg/kg, des rats traités par l'extrait méthanolique de *T. communis*, respectivement, peut être interprétée par l'administration des extraits de rhizomes aux rats femelles ne causent pas des changements de ces paramètres jusqu' à la dose 300 mg/kg. Par contre, l'extrait de *T. polium* montre une diminution significative du taux du glucose avec la dose 75 mg/kg, ceci concorde avec les travaux de Gharaibeh *et al.* (1988). Les données indiquent que l'extrait aqueux de *T. polium* est capable de réduire le taux du glucose sérique probablement par stimulation dose-dépendante du métabolisme du glucose

périphérique et de la sécrétion d'insuline par le pancréas chez les rats diabétiques (Esmaeili ; Yazdanparast, 2004 ; Ghoraishian, 2006 ; Bhonde *et al.*, 2007). Le traitement des animaux rendus diabétiques par STZ avec l'extrait aqueux de *T. polium* a montré une diminution significative ( $p < 0.001$ ) du taux du glucose après 24h, par contre les animaux normoglycémiques qui montrent une diminution après 8 jours. Plusieurs flavonoïdes tels que quercétine et différents terpénoïdes découverts dans *T. polium*, présentent des effets hypoglycémisants seulement chez les rats diabétiques. Il est, donc, possible que ces effets des parties aériennes de *T. polium* peuvent être dus aux flavonoïdes et/ou terpénoïdes. Zal et ses collaborateurs (2001) attribuent les effets hypoglycémisants des extraits aqueux de *T. polium* (région de Kerman, Iran) à leur composition en ions : potassium, Zinc, Cadmium et Chrome (qui ont été rapportés pour avoir quelques propriétés hypoglycémisantes). Ceci suggère que la propriété hypoglycémique de cette plante dépend du type de sol et de la région géographique de la récolte. La richesse de *T. polium* en flavonoïdes et composés polyphénoliques tels que cirsimaritin, apigenin-7-glucoside, vicenin et luteolin-7-glucoside doués d'activités anti-oxydantes notamment avec les doses 50 et 100 mg/kg (Ardestani et Yazdanparast, 2007 ; Sharififar *et al.*, 2008), explique donc l'utilisation de *T. polium* en médecine folklorique dans le traitement du diabète pour lutter contre le stress oxydant en diabéto-pathogénie (Hasani *et al.*, 2005).

Les paramètres du bilan rénal ont montré des élévations très significatives de l'urée avec l'extrait de *T. polium* aux doses de 75 et 150 mg/kg, Créat et K avec la dose 75 mg/kg, Na et AU avec les doses de 75 et 300 mg/kg. Cette augmentation d'urée pourrait être expliquée par une augmentation dégradation des composés protéiques, mais aussi par une atteinte de la fonction rénale (Lüllmann *et al.*, 1998). En effet, le rein a été nettement endommagé et son

aspect histologique a indiqué une remarquable vacuolisation cytoplasmique des cellules tubulaires au siège corticale et qui explique la masse relative augmentée du rein (principalement avec les doses 150 et 300 mg/kg), tandis que les autres valeurs des différents organes étudiés sont normales. Ces résultats concordent avec les travaux de Rasekh *et al.* (2005), Khleifat et ces collaborateurs (2001) et Iriadam *et al.* (2006) qui ont montré une augmentation significative du taux d'urée et créatinine chez les lapins rendus diabétiques après traitement par l'extrait aqueux de *T. polium* (82 mg/kg *per os*), confirmé par une apoptose dans quelques sections rénales.

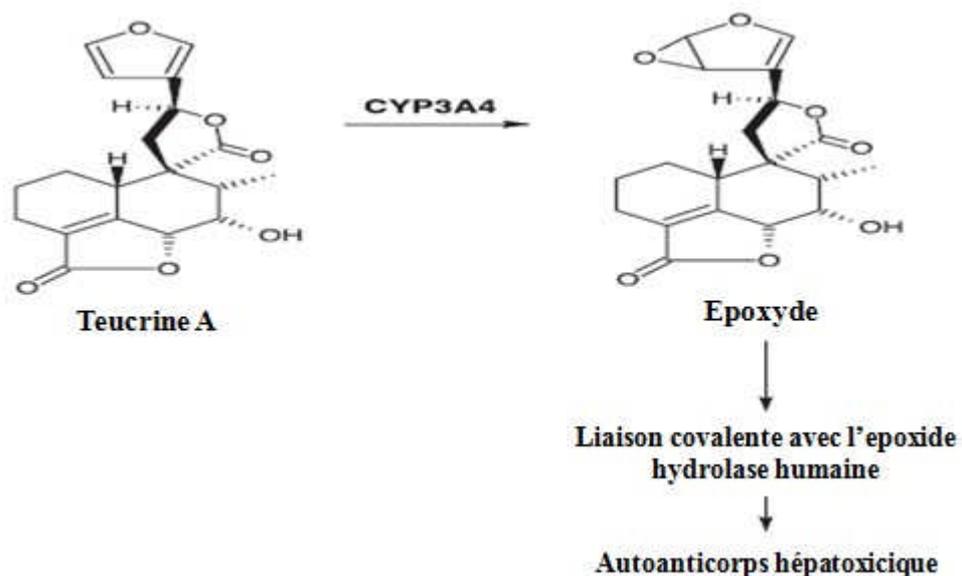
Le taux du Chol T a été sensiblement augmenté après traitement subaigu avec la dose 300 mg/kg d'extrait méthanolique de *T. polium*. Ceci est en accord avec les observations chez les humains (Khleifat *et al.*, 2001; Mazokopakis *et al.*, 2005). Tandis que Rasekh et ces collaborateurs (2001) ont montré que l'extrait aqueux de *T. polium* cause une réduction de 29-46% du taux du cholestérol total chez les rats hyper-lipidémiques avec les doses 100 et 150 mg/kg administrées par voie *intra péritonéale* pendant 10 jours, et ont attribué cette diminution à la présence de quelques flavonoïdes doués de propriétés anti hyper-lipidémiques.

Les valeurs du bilan hépatique ont présenté des variations significatives : une élévation importante du taux des TGO avec les trois doses et une diminution du taux du taux de TGP avec la dose 75 mg/kg. Cette diminution ne concorde pas avec les travaux de Mattéi *et al.* (1995) et de Rasekh *et al.* (2005). Cependant, les résultats de Rasekh et ces collaborateurs (2005) ont montré que son taux ne s'élève qu'avec la dose 300 mg/kg après 44 jours de traitement. Mattéi et ses collaborateurs (1995) ont trouvé que l'ictère apparaît 5 à 10 jours après le traitement par la plante accompagnée par l'élévation progressive du taux des TGO,

TGP et PAL. Mazokopakis et ces collaborateurs (2005) rapportent qu'un dysfonctionnement du foie apparaît après un mois de traitement par une infusion de *T. polium*.

Mattéi *et al.* (1995) reportent deux cas d'hépatite mortelle dus aux traitements aigus à base de germandrée tomenteuse. L'examen histologique du foie a marqué une nécrose massive des hépatocytes au niveau centro-lobulaire, infiltrat inflammatoire, fibrose de la région portale et prolifération ductulaire des canaux biliaires. Ces symptômes cliniques sont les mêmes observés dans le présent travail notamment chez les rats traités avec les doses 150 et 300 mg/kg. Sawidou et autres (2006) on rapporté deux cas d'hépatite chez deux femmes souffrant d'hyperlipidémie et qui se traitaient par *T. polium* pendant 2 à 3 mois. Les deux patientes présentent des taux élevés d'aminotransférases (TGO et TGP). Un ictère également a été développé chez la première patiente. L'examen histologique du foie a montré une nécrose et la présence de quelques sections inflammatoires. Ces résultats sont soutenus par les travaux précédents (Rasekh *et al.*, 2005) rapportant un échec aigu et grave du foie chez l'homme après administration prolongée de *T. polium*, *T. chamaedrys* et *T. capitatum*. Bien que le mécanisme d'hépatotoxicité de *T. polium* n'est pas bien élucidé, la teucrine A et plusieurs diterpénoides néoclérodanes, présents dans les parties aériennes, ont été soupçonner comme précurseurs hépatotoxiques de cette herbe (Rasekh *et al.*, 2005). Parfois, les dommages du foie ont été associés à la présence des auto-anticorps dans le sérum de quelques patients (Bruneton, 2001). Des expériences chez les souris ont démontré la formation des métabolites toxiques à partir de ces diterpénoïdes qui interagissent avec le cytochrome P450 3A (leur formation est augmentée par l'induction du cytochrome P450 3A et l'inactivation du glutathione). En fait, les diterpénoïdes détoxifiés sont des inducteurs efficaces d'apoptose des hépatocytes (Stickel *et al.*, 2005 ; Stickel *et al.*, 2006). Cela suggère que la nécrose hépatocytaire soit atténuée par un mécanisme duel, une toxicité directe et une série de réactions immunitaires secondaires

(Berardinis *et al.*, 2000). La cytotoxicité directe est connue pour étant la cause fondamentale des dommages du foie dans certains cas, tandis que dans d'autres les mécanismes immunologiques ou même un mélange de cytotoxicité et d'immunogénicité peuvent être impliqués (Ingwale *et al.*, 2009). Une liaison covalente de l'hydrolase d'époxyde aura lieu à la surface externe des hépatocytes humains et en présence de la teucrine A, pourrait déclencher des réactions immunitaires et induit la formation d'auto-anticorps menant les cellules à l'apoptose (**Figure 23**). Concernant les réactions immunitaires secondaires suggérées par Berardinis *et al.* (2000) et Sawidou *et al.* (2006), il est possible que le composé toxique (fines herbes de *T. polium*) puisse causer des modifications au niveau moléculaire des hépatocytes ou des cellules épithéliales biliaires, avec la plus grande présentation d'auto-antigènes aux cellules immunitaires et par conséquent une autre réponse se manifeste par la production d'auto-anticorps.



**Figure. 23 :** Bioactivation proposé par la teucrine A de la germandrée *Teucrium chamaedrys* (Zhou *et al.*, 2003).

Les résultats sériques aperçus chez les rats traités par l'extrait brut méthanolique de *T. communis* et *T. polium* respectivement, montrent une augmentation significative (généralement observée avec les trois doses exploitées) des taux des RBC, MCV, RDW, HCT, PLT, MPV, MCH et HGB par rapport aux groupes témoins. Selon la bibliographie (Khleifat *et al.*, 2001; Rasekh *et al.*, 2005), aucune perturbation des valeurs hématologiques n'a été rapportée chez les rats traités par l'extrait aqueux et/ou éthanolique de *T. polium*. L'interprétation de ces paramètres est très délicate. L'extrait méthanolique a induit une augmentation du nombre des globules rouges observées avec les trois doses (75, 150, 300 mg/kg), impliquant une potentialité de l'érythropoïèse. Cependant, les augmentations possibles de l'érythropoïèse sont associées avec l'élévation de l'hématocrite et de l'hémoglobine avec les doses 150 et 300 mg/kg pour *T. communis* et 75 et 300 mg/kg pour *T. polium*. L'augmentation significative de l'hémoglobinémie associée à une augmentation significative des taux de MCV et MCH indiquerait une tendance à la macrocytose et à l'hypochromie. En plus, ces résultats permettent de rendre compte une fois de plus que l'hémoglobinémie ne peut être valablement appréciée que dans le contexte des paramètres cytologiques érythrocytaires (Ndoutamia ; Ganda, 2005). La répartition érythrocytaire RDW correspond au coefficient de variation d'une population érythrocytaire, est légèrement augmentée avec la dose 75 mg/kg pour *T. communis* et *T. polium* et peut être expliqué par une élévation de la variabilité de taille des érythrocytes. L'hyperplaquettose observée avec les doses 150 et 300 mg/kg pour *T. communis* et avec les doses 75 et 300 mg/kg pour *T. polium* peut être commentée par des hyperplaquettoses secondaires associées à une atteinte de la rate, une carence martiale et aux syndromes myéloprolifératifs (Bain et Gupta ; 2003).

## ***Conclusion générale et perspectives***

*Tamus communis* L. et *Teucrium polium* L. utilisées comme remède très spacieux particulièrement au territoire méditerranéen pour lutter contre certaines perturbations métaboliques (glucidiques, protidiques et lipidiques). Les atteintes du foie et du rein peuvent se produire après un emploi continu ou intermittent de la plante ; le risque causé serait en corrélation étroite avec la notion de dose.

En conclusion, nous rappelons que les médecines traditionnelles peuvent être hépatotoxiques et/ou néphrotoxiques et peuvent causer une élévation des taux d'urée et de cholestérol totaux après administration prolongée *T. polium*. Les renseignements tirés à partir de l'ensemble des résultats présentés sont (i) les données expérimentales de la toxicité aiguë chez les rats femelles *Albino Wistar* suggèrent de classer l'extrait méthanolique des rhizomes de *Tamus communis* et parties aériennes de *Teucrium polium* dans la catégorie des produits presque pas toxiques selon la classification de Frank (1992), (ii) les extraits méthanoliques de *Tamus communis* L. et *Teucrium polium* L. perturbent quelques paramètres sériques biochimiques liés à la fonction hépatique et rénale et hématologiques principalement le taux des globules rouges au cours de traitement subaigu *per os* et (iii) l'observation histologique s'est caractérisée par l'observation de quelques modifications structurales du foie et du rein, particulièrement les animaux traités par l'extrait méthanolique de *T. polium*.

L'histologie du foie peut indiquer une image d'hépatite aiguë ou chronique, cas de cholestase, ainsi quelques vacuoles cytoplasmiques caractéristiques des tubes rénaux. Les gens devraient considérer au sujet de l'utilisation de *T. polium*, particulièrement s'ils ne sont pas officiellement informés aux sujets de leurs réactions défavorables possibles.

En perspectives, nous recommandons à ce que des études de toxicité chronique soient réalisées sur les plantes étudiées afin de déterminer si elles peuvent être utilisées pour la fabrication des médicaments. Par ailleurs, une étude approfondie de la toxicité serait nécessaire pour parvenir à déterminer la DL<sub>50</sub>. Les extraits des plantes sont en général utilisés à l'état brut, c'est pourquoi nous avons utilisé des doses élevées pour les présents tests comparativement aux produits de référence. Pour palier à cela, il est préférable d'isoler les principes actifs des différents extraits de plantes et de les présenter sous une forme galénique acceptable et dépourvu de toxicité. Une sensibilisation est nécessaire sur l'usage de la médecine traditionnelle.

## Références bibliographiques

- Abdollahi , A., Karimpour, H., Monsef-Esfehani H. (2003). Antinociceptive effects of *Teucrium polium* L. total extract and essential oil in mouse writhing test. *Pharmacol. Res.* 48:31-35.
- Aggelis, G., Athanassopoulos, N., Paliogianni, A., Komaitis, M. (1998). Effect of *Teucrium polium* L. extract on the growth and fatty acid composition of *Saccharomyces cerevisiae* and *Yarrowia lipolytica*. *Antonie van Leeuwenhoek* . 73: 195–198.
- Aquino, R., Behar, I., de Simone, F., Pizza, C., Senatore, F. (1985). Phenanthrene derivatives from *Tamus communis*. *Biochem. Syst. Ecol.* 13, 251–252.
- Aquino, R., Conti, C., de Simone, F., Orsi, N., Pizza, C., Stein, M.L. (1991). Antiviral activity of constituents of *Tamus communis*. *J. Chemother.* 3, 305-309.
- Ardestani, A., Yazdanparast, R. (2007). Inhibitory effects of ethyl acetate extract of *Teucrium polium* on in vitro protein glycoxidation. *Food Chem.l Toxicol.* 45: 2402-2411.
- Autore, G., Capasso, F., De Fusco, R., Fasulo, M.P., Lembo, M. ,Mascolo N., Menghini A. (1984). Antipyretic and antibacterial actions of *Teucrium polium* (L.) *Pharmacol.l Res. Commun.* 1:16.
- Bahorun, T., Gressier, B., Trotin, F., Brunete, C., Dine, T., Vasseur, J., Gazin, J.C., Pinkas, M., Luycky, M., Gazin, M. (1996). Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arzneimittel-Forsch.* 46: 1086-1089.
- Bain Barbara, J., Gupta R. (2003). A–Z of Haematology. 1<sup>ere</sup> edition. Blackwell Publishing Ltd Library of Congress Cataloging-in-Publication Data. pp. 196-226.
- Bangert, M.W.J., Steven, K. (2004). Biochimie médicale: Physiopathologie et Diagnostic .5 eme edition .Elsevier. pp. 70-94.
- Bensalem-bendjelloul, M. (1998). Techniques histologiques théorie et pratique. Office des publications universitaires. pp. 6-41.
- Beradinis, DV., Moulis, C., Maurice, M., Beaune, P., Pessayre, D., Pompon, D., Loeper, J. (2000). Human microsomal epoxide hydrolase is the target of germander-induced autoantibodies on the surface of human hepatocytes. *Mol. Pharmacol.* 58(3):542-551.
- Bhonde, R., Shukla, R.C., Kanitkar, M., Shukla, R., Banerjee, M., Datar, D. (2007). Isolated islets in diabetes research. *Indian J Med. Res.* 125:425-440.
- Blanchard, A., Poussou, R., Houillier, P. (2008). Exploration des fonctions tubulaires rénales. *Néphrologie & Thérapeutique.* 5: 68-83.

- Boizot, N., Charpentier, J.P. (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier .*Le Cahier des Techniques de l'Inra*. pp. 79-82.
- Boullard, B. (2003). Plantes médicinales du monde : réalités et croyances. Paris. pp. 1092-1107.
- Boumerfeg, S., Baghiani, A., Messaoudi, D., Khennouf, S., Arrar, L. (2009). Antioxidant properties and xanthine oxidase inhibitory effects of *Tamus communis* L. root extracts .*Phytother. Res.* 23:283-288.
- Bruneton, J. (1999). Pharmacognosie : phytochimie, plantes médicinales .3<sup>eme</sup> édition. Paris. pp. 648-650.
- Bruneton, J. (2001). Plantes toxiques végétaux dangereux pour l'homme et les animaux. 2<sup>eme</sup> édition. Paris. pp. 339-341.
- Caddick, L.R., Wilkin, P., Rudall, P.J., Hedderson, T.A.J., Chase, M.W. (2002). Yams reclassified : a recircumscription of Dioscoreaceae and Dioscreales. *Taxon*. 51: 103-114.
- Capasso, F., De Simone, F., Senatore, F.S. (1983). Sterol constituents of *Tamus communis* L. *J Ethnopharmacol.* 8(3):327-329.
- Capasso, F., Mascolo, N., Autore, G., De Simone, F., Senatore, F. (1983). Anti-inflammatory and analgesic activity in alcoholic extract of *Tamus communis* L. *J Ethnopharmacol.* 8(3):321-325.
- Claudio, P., Alberta, A.S. (2005). Clinical chemistry and haematology historical data in control Sprague-Dawley rats from pre-clinical toxicity studies. *Experimental and Toxicologic Pathol.* 57 :213-219.
- Coxon, D.V., Ogundana, S.K., Dennis, K. (1982). Antifungal phenathrenes in yam tubers .*Phytochem.* 21(6):1389-1392.
- Dehghani, F., Khozani, T.T., Panjehshahin, M.R., Karbalaedoost, S. (2005). Effect of *Teucrium polium* on histology and histochemistry in rat stomach. *Indian J Gastroenterol.* 24:126-127.
- Diallo, A. (2005). Etude de la phytochimie et des activités biologiques de *Syzygium guineense* Willd (*Myrtaceae*) .Thèse de doctorat en Pharmacie. Université de Bamako, Mali. pp: 31-35.
- Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, b., Boutassouna, A., Stocker, c., Vidal, N. (2005). Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chem.* 97: 654-660.
- Dupont, CH. (1970). Détermination de la DL50 chez la souris (méthode de Litchfield et Wilcoxon). *J. Pharmacol.* Paris, 1:407-414.
- El Beyrouthy, M., Nelly, A., Annick, D.D., Frederic, D. (2008). Plants used as remedies antirheumatic and antineuralgic in the traditional medicine of Lebanon. *J Ethnopharmacol.* 120:315-33.
- Esmaeili, M.A., Yazdanparast, R. (2004). Hypoglycaemic effect of *Teucrium polium*: studies with rat pancreatic islets. *J Ethnopharmacol.* 95:27-30.

- Frank, C.L.U. (1992). Toxicologie, Données générales procédures d'évaluation, organes cibles, évaluation du risque. Paris. pp: 73- 202.
- Georgé, S., Brat, P., Alter, P., Amiot, J.M. (2005) .Rapid determination of polyphénols and vitamin C in plant-derived products. *J. Agr. Food Chem.* 53:1370-1373.
- Geubel, A.P., Rahier J. (2006). Hepatic toxicity of drugs: the clinician's point of view... and the pathologist's. *Acta Endoscopica*.36 (3): 320-324.
- Gharaibeh, M., Hhamzeh, h., Salhab, A.S. (1988). Hypoglycemic effects of *Teucrium polium* *Journal of Ethnopharmacology*.2: 93-99.
- Ghoraishian, S.M. (2006). The effect of hazel-leaf decoction on blood glucose reduction in the diabetic rats. *World Journal of Medical Sciences.* 1(2):144-146.
- Goodwin, T.W. (1955).Studies in Carotenogenesis a survey of the polyenes in a number of ripe berries. *Biochem.*62: 347-352.
- Gouille, J.P., Gilbert. P., Christian, L. (2004). Botanique, chimie et toxicologie des solanacées hallucinogènes: belladone, datura, jusquiame, mandragore. *Annales de toxicologie analytique.* 16(1). pp.55-65.
- Guarrera, P.M. (2004).Traditional phytotherapy in central Italy (Marche, Abruzzo, and Latium) *Fitoterapia.* 76:1-25.
- Guarrera, P.M., Leporatti, M.L. (2007). Ethnobotanical remarks on central and southern Italy. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine.* 3:23.
- Hasani, P., Yasa, N., Vosough-Ghanbari, S., Mohammadira, A., Dehghan, G., Abdollahi, M. (2007). In vivo antioxidant potential of *Teucrium polium*, as compared to  $\alpha$ -tocopherol. *Acta Pharm.* 57:123–129.
- Huang, D., Ou, B., Prior, R.L. (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. *J. Agr. Food Chem.* 53:1841-1856.
- Ingwale, D., Kshirsagar A., Ashok, P., Vyawahare, N. (2009). Role of atioxidat in the maagmet of hepatic complications. *Pharmacologyonline* 1: 238-253.
- Iriadam, M., Davut, M., Haice, G., Baba F.S. (2005). Effects of two Turkish medicinal plants *Artemisia herba-alba* and *Teucrium polium* on blood glucose levels and other biochemical parameters in rabbits. *J. Cell. Molecul. Biol.* 5:19-24.
- Kadifkova Panovska, T., Svetlana K., Stefova, M. (2005). *In vitro* antioxidant activity of some *Teucrium* species (*Lamiaceae*). *Acta Pharm.* 55:207-214.
- Kaileh, M., Berghe, W.V., Boone, E., Essawi, T., Haegeman, G. (2007). Screening of indigenous Palestinian medicinal plants for potential anti-inflammatory and cytotoxic activity. *J. Ethnopharmacol.* 113:510-516.
- Kaplowitz, N. (1997). Hepatotoxicity of herbal remedies: insights into the intricacies of plant-animal warfare and cell death .*Gastroenterol.* 113(4): 1408-1412.

- Kenneth, J., Broadley, D., Kelly, R. (2001). Muscarine receptor agonists and antagonists. *Molec.*6:142-193.
- Khader, M., Eckl, P.M., Bresgen, N. (2007). Effects of aqueous extracts of medicinal plants on MNNG-treated rat hepatocytes in primary cultures. *J.Ethnopharmacol.* 112 :199-202.
- Khleifat, K., Shakhanbeh, J.; Tarawneh, K. (2001). The chronic effects of *Teucrium polium* on some blood parameters and histopathology of liver and kidney in the rat. *Turk J Biol* 26 : 65-71.
- Kova'cs, A., Forgo, P., Zupko, I., la Re'thy, B., Falkay, G., Szabo', P., Hohmann, J. (2007). Phenanthrenes and a dihydrophenanthrene from *Tamus communis* and their cytotoxic activity. *Phytochemistry* 68 : 687–691.
- Lentini, F., Venza, F. (2007). Wild food plants of popular use in Sicily. *J. Ethnobiol. Ethnomedicine.* 3:15.
- Leporatti, M.L., Ivancheva, S. (2003). Preliminary comparative analysis of medicinal plants used in the traditional medicine of Bulgaria and Italy. *J. Ethnopharmacol.* 87:123-142.
- Li, H.B., Cheng, K.W., Wong, C.C., Fan, K.W., Chen, F., Jiang, Y. (2007). Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fractions of selected microalgae. *Food chem.* 102: 771-776.
- Ljubuncic, P., Dakwar, S., Portnaya, I., Cogan, U., Azaizeh, H., Bomzon, A. (2006). Aqueous extracts of *Teucrium polium* possess remarkable antioxidant activity in vitro *Advance Access Publication.* 3(3) :329-338.
- Lüllmann, H., Mohr, K., Ziegler, A. (1998). Atlas de poche de pharmacologie. 2eme édition. Médecine-Sciences: Flammarion .Paris. pp.32-42.
- Magali, C., Deleuze, S., Callard, P. (2008). Lésions élémentaires des glomérules chez l'adulte. *Néphrologie & Thérapeutique.* 4:617-627.
- Manahan, S.E. (2003) Biochemistry toxicological chemistry. 3<sup>ème</sup> édition. Library of Congress Cataloging-in-Publication Data Lewis Publisher. pp. 160-180.
- Marchall, W.J., Bangert, S.K. (2004) .Biochimie médicale: physiopathologie et diagnostic.5<sup>ème</sup> édition. française. France. Elsevier. pp. 59-87.
- Maruo, V.M., Bernardi, M.M., Spinosa, H.S. (2003). Toxicological evaluations of long-term consumption of *Solanum lycocarpum* St. Hill fruits in male and female adult rats.*Phytomed.* 10: 48-52.
- Mascolo, N., Autore, G., Capasso, F.(1987). Local anti-inflammatory activity of *Tamus communis*. *J.ethnopharmacol.* 19 : 81-84.
- Mattéi, A., Rucay, P., Samuel, D., Feray, C., Reynes, M., Bismuth, H. (1995). Liver transplantation for severe acute liver failure after herbal medicine (*Teucrium polium*) administration. Hepato-biliary Center, South Paris University, Paul Brousse Hospital, 14 Avenue Paul Vaillant Couturier, 94800 Villejuif, France. Correspondence.

- Maurizio, B., Maggio, A.M., Piozzi, F., Puech, S., Rosselli, S., Simmonds, M.S.J. (2003). Neoclerodane diterpenoids from *Teucrium polium* subsp. *polium* and their antifeedant activity. *Biochemical Systematics and Ecology* 31:1051–1056.
- Mazokopakis, E., Lazaridou, S., Tzardi, M., Mixaki, J., Diamantis, I., Ganotakis, E. (2004). Acute cholestatic hepatitis caused by *Teucrium polium* L. *Phytomed.* 11: 83-84.
- Mégarbane, B., Deye, N., Baud, F. (2007). Toxic hepatitis: mechanisms of toxicity and specific pharmacological agents. *Réanimation.* 16:632-642.
- Middleton, E., Chithan Kandaswami, J. R., Theoharides, T. C. (2000). The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer. *Pharmacol. Rev.*, 52:673–751.
- Muibat, B.A., Omoniyi, K., Yemitan, O., Adeyemi, O. (2007). Toxicological assessment of the aqueous root extract of *Sansevieria liberica* gerome and Labroy (Agavaceae). *J. Ethnopharmacol.* 113: 171-175.
- Naghibi, F., Mosaddegh, M., Mohammadi, M.S., Ghorbani A. (2005). Labiatae family in folk medicine in Iran: from ethnobotany to pharmacology. *Iranian J. Pharmaceut. Res.* 2: 63-79.
- Nakamura, H., Furukawa, F., Nishikawa, A., Miyauchi, M., Son, H.Y., Imazawa, T., Hirose, M. (2001). Oral toxicity of a tocotrienol preparation in rats. *Food Chem. Toxicol.* 39: 799-805.
- Ndoutamia, G., Ganda, K. (2005). Détermination des paramètres hématologiques et biochimiques des petits ruminants du Tchad. *Revue Méd. Vét.*, 156 : 202-206.
- Nematollahi-Mahani, S.N., Rezazadeh-Kermani M., Mehrabani M., Nakhaee N. (2004). Cytotoxic Effects of *Teucrium polium* on Some Established Cell Lines. *Pharmaceut. Biol. Abstract.* 45:295 -298.
- Niazmand, S., Erfanian Ahmadpoor, M., Moosavian, M., Derakhshan M. (2008). The positive inotropic and chronotropic effects of *Teucrium Polium* L. Extract on Guinea Pig Isolated Heart. *Pharmacologyonline.* 2: 588-594.
- Oduola, T., Adeniyi F., Ogunyemi, E., Bello, I.S., Idowu, T., Subair, H. (2007). Toxicity studies on an unripe *Carica papaya* aqueous extract: biochemical and haematological effects in wistar albino rats. *J. Medicinal Plants Res.* 1(1):001-004.
- Parsaee, H., Shafiee-Nick, R. (2006). Anti-Spasmodic and anti-Nociceptive effects of *Teucrium polium* aqueous extract. *Iranian biomedical journal.* 10(3) :145-149.
- Pellet. M.V. (1977). Le milieu intérieur. Le rein. Physiologie humaine. 2<sup>ème</sup> partie. Editions Villeurbanne. pp. 45-60.
- Pietta, P-G. (2000). Flavonoïds as antioxidants. *Nat. Prod.*, 63(7) : 1035-1042.
- Proestos, C., Sereli D., Komaitis, M. (2004). Determination of phenolic compounds in aromatic plants by RP-HPLC and GC-MS. *Food Chemistry.* 95: 44-52.
- Rajender Reddy, K., Faust T. (2006). Liver Disease. SLACK Incorporated. USA. pp.321-332.

- Ramnathan, S.P., Slavoff S.A., Grundel E., White K.D., Mazzola, E., Koblenz, D., Rader J. (2005). Isolation and characterisation of Selected Germander diterpenoids from authenticated *Teucrium chamaedrys* and *T. canadense* by HPLC, HPLC-MS and NMR . *Phytochem. Anal.* 17:243-250.
- Rasekh, H.R, Khoshnood-Mansourkhani, M.J., Kamalinejad, M. (2001). Hypolipidemic effects of *Teucrium polium* in rats. *Fitoterapia.* 72:937-939.
- Rasekh, H.R., Yazdanpanah, H., Hosseinzadeh, L., Bazmohammadi, N., Kamalinejad, M .(2005). Acute and subchronic toxicity of *Teucrium polium* total extract in rats .*Iranian Journal of Pharmaceutical Research.* 4: 245-249.
- Reish, J., Bathory, M., Szendrei, K., Novaku, M.E. (1972). Weitere phenanthrene aus dem rhizom von *Tamus communis*. *J. Phytochemistry.* 12: 228-229.
- Roblot, F., Montaz, L., Delcousta, M., Gaboriaun, E., Chvagnat, J., Morichaud, G., Pourrat, O., Scepi M., Patte., D. (1994). *Rev Méd Interne.* 16 :187-190.
- Sawoula, S., Goulis, J., Ignatios, G., Kalliopi, P., Prodromos, H. Constantine, A. (2007). Herb-induced hepatitis by *Teucrium polium* L.: report of t -249. *Gastroenterology & Hepatology.* 19(6): 507-511.
- Schmidt, R.J., Moul, S.P. (1983). The dermatitic properties of black bryony (*Tamus communis* L.). *Contact Dermatitis* 9, 390-396.
- Schols, P., Furness, C.A., Wilkin, P., Smets, E., Cielen, V., Huysmans, S. (2003). Pollen morphology of *Dioscorea* (Dioscoreaceae) and its relation to systematics. *Botanical Journal of the Linnean Society.* 143:375-390.
- Shahraki, M.R., Arab, M.R., Mirimokaddam, E., Palan, M.J. (2007).The effect of *Teucrium polium* (Calpoureh) on liver function, serum lipids and glucose in diabetic male rats. *Iranian Biomedical Journal.* 11(1): 65-68.
- Shakhanbeh, J., Atrouce, O. (2001). *Teucrium polium* inhibits nerve conduction and carrageenan induced inflammation in the rat skin. *Turk J Med Sci.* 3:15-21.
- Sharififar, F., Dehghn-Nudeh, G., Mirtajaldini, M. (2008). Major flavonoids with antioxidant activity from *Teucrium polium* L. *Food Chemistry.*
- Sharp Parrick, E., La Regina Maria, C. (1998). *The laboratory rat.* CRC press LLC. USA. pp. 120-152.
- Shibeshi, W., Makonnen, E., Debella, A., Zerihun, L. (2006). Phytochemical contraceptive efficacy and safety, evaluation of the mathanolic leaves extract of *Achyranthes aspera* in rats. *Pharmacologyonline.* 3: 217-224.
- Suleiman, M. S., Abdul-Ghani, A.S., Al-khalil, S., AMIN, R. (1988). Effect of *Teucrium polium* boiled leaf extract intestinal motility and blood pressure. *Journal of Ethnopharmacology,* 22: 111-116.

- Stowchiva, S. (1988). Guide Manuel de pharmacologie et toxicologie. Sofia: Bulgaria Editeur: Medicinal et phys-cultura .pp. 15.
- Stickel, F, Gerlinde, E., Karl, S.H. (2000). Hepatotoxicity of botanicals. *Public Health Nutrition*. 3(2):113-124.
- Stickel, F., Patsenker, E., Schuppan, D. (2005). Herbal hepatotoxicity. *J. Hepatol*. 43:901-910.
- Stickel F., Schuppan D. (2006). Herbal medicine in the treatment of liver diseases. *Digestive and Liver Disease*. 39: 293–304.
- Ulanova. I.P. (1975). Toxicometry and prophylactic toxicology. Institute of industrial hygiene and occupational diseases, Moscow, USSR. Papers. 44-55.
- Yao, L. H., Jiang, Y. M., Shi, J., Toma S-Barbera, F. A., Datta, N. N., Singanusong, R., Chen, S. S. (2004). Flavonoïde in food and their health benefits. *Plant Foods Hum. Nutr.*, 59: 113-122.
- Zabri H., Due A., Mambo V. (2009). Purification column on silica and chemical characterization of a coumarin isolated from methanol excerpt of the stems of plant *Secamone afzelii* (*Aclepiadaceae*) from Abijan - Ivory coast. *Rev Electron Biomed / Electron J Biomed* .3.
- Zhou, S., Hwee-Ling, K., Yihuai, G. Zhi-yuan, G., Edmund Jon, D.L. (2003). Herbal bioactivation: The good, the bad and the ugly. *Life Sciences*. 74: 935-968.
- Zal, F., Vasei, M., Rasti, M., Vessal, M. (2001). Hepatotoxicity associated with hypoglycemic effects of *Teucrium Polium* In Diabetic Rats. *Archives of 188 Iranian Medicine*. 4 (4): 188-192.