



UNIVERSITE ABOU BEKR BELKAID-TLEMCEEN

*Faculté des Sciences de la Nature et la Vie et Science de la Terre et de l'Univers*  
**Département de Biologie**

*Laboratoire des « Antibiotiques Antifongiques : Physico-chimie, Synthèse et  
Activité Biologique »*

## Mémoire

Présenté par :

**M<sup>elle</sup> Bouras Farah Nour El-houda**

*En vue de l'obtention du*

**Diplôme de Master**

**En Biochimie : Molécules Bioactives**

## Thème

Contribution à la recherche de l'effet d'extraits bruts et d'extraits de flavonoïdes de *Traganum nudatum* sur la captation du glucose par les coupes fines de tissu adipeux isolées du rat Wistar

Soutenu le 22-06-2017, devant le jury composé de :

Président	M <sup>r</sup> DJAZIRI .R	Professeur	Université de Tlemcen
Examineur	M <sup>r</sup> AZZI .R	Maitre de conférences	Université de Tlemcen
Encadreur	M <sup>r</sup> LAHFA .F	Maitre de conférences	Université de Tlemcen

Année Universitaire : 2016 – 2017

# Dédicace

*Je dédie ce modeste travail à:*

❖ *Mes très chers parents*

*Qui m'ont toujours soutenu et motivé sans cesse à devenir meilleur*

❖ *Ma sœur et mon petit frère adorés*

❖ *Mes tantes, oncles, cousins et cousines*

❖ *Mes amis qui m'ont encouragé.*

## Remerciements

*Avant tout, nous remercions Dieu de nous avoir aidés à réaliser ce modeste travail ; et nous souhaitons que le contenu de ce dernier soit la meilleure façon d'exprimer nos sincères et vifs remerciements :*

*En premier lieu je tiens à remercier Monsieur LAHFA. F, doyen et Maître de conférences au département de Biologie, faculté SNV/STU, Université Abou Bekr Belkaïd-Tlemcen- pour avoir accepté de diriger ce travail, pour ses encouragements et ses conseils judicieux tout le long de la réalisation de ce mémoire. Qu'il trouve ici le témoignage de ma profonde reconnaissance.*

*Je tiens à remercier profondément Monsieur DJAZIRI .R, Professeur au département de Biologie, Université Abou Bekr Belkaïd-Tlemcen-, pour avoir accepté de présider le jury.*

*Je tiens à remercier profondément Monsieur AZZI .R, Maître de conférences au département de Biologie, Université Abou Bekr Belkaïd-Tlemcen-, d'avoir accepté d'examiner ce travail.*

*Je tiens à remercier profondément Madame Abdallaoui F., Doctorante en Biologie pour ses conseils judicieux et ces orientations ainsi que ses encouragements et son aide tout le long de la réalisation de ce travail.*

## Résumé

Les plantes médicinales représentent une source incontournable pour la découverte de nouvelles molécules thérapeutiques, très efficaces contre de nombreuses maladies. Dans ce contexte nous nous sommes intéressés à l'étude de *Traganum nudatum* connue sous le nom de «Damrane» de la famille des Chénopodiacées, une plante réputée pour ces vertus curatives.

Ce travail porte sur la Contribution à la recherche de l'effet des extraits de la plante *Traganum nudatum* sur la captation du glucose par les coupes fines de tissu adipeux isolées du rat Wistar selon le protocole adopté au niveau du laboratoire, antibiotiques, antifongiques, physico-chimie, synthèse et activité biologique.

L'effet a été analysé *in vitro* sur des coupes fines de tissu adipeux isolées des rats Wistar normaux mises dans un milieu d'incubation normo-glycémique KRBA 4% glucosé (1g/l), et un autre milieu hyperglycémique KRBA 4% glucosé (3g/l) en présence de différentes concentrations (10, 50, et 100  $\mu$ U/ml) d'insuline, et (100, 200, 500  $\mu$ g/ml) des extraits bruts et de flavonoïdes, durant 30, 60, et 90 minutes d'incubation à 37° C.

Les résultats obtenus montrent une consommation basale de l'ordre de 0.1 g/l dans le milieu d'incubation (1g/l), et de l'ordre de 0.2 g/l dans le milieu d'incubation (3g/l), pendant 60 minutes en présence des coupes fines de tissu adipeux.

De même, la stimulation de la captation du glucose au niveau des coupes fines de tissu adipeux à 100 $\mu$ UI/ml d'insuline est de l'ordre de 0.39 $\mu$ g/ml (39%) dans le milieu d'incubation (1g/l), et de 0.94  $\mu$ g/ml (31.3%) dans le milieu d'incubation (3g/l), pendant 60 minutes. En revanche, la dose de 500 $\mu$ g/ml des extraits bruts et de flavonoïdes, a donné la meilleure captation du glucose, pour l'extrait brut elle est de l'ordre de 0.23 $\mu$ g/ml (23%) dans le milieu d'incubation (1g/l), et de 0.62 $\mu$ g/ml (20.6%) dans le milieu d'incubation (3g/l), et pour l'extrait de flavonoïdes elle est de l'ordre de 0.24 $\mu$ g/ml (24%) dans le milieu d'incubation (1g/l), et de 0.7 $\mu$ g/ml (23.3%) dans le milieu d'incubation (3g/l), pendant 60 minutes d'incubation à 37°C.

A la lumière de ces résultats, nous pouvons dire que *Traganum nudatum*, a un effet sur la captation du glucose par les coupes fines de tissu adipeux.

Les résultats obtenus montrent que nos extraits ont un effet insuline like sur la captation de glucose dans les deux milieux d'incubations.

### Mots clés :

*Traganum nudatum*, diabète de type 2, insuline, coupes fines de tissu adipeux, flavonoïdes.

## Abstract

Medicinal plants represent an essential source for the discovery of new therapeutic molecules, which are very effective against many diseases. In this context we were interested in the study of *Traganum nudatum* known as "Damrane" of the Chénopodiaceae family, a plant known for its curative properties.

This work is a contribution to the research of the effect of *Traganum nudatum* extracts on the glucose uptake by a thin sections of adipose tissue isolated from the Wistar rat according to the protocol adopted at the laboratory level, antibiotics, antifungals, physico-chemistry, Synthesis and biological activity.

The effect was analyzed *in vitro* on thin adipose tissue sections isolated from normal Wistar rats placed in a normoglycemic incubates environnement KRBA 4% glucose (1 g/l) and another KRBA 4% glucose hyperglycemic incubated environnement (3g/l), in the attendance of different concentrations (10, 50, and 100  $\mu$ U / ml) of insulin, and (100, 200, 500  $\mu$ g/ml) of the crude extracts and flavonoids for 30, 60, and 90 minutes incubation at 37 ° C.

The results showed a basal consomation of 0.1 g / l in the environnement incubation (1 g/l) and 0.2 g / l in the environnement incubation (3 g/l) for 60 minutes in the attendance of thin sections of adipose tissue.

Similarly, the stimulation of glucose uptake in the thin sections of adipose tissue at 100  $\mu$ IU/ml of insulin is of 0.39  $\mu$ g/ml (39%) in the environnement incubation (1 g/l), and 0.94  $\mu$ g/ml (31.3%) in the environnement incubation (3 g / l) for 60 minutes. On the other hand, the 500  $\mu$ g / ml dose of the crude extracts and flavonoids gave the best glucose uptake, for the crude extract is of 0.23  $\mu$ g / ml (23%) in the environnement incubation (1 g / l), and 0.62  $\mu$ g / ml (20.6%) in the environnement incubation (3 g/l), and for the flavonoid extract it is 0.24  $\mu$ g / ml (24%). In the environnement incubation (1 g/l), and 0.7  $\mu$ g / ml (23.3) in the environnement incubation (3 g / l) for 60 minutes incubation at 37 ° C.

These results, showed that *Traganum nudatum*, has an effect on the glucose uptake by the thin sections of adipose tissue.

The results obtained show that our extracts have an insulin-like effect on the glucose uptake in the two environnement incubation.

**Keywords :** *Traganum nudatum*, type 2 diabetes, insulin, thin sections of adipose tissue, flavonoids.

## ملخص

تمثل النباتات الطبية الآن مصدرا رئيسيا لاكتشاف جزيئات علاجية جديدة وفعالة جدا ضد العديد من الأمراض. وفي هذا السياق ونحن مهتمون في دراسة *Traganum nudatum* المعروفة باسم "Damrane" الأسرة سرمقية، وهو نبات مشهور لهذه القوى الشفاء.

يركز هذا العمل على المساهمة في تحقيق آثار مستخلصات النبات *Traganum nudatum* على امتصاص الجلوكوز من قبل أقسام رقيقة من الأنسجة الدهنية المعزولة من الفئران ويستار وفقا لبروتوكول اعتمدت في المختبر، والمضادات الحيوية، مضادات الفطريات، الكيمياء الفيزيائية والتركيبة والنشاط البيولوجي.

تم اختبار تأثير في المختبر على أقسام الدهنية غرامة معزولة أنسجة فئران ويستار العادية تعتمد في الحضانة المتوسطة (سوي نسبة السكر في الدم) 4% KRBA غلوكوزي (1 غرام / لتر) بنسبة السكر في الدم، وغيرها من فرط سكر الدم 4% KRBA غلوكوزي (3 غرام / لتر) في وجود تركيزات مختلفة (10، 50، و100 ميكرو وحدة / مل) من الانسولين (100، 200، 500 ميكرو غرام / مل) من المستخلصات الخام وفلافونيدات، لمدة 30، 60، و90 دقيقة الحضانة عند 37 درجة مئوية.

أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها من استهلاك القاعدة من أجل من 0.1 غرام / مل في المتوسط حضانة (1 غرام / لتر)، وحوالي 0.2 غرام / مل في المتوسط حضانة (3 غرام / لتر) لمدة 60 عاما في وجود أقسام رقيقة من الأنسجة الدهنية.

وبالمثل، وتحفيز امتصاص الجلوكوز في أقسام رقيقة من الأنسجة الدهنية 100 ميكرو وحدة / مل من الانسولين هو في حدود 0.39 ميكرو غرام / مل (39%) في المتوسط حضانة (1 غرام / لتر) و0.94 ميكرو غرام / مل (31.3%) في المتوسط حضانة (3 غرام / لتر) لمدة 60 دقيقة. في المقابل، جرعة من 500 ميكرو غرام / مل من تركيز المستخلص الخام وفلافونيدات، وقدم أفضل امتصاص الجلوكوز، للمستخلص الخام في نطاق 0.23 ميكرو غرام / مل (23%) في المتوسط حضانة (1 غرام / لتر)، 0.62 ميكرو غرام / مل (20.6%) في المتوسط حضانة (3 ميكرو غرام / مل)، و مستخلص الفلافونويد في نطاق 0.24 ميكرو غرام / مل (24%) في المتوسط حضانة (1 غرام / لتر)، و0.7 ميكرو غرام / مل (23.3) في المتوسط حضانة (3 غرام / لتر) لمدة 60 دقيقة الحضانة عند 37 درجة مئوية.

وفي ضوء هذه النتائج، يمكننا أن نقول أن *Traganum nudatum*، لها تأثير على امتصاص الجلوكوز من أقسام رقيقة من الأنسجة الدهنية.

وأظهرت النتائج أن مستخلصات لديها مثل تأثير الانسولين على امتصاص الجلوكوز في كل من البيئات حضانات.

**كلمات البحث:** *Traganum nudatum*، السكري من النوع 2، الانسولين، شرائح رقيقة من الدهون، الفلافونويد.

# Sommaire

## Synthèse bibliographique

1. Introduction.....	01
2. Homéostasie glucidique .....	02
3. Tissu adipeux.....	06
4. Diabète : un syndrome métabolique.....	08
5. La phytothérapie.....	13
6. Principes actifs.....	14
7. Plante <i>Traganum nudatum</i> .....	16

## Matériel et méthodes

### I. Analyse phytochimique

1. Matériel végétal.....	19
2. Préparation des extraits.....	19
3. Chromatographie sur couche mince.....	21

### II. Analyse biologique

1. Animaux et élevage.....	23
2. Préparation du milieu d'incubation KRBA.....	23
3. Isolements du tissu adipeux.....	24
4. récupération de tissu adipeux et lavage.....	24
5. viabilité et numération cellulaire.....	24
6. Incubation des adipocytes.....	24
7. Prélèvement des puits.....	26
8. Dosage enzymatique du glucose.....	26

### **III. Analyse statistique**

1. La moyenne.....	27
2. L'erreur standard de la moyenne (SME).....	28
3. Test de Student.....	28

## **Résultats et discussion**

### **I- Analyse phytochimique**

1. Analyse chromatographique sur couche mince.....	29
--	----

### **II- Analyse biologique**

1. Viabilité et numération cellulaire.....	29
2. Captation du glucose par les adipocytes isolés.....	29
3. Consommation basale du glucose.....	30
4. Effet d'insuline sur la captation du glucose par les coupes fines de tissu adipeux.....	33
5. Effet de l'extrait brut sur la captation du glucose par les coupes fines de tissu adipeux.....	35
6. Effet de l'extrait flavonoïque sur la captation du glucose par les coupes fines de tissu adipeux .....	42
7. Comparaison entre l'effet de l'extrait brut, l'extrait flavonoïque, et l'effet de l'insuline.....	47

<b>Discussion.....</b>	<b>49</b>
------------------------	-----------

<b>Conclusion générale.....</b>	<b>53</b>
---------------------------------	-----------

<b>Références bibliographiques.....</b>	<b>55</b>
---	-----------



## Liste des figures

<b>FIGURE 01 :</b> Schéma structurel d'insuline.....	03
<b>FIGURE 02 :</b> Sécrétion d'insuline par les cellules $\beta$ pancréatiques .....	05
<b>FIGURE 03 :</b> Translocation de transporteur du glucose (GLUT4) sous l'influence de l'insuline.....	06
<b>FIGURE 04 :</b> Pathophysiologie de l'hyperglycémie et augmentation des acides gras dans le diabète de type 2.....	10
<b>FIGURE 05 :</b> Les différents sites d'actions de plantes médicinales utilisées pour le traitement du diabète sucré.....	14
<b>FIGURE 06 :</b> squelette de base des flavonoïdes.....	15
<b>FIGURE 07:</b> <i>Traganum nudatum</i> .....	17
<b>FIGURE 08 :</b> Montage e dispositif d'extraction liquide-liquide.....	20
<b>FIGURE 09 :</b> Procédure de l'extraction des composés phénoliques et des flavonoïdes.....	21
<b>FIGURE 10 :</b> Schéma récapitulatif du mode opératoire de l'incubation des adipocytes.....	25
<b>FIGURE 11 :</b> Concentration du glucose restant dans le milieu d'incubation avec 1g/l du glucose en absence et en présence des coupes fines de tissu adipeux.....	31
<b>FIGURE 12 :</b> Concentration du glucose restant dans le milieu d'incubation avec 3g/l du glucose en absence et en présence des coupes fines de tissu adipeux.....	32
<b>FIGURE 13 :</b> Concentration du glucose restant dans le milieu d'incubation avec 1g/l du glucose en présence de différentes concentrations d'insuline pendant 30 minutes.....	33
<b>FIGURE 14 :</b> Concentration du glucose restant dans le milieu d'incubation avec 1g/l du glucose en présence de différentes concentrations d'insuline pendant 60 minutes.....	34
<b>FIGURE 15 :</b> Concentration du glucose restant dans le milieu d'incubation avec 1g/l du glucose en présence de différentes concentrations d'insuline pendant 90 minutes.....	34
<b>FIGURE 16 :</b> Concentration du glucose restant dans le milieu d'incubation avec 3g/l du glucose en présence de différentes concentrations d'insuline pendant 30 minutes.....	35

<b>FIGURE 17 :</b> Concentration du glucose restant dans le milieu d'incubation avec 3g/l du glucose en présence de différentes concentrations d'insuline pendant 60 minutes.....	36
<b>FIGURE 18 :</b> Concentration du glucose restant dans le milieu d'incubation avec 3g/l du glucose en présence de différentes concentrations d'insuline pendant 90 minutes.....	36
<b>FIGURE 19 :</b> Concentration du glucose restant dans le milieu d'incubation avec 1g/l du glucose en présence de différentes concentrations de l'extrait brut pendant 30 minutes.....	38
<b>FIGURE 20 :</b> Concentration du glucose restant dans le milieu d'incubation avec 1g/l du glucose en présence de différentes concentrations de l'extrait brut pendant 60 minutes.....	38
<b>FIGURE 21 :</b> Concentration du glucose restant dans le milieu d'incubation avec 1g/l du glucose en présence de différentes concentrations de l'extrait brut pendant 90 minutes.....	39
<b>FIGURE 22 :</b> Concentration du glucose restant dans le milieu d'incubation avec 3g/l du glucose en présence de différentes concentrations de l'extrait brut pendant 30 minutes.....	40
<b>FIGURE 23 :</b> Concentration du glucose restant dans le milieu d'incubation avec 3g/l du glucose en présence de différentes concentrations de l'extrait brut pendant 60 minutes.....	41
<b>FIGURE 24 :</b> Concentration du glucose restant dans le milieu d'incubation avec 3g/l du glucose en présence de différentes concentrations de l'extrait brut pendant 90 minutes.....	41
<b>FIGURE 25 :</b> Concentration du glucose restant dans le milieu d'incubation avec 1g/l du glucose en présence de différentes concentrations d'extrait flavonoïque pendant 30 minutes.....	43
<b>FIGURE 26 :</b> Concentration du glucose restant dans le milieu d'incubation avec 1g/l du glucose en présence de différentes concentrations d'extrait flavonoïque pendant 60 minutes.....	43
<b>FIGURE 27 :</b> Concentration du glucose restant dans le milieu d'incubation avec 1g/l du glucose en présence de différentes concentrations d'extrait flavonoïque pendant 90 minutes.....	44
<b>FIGURE 28 :</b> Concentration du glucose restant dans le milieu d'incubation avec 3g/l du glucose en présence de différentes concentrations d'extrait flavonoïque pendant 30 minutes.....	45
<b>FIGURE 29 :</b> Concentration du glucose restant dans le milieu d'incubation avec 3g/l du glucose en présence de différentes concentrations d'extrait flavonoïque pendant 60 minutes.....	46

**FIGURE 30 :** Concentration du glucose restant dans le milieu d'incubation avec 3g/l du glucose en présence de différentes concentrations d'extrait flavonoïque pendant 90 minutes.....46

**FIGURE 31 :** Comparaison entre l'effet de l'extrait brut, l'extrait flavonoïque, et l'effet de l'insuline dans le milieu d'incubation de 1 g/l à 30, 60, et 90 minutes.....47

**FIGURE 32 :** Comparaison entre l'effet de l'extrait brut, l'extrait flavonoïque, et l'effet de l'insuline dans le milieu d'incubation de 3 g/l à 30, 60, et 90 minutes.....48

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1</b> : les antidiabétiques oraux.....	12
<b>Tableau 2</b> : préparation du KRB .....	23
<b>Tableau 3</b> : Analyse chromatographique (CCM) des différents extraits TN.....	29
<b>Tableau 4</b> : Captation du glucose en présence et en absence des coupes fines de tissu adipeux.....	30
<b>Tableau 5</b> : Captation du glucose par les coupes fine du tissu adipeux en présence de différentes concentrations d'insuline (Glucose 1 g/l).....	33
<b>Tableau 6</b> : Captation du glucose par les coupes fine du tissu adipeux en présence de différentes concentrations d'insuline (Glucose 3 g/l).....	35
<b>Tableau 07</b> : Captation du glucose par les coupes fine du tissu adipeux en présence de différentes concentrations de l'extrait brut (Glucose 1 g/l).....	37
<b>Tableau 08</b> : Captation du glucose par les coupes fine du tissu adipeux en présence de différentes concentrations de l'extrait brut (Glucose 3 g/l) .....	40
<b>Tableau 09</b> : Captation du glucose par les coupes fine du tissu adipeux en présence de différentes concentrations de l'extrait flavonoïque (Glucose 1 g/l).....	42
<b>Tableau 10</b> : Captation du glucose par les coupes fine du tissu adipeux en présence de différentes concentrations de l'extrait flavonoïque (Glucose 3 g/l).....	45

## Liste d'abréviations

ADA: American Diabetes Association

CCM: Chromatographie sur couche mince

DID : Diabète insulino-dépendant

DMSO: Diméthylsulfoxyde

DNID : Non insulino-dépendant

DT2 : Diabète de type 2

EB : Extrait brut

EAc : Extrait Acétate d'éthyle

FID: Fédération Internationale

GLUT : Transporteur de glucose

GOD : Glucose-oxydase

IRS : Insulin receptor substrate

MAPK :Mitogen-activated protein kinases

OMS: Organisation Mondiale de la Santé

PI-3K : phosphatidylinositol 3-kinase

PP : Pancreatic polypeptide

PPAR $\gamma$ : Peroxysome proliferator activated receptor

Rf: Rapport frontal

UV : Ultraviolet

# **Synthèse bibliographique**

# Synthèse bibliographique

---

## 1. Introduction :

Le glucose circule librement dans le sang à une concentration qui varie peu (entre 3,3 et 11 mM soit 0,8 et 1.2 g /L). Chez les individus sains, la glycémie est maintenue de manière stricte autour de cette valeur, grâce à des mécanismes de régulation. En particulier, la production de glucose endogène s'adapte aux besoins énergétiques des tissus de l'organisme, mais aussi aux apports exogènes provenant de l'alimentation. Lorsque ceux-ci sont en excès, se mettent en place des processus de stockage sous forme de glycogène, au niveau hépatique ou musculaire notamment, et de triglycérides, au niveau du tissu adipeux (**Burcelin R et Pénicaud L, 2003**). Suite à un repas, il apparaît une hyperglycémie dont l'amplitude est influencée entre autres par la quantité et la nature des glucides ingérés, par les processus digestifs et par les facteurs hormonaux (**Paquot N et Scheen, 2003**). Le déclenchement des mécanismes de régulation implique une détection préalable des concentrations de glucose. Les systèmes de sensibilité à ce métabolite existent à plusieurs endroits stratégiques de l'organisme (**Burcelin R et Pénicaud L, 2003**).

Les prédispositions génétiques et Le mode de vie des pays riches ou en voie de développement entraînent une sédentarisation des personnes et une alimentation plus riche en graisse et en sucre rapide, ceci induisant une augmentation des cas de diabète ainsi qu'une augmentation des pathologies cardio-vasculaires.

Selon le premier rapport mondial sur le diabète de l'OMS, publié à l'occasion de la journée mondiale de la santé, 422 millions d'adultes vivaient avec le diabète en 2014, principalement dans les pays en développement. L'Organisation lance un appel pour mettre un terme à cette recrudescence des cas de diabète dans le monde et à mieux prendre en charge les patients (**OMS, 2014**).

Le diabète est une maladie métabolique chronique très fréquente dans le monde entier, qui possède de multiples causes, mais résultant d'un défaut de l'utilisation de l'insuline par l'organisme ou d'une carence de production de cette même hormone (**American Diabetes Association, 2015**).

Cette carence ou ce défaut entraîne une hyperglycémie, ce qui a de multiples conséquences néfastes (**OMS, 2014**).

Il est traité par l'insuline et les antidiabétiques oraux qui peuvent causer des effets secondaires graves. Pour cette raison et vu leur indisponibilité dans certains cas, les diabétiques se soignent par les plantes médicinales.

# Synthèse bibliographique

---

L'objectif de notre travail est l'évaluation de la recherche sur la contribution des effets des extraits de *Traganum nudatum* sur la captation du glucose par les coupes fines de tissu adipeux isolé à partir du rat Wistar.

## 2. Homéostasie glucidique :

### 2.1. Le pancréas :

Est un organe dont la fonction est double, à la fois endocrine et exocrine. Le pancréas exocrine est responsable de la sécrétion dans le duodénum d'un fluide alcalin contenant une vingtaine d'enzymes digestives (trypsine et chymotrypsine par exemple). Au cœur du pancréas exocrine, les cellules endocrines sont regroupées autour des capillaires et forment les îlots de Langerhans qui ne représentent pas plus de 1 à 3% de la masse totale du pancréas. Les îlots de Langerhans sont constitués de quatre types cellulaires capables de sécréter des hormones intervenant dans l'homéostasie du glucose. Les cellules  $\beta$  majoritaires au sein de l'îlot, possèdent chacune en moyenne 10000 granules contenant l'insuline et sont principalement situées au centre de l'îlot (**Eliasson et al., 1997**). Le rôle du pancréas endocrine se situe dans le maintien de l'homéostasie du glucose. Il est capable de sécréter des hormones hyper et hypoglycémiantes : l'insuline, le glucagon, la somatostatine et le peptide PP.

Un pancréas humain normal sécrète 40 à 50 unités d'insuline par jour (1UI= 6nM= 35ng/ml). Un taux d'insuline basale à jeune et environ 0.4 ng/ml (ou 69 pmol/l) permet de maintenir l'équilibre métabolique en dehors des repas (**Marie-Luce GuillerminSpahr, 2004**).

Après une élévation aiguë et transitoire de la concentration extracellulaire de glucose, le niveau maximal de la sécrétion d'insuline (60,80  $\mu$ u/ml de plasma) est atteint en quelques minutes, le retour au taux basale se fait en 2 heures (**Permulter L, Salan J L et Collin G, 2003**).

### 2.2. L'insuline

#### 2.2.1. Structure et métabolisme :

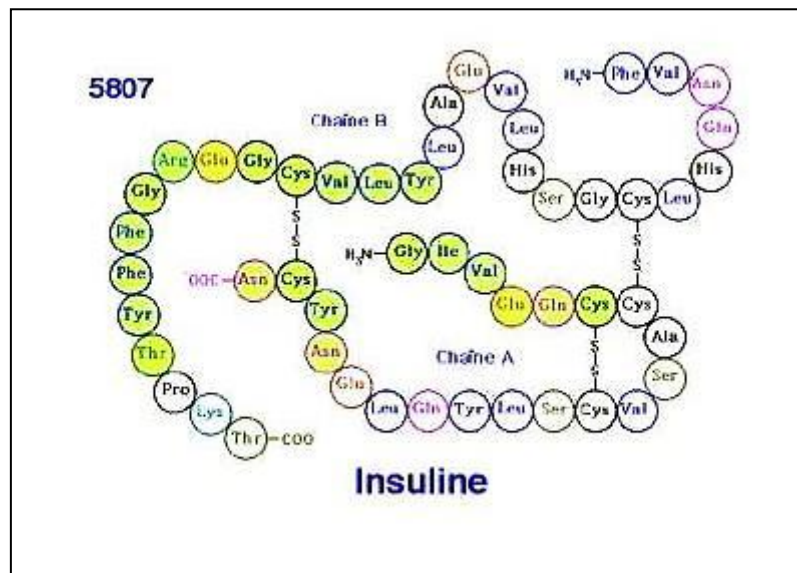
L'insuline est la seule hormone hypoglycémiante, a pour action principale de favoriser : le stockage énergétique du glucose, inhibition de la glycogénolyse, néoglucogénèse à partir des acides aminés et de la lipolyse; l'activation de la glycogénogénèse, la lipogénèse, la synthèse des protéines (**Fernandez R J et al., 2001; Jansson P A et al., 2002**).

L'insuline est une hormone peptidique sécrétée par les cellules bêta des îlots de Langerhans (pancréas endocrine). Un polypeptide de taille plutôt modeste, d'un poids



## Synthèse bibliographique

moléculaire d'environ 6 kDa. Il est constitué de deux chaînes polypeptidiques, la chaîne A (21 acides aminés) et la chaîne B (30 acides aminés), reliées entre elles par deux ponts disulfures qui relient la cystéine A7 et A20 de la chaîne A à leurs homologues B7 et B19 de la chaîne B; en plus d'un pont disulfure intrachaîne relie les acides aminés 6 et 11 de la chaîne A (Permulter L, Salan J L et Collin GO, 2003; Magnan C et Ktorza A, 2005).



**Figure 01** : Schéma structurelle d'insuline (Raisonnier M, 2004).

### 2.2.2. Actions physiologiques de l'insuline

L'insuline stimule le processus anabolique et la mise en réserve de l'énergie. Elle agit essentiellement sur trois organes cibles (foie, tissus adipeux, muscles), et sur le métabolisme glucidique et lipidique des divers tissus périphériques. Son action métabolique générale s'exerce en favorisant l'entrée de certains substrats dans les cellules et en agissant sur le métabolisme cellulaire de ces substrats (Idelman S, 2000).

L'action intracellulaire de l'insuline regroupe la stimulation du transport du glucose, des acides aminés et la modulation de l'activité d'enzyme de métabolisme (Pinget M et Boullu S, 2002).

Elle agit à la fois au niveau hépatique en freinant la production du glucose (diminue la néoglucogenèse et la glycogénolyse) et de stimuler leur stockage sous forme de glycogène; au niveau périphérique en stimulant l'utilisation du glucose par les tissus insulino-dépendants (foie, tissus adipeux, muscles).

## Synthèse bibliographique

---

Elle stimule la captation du glucose dans le muscle squelettique et le tissu adipeux, en favorisant leur stockage sous forme de glycogène et de triglycéride (**Perlemuter L, Salan J L et Collin G, 2003; Zierath J R et Kawano Y, 2003**). Il favorise la lipogenèse et inhibe la lipolyse dans les adipocytes (**Pinget M et Boullu S; 2002**).

L'entrée du glucose dans la cellule en suivant son gradient de concentration est assurée par les transporteurs (**GLUTs**) qui diffèrent selon leur localisation dans l'organisme (**Joost H G et Thorens B, 2001**), ils sont une famille de 14 protéines structurellement apparentées (**GLUT1-14**). Ils sont codés par des gènes distincts et distribués dans les différents organes (**Augustin 2010; Thorens and Mueckler 2010; Rao, Shashidhar et al., 2013**).

Parmi Ces transporteurs ; **GLUT1** : proche de la membrane plasmique; assure principalement le transport basal du glucose.

**GLUT2**: est majoritairement exprimé dans les cellules  $\beta$  du pancréas et au niveau du foie et de l'intestin.

**GLUT3**: participe au transport du glucose au niveau des neurones (**Minokoshi Y, Kahn C R et Kahn B B, 2003**).

**GLUT4**: est intracytoplasmique, représente le principal « système » de transport du glucose recruté à la surface des cellules musculaires et adipeuses (**Bryant N J, Govers R et James D E, 2002; Permulter L, Salan J L et Collin G, 2003**).

En absence d'insuline, seuls les transporteurs GLUT1, présents sur la membrane des cellules musculaires et adipeuses, assurent l'entrée du glucose nécessaire au métabolisme cellulaire (**Antonescu C N et al., 2008; Vassilopoulos S et al., 2010**).

### 2.2.3. Régulation de l'insulinosécrétion:

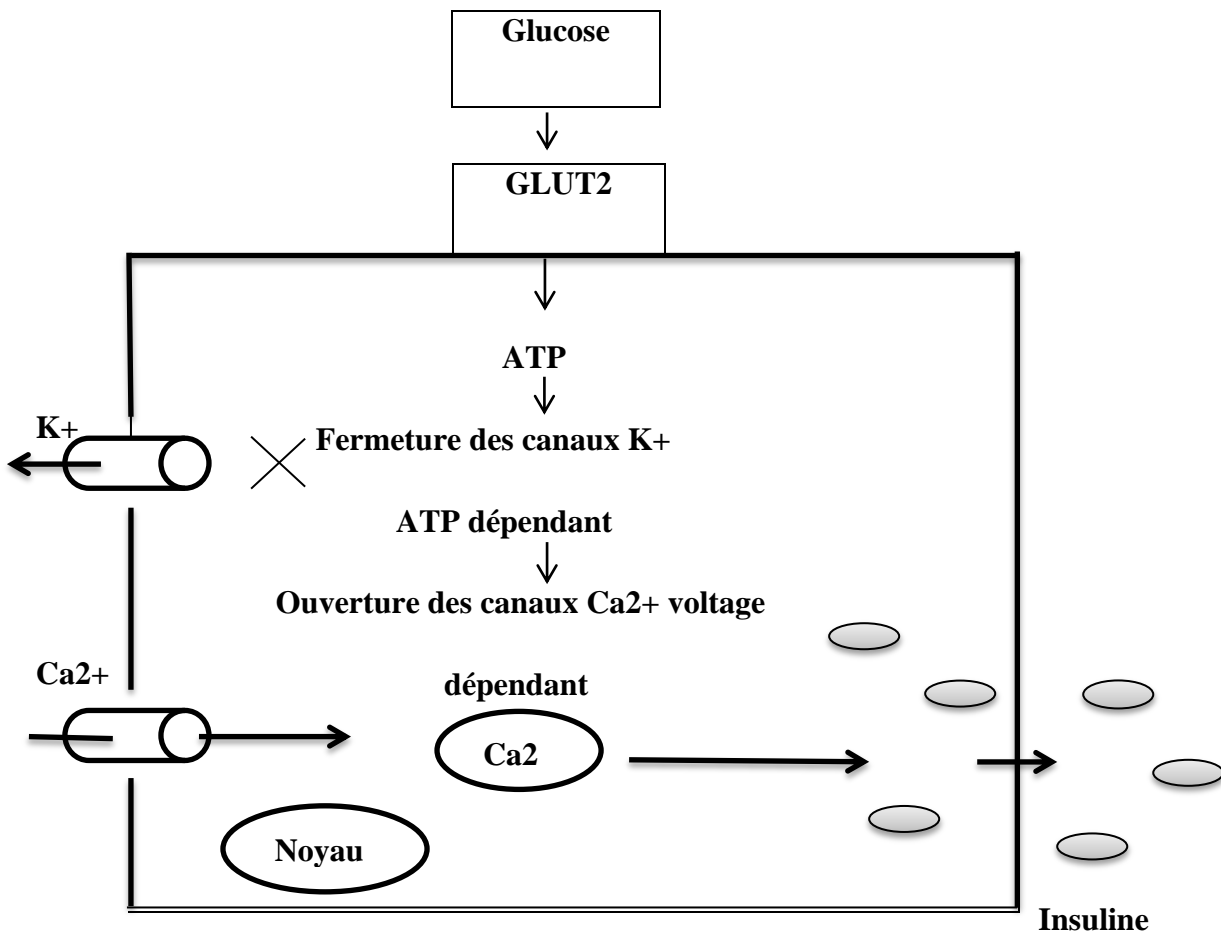
La sécrétion d'insuline est contrôlée par différents substrats comme le glucose, les acides aminés (arginine, leucine, lysine), les acides gras, les corps cétoniques, et les ions. C'est l'augmentation des niveaux plasmatiques de ces substrats qui stimule la libération d'insuline.

Certaines hormones peuvent aussi agir sur la libération d'insuline. Ainsi, le glucagon, l'adrénaline, l'hormone de croissance et les glucocorticoïdes, lesquels à l'opposé de l'insuline ont des actions hyperglycémiantes, réduisent la libération d'insuline (**Capeau J, 2003; Baudin, 2001**).

## Synthèse bibliographique

Le mécanisme de sécrétion de cette hormone est lorsque la glycémie s'élève fait, schématiquement intervenir une augmentation de l'utilisation de glucose par la cellule bêta-pancréatique.

Les molécules de glucose pénètrent dans les cellules  $\beta$  par diffusion passive, mais facilitée par l'existence d'un transporteur membranaire spécifique appelé GLUT2 (**Marie-Luce Guillermin Spahr, 2004**), une production accrue d'ATP et une diminution du rapport ADP/ATP conduisant à la fermeture des canaux  $K^+$  ATP-dépendants. Cela entraîne une dépolarisation cellulaire qui permet l'ouverture des canaux  $Ca^{2+}$  dépendant du voltage (**Maechier P et Wollheim C B, 2000; Henquin J C, 2004**). L'augmentation massive de la concentration cytosolique de  $Ca^{2+}$  est, en définitive, le déclencheur de l'exocytose des grains de sécrétion d'insuline (**Nagazaki M, et al., 2001; Ferré P, 2005**). (Voir figure 02).



**Figure 02 :** Sécrétion d'insuline par les cellules  $\beta$  pancréatiques (**Annicotte J S, 2004**).

## Synthèse bibliographique

### 2.2.4. Voies de signalisation de l'insuline :

L'effet de l'insuline résulte de sa liaison à un récepteur membranaire spécifique exprimé en priorité sur ses trois tissus cibles, le foie, le muscle et le tissu adipeux.

Ce récepteur est une protéine tétramérique formée de deux sous unités  $\alpha$  extracellulaires et deux sous unités  $\beta$  transmembranaires contenant le domaine tyrosine kinase.

La liaison de l'insuline à son récepteur provoque une autophosphorylation de la sous-unité bêta sur un certain nombre de tyrosines. Il s'en suit une phosphorylation de protéines **IRS** et l'activation de deux voies de signalisation. La voie du phosphatidylinositol 3-kinase (**PI-3K**) et la voie des **MAPK** qui permettent la translocation de GLUT4 vers la membrane plasmatique. (Tatulian SA. **Structural Dynamics of InsulinReceptor and TransmembraneSignaling. Biochemistry. 2015;54(36):5523-32**) (Thurmond D C et Pessin J E, 2001). (Somwar R, Perreault M *et al*, 2000)



**Figure 03** : Translocation de transporteur du glucose (GLUT4) sous l'influence de l'insuline (Ducluzeau P H et ai, 2002).

### 3. Tissu adipeux :

Le tissu adipeux est un tissu conjonctif lâche composé de plusieurs types cellulaires et de matrice extracellulaire (MEC) (fibres de collagène, entre autres) (Ahima and Flier 2000), présent en grande quantité chez les mammifères, est surtout connu pour ces deux principaux rôles :

## Synthèse bibliographique

---

❖ La capacité de stocker les réserves de l'organisme sous forme de triglycérides dans des cellules hautement spécialisées, les adipocytes.

❖ Sécrétoire et endocrine: la sécrétion des molécules biologiquement actives, collectivement appelées "adipokines" et d'autres hormones dont les principales sont : la leptine, l'adiponectine (la protéine la plus produite) l'angiotensinogène, l'interlukine-6 (IL-6) et l'inhibiteur de l'activation du plasminogène (**Ritchie, 2004**).

Les adipocytes, principales cellules composant le tissu adipeux, sont les seules cellules qui sont spécialisées et parfaitement adaptées pour accumuler les lipides sans compromettre leur intégrité fonctionnelle grâce à leur machinerie enzymatique appropriée (**Fonseca-Alaniz et al., 2007**). Il existe deux types de tissu adipeux qui sont fondamentalement différents par leur distribution, leurs fonctions et leur histologie : le tissu adipeux brun et le tissu adipeux blanc.

### 3.1. Tissu adipeux blanc :

Le tissu adipeux blanc est le tissu adipeux prédominant chez les mammifères. Il représente entre 9 et 18 % du poids corporel chez un homme sain et entre 14 et 28% chez une femme saine (**Hausman D. B. et al., 2001**). La distribution du tissu adipeux blanc varie selon les espèces. Bien que le tissu adipeux blanc ne participe pas activement à la thermogénèse, son effet isolant et sa distribution à travers le corps va contribuer à conserver la chaleur corporelle. Il existe des variations importantes entre les différents dépôts de tissu adipeux blanc au niveau de leur structure, de leur composition, de leur métabolisme ainsi que de l'impact qu'ils ont sur les organes environnants (**Kirkland et al., 1996**).

**3.1.1 Les adipocytes du tissu adipeux blanc :** sont les cellules différenciées qui possèdent la machinerie cellulaire nécessaire à l'accumulation des lipides. Leur taille peut varier, mais elle peut atteindre plus de 100 fois celle d'un globule rouge, soit de 60 à 100  $\mu\text{m}$  en moyenne, et même atteindre plus de 120  $\mu\text{m}$  chez les personnes obèses. Les gouttelettes lipidiques contenues dans la cellule peuvent atteindre 85 à 90 % de la masse cellulaire, repoussant les autres constituants du cytosol (organelles, noyau) au pourtour de la cellule. Dans le tissu adipeux, chacun des adipocytes est à proximité de capillaires. Le tissu adipeux est doté d'une grande plasticité qui lui est unique. (**Hauner 2004**).

Pour assurer l'homéostasie glucidique en fonction de l'apport et des dépenses énergétiques, il doit pouvoir s'adapter facilement. Ainsi, en présence d'une balance énergétique positive, l'énergie supplémentaire peut être accumulée sous forme de triglycérides dans les cellules

## Synthèse bibliographique

---

adipeuses existantes (lipogenèse), qu'ils ont la capacité d'exprimer et de réguler le transporteur de glucose dépendant à l'insuline GLUT4 (**Hauner 2004**).

**3.2. Le tissu adipeux brun :** joue un rôle important dans la régulation de la thermogénèse grâce à la grande quantité de thermogénine que l'on y retrouve. Cette protéine, située dans la membrane interne des mitochondries, agit à titre de canal à protons. Elle permet d'éliminer la différence de potentiel à la membrane, empêchant ainsi la production d'ATP (adénosine triphosphate) par l'ATPase. L'énergie résiduelle est alors libérée sous forme de chaleur (**Cannon and Nedergaard 2004**). La grande quantité de mitochondries dans la cellule peut être à l'origine de leur couleur brunâtre. Les adipocytes composant le tissu adipeux brun ont un diamètre variant entre 30 et 40  $\mu\text{m}$ , contiennent plusieurs gouttelettes lipidiques de tailles variées et ont un cytoplasme relativement abondant (**Fonseca-Alaniz et al., 2007**).

Les humains, tout comme les rongeurs, possèdent des dépôts de tissu adipeux brun. Très localisés, on les retrouve chez les fœtus et les nouveau-nés, dans les régions axillaires, cervicales, périrénales et surrénales (**Cannon and Nedergaard 2004**). Bien que le tissu adipeux brun soit présent tout au long de la vie du rongeur, on croyait traditionnellement que les dépôts chez l'humain s'atrophiaient au cours des premières années de vie de l'enfant, jusqu'à devenir négligeables à l'âge adulte (**Gesta et al., 2007**). Cependant, l'utilisation de la tomographie à émission de positrons au fluorodéoxyglucose (FDG PET) en oncologie a permis de mettre en évidence la persistance de dépôts de gras brun chez l'adulte. (**Nedergaard et al. 2007**). L'intérêt envers ce tissu est grandissant car ce dernier pourrait devenir une cible dans l'élaboration d'un traitement contre l'obésité en tirant profit de la dépense énergétique qu'il entraîne, puisqu'il a été démontré que l'activité du gras brun peut être stimulée chez l'humain (**Ouellet et al., 2012, van Marken Lichtenbelt et al., 2009**).

### 4. Diabète : Syndrome métabolique

Il y a seulement 20ans, il n'existait aucun consensus sur la définition du diabète et chaque école avait ses propres critères de diagnostic, largement discordants (**Velleron et al., 1975**) les critères de diagnostic du diabète, élaborés de 1990 à 1995 par des comités internationaux (**WHO, 1980 ; 1985**) ont permis l'essor de l'épidémiologie du diabète de type 2 sur une base standardisée.

La glycémie est le paramètre central dans le diabète sucré ; c'est le taux de glucose dans le sang (**Ménat, 2005**). Un individu est diabétique quand sa glycémie à jeun est

## Synthèse bibliographique

---

supérieure ou égale à 1.26g/l. On distingue quatre types de diabète sucré suivant la cause de la maladie (étiologie) dont les plus répandus sont le diabète de type 1 et 2 (**OMS, 2016**).

Les diabètes sucrés (types 1 et 2) touchent 422 millions de personnes, selon les données de l'Organisation Mondiale de la Santé, dont le diabète de type 2 (DT2) représente 85 à 95 % de tous les diabètes dans les pays industrialisés (**Thierry M et Harry D, 2010**).

La Fédération Internationale du Diabète prévoit 642 millions de diabétiques d'ici 2040 avec de grandes disparités géographiques (FID 2016).

Une classification du diabète a été proposée par l'American Diabètes Association (**ADA**) comporte :

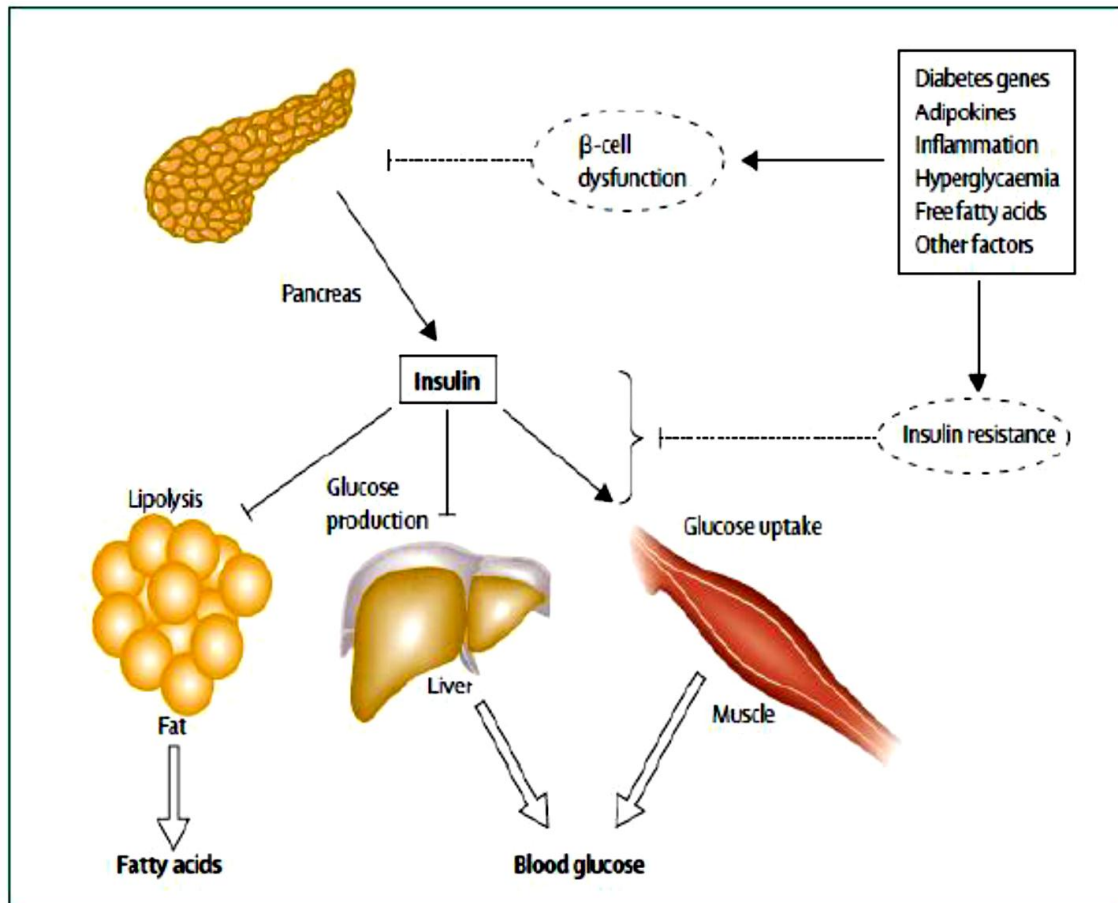
**Le diabète de type 1** : ou diabète insulino-dépendant (DID), (10% des diabétiques), fait habituellement son apparition pendant l'enfance ou au début de l'adolescence (**Cerasi E et ktorza A, 2007**). Il résulte un déficit primaire en général absolu, en insuline dû à la destruction auto-immune des cellules  $\beta$  et une forme idiopathique plus rare. Le déclenchement du processus auto-immune de destruction des cellules  $\beta$  est contrôlé par des facteurs génétiques et environnementaux (**Rodier M, 2001 ; Portha B, 2003**).

L'hyperglycémie apparaît lorsqu'il ne reste plus que 10 à 20% de cellules  $\beta$  fonctionnelles. Le pancréas produit alors peu ou pas du tout d'insuline, ce qui nécessite un traitement à vie par injection d'insuline (**Mohamed H et al., 2002 ; Zalloua P et al., 2002**).

**Le diabète de type 2** (non insulino-dépendant, DNID) : est plus fréquent, et compte pour 90-95 % des diabétiques (**ADA, 2014**). Il se caractérise par une insulino-résistance et souvent un déficit relatif de la sécrétion de l'insuline par les cellules  $\beta$  pancréatiques (**ADA, 2014**).

L'hyperglycémie détectée est la résultante de la diminution de l'utilisation du glucose par les tissus périphériques, notamment le muscle (**Shulman, 2000 ; Shulman et al., 1990**), et une augmentation de la production hépatique du glucose par le foie (**Virally et al., 2007**). Le taux des acides gras est aussi élevé, à cause de la lipolyse accentuée, (**Roden et al., 1996 ; Kovacs et Stumvoll, 2005**).

D'autre part des facteurs génétiques et environnementaux sont aussi à l'origine du DT2 (**Barroso, 2005**). De plus la prédisposition génétique est souvent très forte, mais les mécanismes responsables sont complexes et souvent non complètement bien définis (**ADA, 2014**).



**Figure 04 :** Pathophysiologie de l'hyperglycémie et augmentation des acides gras dans le diabète de type 2. (Stumvoll *et al.*, 2005).

L'action normale de l'insuline produite par le pancréas, s'exprime par la diminution de la production hépatique du glucose, l'augmentation de l'utilisation du glucose par le muscle squelettique, et la suppression de la libération des acides gras par le tissu adipeux. Les différents facteurs responsables de la pathogénèse du diabète de type 2, montrés dans la figure 1 affectent à la fois la sécrétion de l'insuline et l'action de l'insuline. La diminution de la sécrétion de l'insuline, diminue aussi l'effet biologique de l'insuline dans les tissus cibles. L'insulinorésistance affecte la cascade de l'expression de l'insuline, en augmentant le taux des acides gras libres et en provoquant l'hyperglycémie caractéristique du diabète sucré. A leur tour les taux élevés des acides gras et du glucose agissent négativement sur la sécrétion de l'insuline et l'action de l'insuline (Stumvoll *et al.*, 2005).



## Synthèse bibliographique

---

### **Les complications dues au diabète :**

Ils sont de deux types : des complications **aiguës** qui sont très répandues chez le type 1, et d'autres **chroniques** qui se trouvent surtout chez le diabète de type 2 (**Capet et al., 1999**).

**Les complications métaboliques aiguës** du diabète sont présentées par des accidents hypoglycémiques et trois complications hyperglycémiques du diabète : acidocétose diabétique, syndrome d'hyperglycémie hyperosmolaire (anciennement coma hyperosmolaire) et acidose lactique ( **Orban et Ichai, 2008** ).

**Les complications chroniques** induisent des altérations de grandes fonctions vitales. Celles-ci sont dues à l'hyperglycémie et donc aussi fréquentes dans les deux types de diabète. On les décrit habituellement comme complications microvasculaires (rétinopathie, néphropathie, neuropathie) et macrovasculaires (artériopathie et coronaropathie). Ces pathologies participent à la surmortalité liée au diabète (**Vinik A I et al., 2003; Manuel D G et Schultz S E, 2004**).

### **Traitement du diabète :**

Plusieurs thérapeutiques sont à la disposition : un régime alimentaire bien équilibré et une activité physique qui améliore l'hémoglobine glyquée et la composition corporelle. En dehors du régime, le traitement du diabète repose sur l'insuline, les antidiabétiques oraux ou l'association des deux (**ciangura Cécile 2010**).

Le diabète de type 2 nécessite une prise en charge médicamenteuse et cela par l'intervention des antidiabétiques oraux qui sont classés selon leur mode d'action en trois catégories:

## Synthèse bibliographique

**Tableau 01 : les antidiabétiques oraux**

Agents antidiabétiques	Exemples	Mode d'action
<b>Les sulfonylurées</b>	Glibenclamide Gliburide Glimepiride Tolbutamide	Augmentation de la sécrétion pancréatique de l'insuline ( <b>Vicent <i>et al.</i>, 1995. DeFronzo, 1999.</b> )
<b>Les biguanides</b>	Metformine	-Inhibition de la production hépatique du glucose. -Inhibition de l'absorption intestinale du glucose. -Effet possible sur le métabolisme lipidique ( <b>Stumvoll <i>et al.</i>, 1995. DeFronzo, 1999. Tiikkainen et al., 2004. Orban <i>et al.</i>, 2006.</b> )
<b>Les inhibiteurs des <math>\alpha</math>-glucosidases</b>	Acarbose	Inhibition de l'absorption intestinale du glucose. L'alpha-glucosidase est une enzyme de l'intestin grêle, leur inhibition ralentit la digestion des glucides et diminue leur absorption, aboutissant à une baisse de la glycémie post-prandiale. Il existe peu d'effets secondaires et peu de contre-indications pour ces molécules ( <b>Delgado H et ai, 2002; Rosak C, Haupt E et ai, 2002</b> ), ( <b>Krentz and Bailey 2005</b> ).
<b>Les thiazolidinediones</b>	Rosiglitazone	Amélioration de l'action de l'insuline via l'activation des PPAR $\gamma$ qui est un récepteur nucléaire exprimé fortement dans le tissu adipeux ( <b>Elte et Blickle, 2007</b> ), ( <b>Krentz, Bailey <i>et al.</i> 2000</b> ).
<b>Les inhibiteurs des DPP-4 (Gliptines)</b>	Sitagliptine Vildagliptine	Diminution du taux du glucagon Augmentation de la sécrétion de l'insuline ( <b>Ahrén, 2007</b> ).

### 5. Phytothérapie :

Selon le rapport de l'OMS, 80 % de la population mondiale utilise les plantes médicinales pour se traiter de diverses maladies. Ce taux remarquablement élevé, peut être expliqué par l'efficacité thérapeutique de ces remèdes naturels prouvée au sein de la population, et aussi par leur disponibilité et leur faible coût. Cette pratique médicale très ancienne, qui est fondée sur l'utilisation d'extraits de plantes et de principes actifs naturels est connue sous le nom de la phytothérapie (**Schlienger, 2014**).

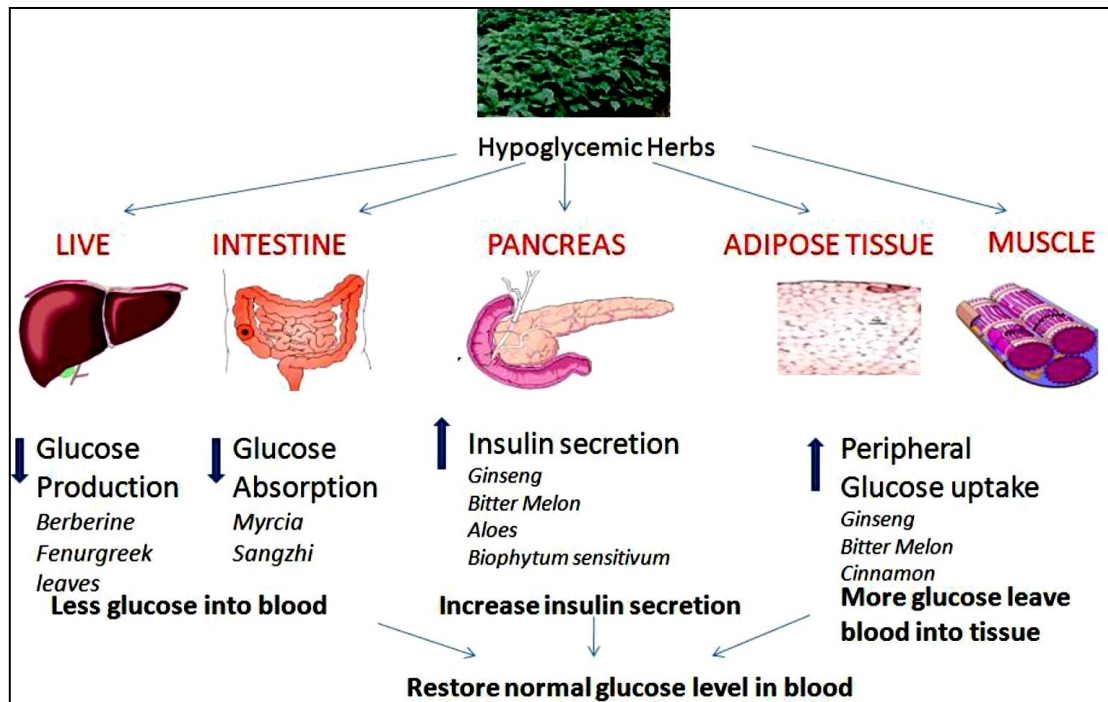
Une des remarquables applications de la phytothérapie, est l'utilisation des plantes médicinales pour le traitement du diabète sucré. Ainsi plusieurs plantes sont utilisées par la population pour maintenir un taux de glucose sanguin dans les normes. Cette pratique a fasciné des chercheurs pour entreprendre des expériences afin de comprendre le mécanisme d'action de ces remèdes naturels et d'en tirer les principes actifs.

Une référence classique est à l'origine de l'émergence de plusieurs études réalisées sur l'activité antidiabétique des plantes médicinales, une étude reporte l'existence de 1123 espèces douées d'un pouvoir antidiabétique, appartenant à 725 genres et 183 familles, les familles les plus citées sont les Chénopodiacées, Fabacées, les Astéracées, les Lamiacées, les Liliacées, les Poacées, et les Euphorbiacées (**Marles et Farnsworth, 1995**).

En effet, cette étude a aussi trouvé que parmi ces plantes utilisées traditionnellement pour le traitement du diabète sucré, il y en a celles qui ont été testées expérimentalement, et 81% d'entre elles ont montré des résultats positifs, ce qui les a mené à constater que ces remèdes naturels représentent une source potentielle pour des nouveaux médicaments antidiabétiques (**Marles et Farnsworth, 1995**).

En Afrique 185 espèces sont aujourd'hui utilisées par la population contre le diabète sucré (**Mohammed et al., 2014**).

Ainsi, les chercheurs et les scientifiques se sont vivement intéressés, à étudier ces plantes médicinales populaires a fin d'une part de prouver et de reproduire leur activité antidiabétique dans les conditions du laboratoire et d'autre part de cerner le (s) principe(s) actif(s), et d'expliquer son (leur) mécanisme d'action, dans un but de trouver de nouveaux médicaments antidiabétiques plus efficaces et avec peu d'effets secondaires, ainsi plusieurs sites d'actions ont été proposés (**Figure 05**).



**Figure 05 :** Les différents sites d’actions de plantes médicinales utilisées pour le traitement du diabète sucré (Hui *et al.*, 2009).

Le premier but dans le traitement du diabète sucré est la diminution du taux du glucose dans le sang. Pour atteindre ce but, les plantes peuvent agir selon trois modalités. La première consiste à la diminution de l’apport du glucose dans le sang, et cela est possible soit par l’inhibition de la production hépatique du glucose (origine endogène du glucose), soit par la diminution de l’absorption intestinale du glucose (origine exogène du glucose).

La deuxième modalité consiste à une augmentation de l’utilisation du glucose par les tissus périphériques notamment le muscle. Enfin la troisième concerne la stimulation de la sécrétion de l’insuline (Hui *et al.*, 2009).

### 6. Principes actifs des plantes :

Le principe actif c’est une molécule contenu dans une drogue végétale ou dans une préparation à base de drogue végétale et utilisé pour la fabrication des médicaments (PELT, 1980). Cette molécule présentant un intérêt thérapeutique curatif ou préventif pour l’homme ou l’animale, elle est issue de plantes fraîches ou séchées, nous pouvons citer comme des parties utilisées: les racines, écorces, sommités fleuries, feuilles, fleurs, fruits, ou encore les graines (BENGHANOU, 2012). Les plantes contiennent des métabolites secondaires peuvent être considérées comme des substances indirectement essentiels à la vie des plantes par contre aux métabolites primaires qu’ils sont les principales dans le développement et la croissance de

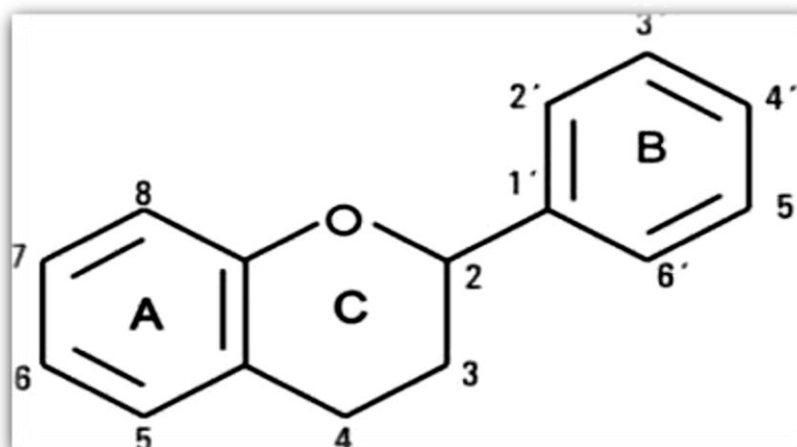
## Synthèse bibliographique

la plante, les métabolites secondaires participent à l'adaptation de la plante avec l'environnement, ainsi à la tolérance contre les chocs (lumière UV, les insectes nocifs, variation de la température ...) (**SARNI-MANCHADO et CHEYNIER, 2006**). Ces composés sont des composés phénoliques, des terpènes et stéroïdes et des composés azotés dont les alcaloïdes.

Les recherches sur les composés phénoliques en générale et les flavonoïdes en particulier sont très poussées en raison de leurs divers propriétés physiologiques comme les activités antiallergique, anti-atherogénique, anti-inflammatoire, hépatoprotective, antimicrobienne, antivirale, antibactérienne, anticarcinogénique, anti-thrombotique, cardioprotective et vasodilatatoire (**MIDDLETON et al., 2000 ; KSOURI et al., 2007**).

### Flavonoïdes:

Les flavonoïdes sont des pigments quasi universels des végétaux, souvent responsables de la coloration des fleurs et des fruits. Ils existent le plus souvent à l'état naturel sous forme d'hétérosides : les flavonosides. Ils sont très largement répandus dans le règne végétal (les fruits, les légumes, les graines ou encore les racines des plantes) (**FIORUCCI, 2006**). Les familles les plus riches en flavonoïdes sont : Fabacées, Chénopodiacées, Myrtacées et Polygonacées (**GHESTEM et al., 2001**). TOUS les flavonoïdes (plus de 6000 structures) possèdent le même élément structural de base : le noyau flavane constitué de deux noyaux aromatique A et B et d'un hétérocycle oxygéné central C (**BRUNETON, 1999 ; REYNAUD et LUSSIGNOL, 2005**).



**Figure 06** : squelette de base des flavonoïdes selon (**BRUNETON et al., 1999**)

## Synthèse bibliographique

---

### **a) Propriétés physico-chimiques :**

#### **a.1) Propriétés physiques**

Les flavonoïdes sont des solides cristallisés (**HARBONE, 1964**). Ils possèdent un spectre d'absorption dans l'ultraviolet avec généralement deux maximums caractéristiques variant avec chaque type flavonique et permettant leur identification (**BRUNETON, 1999**).

#### **a.2) Propriétés chimiques :**

Les flavonoïdes sont solubles dans l'eau surtout à chaud, l'alcool et dans les autres solvants apolaires. Les génines sont peu solubles dans les solutions alcalines (ammoniaque ou potasse) en donnant une coloration jaune qui disparaît par addition d'acide (**BRUNETON, 1999**).

### **b) Propriétés biologiques :**

Les flavonoïdes, ces composés jouent un rôle très important dans le traitement du diabète, de la goutte des inflammations, des hépatites, des tumeurs, de l'hypertension (quercétine), des thromboses (flavonols), des allergies et des affections bactériennes et virales (anti-HIV), et peuvent empêcher les dommages oxydatifs par différents mécanismes d'actions (**HODEK et al., 2002**) ; (**ANDERSON et al., 1996** ; **COWAN, 1999** ; **YAO et al., 2004**).

D'autres part, les citroflavonoïdes (flavonoïdes provenant de divers Citrus) et la fragilité capillaire (insuffisance veino-lymphatique, crise hémorroïdaire) (**HENNEBELLE et al., 2004**).

### **7. Plante étudiée : *Traganum nudatum* Delil**

#### **7.1. Taxonomie :**

**Règne :** végétal

**Embranchement :** Spermaphytes

**Sous embranchement :** Angiosperme

**Classe :** Dicotylédones

**Sous classe :** Apétale

**Ordre :** Centrospermales

**Famille :** Chénopodiacées

**Genre :** *Traganum*

**Espèce :** *nudatum*

### 7.2. Noms de la plante :

Nom Français : Traganum Dénudé

Nom Arabe : الضمران

Nom latin : *Traganum nudatum*

### 7.3. Description botanique :

*Traganum nudatum* est un feuillu vivace de la famille Chénopodiacées, sa hauteur est de 15-40 cm mais elle peut atteindre 1m, des tiges dérivantes, les branches de couleur blanche les feuilles ovale en alternation. La plante présente des chardons jaunes courbées vers le bas et se termine par une chevelure en coton qui couvre les fleurons et les nouvelles tiges après la disparition des feuilles (**Boumlik, 1995**). La floraison de produit durant le printemps en formant de modestes fleurs (**Haba, 2002**).



**Figure 07:** *Traganum nudatum* (**Boumlik, 1995**).

### 7.4. Répartition géographique et habitat :

*Traganum nudatum* est une plante endémique désertique qui pousse dans les régions sableuses. Elle recouvre une grande surface des wilayas d'Ouargla, El-Oued, Ghardaïa et Tébessa au nord centre du Sahara (**Boumlik, 1995**).

### 7.5. Les utilisations curatives du *Traganum nudatum* :

De diverses maladies sont traitées par cette plante, citons:

- Traitement du diabète (**Bouallala et al., 2014 ; Alia Telli et al., 2015**)
- Traitement des plaies et les maladies cutanées
- Traitement des hémorroïdes
- Traitement des différentes formes du rhumatisme.
- Traitement des maux du dos particulièrement les lombalgies.
- Traitement des diarrhées et les exténuations.
- Traitement des otites.

Le mélange de la plante avec le henné et une matière savonneuse est utilisé pour le traitement des blessures et les tuméfactions cutanés (**Boumlik, 1995**)

### 7.6. Etudes chimiques antérieures :

Les renseignements recensés de cette plante sont très maigres malgré son utilisation dans la médecine traditionnelle particulièrement dans le Sahara Algérien.

Deux études ont été menées à l'évaluation antioxydante et antimicrobienne de différents extraits aqueux et organiques, et en révélés un bon effet antiradicalaire comparé à celui du tocophérol et de l'acide ascorbique et une sensibilité de bactérie à Gram positif meilleure que les bactéries de Gram négatif (**Labed B., Kalla A., 2012**).



# Matériel et Méthodes

## Matériel et méthodes

### I- Analyse phytochimique

#### 1. Matériel végétal :

La plante (*Traganum nudatum*) a été récoltée durant le mois de Novembre 2016 dans la région d'Ain Sefra, Wilaya de Naâma, Sud-Ouest algérien.

Au laboratoire, la partie aérienne de la plante a été mise à sécher à l'ombre et à température ambiante pendant plusieurs jours, ensuite elle a été broyée finement, la poudre végétale ainsi récupérée a été stockée soigneusement dans un endroit bien aéré, à température ambiante et à l'abri de la lumière.

#### 2. Préparation des extraits

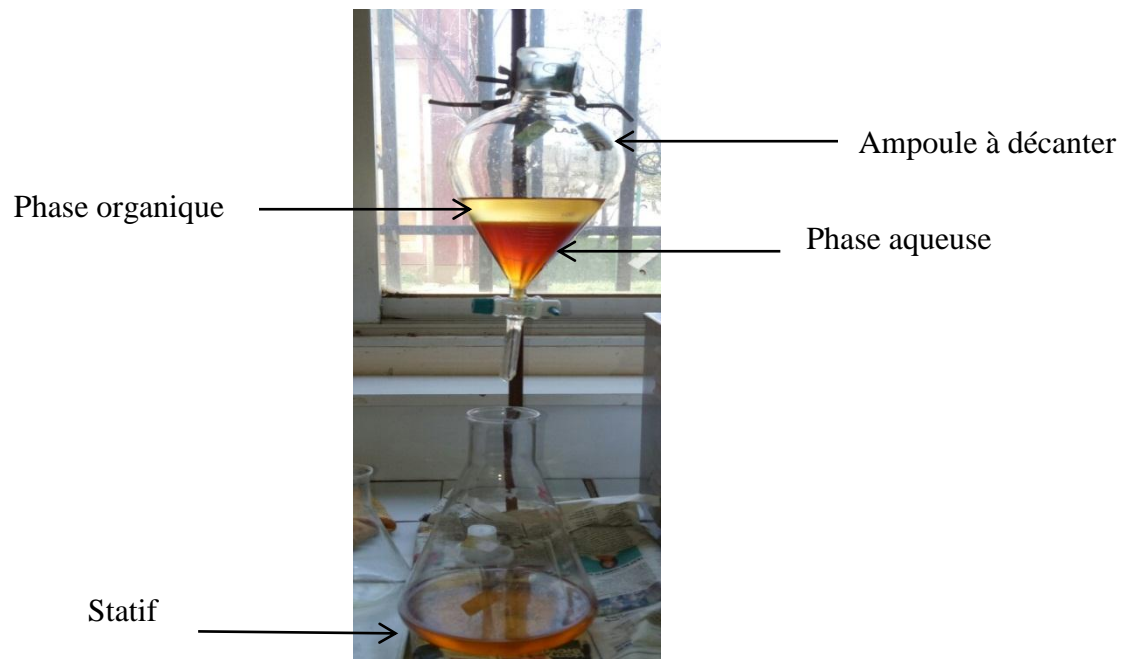
##### 2.1 Préparation des extraits bruts “ Extraction Solide-liquide”

###### 2.1.1 Macération

10g de poudre végétale ont été macérés à température ambiante pendant 72h dans 100ml de solution aqueuse de méthanol à 80/20 v/v sous agitation. Les mélanges sont filtrés puis évaporés à l'aide d'un évaporateur rotatif sous pression réduite à une température 60°C afin d'obtenir des extraits secs (**Harborne et al., 1998**).

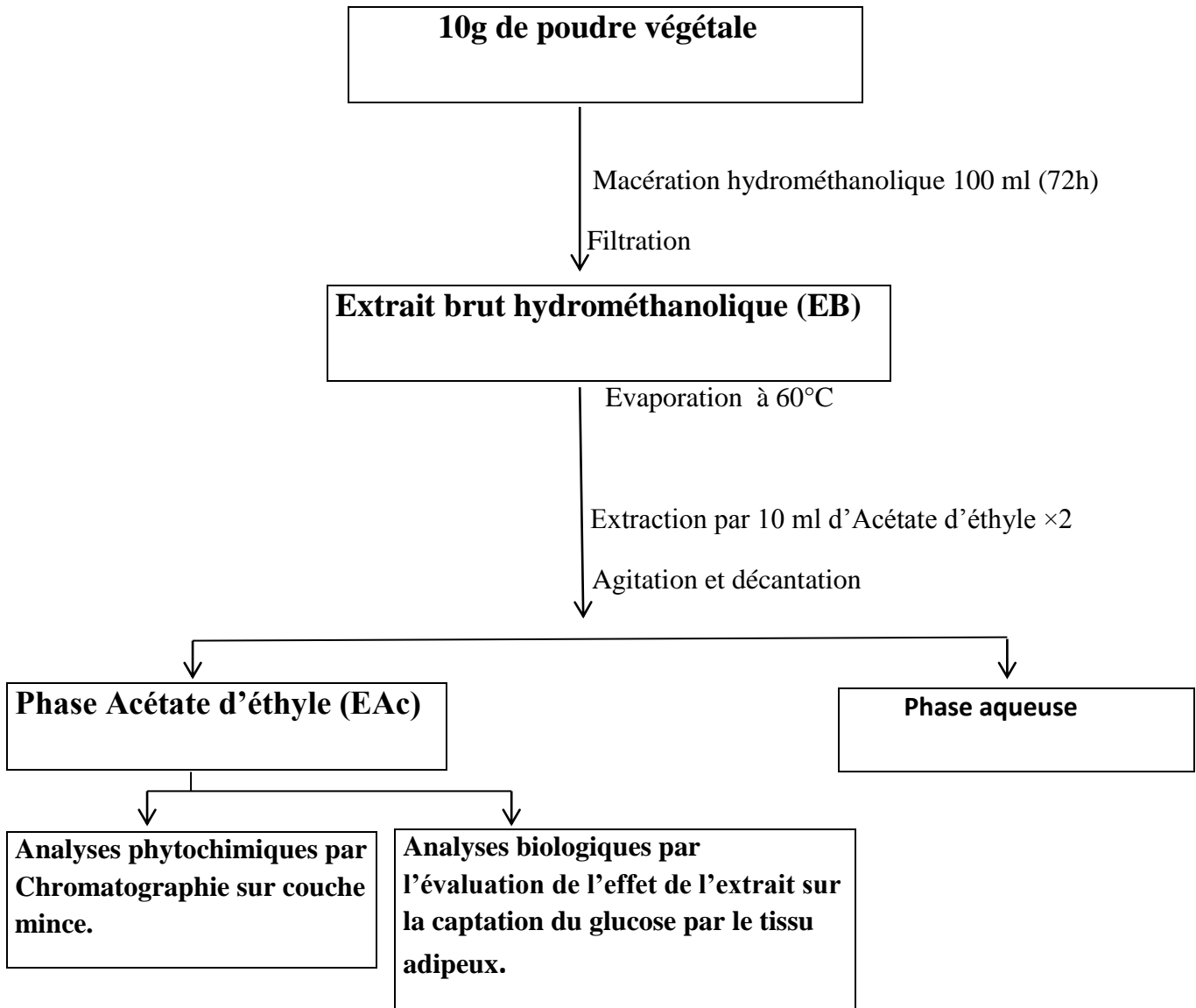
##### 2.2 Extraction liquide-liquide des flavonoïdes

Les résidus secs obtenus par évaporation des filtrats hydrométhanoliques, sont partagés entre 10ml d'acétate d'éthyle et le même volume d'eau distillée dans une ampoule à décanter. Après agitation et décantation des deux phases, la phase organique d'acétate d'éthyle est récupérée et la phase aqueuse est à nouveau partagée avec 10 ml d'acétate d'éthyle. La phase d'acétate d'éthyle est récupérée, additionnée à la précédente et séchée par un évaporateur rotatif sous pression réduite à 60°C. **La figure 09** résume les étapes de fractionnement de l'extrait brut. La série d'extractions permet d'obtenir : l'extrait brut hydrométhanolique (**EB**), la fraction d'acétate d'éthyle (**EAc**). Les extraits sont conservés jusqu'à utilisation.



**Figure 08** : Montage du dispositif d'extraction liquide-liquide

## Matériel et Méthodes



**Figure 09: Procédure de l'extraction des composés phénoliques et des flavonoïdes et analyses phytochimiques et biologique**

### 3. Chromatographie sur couche mince

La chromatographie sur couche mince est une méthode de séparation des composés qui permet d'analyser la complexité d'un mélange.

#### Principe :

La chromatographie sur couche mince repose sur les phénomènes d'adsorption, d'interactions et de polarité. Un mélange de composés est placé sur un support solide (phase stationnaire) qui est plongé dans un solvant (phase mobile) qui, par capillarité, se déplace le long de la phase stationnaire. La phase mobile va entraîner les composés qui migreront à une hauteur variant en fonction de leur affinité pour la phase stationnaire et la phase mobile.

## Matériel et Méthodes

On peut ainsi caractériser les composés selon leur  $R_f$  (Rapport frontal : rapport de la distance de migration du composé par rapport à celle du solvant).

Dans le but de procéder à un fractionnement de nos extraits : brut et acétate d'éthyle nous nous sommes basés sur la CCM comme technique d'analyse qualitative afin de nous informer sur la composition éventuelle des extraits de la partie aérienne de la plante *Traganum nudatum* en utilisant certains étalons comme la quercétine et la catéchine.

### Matériel et mode opératoire :

La mise en œuvre d'une CCM nécessite plusieurs étapes :

- Choix de la phase stationnaire : gel de silice fluorescent;
- Activation de la plaque dans l'étuve à 120°C pendant 20min ;
- Choix de la phase mobile ;
  - Système 1: CHCl<sub>3</sub>/MeOH (9/1) (Chloroforme/Méthanol)
  - Système 2: CHCl<sub>3</sub>/MeOH/H<sub>2</sub>O (60/25/0.2) (Chloroforme/Méthanol/Eau)
  - Système 3: CHCl<sub>3</sub>/MeOH/EtOAc/H<sub>2</sub>O (15/20/15/0.05) (Chloroforme/Méthanol/Acétate d'éthyle)
  - Système 4: EtOAc/MeOH/H<sub>2</sub>O (45/45/10), (20/2.7/0.8) (Acétate d'éthyle/Méthanol/Eau)
  - BAW : (10/8/2), (5/0.3/3), (60/15/25) (Butanol/Acide acétique/Eau)
- Saturation de la cuve par les solvants d'élution ;
- Dépôts d'échantillon (extrait brut ; extrait acétate d'éthyle) en petits spots;
- Introduction de la plaque dans la cuve saturée ;
- Suivre le développement du chromatogramme jusqu'à l'arrivée du solvant au front supérieur ;
- Révélation : lampe UV (longueurs d'ondes  $\lambda = 365$  nm) ;
- Délimitation des taches colorées à l'aide d'un crayon ;
- Calcul pour chaque constituant le rapport frontal **Rf** :

$$R_f = \frac{\text{Distance parcourue par le constituant}}{\text{Distance parcourue par le front de l'éluant}}$$

Remarque : les standards utilisés : la quercétine, la catéchine.

# Matériel et Méthodes

## II- Analyse biologique

Notre étude expérimentale réalisée au sein du laboratoire « Antibiotique, Antifongique, Synthèse et Activité Biologique » du département de biologie.

L'objectif de notre travail est de rechercher et d'évaluer l'effet des extraits préparés de la plante *Traganum nudatum* sur la captation du glucose par des coupes fines de tissu adipeux.

### 1. Les animaux et élevage :

Dans ce travail, nous avons utilisé des rats blancs (*Rattus norvegicus*) variété *Wistar* de sexe femelle âgé de 3 à 5 mois ayant un poids de 170 à 250 g.

Les rats sont maintenus dans les conditions favorables d'élevage (au niveau de l'animalerie du département de biologie, faculté des sciences, université Abou Bekr Belkaïd Tlemcen) ; température (25 à 30°C), taux d'humidité entre 60 et 70% et une photopériode de 12 heures le jour et 12 heures la nuit.

Ces animaux sont nourris avec un aliment complet sous forme de granulés fabriqués par l'O.N.A.B. Remchi Wilaya Tlemcen. Il est composé de maïs, tourteaux de soja, issus de meunerie, plus un complexe minéralo- vitaminiques.

L'eau et l'aliment leur sont fournis ad libitum.

### 2. Préparation du milieu d'incubation KRBA :

KRBA (Krebs-Ringer Bicarbonaté Albuminé) est constitué des solutions mères isotoniques au sérum, qui va être utilisé comme milieu d'incubation pour les coupes de tissu adipeux isolées.

Ce milieu est préparé à partir du KRB (Krebs-Ringer Bicarbonaté) à pH 7.4 et de l'albumine Bovine.

Le pH de KRBA est ajusté à 7.4 par 10mM d'Hepes.

Le KRB est conservé à 4°C.

**Tableau 2 : préparation du KRB**

<b>Solutions isotoniques au sérum</b>	<b>Concentration (g/l)</b>	<b>Concentration (mM)</b>	<b>Volume nécessaire (ml)</b>
<b>Na Cl</b>	<b>7</b>	<b>120</b>	<b>1000 ml</b>
<b>Ca Cl2</b>	<b>0.19</b>	<b>1.3</b>	
<b>KCl</b>	<b>0.375</b>	<b>4.8</b>	
<b>KH2PO4</b>	<b>0.16</b>	<b>1.2</b>	
<b>MgSO4</b>	<b>0.295</b>	<b>1.2</b>	
<b>NaHCO3</b>	<b>2.01</b>	<b>24</b>	

## Matériel et Méthodes

---

On prépare à partir du KRBA 4%; le KRBA 4% glucosé à 1g/l et 3g/l.

Le KRBA 4% est utilisé comme milieu d'incubation de nos coupes de tissu adipeux, tandis que le KRBA 1% est utilisé juste pour le lavage.

### **3. Isolement des adipocytes de rats**

#### **3.1. Les rats et dissection**

Nous avons utilisé 05 rats Wistar âgés de 5 mois ayant un poids moyen de 175 g (misent à jeun pendant 16h).

Ils sont sacrifiés par dislocation cervicale et disséqués.

#### **4. Récupération de tissu adipeux et lavage**

Le tissu adipeux épидидymal et surrénale est rapidement prélevé, déposé dans une boîte de pétri en polyéthylène contenant du sérum physiologique (NaCl 9‰), nettoyé des vaisseaux sanguins et caillot de sang et puis pesé et découpé en petits morceaux sous forme de coupes très fines.

Les coupes sont lavées 2 à 3 fois avec le KRBA 1%.

#### **5. Viabilité et numération cellulaire :**

Le but de cette opération est de vérifier l'état des cellules ainsi que le nombre des cellules vivantes par **ml** de suspension et par **g** de tissu adipeux.

Elle est réalisée directement par comptage au microscope optique, à l'aide d'une cellule de Thoma, avec une suspension cellulaire et colorée par le bleu de trypan 0.2%. Ce dernier colore les cellules non viables.

#### **6. Incubation des adipocytes**

Les coupes sont mises à incuber dans différents intervalles de temps (30min, 60min et 90min) à 37°C sous agitation dans des boîtes de culture cellulaire en polyéthylène.

Dans chaque puits, nous avons une masse définie de coupes de tissu (0.2g) avec 1.5 ml de KRBA 4% contenant du glucose (1g/l) et (3g /l).

Des différentes concentrations d'insuline et des extraits sont ajoutées aux puits expérimentaux.

## Matériel et Méthodes

### Isolement et incubation des adipocytes :

Récupération du tissu adipeux après dissection



Mettre le TA dans une boîte de pétri + eau physiologique (NaCl 9‰)

Afin de le nettoyer des vaisseaux et des caillots sanguins



Lavage 3 fois avec KRBA 1%

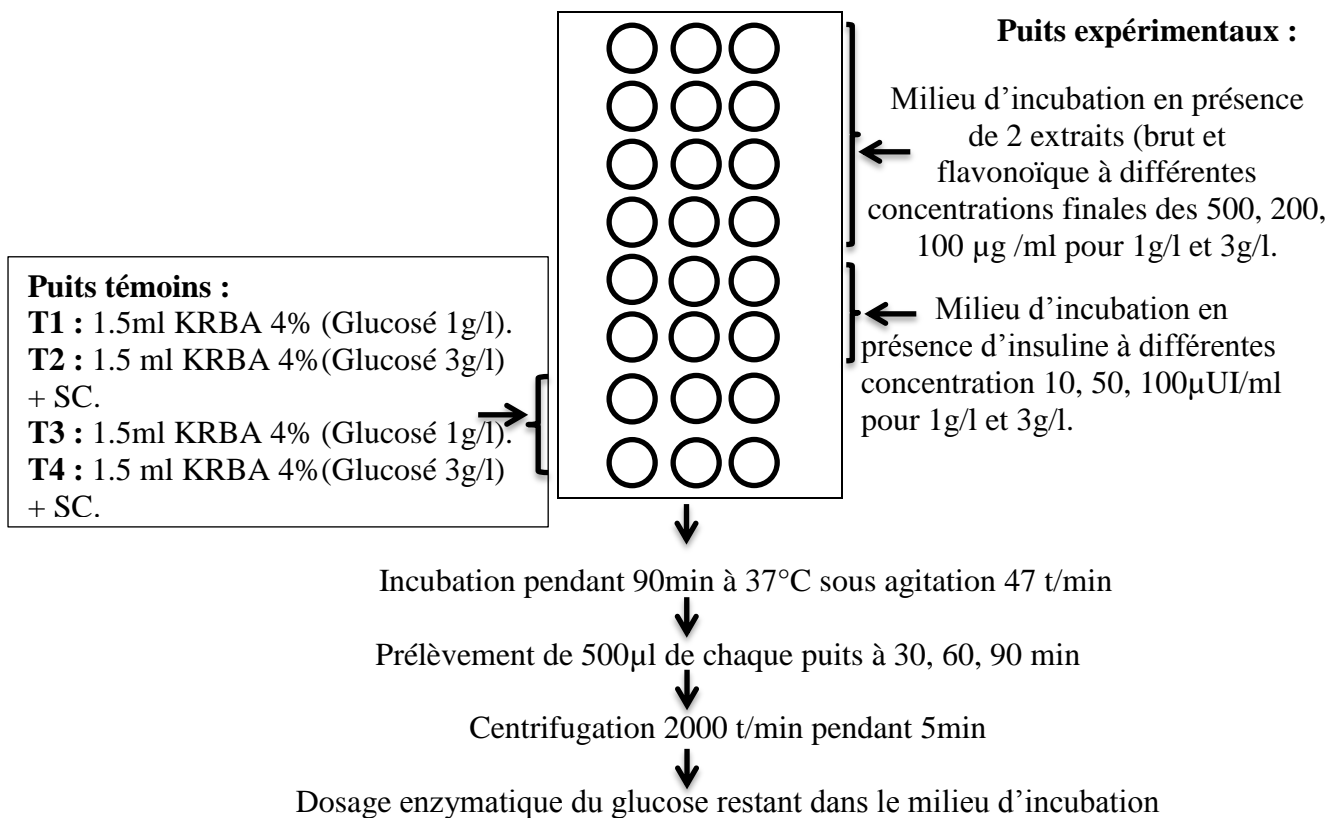


Centrifugation 500 t/min pendant 5min

Récupération du surnageant : TA et découpage en coupes fines



Préparation de la plaque d'incubation de 24 puits



**Figure 10: schéma récapitulatif du mode opératoire de l'incubation des adipocytes (Rodbell, 1964)**



### **Remarques**

L'insuline utilisée est une solution d'insuline humaine bio synthétique à 100UI/ml (Actrapide).

### **Quatre témoins sont utilisés**

- Le milieu d'incubation KRBA 4% contenant du glucose 1g/l est incubé en absence des coupes de tissu adipeux et de l'insuline (T1).
- Le milieu d'incubation KRBA 4% contenant du glucose 3g/l est incubé en absence des coupes de tissu adipeux et de l'insuline (T2).
- Le milieu d'incubation KRBA 4% contenant du glucose 3g/l est incubé en présence des coupes de tissu adipeux (T3).
- Le milieu d'incubation KRBA 4% contenant du glucose 3g/l est incubé en présence des coupes de tissu adipeux (T4).

### **7. Prélèvement des puits**

Après chaque intervalle de temps proposé (30min, 60min et 120min) l'incubation est stoppée, on prélève rapidement à partir de chaque puits 500µl puis on centrifuge pour récupérer 10 µl du surnageant pour le dosage de glucose restant dans le milieu d'incubation.

### **8. Dosage enzymatique du glucose**

Le dosage du glucose restant dans les milieux d'incubation précédemment prélevés se fait à l'aide d'un Kit de dosage enzymatique selon la méthode de **Trinder (1969)**.

Le dosage de glucose est fait en triplicates à chaque temps d'incubation.

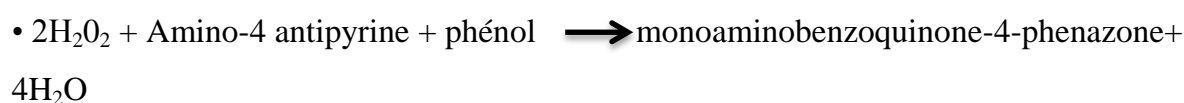
#### **Principe**

En présence de glucose-oxydase (GOD), le glucose est oxydé en acide gluconique et peroxyde d'hydrogène. Ce dernier, en présence de peroxyde (POD) et phénol, oxyde un chromogène (4-aminoantipyrine) incolore en un colorant rouge à structure quinoneimie. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration de glucose.

#### **GOD**



#### **POD**



### Méthode de dosage

	<b>Blanc</b>	<b>Étalon</b>	<b>Sérum</b>
<b>Solution du travail</b>	1 ml	1 ml	1 ml
		10µl	10 µl

On mélange, et on attend 20 mn à température ambiante. Puis on lit la densité optique de dosage à 505nm (DOD) contre la densité optique de l'étalon (DOE).

### Calcul:

$$\text{Taux de glucose} = (D_o D/D0 E) \times \text{lg/l}$$

Les teneurs en glucose sont exprimées en g/l.

### III. Analyse statistique :

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

#### 1. La moyenne :

$$\bar{x} = \frac{1}{n} \sum_i x_i$$

#### 2. L'erreur standard de la moyenne (SEM) :

$$S_m = \frac{\sigma}{\sqrt{n-1}} = \sqrt{\frac{\sum (x - \bar{x})^2}{n(n-1)}}$$

### 3. Test de Student :

Dans les études biologiques il est important de savoir si deux échantillons d'individus ou encore deux ou plusieurs séries de résultats d'expériences ou d'observations doivent être considérés comme réellement différents. Ce test a pour but de comparer deux moyennes :

Pour comparer les deux moyennes on applique le teste de Student, à  $\nu$  degrés de liberté qui dépend de la taille de l'échantillon:

$$\nu = d.l.l = n_1 + n_2 - 2$$

$$t_e = \frac{m_1 - m_2}{\sqrt{\sigma^2 \left[ \frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2} \right]}}$$

Si le  $t$  calculé ou expérimentale est plus élevé que  $t_\nu$  de la table de Student, la différence entre les moyennes des deux échantillons est significative (**Schwartz D, 1992 ; Amotte M, 1971**).

La valeur de « $t$ » nous donne le degré de signification « $p$ » lu sur la table de Student. La différence entre deux moyennes est:

Peu significative :  $P < 0.05$  (\*);

Significative :  $P < 0.01$  (\*\*);

Très significative :  $P < 0.001$  (\*\*\*) ;

Hautement Significative :  $P < 0.0001$  (\*\*\*\*).

# Résultats et interprétation

## Résultats et discussion

### I- Analyse phytochimique :

#### 1- Analyses chromatographique (CCM) :

Les principaux résultats de l'analyse chromatographique des différents extraits préparés à partir de *Traganum nudatum* sont représentés dans le tableau n°3. Plusieurs systèmes éluant ont été utilisés, dont certains ont permis la séparation de quelques taches.

Les systèmes **CHCl<sub>3</sub> /MeOH /EtOAc/H<sub>2</sub>O** (15/20/15/0.05), **EtOAc/MeOH/H<sub>2</sub>O** (45/45/10) (20/2.7/0.8), ont permis une bonne séparation :

- Le premier système **CHCl<sub>3</sub> /MeOH /EtOAc/H<sub>2</sub>O** aux proportions (15/20/15/0.05) a révélé 6 taches pour l'extrait brut (TN mac) et 3 taches pour l'extrait acétate d'éthyle.
- Le deuxième système **EtOAc/MeOH/H<sub>2</sub>O** aux proportions (45/45/10) a permis la séparation de 2 taches dans l'extrait brut (TN mac) et 2 taches pour l'extrait acétate d'éthyle, et autre proportion aux (20/2.7/0.8) a permis la séparation de 3 taches dans l'extrait brut (TN mac) et 5 taches pour l'extrait acétate d'éthyle.

**Tableau 03** : Analyse chromatographique (CCM) des différents extraits TN

	Système (v/v)	Rf		Rf standards	
		TN mac	TN mac ETOAc	QU	Caté
<b>CHCl<sub>3</sub> /MeOH /EtOAc/H<sub>2</sub>O</b>	<b>(15/20/15/0.05)</b>	0	0.48	0.75	0
		0.27	0.57		
		0.38	0.95		
		0.58			
		0.67			
		0.82			
<b>EtOAc/MeOH/H<sub>2</sub>O</b>	<b>(45/45/10)</b>	0.65	0.51	0.71	0.93
		0.78	0.61		
	<b>(20/2.7/0.8)</b>	0	0.06	0.83	0.68
		0.08	0.11		
		0.15	0.16		
			0.45		
			0.76		

## Résultats et discussion

**Rf** : Rapport frontal

**EtOAc** : Acétate d'éthyle

**MeOH** : Méthanol

**CHCl<sub>3</sub>** : Chloroforme

**Caté** : Catéchine

**Qu** : Quercétine.

### II- Analyse biologique :

#### 1- Viabilité et numération cellulaires :

L'observation des adipocytes à l'aide d'un microscope optique et une cellule de Thoma nous a permis de noter que plus de 10 millions de cellules par 1g de tissu adipeux sont vivantes.

#### 2- Captation du glucose par les coupes fines de tissu adipeux :

Etude réalisée *in vitro*, sur des coupes fines de tissu adipeux à partir des rats Wistar femelles.

L'effet de la captation ou consommation du glucose par les coupes fines de tissu adipeux a été évalué en absence ou en présence d'insuline (témoin positif), et des extraits bruts et flavonoïques à différentes concentrations.

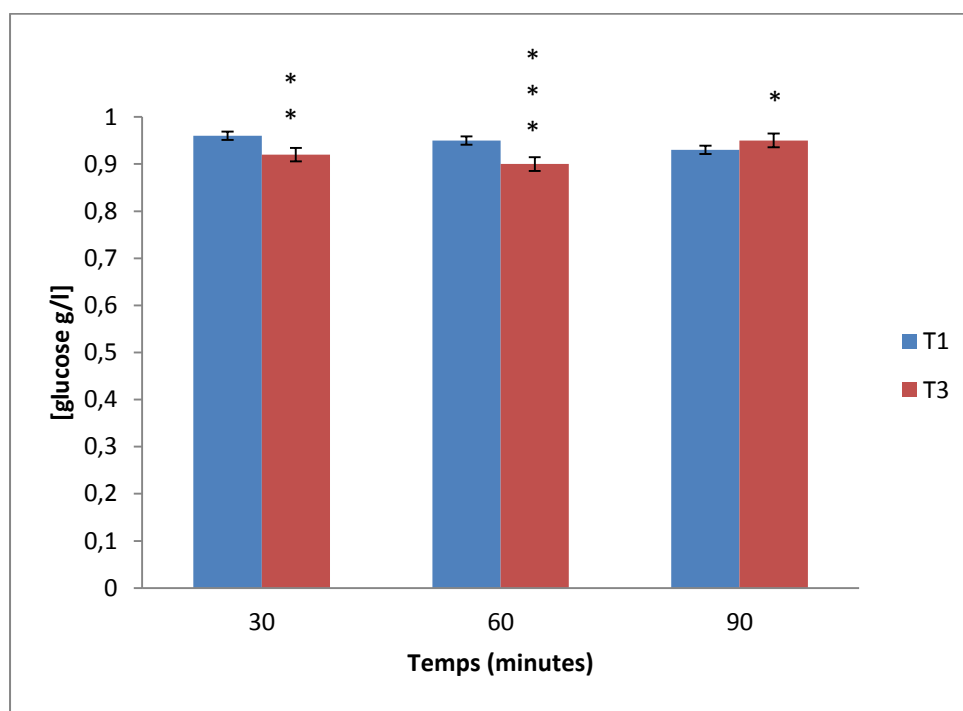
#### 3- Consommation basale du glucose :

**Tableau 04** : Concentration du glucose restant en présence et en absence des coupes fines de tissu adipeux :

Témoins	[Glucose restant dans le milieu d'incubation g/l]		
	30minutes	60minutes	90minutes
T1	0.96	0.95	0.93
T2	2.93	2.89	2.87
T3	0.92	0.90	0.95
T4	2.83	2.8	2.84

## Résultats et discussion

**Figure 11** : représente la concentration de glucose restant dans le milieu d'incubation (KRBA 4% avec 1g/l du glucose : état physiologique normal en absence et en présence des coupes fines de tissu adipeux incubées dans différents intervalles de temps 30, 60 et 90 minutes. Ces essais nous ont permis de vérifier l'état métabolique de nos cellules isolées et leur bon fonctionnement.



**Figure 11** : Concentration du glucose restant dans le milieu d'incubation avec 1g/l du glucose en absence et en présence des coupes fines de tissu adipeux.

- 1) Solution tampon KRBA 4% + Glucose **1g/l** en absence des coupes fines de tissu adipeux (**témoin 1 « T1 »**).
- 2) Solution tampon KRBA 4% + Glucose **1g/l** en présence des coupes fines de tissu adipeux (**témoin 3 « T3 »**).

Peu significative **P<0.05 (\*)**

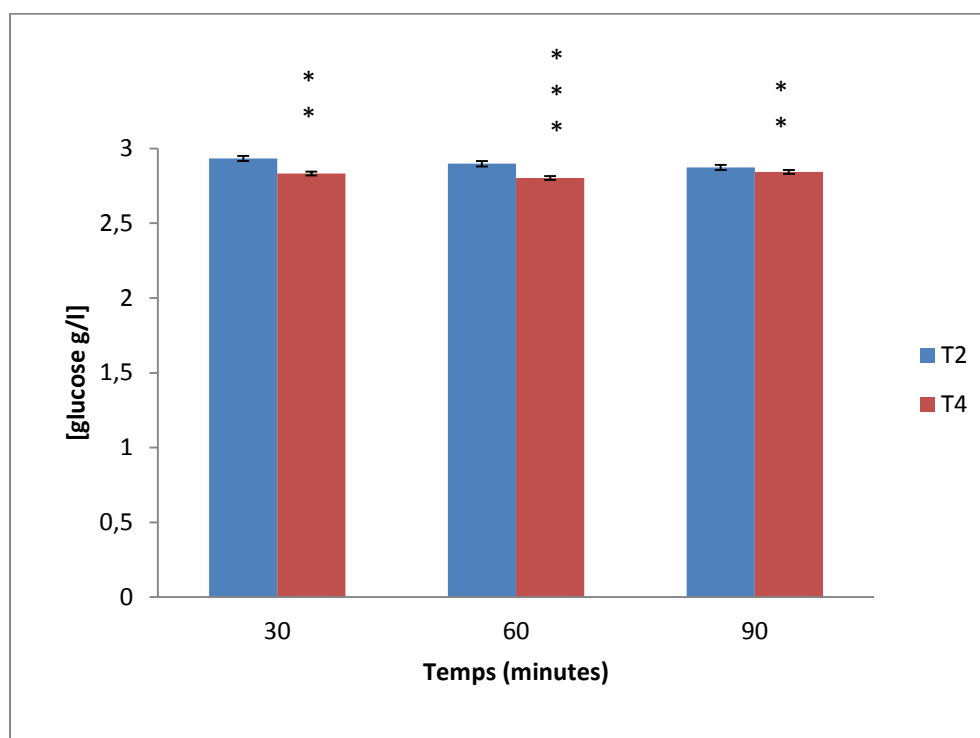
Significative **P<0.01 (\*\*)**

Très significative : **P<0.001 (\*\*\*)**.

Les résultats obtenus (**figure 11**) montrent une diminution significative à 30 minutes, très significative à 60 minutes, et peu significative à 90 minutes du glucose restant dans le milieu d'incubation en présence des coupes fines de tissu adipeux par rapport au témoin (milieu d'incubation avec 1g/l du glucose en absence des coupes fines de tissu adipeux), ce qui montre que nos cellules sont en bon état métabolique, et que nos coupes fines de tissu adipeux ont une consommation basale du glucose relativement importante à 60 minutes, qui est de l'ordre de **0.1g/l**

## Résultats et discussion

**Figure 12** : représente la concentration de glucose restant dans le milieu d'incubation (KRBA 4% avec 3g/l du glucose : état d'hyperglycémie), en absence et en présence des coupes fines de tissu adipeux incubées dans différents intervalles de temps 30, 60 et 90 minutes. Ces essais nous ont permis de vérifier l'état métabolique de nos cellules isolées et leur bon fonctionnement.



**Figure 12** : Concentration du glucose restant dans le milieu d'incubation avec 3g/l du glucose en absence et en présence des coupes fines de tissu adipeux.

- 1) Solution tampon KRBA 4% + Glucose **3g/l** en absence des coupes fines de tissu adipeux (**témoin 2 « T2 »**).
- 2) Solution tampon KRBA 4% + Glucose **13g/l** en présence des coupes fines de tissu adipeux (**témoin 4 « T4 »**).

Significative **P<0.01** (\*\*)

Très significative : **P<0.001** (\*\*\*)

Les résultats obtenus (**figures 12**) montrent une diminution significative à 30 minutes, très significative à 60 minutes, et significative à 90 minutes du glucose restant dans le milieu d'incubation en présence des coupes fines de tissu adipeux par rapport au témoin (milieu d'incubation avec 3g/l du glucose en absence des coupes fines de tissu adipeux), ce qui montre que nos cellules sont en bon état métabolique, et que nos coupes fines de tissu adipeux ont une consommation basale du glucose relativement importante à 60 minutes, qui est de l'ordre de **0.2g/l** du glucose dans le milieu d'incubation avec 3g/l du glucose.



## Résultats et discussion

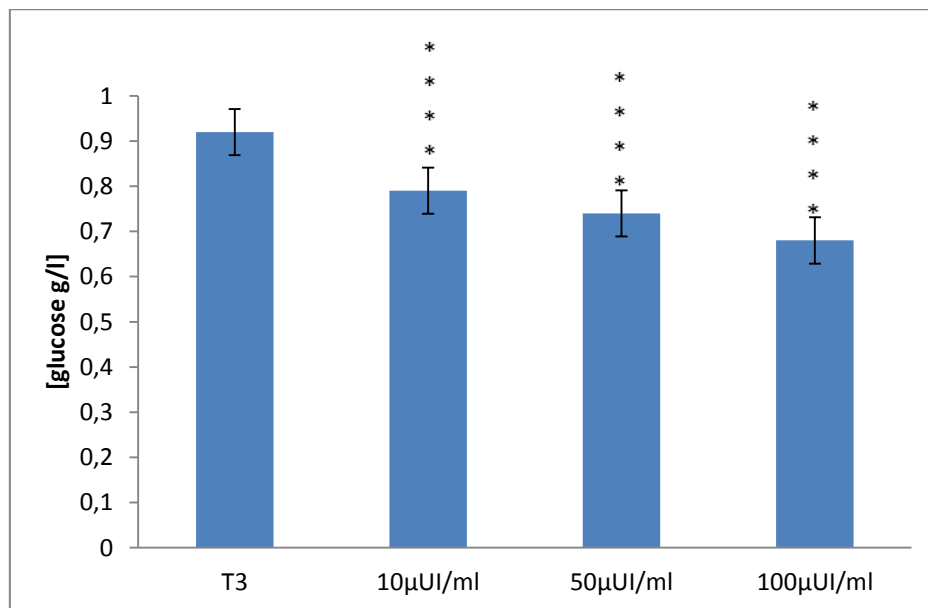
### 4-Effet d'insuline sur la captation du glucose par les coupes fines de tissu adipeux :

#### A- la concentration de 1g/l de glucose dans le milieu d'incubation :

**Tableau 05 :** Concentration du glucose restant dans le milieu d'incubation en présence des coupes fines du tissu adipeux et de différentes concentrations d'insuline (Glucose 1 g/l) :

Insuline ( $\mu$ UI/ml)	[Glucose restant dans le milieu d'incubation (g/l)]		
	30min	60min	90min
10	0.79	0.70	0.80
50	0.74	0.65	0.75
100	0.68	0.61	0.70

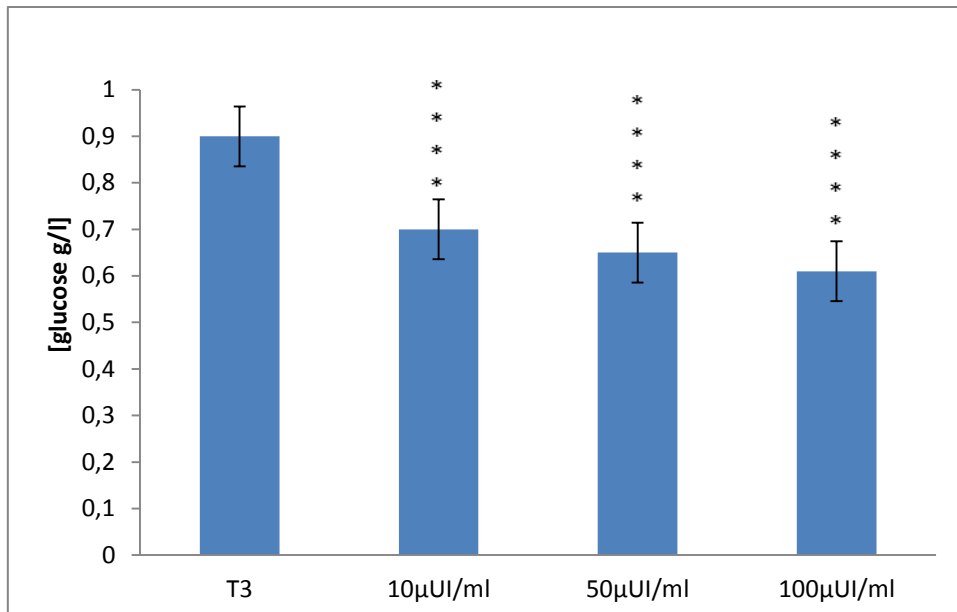
Les figures 13, 14, 15 qui suivent représentent l'effet de l'insuline à différentes concentrations sur la consommation du glucose dans le milieu d'incubation 1g/l en fonction du temps (30minutes, 60minutes, 90minutes) par rapport au témoin.



**Figure 13 :** Concentration du glucose restant dans le milieu d'incubation avec 1g/l du glucose en présence de différentes concentrations d'insuline pendant 30 minutes.

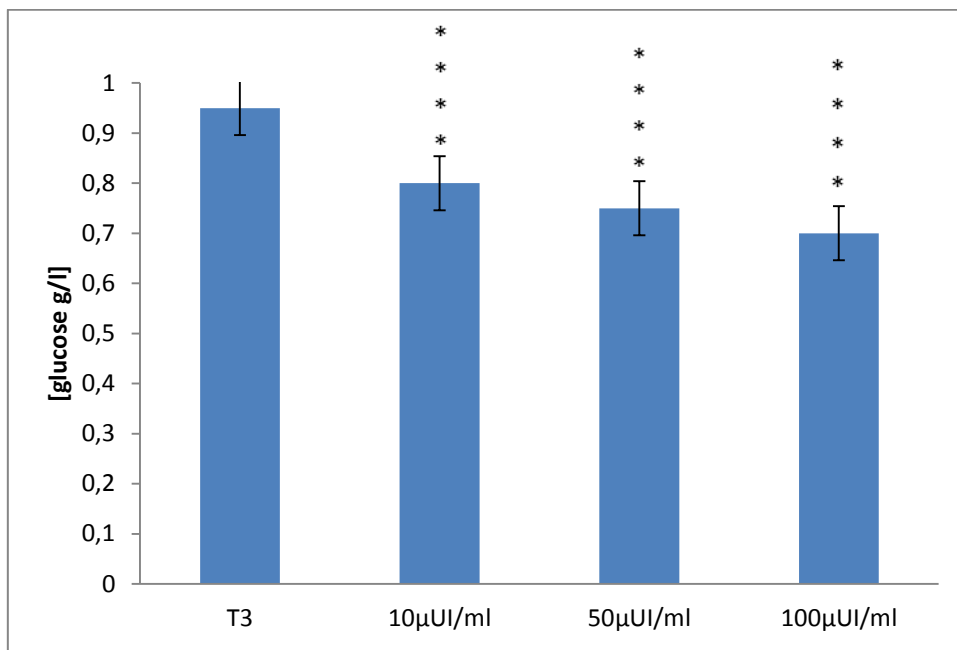
Hautement significative  $P < 0.0001$  (\*\*\*\*). 30<sup>(1)</sup>, 60<sup>(2)</sup>, 90<sup>(3)</sup> minutes

## Résultats et discussion



**Figure 14 :** Concentration du glucose restant dans le milieu d'incubation avec 1g/l du glucose en présence de différentes concentrations d'insuline pendant 60 minutes

Hautement significative  $P < 0.0001$  (\*\*\*\*).



**Figure 15 :** Concentration du glucose restant dans le milieu d'incubation avec 1g/l du glucose en présence de différentes concentrations d'insuline pendant 90 minutes.

Hautement significative  $P < 0.0001$  (\*\*\*\*).

Les résultats obtenus (figures 13, 14, 15) montrent qu'en présence d'insuline à 10, 50, 100 µUI/ml la consommation du glucose dans le milieu d'incubation (1g/l) est hautement significative, ce qui confirme que l'insuline active la pénétration du glucose dans les adipocytes.

## Résultats et discussion

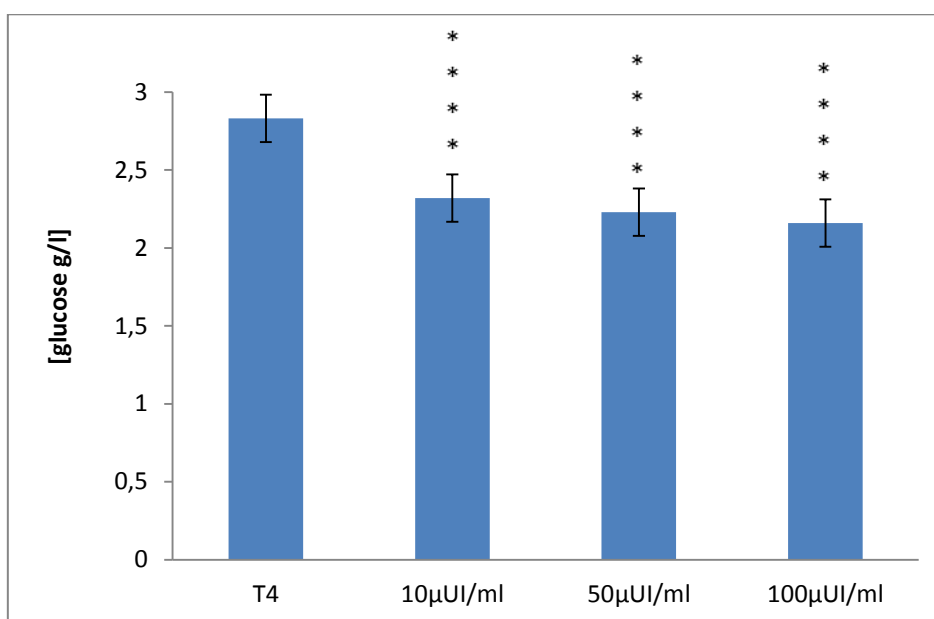
Nous remarquons que l'augmentation de la captation du glucose est maximale à la concentration 100  $\mu$ UI/ml d'environ 39% à 60 minutes par rapport au milieu témoin (contenant des adipocytes incubés avec 1g/l du glucose en absence d'insuline).

### B- la concentration de 3g/l de glucose dans le milieu d'incubation :

**Tableau 06 :** Concentration du glucose restant dans le milieu d'incubation en présence des coupes fine du tissu adipeux et de différentes concentrations d'insuline (Glucose 3 g/l) :

Insuline ( $\mu$ UI/ml)	[Glucose restant dans le milieu d'incubation (g/l)]		
	30min	60min	90min
10	2.32	2.2	2.46
50	2.23	2.12	2.28
100	2.16	2.06	2.19

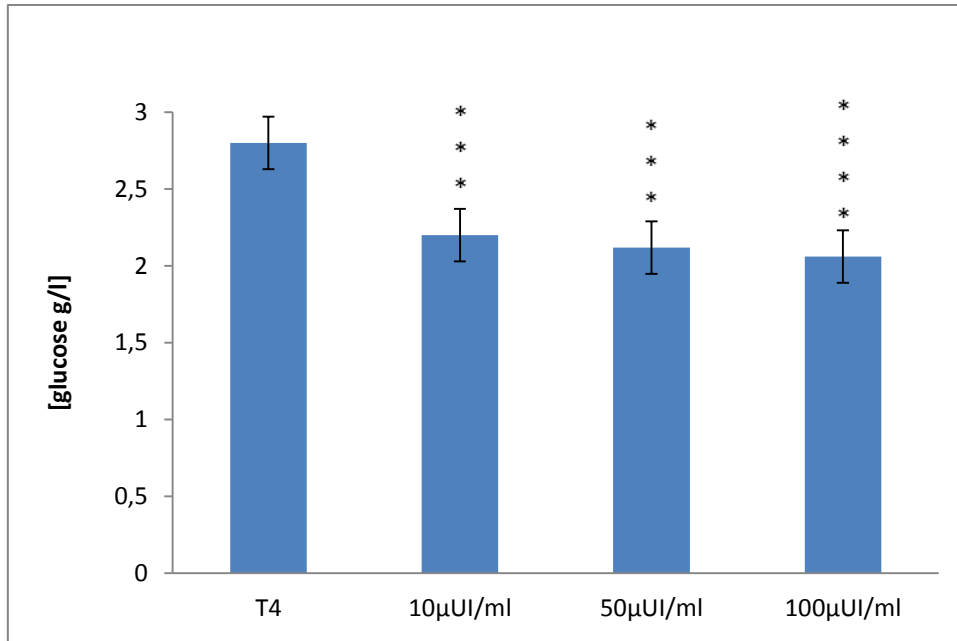
Les figures 16, 17, 18 qui suivent représentent l'effet de l'insuline à différentes concentrations sur la consommation du glucose dans le milieu d'incubation 3g/l en fonction du temps (30minutes, 60minutes, 90minutes) par rapport au témoin.



**Figure 16 :** Concentration du glucose restant dans le milieu d'incubation avec 3g/l du glucose en présence de différentes concentrations d'insuline pendant 30minutes.

Hautement significative :  $P < 0.0001$  (\*\*\*\*).

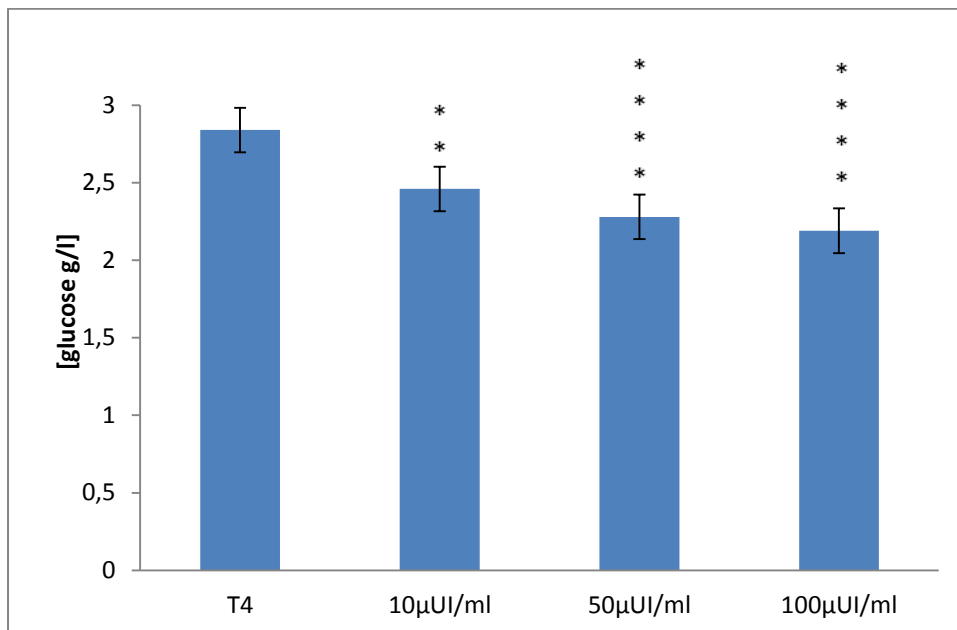
## Résultats et discussion



**Figure 17 :** Concentration du glucose restant dans le milieu d'incubation avec 3g/l du glucose en présence de différentes concentrations d'insuline pendant 60minutes.

Très significative :  $P < 0.001$  (\*\*\*)

Hautement significative  $P < 0.0001$  (\*\*\*\*).



**Figure 18 :** Concentration du glucose restant dans le milieu d'incubation avec 3g/l du glucose en présence de différentes concentrations d'insuline pendant 90 minutes.

Significative :  $P < 0.01$  (\*\*)

Hautement significative  $P < 0.0001$  (\*\*\*\*).

## Résultats et discussion

Les résultats obtenus (figures 16, 17, 18) montrent qu'en présence d'insuline à 30 minutes : à 10, 50, 100  $\mu\text{UI/ml}$  la consommation du glucose dans le milieu d'incubation (3g/l) est hautement significative (figure16).

Par contre à 60 minutes à 10 et 50  $\mu\text{UI/ml}$  la consommation du glucose dans le milieu d'incubation (3g/l) est très significative, et à 100  $\mu\text{UI/ml}$  est hautement significative (figure17).

Au temps 90 minutes la consommation du glucose dans le milieu d'incubation (3g/l) à 10  $\mu\text{UI/ml}$  est significative, et hautement significative 50, 100  $\mu\text{UI/ml}$  (figure18).

Nous remarquons que l'augmentation de la captation du glucose est maximale à la concentration 100  $\mu\text{UI/ml}$  d'environ 31.3% à 60 minutes par rapport au milieu témoin (contenant des adipocytes incubés avec 3g/l du glucose en absence d'insuline).

### 5-Effet de l'extrait brut sur la captation du glucose par les coupes fines de tissu adipeux :

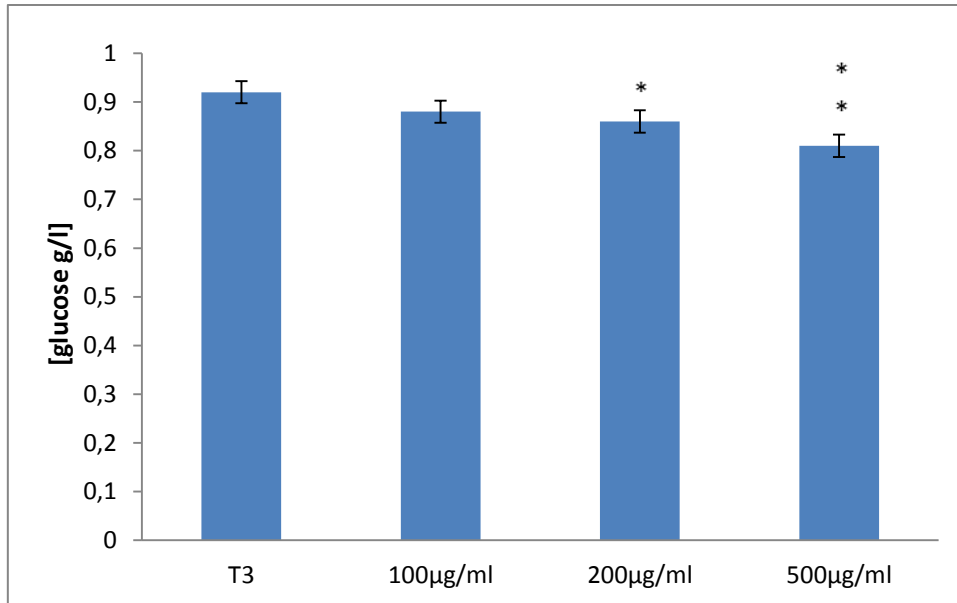
#### A- la concentration de 1g/l de glucose dans le milieu d'incubation :

**Tableau 07** : Concentration du glucose restant dans le milieu d'incubation en présence des coupes fines du tissu adipeux et de différentes concentrations de l'extrait brut (Glucose 1 g/l) :

Extrait brut ( $\mu\text{g/ml}$ )	[Glucose restant dans le milieu d'incubation (g/l)]		
	30min	60min	90min
100	0.88	0.83	0.9
200	0.86	0.81	0.88
500	0.81	0.77	0.85

Les figures 19, 20, 21 qui suivent représentent l'effet de l'extrait brut à différentes concentrations sur la consommation du glucose dans le milieu d'incubation 1g/l en fonction de temps (30 minutes, 60 minutes, 90 minutes) par rapport au témoin.

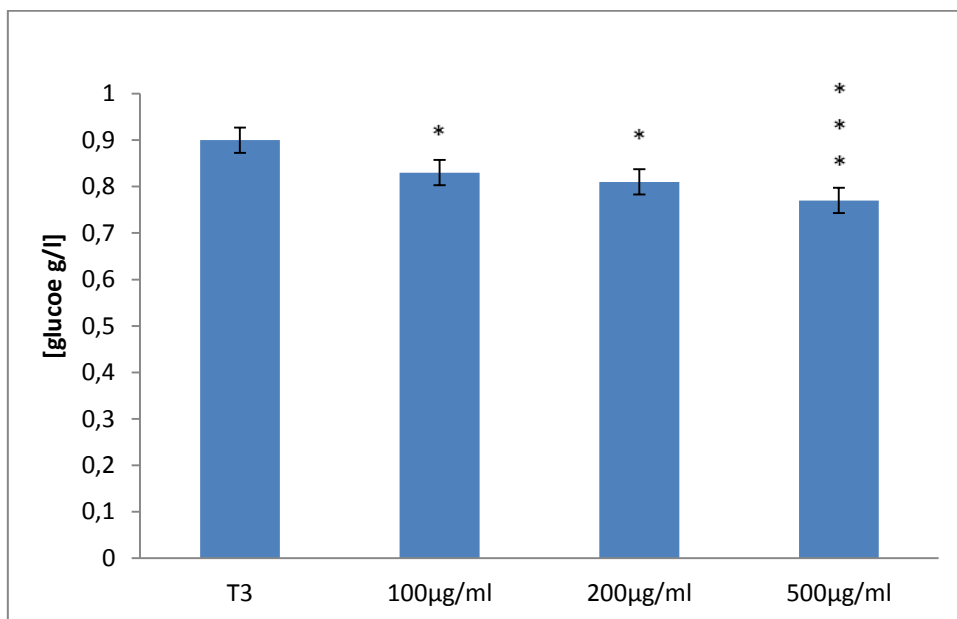
## Résultats et discussion



**Figure 19 :** Concentration du glucose restant dans le milieu d'incubation avec 1g/l du glucose en présence de différentes concentrations de l'extrait brut pendant 30 minutes.

Peu significative  $P < 0.05$  (\*)

Significative :  $P < 0.01$  (\*\*).

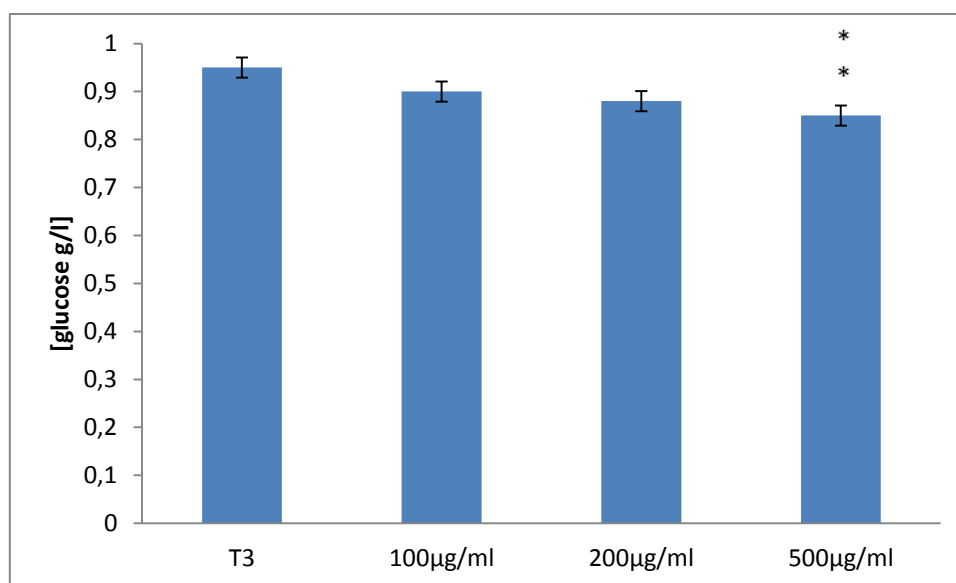


**Figure 20 :** Concentration du glucose restant dans le milieu d'incubation avec 1g/l du glucose en présence de différentes concentrations de l'extrait brut pendant 60 minutes.

Peu significative :  $P < 0.05$  (\*)

Très significative :  $P < 0.001$  (\*\*\*)

## Résultats et discussion



**Figure 21** : Concentration du glucose restant dans le milieu d'incubation avec 1g/l du glucose en présence de différentes concentrations de l'extrait brut pendant 90 minutes.

Significative : **P<0.01 (\*\*)**.

Les résultats obtenus (figures 19, 20, 21) montrent qu'en présence de l'extrait brut pendant 30 minutes la consommation du glucose dans le milieu d'incubation (1g/l) à 200 µg/ml est peu significative, et à 500 µg/ml est significative (figure19).

Par contre à 60 minutes la consommation du glucose dans le milieu d'incubation (1g/l) à 100 et 200 µg/ml est peu significative, et à 500µg/ml est très significative (figure20).

Au temps 90 minutes la consommation du glucose dans le milieu d'incubation (1g/l) à 500 µg/ml est significative (figure21).

Nous remarquons que l'augmentation de la captation du glucose est maximale à la concentration 500 µg/ml d'environ 23% à 60 minutes par rapport au milieu témoin (contenant des adipocytes incubés avec 1g/l du glucose en absence de l'extrait brut).

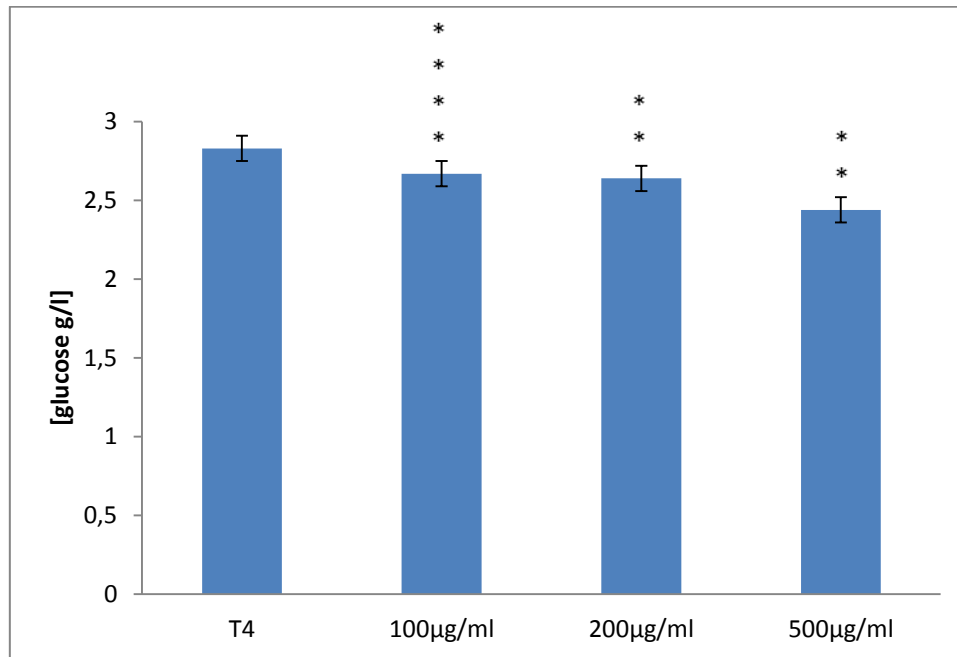
## Résultats et discussion

### B- La concentration de 3g/l de glucose dans le milieu d'incubation :

**Tableau 08:** Concentration du glucose restant dans le milieu d'incubation en présence des coupes fines du tissu adipeux et de différentes concentrations de l'extrait brut (Glucose 3 g/l) :

Extrait brut ( $\mu\text{g/ml}$ )	[Glucose restant dans le milieu d'incubation (g/l)]		
	30min	60min	90min
100	2.67	2.51	2.7
200	2.64	2.46	2.67
500	2.44	2.38	2.59

Les figures 22, 23, 24 qui suivent représentent l'effet de l'extrait brut à différentes concentrations sur la consommation du glucose dans le milieu d'incubation 3g/l en fonction du temps (30minutes, 60minutes, 90minutes) par rapport au témoin.



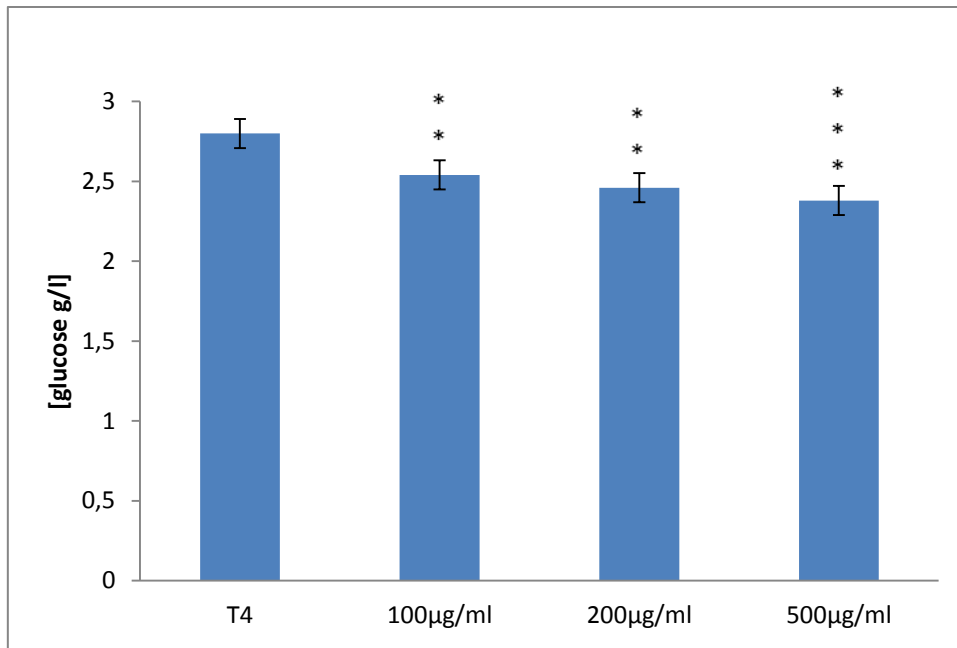
**Figure 22 :** Concentration du glucose restant dans le milieu d'incubation avec 3g/l du glucose en présence de différentes concentrations de l'extrait brut pendant 30 minutes.

Significative :  $P < 0.01$  (\*\*)

Hautement significative  $P < 0.0001$  (\*\*\*\*).



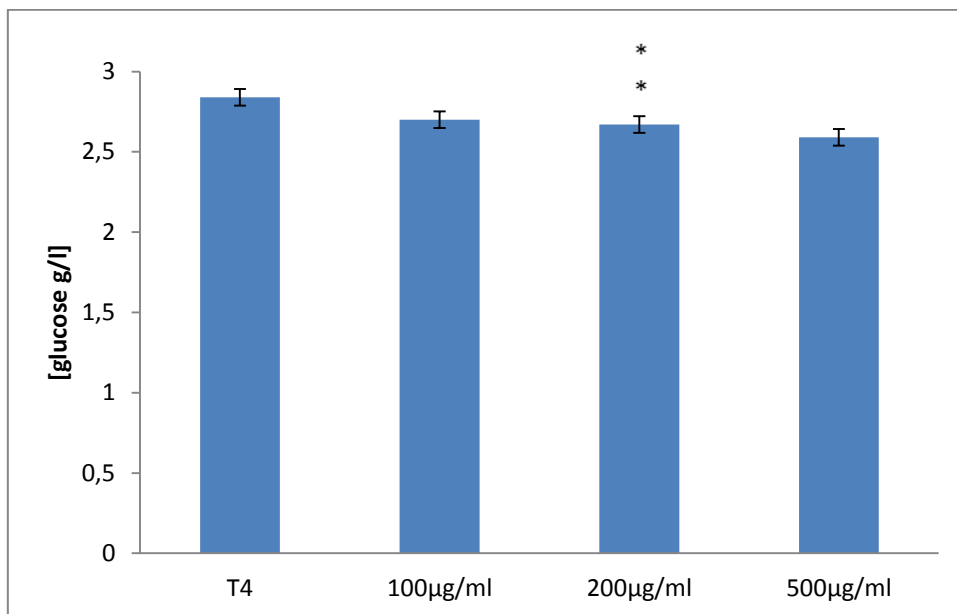
## Résultats et discussion



**Figure 23 :** Concentration du glucose restant dans le milieu d'incubation avec 3g/l du glucose en présence de différentes concentrations de l'extrait brut pendant 60 minutes.

Significative :  $P < 0.01$  (\*\*)

Très significative :  $P < 0.001$  (\*\*\*)



**Figure 24 :** Concentration du glucose restant dans le milieu d'incubation avec 3g/l du glucose en présence de différentes concentrations de l'extrait brut pendant 90 minutes.

Significative :  $P < 0.01$  (\*\*).

## Résultats et discussion

Les résultats obtenus (figures 22, 23, 24) montrent qu'en présence de l'extrait brut pendant 30 minutes la consommation du glucose dans le milieu d'incubation (3g/l) à 100 µg/ml est hautement significative, et à 200 et 500 µg/ml est significative (figure22).

Par contre à 60 minutes la consommation du glucose dans le milieu d'incubation (3g/l) à 100 et 200 µg/ml est significative, et à 500µg/ml est très significative (figure23).

Au temps 90 minutes la consommation du glucose dans le milieu d'incubation (3g/l) à 200 µg/ml est significative (figure24).

Nous remarquons que l'augmentation de la captation du glucose est maximale à la concentration 500 µg/ml d'environ 20.6% à 60 minutes par rapport au milieu témoin (contenant des adipocytes incubés avec 3g/l du glucose en absence de l'extrait brut).

### 6- Effet de l'extrait flavonoïque sur la captation du glucose par les coupes fines de tissu adipeux :

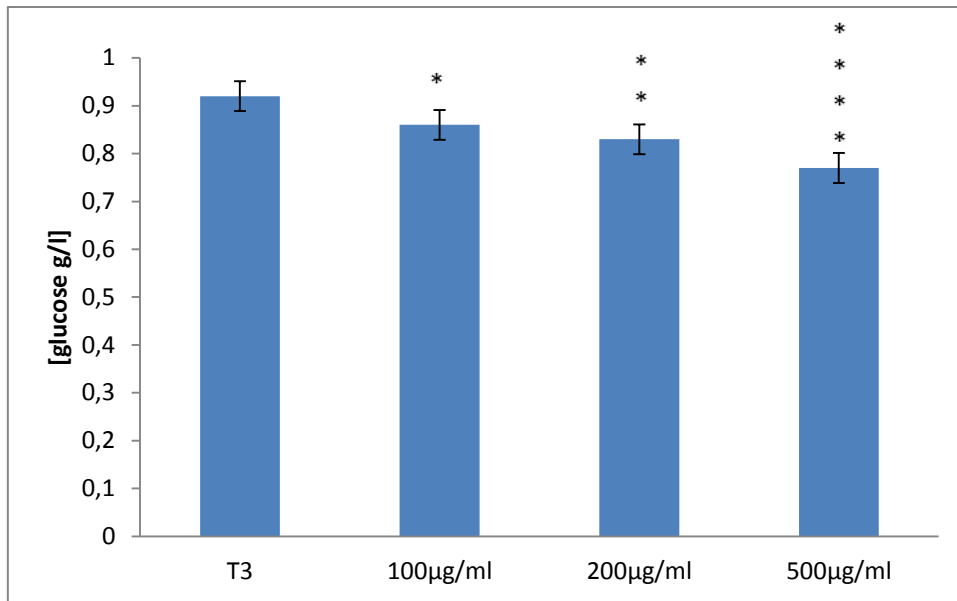
#### A- la concentration de 1g/l de glucose dans le milieu d'incubation :

**Tableau 09** : Concentration du glucose restant dans le milieu d'incubation en présence des coupes fine du tissu adipeux et de différentes concentrations de l'extrait flavonoïque (Glucose 1 g/l) :

Extrait flavonoïque (µg/ml)	[Glucose restant dans le milieu d'incubation (g/l)]		
	30min	60min	90min
100	0.86	0.82	0.91
200	0.83	0.79	0.85
500	0.77	0.76	0.85

Les figures 25, 26, 27 qui suivent représentent l'effet de l'extrait flavonoïque à différentes concentrations sur la consommation du glucose dans le milieu d'incubation 1g/l en fonction de temps (30 minutes, 60 minutes, 90 minutes) par rapport au témoin.

## Résultats et discussion

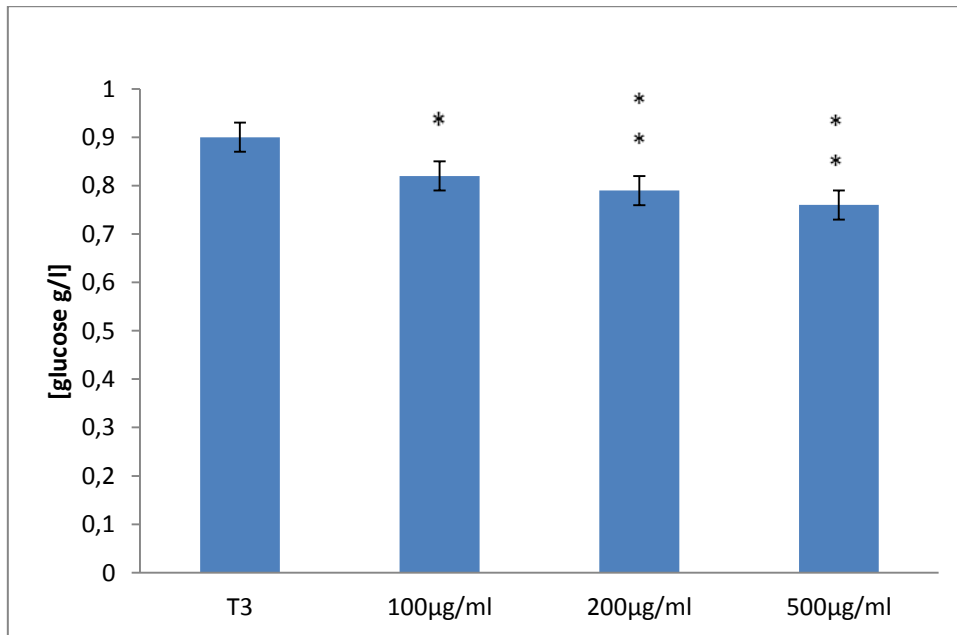


**Figure 25 :** Concentration du glucose restant dans le milieu d'incubation avec 1g/l du glucose en présence de différentes concentrations d'extrait flavonoïque pendant 30 minutes.

Peu significative  $P < 0.05$  (\*)

Significative :  $P < 0.01$  (\*\*)

Hautement significative  $P < 0.0001$  (\*\*\*\*).

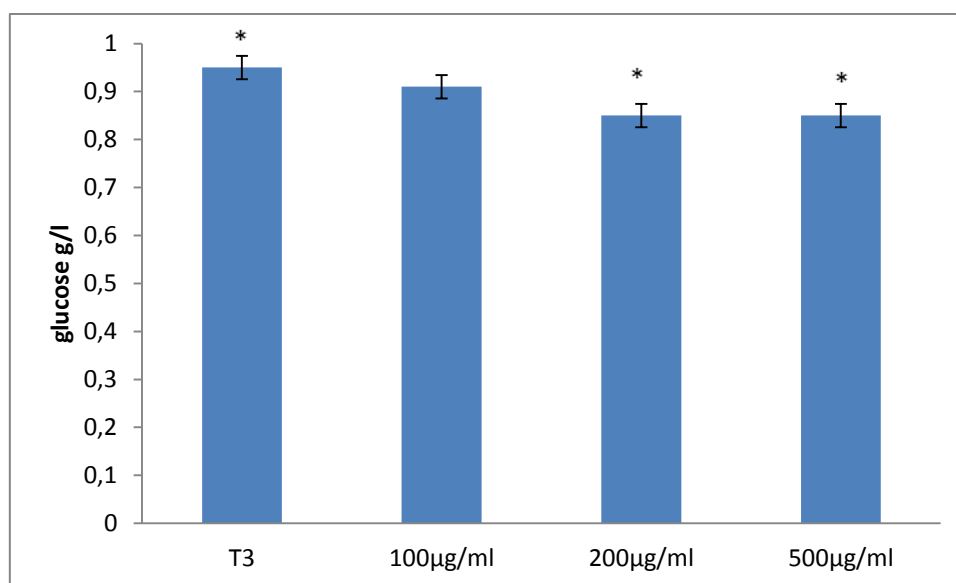


**Figure 26 :** Concentration du glucose restant dans le milieu d'incubation avec 1g/l du glucose en présence de différentes concentrations d'extrait de flavonoïque pendant 60 minutes.

Peu significative  $P < 0.05$  (\*)

Significative :  $P < 0.01$  (\*\*)

## Résultats et discussion



**Figure 27 :** Concentration du glucose restant dans le milieu d'incubation avec 1g/l du glucose en présence de différentes concentrations d'extrait flavonoïque pendant 90 minutes.

Peu significative  $P < 0.05$  (\*)

Les résultats obtenus (figures 25, 26, 27) montrent qu'en présence de l'extrait flavonoïque pendant 30 minutes la consommation du glucose dans le milieu d'incubation (1g/l) à 100 µg/ml est peu significative, à 200 µg/ml est significative, et à 500 µg/ml est hautement significative (figure25).

Par contre à 60 minutes la consommation du glucose dans le milieu d'incubation (1g/l) à 100 µg/ml est peu significative, et à 200 et 500µg/ml est significative (figure26).

Au temps 90 minutes la consommation du glucose dans le milieu d'incubation (1g/l) à 200 et 500 µg/ml est peu significative (figure27).

Nous remarquons que l'augmentation de la captation du glucose est maximale à la concentration 500 µg/ml d'environ 24% à 60 minutes par rapport au milieu témoin (contenant des adipocytes incubés avec 1g/l du glucose en absence de l'extrait flavonoïque).

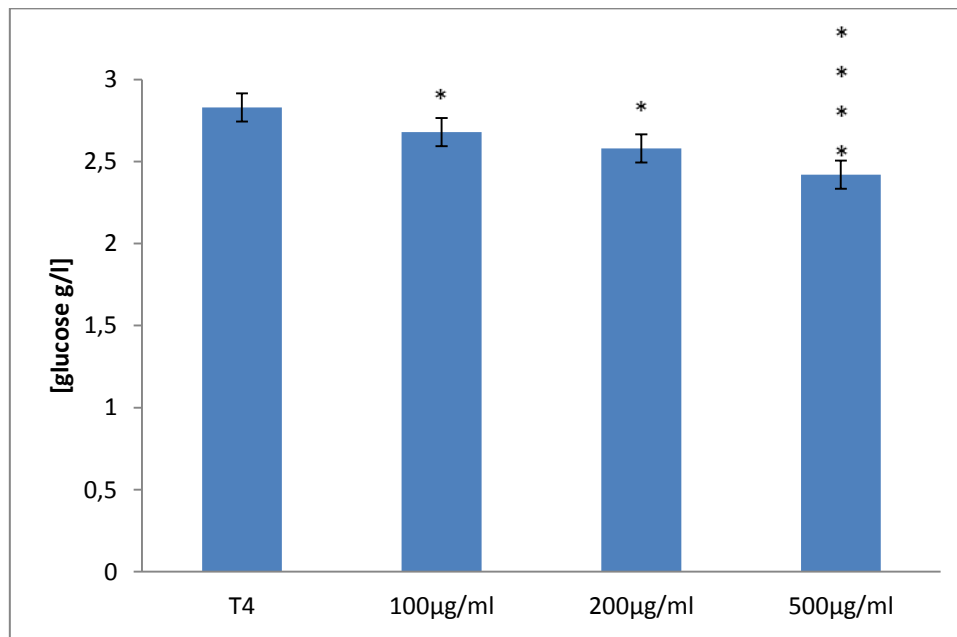
## Résultats et discussion

### B- la concentration de 3g/l de glucose dans le milieu d'incubation :

**Tableau 10** : Concentration du glucose restant dans le milieu d'incubation en présence des coupes fines du tissu adipeux en et de différentes concentrations de l'extrait flavonoïque (Glucose 3 g/l) :

Extrait flavonoïque (µg/ml)	[Glucose restant dans le milieu d'incubation (g/l)]		
	30min	60min	90min
100	2.68	2.48	2.75
200	2.58	2.41	2.64
500	2.42	2.30	2.52

Les figures 28, 29, 30 qui suivent représentent l'effet de l'extrait flavonoïque à différentes concentrations sur la consommation du glucose dans le milieu d'incubation 3g/l en fonction de temps (30 minutes, 60 minutes, 90 minutes) par rapport au témoin.

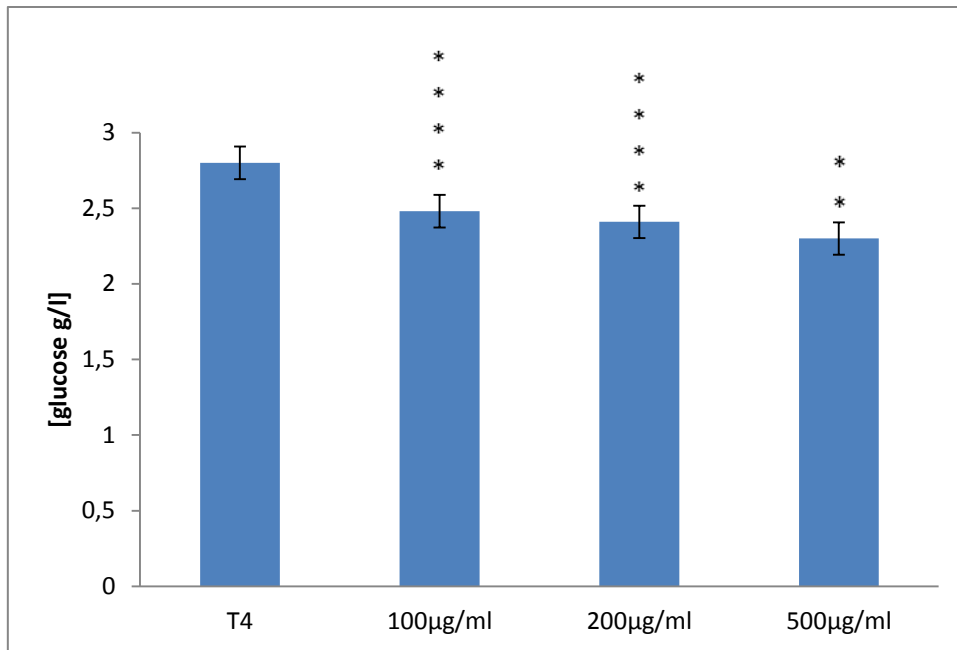


**Figure 28** : Concentration du glucose restant dans le milieu d'incubation avec 3g/l du glucose en présence de différentes concentrations d'extrait flavonoïque pendant 30 minutes.

Peu significative  $P < 0.05$  (\*)

Hautement significative  $P < 0.0001$  (\*\*\*\*).

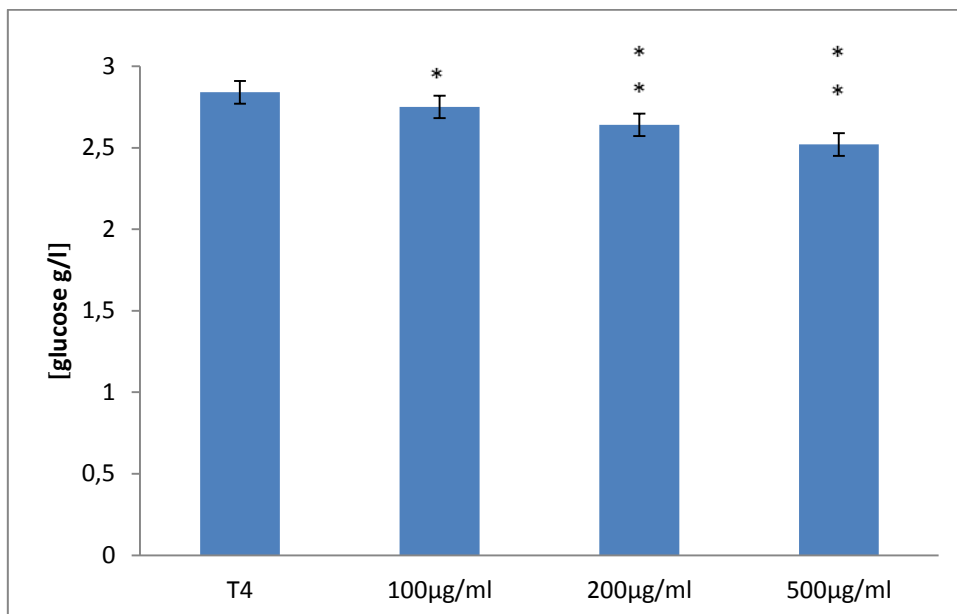
## Résultats et discussion



**Figure 29 :** Concentration du glucose restant dans le milieu d'incubation avec 3g/l du glucose en présence de différentes concentrations d'extraits flavonoïque pendant 60 minutes.

Significative : **P<0.01 (\*\*)**

Hautement significative **P<0.0001 (\*\*\*\*)**.



**Figure 30 :** Concentration du glucose restant dans le milieu d'incubation avec 3g/l du glucose en présence de différentes concentrations de l'extrait flavonoïque pendant 90 minutes.

Peu significative **P<0.05 (\*)**

Significative : **P<0.01 (\*\*)**.

## Résultats et discussion

Les résultats obtenus (figures 28, 29, 30) montrent qu'en présence de l'extrait flavonoïque pendant 30 minutes la consommation du glucose dans le milieu d'incubation (3g/l) à 100 et 200µg/ml est peu significative, et à 500 µg/ml est hautement significative (figure28).

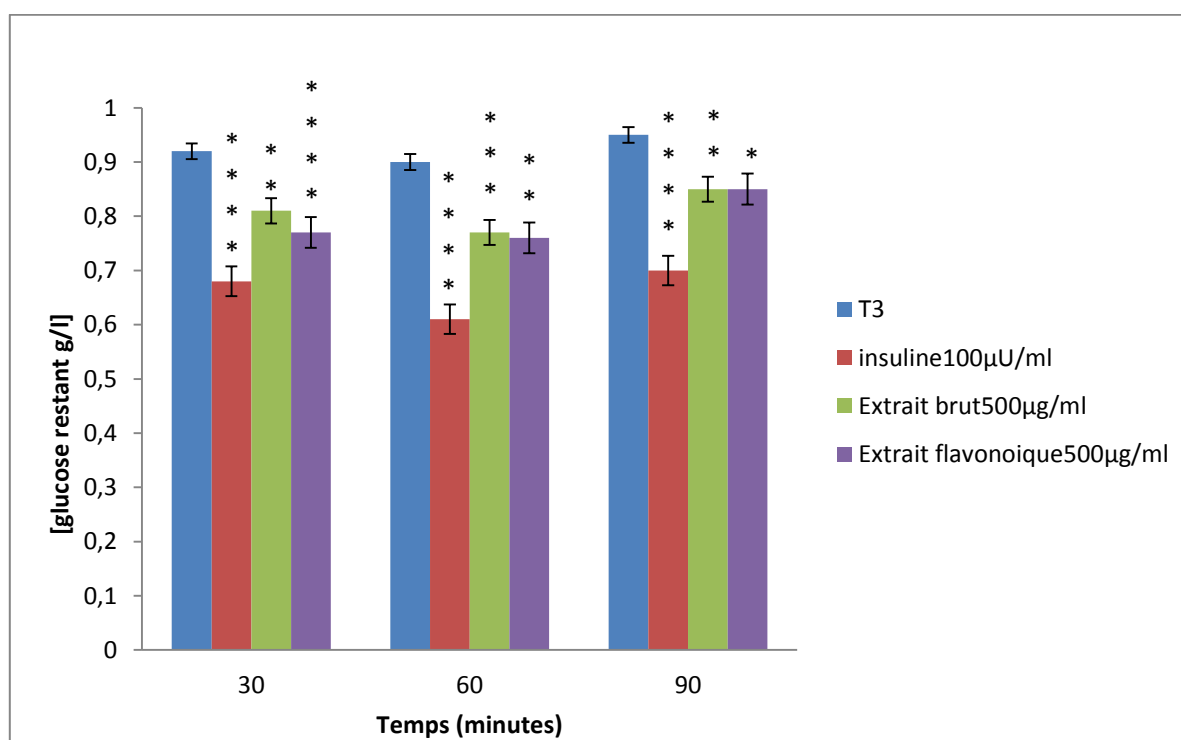
Par contre à 60 minutes la consommation du glucose dans le milieu d'incubation (3g/l) à 100 et 200 µg/ml hautement significative et 500µg/ml est significative (figure29).

Au temps 90 minutes la consommation du glucose dans le milieu d'incubation (3g/l) à 100 µg/ml est peu significative, et à 200 et 500 µg/ml est significative (figure30).

Nous remarquons que l'augmentation de la captation du glucose est maximale à la concentration 500 µg/ml d'environ 23.3% à 60 minutes par rapport au milieu témoin (contenant des adipocytes incubés avec 3g/l du glucose en absence de l'extrait flavonoïque).

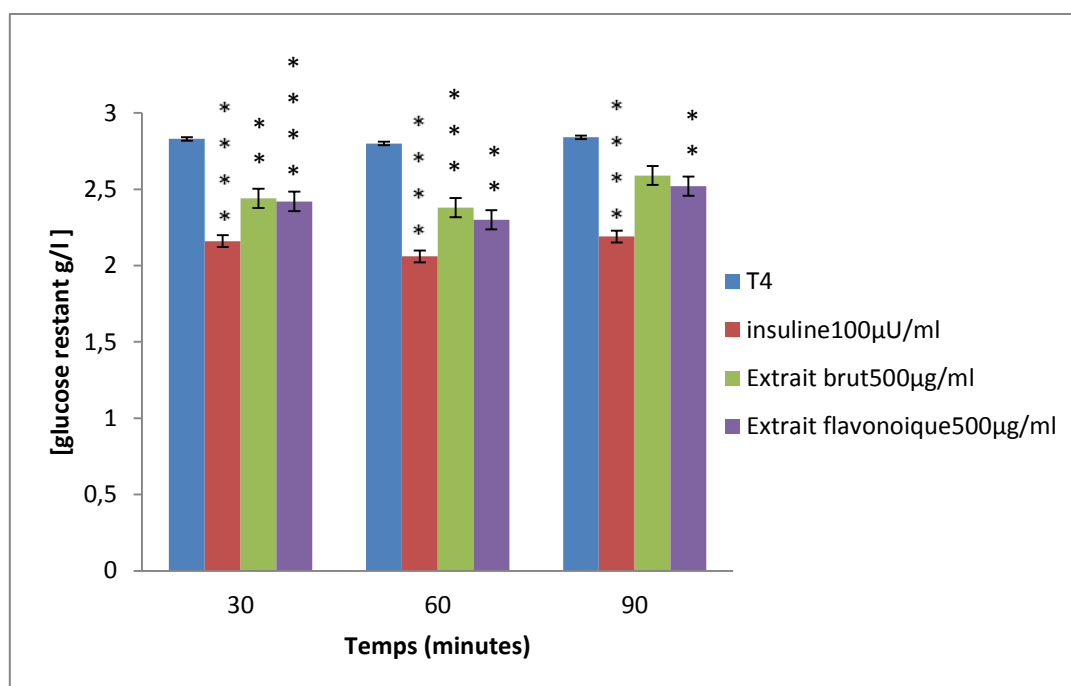
### 7- Comparaison entre l'effet de l'extrait brut, l'extrait flavonoïque, et l'effet de l'insuline :

Les figures 31, 32, qui suivent représentent la comparaison entre l'effet de l'extrait brut, l'extrait flavonoïque, et l'effet de l'insuline dans les deux milieux d'incubations de 1 g/l et 3g/l à 30, 60, et 90 minutes



**Figure 31 :** Comparaison entre l'effet de l'extrait brut, l'extrait flavonoïque, et l'effet de l'insuline dans le milieu d'incubation de 1 g/l à 30, 60, et 90 minutes.

## Résultats et discussion



**Figure 32 :** Comparaison entre l'effet de l'extrait brut, l'extrait flavonoïque, et l'effet de l'insuline dans le milieu d'incubation de 3 g/l à 30, 60, et 90 minutes.

En comparant nos deux extraits, on a pu noter que l'extrait flavonoïque a un effet légèrement meilleur que l'extrait brut.

La comparaison des résultats de nos extraits à celles de l'insuline nous a permis de constater que les flavonoïdes de *Traganum nudatum* activent la captation du glucose par les adipocytes dans les milieux d'incubation utilisés (1g/l et 3g/l). Nous pouvons remarquer également que les résultats obtenus pour la dose 500µg/ml de l'extrait flavonoïque, se rapprochent de celle obtenus avec la dose 100µUI/ml de l'insuline.

En conclusion, l'extrait brut et flavonoïque ont un effet maximal sur la captation du glucose au niveau des coupes fines de tissu adipeux à 500µg/ml à 60minutes d'incubation dans les milieux d'incubations utilisés (1g/l et 3g/l). Les résultats obtenus montrent que nos extraits ont probablement un effet insuline like sur la captation de glucose dans les deux milieux d'incubations.



### Discussion :

Dans plusieurs laboratoires à travers le monde, les travaux sur les plantes médicinales représentent un domaine de recherche de grande importance, et ceci grâce à la richesse de ces remèdes naturels en molécules thérapeutiques, qui peuvent être à l'origine de nouveaux médicaments pour de nombreuses maladies.

Ainsi, plusieurs activités biologiques ont été prouvées pour les plantes médicinales, comme l'activité anticancéreuse (**Pezzuto, 1997 ; Cai et al., 2004 ; Shah et al., 2013**), l'activité antifongique (**Svetaz et al., 2010**) et l'activité antibactérienne (**Essawi et Srour, 2000; Hara-Kudo et al., 2004**). Nous nous sommes intéressés à l'activité antidiabétique, et cela à cause de l'ampleur que prend le diabète sucré comme maladie à l'échelle mondiale. Ce fléau impose l'accentuation des travaux de recherche, pour la découverte de nouvelles solutions thérapeutiques efficaces et moins coûteuses.

Le nombre des plantes connues par leur activité antidiabétique est très important, nous avons choisi *Traganum nudatum*, qui est une espèce, du genre *Traganum*, de la famille des chénopodiacées, connue sous le nom vernaculaire de «Damrane», plusieurs activités biologiques ont été étudiées par les scientifiques. Ainsi les activités antioxydante et antimicrobienne (**Labeled B et al., Kalla A., 2012**). Ce travail porte sur la contribution à la recherche des effets des extraits de la plante *Traganum nudatum* sur la captation du glucose par les coupes fines de tissu adipeux isolées du rat Wistar.

L'étude a été analysé *in vitro* sur des coupes fines de tissu adipeux isolées des rats Wistar femelles dans deux milieux d'incubation (1 et 3g/l), différents extraits ont été testés : extrait brut et flavonoïque.

Dans notre étude l'identification des flavonoïdes par chromatographie sur couche mince a révélé la présence de 6 taches pour l'extrait brut (TN mac) et 3 taches pour l'extrait acétate d'éthyle en utilisant le premier système A : CHCl<sub>3</sub>/MeOH /EtOAc/H<sub>2</sub>O (15/20/15/0.05), et de 2 taches dans l'extrait brut (TN mac) et 2 taches pour l'extrait acétate d'éthyle après l'utilisation du système B : EtOAc/MeOH/H<sub>2</sub>O aux proportions (45/45/10), et de 3 taches dans l'extrait brut (TN mac) et 5 taches pour l'extrait acétate d'éthyle aux proportions (20/2.7/0.8).

La CCM des extraits enrichis en flavonoïdes, a révélé la présence de trois flavonoïdes de R<sub>f</sub> différents, et ce résultat semble bien corrélé avec les données bibliographiques, **Ben Salah et**

## Résultats et discussion

---

ces collaborateurs ont réussi à isoler et à identifier trois flavonoïdes de la partie aérienne de *H. scoparia*, et qui sont tous des flavonols triglycosides (**Ben Salah et al., 2002**). En revanche une étude récente a aussi confirmé la présence dans les parties aériennes de la plante d'un autre type de flavonoïdes, une flavone, le chrysoériol (**Chao et al., 2013**).

A la lumière de certains travaux qui ont été réalisés au niveau de notre laboratoire nous représentons les résultats suivants :

Une étude réalisée par **Mejdoub H, 2013**, sur la plante *Zygophyllum geslini* de la famille des chénopodiacées a noté que l'extrait aqueux brut de la partie aérienne est doué d'une activité antidiabétique très remarquable. Cet extrait diminue l'hyperglycémie chronique provoquée par la streptozotocine et améliore les perturbations de la tolérance orale au glucose. De plus cet extrait ne provoque aucune mortalité, même à fortes doses.

Chez *Atriplex halimus*, le chrome organique (Glucose Tolerance Factor: GTF) régule la glycémie en potentialisant l'effet de l'insuline (**Aaronson et al., 1969 ; Evans et Bowman, 1992**). En outre, le vanadium qui est connu avant la découverte de l'insuline est un insulino-mimétique (**Thompson et Godin, 1995**) utilisé pour le contrôle de la glycémie (**Dey et al., 2002**).

Nos résultats montrent que la stimulation de la captation du glucose au niveau des coupes fines de tissu adipeux à 100 $\mu$ UI/ml d'insuline est de l'ordre de 0.39 $\mu$ g/ml (39%) dans le milieu d'incubation (1g/l), et de 0.94  $\mu$ g/ml (31.3%) dans le milieu d'incubation (3g/l), pendant 60 minutes. En revanche, la dose de 500 $\mu$ g/ml des extraits bruts et de flavonoïdes, a donné la meilleure captation du glucose, pour l'extrait brut elle est de l'ordre de 0.23 $\mu$ g/ml (23%) dans le milieu d'incubation (1g/l), et de 0.62 $\mu$ g/ml (20.6%) dans le milieu d'incubation (3g/l), et pour l'extrait de flavonoïdes elle est de l'ordre de 0.24 $\mu$ g/ml (24%) dans le milieu d'incubation (1g/l), et de 0.7 $\mu$ g/ml (23.3%) dans le milieu d'incubation (3g/l), pendant 60 minutes d'incubation à 37°C.

**Azzi Rachid** en 2007, a noté que l'insuline active la pénétration du glucose dans les adipocytes isolées du tissu épидидymal des rats mâles en présence des différentes concentrations d'insulines dans un milieu d'incubation KRBA 4% + 0.45g/l de glucose durant 1h.

Il a été constaté une diminution très significative du glucose restant dans le milieu d'incubation en présence des adipocytes par rapport au témoin (milieu d'incubation avec 2.5mM glucose en absence des adipocytes), ce qui montre que les adipocytes ont une

## Résultats et discussion

---

consommation basale du glucose relativement importante, qui peut se faire en absence d'insuline de l'ordre de 9%, soit 0.04 g/l.

Dans le milieu d'incubation en présence de 10 à 1000  $\mu$ UI/ml d'insuline, il a montré que la consommation du glucose augmente proportionnellement à la concentration d'insuline.

Cette augmentation est hautement significative ( $p < 0.0001$ ) à la concentration 500 et 1000  $\mu$ UI/ml soit 17.32 et 34.65ng/ml avec un taux de captation de 17.1 et 14.6% respectivement par rapport au milieu contenant des adipocytes incubés durant 1h avec 0.45g /l du glucose en absence d'insuline.

**Toul F** en 2009, a noté une captation basale en glucose très significative dans un milieu d'incubation (KRBA 4% + 0.54g/l) en présence des adipocytes isolées des rats wistar et en absence d'insuline qui est de l'ordre de 0.05g/l.

De même, les adipocytes incubées à différentes concentrations d'insuline (100, 500 et 1000  $\mu$ UI/ml) et à différents temps (30, 1 et 2h), montrent une augmentation de la captation de glucose avec un taux de 16.66% pour une concentration d'insuline de 100 et 500  $\mu$ UI/ml et a été maximale (22.22%) à la concentration de 1 000  $\mu$ UI/ml durant 1h.

Après incubation des adipocytes isolées des rats wistar mâles et femelles dans un milieu d'incubation KRBA 4% + 0.54 g/l pendant 1h30min, **Mazari K et Khelefaoui Z** ont obtenu une diminution significative ( $p < 0.01$ ) de la concentration du glucose restant en absence d'insuline.

En présence de différentes concentrations de 10 à 1000 $\mu$ UI/ml d'insuline, une augmentation de la consommation du glucose dans le milieu d'incubation a été constatée. Le taux de captation obtenue est significatif à 100, 500 et 1000 $\mu$ UI/ml.

Une étude réalisée par **Takhashi et al.**, 2008 a démontré que la chémérine (adipokine) améliore la sensibilité du tissu adipeux à l'insuline, des adipocytes 3T3-L1 ont été cultivées avec ou sans chémérine, il s'est avéré que cette dernière potentialise l'effet de l'insuline en augmentant la captation de glucose par ces adipocytes en culture de 41% en utilisant le glucose radioactif .

Les coupes fines de tissu adipeux représentent un modèle cellulaire de choix pour tester l'effet de nos extraits de la plante *Traganum nudatum*, en effet ces cellules interviennent d'une manière très importante dans le métabolisme glucidique entre autre dans le stockage du glucose sous forme de triglycéride qui sera utilisé par la cellule.

## Résultats et discussion

---

Les résultats obtenus montrent que nos extraits ont un effet insuline like sur la captation de glucose dans les deux milieux d'incubations.

# Conclusion

## Conclusion générale

---

A la fin de notre étude, on peut dire que l'extrait flavonoïque de *Traganum nudatum* à une dose de 500µg/ml stimule d'une manière très significative la captation du glucose par des adipocytes isolés des rats Wistar, et par conséquent, révèle le pouvoir antidiabétique de cet extrait.

Mais ces résultats restent toujours des résultats préliminaires, car des expériences complémentaires doivent être menées afin de pouvoir passer au traitement des humains, tels que :

- Identification, caractérisation et séparation des différentes fractions des flavonoïdes par les méthodes d'analyses chimiques : chromatographie sur colonne, HPLC, CPG, RMN,...
- Purifier et tester chaque fraction à part, afin de déterminer la ou les fractions responsables de cet effet ;
- Tester l'effet de chaque fraction sur un plus grand nombre d'espèces animales ;
- Utiliser des animaux diabétiques pour les tests biologiques (*in vivo* et *in vitro*).
- Dosage d'autres paramètres plasmatiques : Triglycémie, HDL- cholestérol, l'insulinémie, l'hémoglobine glycosylée... ;
- Rechercher les éventuels effets indésirables de cet extrait ;
- Rechercher le mécanisme moléculaire par lequel nos composés agiraient sur le syndrome diabétique.

# Références bibliographiques

## Références bibliographiques

---

- 1- **Aronson, E. (1969).** The theory of cognitive dissonance: A current perspective. *Advances in experimental social psychology*, 4, 1-34.
- 2- **Ahima, R. S., & Flier, J. S. (2000).** Adipose tissue as an endocrine organ. *Trends in Endocrinology & Metabolism*, 11(8), 327-332.
- 3- **Ahrén, B. (2007).** Dipeptidyl peptidase-4 inhibitors. *Diabetes care*, 30(6), 1344-1350.
- 4- **American Diabetes Association; (2010).** Diagnosis and classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care*, 33 (S1), S62-S69.
- 5- **Annicotte, J. S. (2004).** *Etude de fonctions pancréatiques du récepteur nucléaire orphelin Liver Receptor Homolog-1 (LRH-1) et du facteur de transcription E2F1* (Doctoral dissertation, Université Louis Pasteur (Strasbourg)).
- 6- **Antonescu, C. N., Díaz, M., Femia, G., Planas, J. V., & Klip, A. (2008).** Clathrin-dependent and independent endocytosis of glucose transporter 4 (GLUT4) in myoblasts: Regulation by mitochondrial uncoupling. *Traffic*, 9(7), 1173-1190.
- 7- **Augustin, R. (2010).** The protein family of glucose transport facilitators: It's not only about glucose after all. *IUBMB life*, 62(5), 315-333.
- 8- **Avram, A. S., Avram, M. M., & James, W. D. (2005).** Subcutaneous fat in normal and diseased states: 2. Anatomy and physiology of white and brown adipose tissue. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 53(4), 671-683.
- 9- **AZZI, 2007.** Contribution à la recherche des effets antidiabétiques des alcaloïdes et glycosides cucurbitacines extraits des graines de coloquinte (*Citrullus colocynthis*) chez le rat rendu diabétique par la Streptozotocine. Mémoire de magister en biologie Département de Biologie, Faculté des sciences, Université de Tlemcen.
- 10- **Ben Salah, H., Jarraya, R., Martin, M.-T., Veitch, N. C., Grayer, R. J., Simmonds, M. S. & Damak, M. (2002).** Flavonol triglycosides from the leaves of *Hammada scoparia* (Pomel) Iljin. *Chemical And Pharmaceutical Bulletin*, 50 (9), 1268-1270.
- 11- **Boumlik, L. (1998).** Le fonctionnement du système prépositionnel du français du Maroc. In *Le français parlé en Afrique. Colloque* (pp. 75-80).
- 12- **Bryant, N. J., Govers, R., & James, D. E. (2002).** Regulated transport of the glucose transporter GLUT4. *Nature reviews Molecular cell biology*, 3(4), 267-277.
- 13- **Burcelin, R., Pénicaud, L. (2003).** Rôle de l'axe intestin, foie, et système nerveux dans la régulation de la glycémie en période absorptive *Médecine Clinique, endocrinologie & diabète*, 17(2), 89-93.



## Références bibliographiques

---

- 14- Campbell, N.A.,( 1995).** Biologie Editions De Boeck, Bruxelles, 3ième édition
- 15- Cannon, B., & Nedergaard, J. A. N. (2004).** Brown adipose tissue: function and physiological significance. *Physiological reviews*, 84(1), 277-359.
- 16- Capeau, J. (2003).** Voies de signalisation de l'insuline: mécanismes affectés dans l'insulino-résistance. *médecine/sciences*, 19(8-9), 834-839.
- 17- Cai, Y., Luo, Q., Sun, M. & Corke, H. (2004).** Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. *Life sciences*, 74(17), 2157-2184.
- 18- Chao, H. C., Najjaa, H., Villareal, M. O., Ksouri, R., Han, J., Neffati, M. & Isoda, H. (2013).** Arthrophytum scoparium inhibits melanogenesis through the down-regulation of tyrosinase and melanogenic gene expressions in b16 melanoma cells. *Experimental Dermatology*, 22(2), 131-136.
- 19- Cheng, D. M., Pogrebnyak, N., Kuhn, P., Krueger, C. G., Johnson, W. D., & Raskin, I. (2014).** Development and phytochemical characterization of high polyphenol red lettuce with anti-diabetic properties. *PloS one*, 9(3), e91571.
- 20- Dey, E., Gurin, P., Hurtado, S., & Gurin, G. (2002).** Diversity and higher education: Theory and impact on educational outcomes. *Harvard educational review*, 72(3), 330-367.
- 21- Ducluzeau, P. H., Fletcher, L. M., Welsh, G. I., & Tavaré, J. M. (2002).** Functional consequence of targeting protein kinase B/Akt to GLUT4 vesicles. *Journal of cell science*, 115(14), 2857-2866.
- 22- Eliasson, L., Renström, E., Ding, W. G., Proks, P., & Rorsman, P. (1997).** Rapid ATP-Dependent Priming of Secretory Granules Precedes Ca<sup>2+</sup>-Induced Exocytosis in Mouse Pancreatic B-Cells. *The Journal of physiology*, 503(2), 399-412.
- 23- Essawi, T., & Srour M. (2000).** Screening of some Palestinian medicinal plants for antibacterial activity. *Journal of ethnopharmacology*,70(3), 343-349.
- 24- Ferrè, F., & Clote, P. (2005).** DiANNA: a web server for disulfide connectivity prediction. *Nucleic Acids Research*, 33(suppl 2), W230-W232.
- 25- Fernandez, R., Pugeat, M., & Ricart, W. (2001).** Study of the effect of changing glucose, insulin, and insulin-like growth factor-I levels on serum corticosteroid binding globulin in lean, obese, and obese subjects with glucose intolerance. *Metabolism*, 50(10), 1248-1252.

## Références bibliographiques

---

- 26- Fiorucci, S. (2006).** Activités biologiques de composés de la famille des flavonoïdes: Approches par des méthodes de chimie quantique et de dynamique moléculaire (Doctoral dissertation, École doctorale Sciences fondamentales et appliquées (Nice)).
- 27- Fonseca-Alaniz, M. H., Takada, J., Alonso-Vale, M. I. C., & Lima, F. B. (2007).** Adipose tissue as an endocrine organ: from theory to practice. *Jornal de pediatria*, 83(5), S192-S203.
- 28- Gesta, S., Tseng, Y. H., & Kahn, C. R. (2007).** Developmental origin of fat: tracking obesity to its source. *Cell*, 131(2), 242-256.
- 29- Guillermin-Spahr, M. L. (2004).** *Facteurs prédictifs d'une intolérance au glucose après un diabète gestationnel* (Doctoral dissertation, University of Geneva).
- 30- Hauner, H. (2004).** The new concept of adipose tissue function. *Physiology & behavior*, 83(4), 653-658.
- 31- Hausman, D. B., DiGirolamo, M., Bartness, T. J., Hausman, G. J., & Martin, R. J. (2001).** The biology of white adipocyte proliferation. *Obesity reviews*, 2(4), 239-254.
- 32- Harborne, A. J. (1998).** *Phytochemical methods a guide to modern techniques of plant analysis*. springer science & business media.
- 33- Hennebelle, T., Sahpaz, S., & Bailleul, F. (2004).** Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie*, 2(1), 3-6.
- 34- Hodek, P., Trefil, P., & Stiborová, M. (2002).** Flavonoids-potent and versatile biologically active compounds interacting with cytochromes P450. *Chemico-biological interactions*, 139(1), 1-21.
- 35- Idelman, S., & Verdetti, J. (2001).** *Endocrinologie et communications cellulaires* (p. 584). EDP sciences.
- 36- IDF (Fédération International du Diabète); 2013.** Diabète Atlas sixth edition. T. N. Leoner Guariguata, Jessica Beagley, Ute Linnenkump, Olivier Jacqmain.
- 37- Joost, H. G., & Thorens, B. (2001).** The extended GLUT-family of sugar/polyol transport facilitators: nomenclature, sequence characteristics, and potential function of its novel members. *Molecular membrane biology*, 18(4), 247-256.
- 38- Kirkland, J. L., Hollenberg, C. H., & Gillon, W. S. (1996).** Effects of fat depot site on differentiation-dependent gene expression in rat preadipocytes. *International journal of obesity and related metabolic disorders: journal of the International Association for the Study of Obesity*, 20, S102-7.

## Références bibliographiques

---

- 39- Krentz, A. J., & Bailey, C. J. (2005).** Oral antidiabetic agents. *Drugs*, 65(3), 385-411.
- 40- Ksouri, R., Megdiche, W., Debez, A., Falleh, H., Grignon, C., & Abdelly, C. (2007).** Salinity effects on polyphenol content and antioxidant activities in leaves of the halophyte *Cakile maritima*. *Plant Physiology and Biochemistry*, 45(3), 244-249.
- 41- Labeled B et al., Kalla A. (2012).** Evaluation of antioxidant potential of various extracts of *Traganum nudatum* del. *Plant Sciences Feed*, 1(9), 155-159.
- 42- Mazari, K., Kheiefaoui Z. (2005).** Contribution à la recherche des effets antidiabétiques d'extrait brut des alcaloïdes des graines de coloquinte (*Citrullus colocynthis*) sur des adipocytes ésoles des rats wistar Mémoire de master en Biologie, Département de Biologie, Faculté des sciences, Université de Tlemcen.
- 43- Middleton, E., Kandaswami, C., & Theoharides, T. C. (2000).** The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer. *Pharmacological reviews*, 52(4), 673-751.
- 44- Mejdoub, H. (2013).** Contribution à la recherche d'éventuelles activités biologiques de *Zygophyllum geslini* Coss. *Thèse de doctorat en biologie*.
- 45- Nagasaki, M., Obayashi, M., Sato, Y., Tamura, T., & Shimomura, Y. (2001).** Mechanism of activation of branched-chain  $\alpha$ -keto acid dehydrogenase complex by exercise. *Biochemical and biophysical research communications*, 287(3), 752-756.
- 46- Nedergaard, J., Bengtsson, T., & Cannon, B. (2007).** Unexpected evidence for active brown adipose tissue in adult humans. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 293(2), E444-E452.
- 47- OMS (Organisation mondiale de la santé) ; (2002).** Diabète sucré. mondiale de la Santé, O. (2003). Régime alimentaire, nutrition et prévention des maladies chroniques. Genève: *Rapport d'une Consultation OMS/FAO d'experts*. OMS, *Série de Rapports techniques*, 916.
- 48- Orban, J. C., & Ichai, C.** Gestion périopératoire du patient diabétique.
- 49- Ouellet, V., Labbé, S. M., Blondin, D. P., Phoenix, S., Guérin, B., Haman, F., ... & Carpentier, A. C. (2012).** Brown adipose tissue oxidative metabolism contributes to energy expenditure during acute cold exposure in humans. *The Journal of clinical investigation*, 122(2), 545-552.

## Références bibliographiques

---

- 50- Paquot, N., & Scheen, A. (2003).** Prevention cardio-vasculaire chez le patient diabétique de type 2. *Revue Médicale de Liège*, 58(5), 271-4.
- 51- Pelt, J. M. (1980).** *Les drogues: leur histoire, leurs effets*. Doin.
- 52- Perlemuter, L., Sélam, J. L., Collin, G. (2003).** Diabète et maladies métaboliques. ISBN, 294(2), 01047-7.
- 53- Pezzuto, J. M., (1997).** Plant-derived anticancer agents. *Biochemical Pharmacology* 53(2), 121-133.
- 54- Pinget, M., & Boullu-Sanchis, S. (2002).** Les bases physiologiques des troubles de l'insulinosécrétion.
- 55- Raisonnier A, Kottier, M. L., et Wright, F. (2004).** Réserves Energétiques. Objectifs au cours de Biochimie PCEM2 Biochimie métabolique et Régulations CI (2003 – 2004). Université Paris-VI : 37-38.
- 56- Reynaud, J., & Lussignol, M. O. N. I. Q. U. E. (2005).** The flavonoids of *Lotus corniculatus*. *Lotus Newsletter*, 35(1), 75-82.
- 57- Rodbell, M. (1964).** The metabolism of isolated fat cells. *Comprehensive Physiology*.
- 58- Sarni-Manchado, P., & Cheynier, V. (Eds.). (2006).** *Les polyphénols en agroalimentaire*. Techniques & documentation.
- 59- Shah, U., Shah, R., Acharya, S. & Acharya, N. (2013).** Novel anticancer agents from plant sources. *Chinese Journal of Natural Medicines*, 11(1), 16-23.
- 60- Somwar, R., Perreault, M., Kapur, S., Taha, C., Sweeney, G., Ramlal, T., & Marette, A. (2000).** Activation of p38 mitogen-activated protein kinase alpha and beta by insulin and contraction in rat skeletal muscle: potential role in the stimulation of glucose transport. *Diabetes*, 49(11), 1794-1800.
- 61- Schwartz, J., & Dockery, D. W. (1992).** Increased mortality in Philadelphia associated with daily air pollution concentrations. *American review of respiratory disease*, 145(3), 600-604.
- 62- Spalding, K. L., Arner, E., Westermark, P. O., Bernard, S., Buchholz, B. A., Bergmann, O., & Concha, H. (2008).** Dynamics of fat cell turnover in humans. *Nature*, 453(7196), 783-787.
- 63- Stumvoll, M., & Jacob, S. (1999).** Multiple sites of insulin resistance: muscle, liver and adipose tissue. *Experimental and clinical endocrinology & diabetes*, 107(02), 107-110.
- 64- Stumvoll, M., Goldstein, B. J., & van Haefen, T. W. (2005).** Type 2 diabetes: principles of pathogenesis and therapy. *The Lancet*, 365(9467), 1333-1346.

## Références bibliographiques

---

- 65- Tatulian, S. A. (2015).** Structural dynamics of insulin receptor and transmembrane signaling. *Biochemistry*, 54(36), 5523-5532.
- 66- Thompson, K. H., & Godin, D. V. (1995).** Micronutrients and antioxidants in the progression of diabetes. *Nutrition Research*, 15(9), 1377-1410.
- 67- Thurmond, D., & E. Pessin, J. (2001).** Molecular machinery involved in the insulin-regulated fusion of GLUT4-containing vesicles with the plasma membrane. *Molecular membrane biology*, 18(4), 237-245.
- 68- Toul, F. (2009).** Contribution à la recherche des effets antidiabétiques de l'épicarpe de coloquinte (*Citrullus colocynthis*) sur des coupes de tissu adipeux isolées de rats wistar. Mémoire de master en Biologie, Département de Biologie, Faculté des sciences, Université de Tlemcen.
- 69- Trinder, P. (1969).** Determination of glucose in blood using glucose oxidase with an alternative oxygen acceptor. *Annals of clinical Biochemistry*, 6(1), 24-27.
- 70- Woods, S. C., Benoit, S. C., Clegg, D. J., & Seeley, R. J. (2004).** Regulation of energy homeostasis by peripheral signals. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism*, 18(4), 497-515.
- 71- Yamauchi, T., Kamon, J., Minokoshi, Y. A., Ito, Y., Waki, H., Uchida, S., & Eto, K. (2002).** Adiponectin stimulates glucose utilization and fatty-acid oxidation by activating AMP-activated protein kinase. *Nature medicine*, 8(11), 1288-1295.
- 72- Zerriouh, M. (2016).** Contribution à l'étude phytochimique et activité antidiabétique de *Hammada scoparia* (Pomel)«Remth » (Doctoral dissertation).