

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE ABOU BEKR BELKAID
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET SCIENCES DE LA TERRE ET DE L'UNIVERS
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

LABORATOIRE DE RECHERCHE SUR LES SUBSTANCES NATURELLES ET BIOACTIVES
(LASNABIO)



Thèse

En vue de l'obtention du grade de Docteur en Biologie

Sujet :

**Contribution à la recherche d'éventuelles activités
biologiques de *Zygophyllum geslini* Coss.**

Présentée par : M^{elle} MEDJDOUB Houria

Devant le jury :

Mme ATIK BEKKARA F.	Présidente de jury	Professeur, Université de Tlemcen
M. TABTI B.	Directeur de Thèse	Professeur, Université de Tlemcen
M. SELLES C.	Co-directeur de thèse	Maitre de conférences, Université de Tlemcen
M. PAOLINI J.	Examinateur	Maitre de conférences, Université de Corse
M. DJAZIRI R.	Examinateur	Maitre de conférences, Université de Tlemcen
M. BEGHALIA M.	Examinateur	Maitre de conférences, CU de Relizane

Année universitaire : 2012-2013

A mes chers parents

Remerciement

Mes sincères remerciements s'adressent à monsieur TABTI B., Professeur à l'université de Tlemcen, Faculté des Sciences, Département de Chimie pour la confiance qu'il a voulu m'accorder, une deuxième fois, en acceptant de diriger la réalisation de ce modeste travail. Veuillez croire, professeur, à ma gratitude la plus distinguée.

Ma reconnaissance va tout spécialement à monsieur SELLES C., Maître de conférences à l'université de Tlemcen, Faculté des Sciences, Département de Chimie pour ses précieux conseils et sa grande disponibilité pour l'aboutissement de ce travail.

Je tiens à remercier énormément Mme ATIK BEKKARA F., Professeur à l'université de Tlemcen, Faculté SNV-STU, département de Biologie d'avoir acceptée de présider ce jury. Notre professeur, veuillez croire à ma reconnaissance et mon respect.

Mes sincères remerciements à Mr DJAZIRI R., Maître de conférences à l'université de Tlemcen, faculté SNV-STU, département de Biologie d'avoir accepté de faire partie de ce jury. Encore, une troisième fois, vous accepter d'évaluer mon travail de recherche ; c'est un honneur.

Ma reconnaissance à Mr PAOLINI J., Maître de conférences à l'université de Corse (France) d'avoir accepté d'examiner ce travail. Veuillez accepter, monsieur, mes sincères expressions de respect.

Je remercie Mr BEGHALIA M., Maître de conférences au centre universitaire de Relizane d'avoir accepté d'évaluer ce travail. Veuillez accepter, monsieur, mes sincères expressions de respect.

Que les honorables membres du jury veuillent croire en mes remerciements anticipés pour leur acceptation d'examiner ce travail.

Mes remerciements s'adressent aussi à mes collègues, à l'université de Mascara, Mme TADJDDINE A., Mme BENOUAZ N., Melle MOHAMMEDI Z., Mme DAHLI K., Mr AIT ABDESLAM A., Mr BENNABI F ; à l'université de Tlemcen, Melle BENARIBA N., Melle BELKACEM N., Melle ZERIOUH M., Mr CHIKHI I. ; à tous ceux qui ont participé à la réalisation de travail.

J'exprime ma profonde reconnaissance à Melle BAAFOU W. étudiante en Master 2 Microbiologie, université de Mascara qui a largement contribué à la récolte de l'échantillon végétal ainsi qu'à mes étudiants de l'université de Mascara qui ont participé à la réalisation de ce travail.

Je remercie spécialement, Mr BENALLAL A., étudiant en Master 2, université de Tlemcen, qui a participé à la conception du manuscrit.

J'exprime ma sincère gratitude au personnel de la ferme expérimentale de l'université de Mascara, spécialement, Mme OULD BELHADJ L. et Mr MANKOUR B. qui, par leur concours, ont facilité la réalisation des essais *in vivo*.

Je tiens à remercier, également, tous ceux qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail.

Résumé

Le diabète sucré est une maladie très fréquente dans le monde entier. 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.

Le présent travail a pour objectif l'évaluation de l'activité antidiabétique de *Zygodhylum geslini*, une herbe très utilisée contre le diabète sucré. Nous avons étudié la partie aérienne qui a été utilisée pour préparer un extrait aqueux brut (EAB). Cet extrait subit une série de fractionnements liquide-liquide. EAB et les fractions qui en découlent, soumises au fur et à mesure à l'étude phytochimique, sont testés pour leur activité antidiabétique sur le rat wistar rendu diabétique par la streptozotocine à la dose de 50mg/kg.

Les résultats montrent la présence de plusieurs familles chimiques dans EAB qui sont, les mucilages, les tannins, les saponosides, les acides aminés, les flavonoides, les glucosides cardiotoniques et les alcaloïdes.

EAB à 500mg/kg réduit significativement l'hyperglycémie à jeun et améliore la tolérance orale des rats au glucose. Les effets des sept fractions de EAB ainsi que leur composition sont variables. Aux doses testées, trois fractions ont montré une action positive sur l'hyperglycémie à jeun et sur la tolérance orale au glucose, deux agissent seulement sur l'hyperglycémie à jeun alors que les deux restantes n'ont pas d'effets sur le diabète.

Il est évidemment clair que *Zygodhylum geslini*, précisément EAB régule certaines perturbations du diabète. Cette propriété est conservée dans les fractions préparées. Il sera, donc, crucial de choisir la fraction la plus active pour poursuivre le fractionnement chimique et l'évaluation de l'activité antidiabétique.

Mots clés : *Zygodhylum geslini*, Extrait aqueux, streptozotocine, fractionnement liquide-liquide, phytochimie

Abstract

Diabetes mellitus is a very common disease in the world. It is treated by insulin and oral antidiabetic agents that can cause serious side effects. For this reason and because of their unavailability in some cases, diabetes is cured by herbs.

This work aims to evaluate the antidiabetic activity of *Zygophyllum geslini*, an herb widely used against diabetes mellitus. We studied the aerial part that was used to prepare a crude aqueous extract (CAE). This extract undergoes a series of liquid-liquid fractionation. CAE and fractions derived there from, subject to the phytochemical study were tested for their antidiabetic activity in 50mg/kg streptozotocin induced-diabetic Wistar rats.

The results show the presence of several chemical compounds in CAE, mucilages, tanins, saponins, amino acids, flavonoids, cardiac glycosides and alkaloids.

CAE at 500mg/kg significantly reduces fasting hyperglycemia and improves oral glucose tolerance in rats. The effects of the seven fractions of CAE and their composition are various. At the tested doses, three fractions showed a positive effect on fasting hyperglycemia and the oral glucose tolerance, two act only on fasting hyperglycemia, while the remaining have no effects on diabetes.

It is obviously clear that *Zygophyllum geslini* precisely CAE regulates certain disturbances of diabetes. This property is maintained in the prepared fractions. It is, therefore, crucial to choose the most active fraction for further chemical fractionation and evaluation of the antidiabetic activity.

Keywords: *Zygophyllum geslini*, aqueous extract, streptozotocin, liquid-liquid fractionation, phytochemistry

Liste des figures

Figure 1 : structure des sulfamides (carbutamide et glibenclamide)	7
Figure 2 : Schéma de mécanismes de sécrétion de l'insuline	8
Figure 3: structure des biguanides	8
Figure 4: structure des thiazolidinédiones	10
Figure 5: structure de l'acarbose.....	12
Figure 6: triterpénoïdes cucurbitanes isolés à partir du fruit de <i>Momordica charantia</i> ...	19
Figure 7: diosgenine	20
Figure 8: Ginsénoside	22
Figure 9 : 3β-(3.4- dihydroxycinnamoyl)-érythradiol	24
Figure 10: Streptozotocine	29
Figure 11: Alloxane	31
Figure 12: Organigramme du fractionnement de l'extrait brut aqueux	36
Figure 13: Effet de l'extrait aqueux brut (EAB) sur l'évolution de la glycémie	62
Figure 14: Effet de l'extrait aqueux brut (EAB) sur l'évolution du poids corporel	63
Figure 15: Effet de l'extrait aqueux brut (EAB) sur la tolérance orale au glucose des rats normaux	64
Figure 16: Effet de l'extrait aqueux brut (EAB) sur la glycémie (% par rapport à la glycémie initiale)	65
Figure 17: Effet de FA1 et FB1 sur l'évolution de la glycémie	66
Figure 18: Effet de FA1 et FB1 sur l'évolution du poids corporel	67
Figure 19: Effet de FA1 et FB1 sur la tolérance orale au glucose	68
Figure 20: Effet de FA2 et FB2 sur l'évolution de la glycémie	69
Figure 21: Effet de FA2 et FB2 sur l'évolution du poids corporel	70
Figure 22: Effet de FA2 et FB2 sur la tolérance orale au glucose	71
Figure 23: Effet de FAH sur l'évolution de la glycémie	72
Figure 24: Effet de FAH sur l'évolution du poids corporel	73
Figure 25: Effet de FAH sur la tolérance orale au glucose	74
Figure 26: Effet de FA3 et FDM sur l'évolution de la glycémie	75
Figure 27: Effet de FA3 et FDM sur l'évolution du poids corporel	76
Figure 28: Effet de FA3 et FDM sur a tolérance orale au glucose	77
Figure 29: Effet de FA3 (100mg/kg) sur l'évolution de la glycémie pendant trois heures	78

Figure 30: Effet de FA3 (100mg/kg) sur l'évolution de l'hyperglycémie provoquée par voie intrapéronéale	79
Figure 31: Effet de FA3 et du glimépiride sur la glycémie à jeun pendant les quatre semaines de suivi	80
Figure 32: Effet de FA3 et du glimépiride sur le poids corporel pendant les quatre semaines de suivi	81
Figure 33: Effet de FA3 et du glimépiride sur la tolérance orale au glucose	82
Figure 34: variation du pourcentage de réduction de DPPH en fonction de la concentration de FA3	83

Liste de tableaux

Tableau 1 :

Tests phytochimiques réalisés sur la partie aérienne de <i>Zygophyllum geslini</i>	55
--	----

Tableau 2 :

Teneurs en différentes matières organiques et inorganiques exprimées en % par rapport à la matière fraîche estimées dans la partie aérienne de <i>Z. geslini</i>	57
--	----

Tableau 3 :

Tests phytochimiques réalisés sur l'extrait aqueux brut (EAB) et ses fractions	58
--	----

Tableau 4 :

Rendement de l'EAB et ses fractions (par rapport à la plante sèche)	60
---	----

Tableau 5 :

Teneurs en composés phénoliques et sucres totaux dans EAB et ses fractions	61
--	----

Liste des abréviations

Echan	Echantillon
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
EOA	Espèces oxygénées activées
GLUT	Transporteur de glucose
ATP	Adénosine triphosphate
PPAR- γ	Peroxisome proliferator activated receptor
ARNm	Acide ribonucléique messenger
Rha	Rhamnose
STZ	Streptozotocine
GLP-1	Glucagon like peptide-1
GLP-2	Glucagon like peptide-2
GIP	Glucose-dependent insulintropic peptide

Liste des unités

%	Pourcentage
°C	Degré Celsius
g	Gramme
h	Heure
kg	Kilogramme
l	Litre
mg	Milligramme
ml	Millilitre
mM	Millimolaire
mn	Minute
nm	Nanomètre
P/V	Poids/Volume
t/mn	Tours/Minute

SOMMAIRE

Introduction générale :	1
--------------------------------------	---

Partie I : Synthèse bibliographique

Chapitre I : Généralités sur le diabète sucré

1. Définition du diabète sucré:.....	3
2. Complications du diabète sucré:	3
2.1. Complications chroniques	4
2.1.1. Microangiopathie :.....	4
2.1.2. Macroangiopathie :	5
2.1.3. Neuropathie :.....	5
2.2. Complications métaboliques aiguës du diabète sucré :	5
3. Traitement du diabète sucré:.....	6
3.1. Les antidiabétiques oraux:.....	7
3.1.1. Les sulfamides :	7
3.1.2. Les biguanides:	8
3.1.3. Les glinides :	10
3.1.4. Les thiazolidinédiones ou glitazones :	10
3.1.5. Les inhibiteurs des alpha glucosidases intestinales :	12
3.2. Traitement naturel :	13

Chapitre II : Plantes Médicinales Une Usine De Produits Actifs

1. Introduction :.....	14
2. Principes actifs des plantes :	14
2.1. Les alcaloïdes :	15
2.2. Les saponosides :	15
2.3. Les phénols :.....	16
2.4. Les flavonoïdes :.....	16
2.5. Les tannins :.....	16
2.6. Les glycosides cardiotoniques :.....	17
2.7. Les glycosides cyanogènes :.....	17

2.8. Les polysaccharides :	17
2.9. Les anthocyanes :	17
2.10. Les huiles essentielles :	17
2.11. Les éléments minéraux :	18
3. Quelques plantes antidiabétiques :	18
3.1. <i>Momordica charantia</i> :	18
3.2. <i>Trigonella foenum-greacum</i> :	19
3.3. <i>Allium cepa</i> :	21
3.4. <i>Allium sativum</i> :	21
3.5. Ginseng :	22
3.6. <i>Zygophyllum geslini</i> :	23

Chapitre III : Méthode D'étude De L'activité Antidiabétique

1. Introduction :	25
2. Définition du diabète expérimental :	25
3. Modèles animaux de diabète sucré :	26
3.1. Diabète spontané :	26
3.1.1. Diabète de type 1:	26
3.1.1.1. Le rat BB (Bio-breeding):	27
3.1.1.2. La souris NOD (Non Obese Diabetic) :	27
3.1.2. Diabète de type 2:	27
3.1.2.1. Le rat <i>Psammomys obesus</i> (PO) :	27
3.1.2.2. Souris <i>ob/ob</i> et souris <i>db/db</i> :	28
3.1.2.3. Rat Goto-Kakizaki (GK) :	29
3.2. Diabète induit chimiquement :	29
3.2.1. Diabète induit par la streptozotocine :	29
3.2.2. Diabète induit par l'alloxane:	31
4. Préparation du matériel végétal :	32
5. Voie d'administration des extraits végétaux :	32
6. Evaluation de l'activité antidiabétique :	33

Partie II : Expérimentale

Chapitre 1 : Matériels et méthodes

1.	Objectif :	35
2.	Matériel végétal et extraction:.....	35
	2.1. Récolte :	35
	2.2. Traitement :	35
	2.3. Extraction :	36
	2.3.1. Préparation de l'extrait brut aqueux :	36
	2.3.2. Fractionnement de l'extrait aqueux brut:	37
3.	Etude phytochimique :	37
	3.1. Phytochimie qualitative :	38
	3.1.1. Tanins	:38
	3.1.2. Saponosides :	38
	3.1.3. Flavonoïdes :.....	38
	3.1.4. Glucosides cardiotoniques :.....	38
	3.1.5. Coumarines:.....	39
	3.1.6. Anthracénosides :.....	39
	3.1.7. Alcaloïdes :	39
	3.1.8. Amidon :	40
	3.1.9. Anthraquinones :.....	40
	3.1.10. Mucilages :.....	40
	3.1.11. Acides aminés :.....	40
	3.2. Phytochimie quantitative :	41
	3.2.1. Humidité:	41
	3.2.2. Sucres totaux:	42
	3.2.3- Protéines:	43
	3.2.4. La cellulose brute :.....	45
	3.2.5. Matière minérale MM :	46
	3.2.6. Composés phénoliques:	46
	3.2.7. Dosage des sels minéraux (K, Na, Ca) par spectrophotomètre à flamme : ...	47
	3.2.8. Dosages des sels minéraux (Cr, Mn, Cu) par le spectrophotomètre multiparamètre spécifique d'ion HI 83 200 :.....	49

4.	Recherche de l'activité antidiabétique:	50
4.1.	Réactif biologique, rat wistar :	50
4.2.	Induction du diabète sucré :	50
4.3.	Répartition des rats :	51
4.4.	Gavage des extraits végétaux :	51
4.5.	Prélèvement sanguin :	52
4.6.	Chronologie de l'expérimentation animale:	52
4.7.	Essais à long terme :	52
4.7.1.	Glycémie :	52
4.7.2.	Test de tolérance orale au glucose :	53
4.8.	Test à court terme :	53
4.9.	Test de l'hyperglycémie provoquée par voie intrapéritonéale :	53
4.10.	Effet du Glimépiride :	53
5.	Recherche de l'activité antiradicalaire:	53
6.	Etude statistique :	54

Chapitre 2 : Résultats et interprétation

1.	Etude phytochimique :	55
1.1.	Phytochimie de la plante (partie aérienne) :	55
1.1.1.	Tests qualitatifs :	55
1.1.2.	Tests quantitatifs :	56
1.2.	Phytochime de l'extrait aqueux brut et ses fractions :	58
1.2.1.	Tests qualitatifs :	58
1.2.2.	Tests quantitatifs:	60
1.2.2.1.	Rendement d'extraction :	60
1.2.2.2.	Teneurs en composés phénoliques et sucres totaux :	60
2.	Recherche de la toxicité aigue de l'extrait aqueux brut :	61
3.	Evaluation de l'activité antidiabétique de <i>Zygophyllum geslini</i> :	61
3.1.	Evaluation des effets de l'extrait aqueux brut (EAB) :	61
3.1.1.	Effet sur la glycémie à jeun :	61
3.1.2.	Effet sur le poids corporel :	62
3.1.3.	Effet sur la tolérance orale au glucose :	64
3.1.4.	Glycémie en pourcentage :	65

3.2. Evaluation des effets de FA1 (fraction aqueuse 1) et FB1 (fraction butanolique 1) :	65
3.2.1. Effet sur la glycémie à jeun :	65
3.2.2. Effet sur le poids corporel :	67
3.2.3. Effet sur la tolérance orale au glucose :	67
3.3. Evaluation des effets de FA2 (fraction aqueuse 2) et FB2 (fraction butanolique 2):	68
3.3.1. Effet sur la glycémie à jeun :	68
3.3.2. Effet sur le poids corporel :	69
3.3.3. Effet sur la tolérance orale au glucose :	70
3.4. Evaluation des effets de FAH (fraction aqueuse heptanique) :	71
3.4.1. Effet sur la glycémie à jeun :	71
3.4.2. Effet sur le poids corporel :	72
3.4.3. Effet sur la tolérance orale au glucose :	73
3.5. Evaluation des effets de FA3 (fraction aqueuse 3) et FDM (fraction dichlorométhanique):	74
3.5.1. Effet sur la glycémie à jeun :	74
3.5.2. Effet sur le poids corporel :	75
3.5.3. Effet sur la tolérance orale au glucose :	76
4. Effet de FA3 à court terme :	77
5. Effet de FA3 sur l'hyperglycémie provoquée par voie intrapéritonéale :	78
6. Comparaison des effets de FA3 avec ceux du glimipéride :	79
6.1. Effet sur la glycémie à jeun:	79
6.2. Effet sur le poids corporel :	80
6.3. Effet sur la tolérance orale au glucose :	81
7. Evaluation du pouvoir antiradicalaire de FA3 :	82
Chapitre 3 : Discussion	
Discussion	84
Conclusion générale :	96
Références bibliographiques :	97

Avant-propos

Le présent travail constitue une continuité au travail précédent, réalisé dans le cadre de l'obtention du diplôme de Magistère en biologie. Dans un premier temps, une recherche de l'activité antidiabétique ainsi qu'une évaluation du pouvoir antiradicalaire de l'extrait éthanolique de la partie aérienne de *Zygodphyllum geslini* sont effectuées. De plus, un screening phytochimique a été fait.

Dans cette étude, nous avons testé l'activité antidiabétique de l'extrait aqueux brut de la même partie aérienne.

En comparant les deux effets, il semble que l'extrait aqueux est plus efficace que l'extrait éthanolique. De ce fait, nous avons fractionné l'extrait brut aqueux en utilisant plusieurs solvants de polarités différentes afin d'obtenir la fraction la plus active et la moins toxique.

Ce travail est réalisé sur *Z. geslini*, une plante de la région d'Adrar. Nous avons consacré cette approche à l'extrait aqueux et ses fractions obtenues par extractions liquide-liquide tout en évaluant leur activité antidiabétique. Le diabète est induit chez le rat male Wistar par la streptozotocine qui provoque une perturbation physiologique caractérisée par une hyperglycémie chronique. Aussi, pour l'évaluation de l'activité biologique, nous nous sommes basés sur deux paramètres, la glycémie à jeun et le test de tolérance orale au glucose.

Le screening phytochimique est essentiel afin d'identifier les composés existant dans l'extrait aqueux et ses fractions.

Ce modeste travail est réalisé, d'une part, à l'université de Tlemcen, laboratoire recherche, LASNABIO où nous avons effectué les différentes extractions et les tests phytochimiques. D'autre part, l'évaluation de l'activité antidiabétique des extraits préparés au laboratoire a été faite à la ferme expérimentale de la faculté des sciences de la nature et de la vie de l'université de Mascara.

Le diabète sucré est une maladie hétérogène caractérisée par une hyperglycémie chronique résultante d'un défaut de la sécrétion ou de l'action de l'insuline. Cette physiopathologie a une étiologie variable. Plusieurs défaillances existent et caractérisent les différentes formes du diabète sucré.

Les chiffres se révèlent inquiétants ; en effet, la fédération internationale du diabète (FID) estime à environ 371 millions le nombre de diabétiques dans le monde en 2012 ce qui représente 8,3% de la population mondiale. En Afrique la prévalence des diabétiques est de 4,3% [FID, 2012].

Avant l'ère de l'insulinothérapie, les diabétiques mourraient rapidement de coma acidocétosique. Depuis l'avènement des antibiotiques, les infections sévères sont jugulées, et ces deux progrès remarquables ont permis d'augmenter considérablement l'espérance de vie des diabétiques [Wright *et al.*, 1980].

L'hyperglycémie chronique est associée à terme avec des complications organiques touchant, particulièrement, les yeux, les nerfs, les reins, le cœur et les vaisseaux. Ces complications constituent toute la gravité du diabète sucré. Tous ces effets nocifs de l'hyperglycémie justifient le besoin d'équilibrer aussi parfaitement que possible le taux du glucose dans le sang [Jaspreet *et al.*, 2003].

Un bon contrôle glycémique est basé sur un régime alimentaire équilibré et hypocalorique, l'exercice physique et le traitement médicamenteux. Ce dernier est représenté seulement par l'insuline chez les diabétiques de type 1. Aussi, il est constitué des antidiabétiques oraux (ADO) et d'insuline chez les diabétiques de type 2.

Comme tout médicament, ces thérapies causent chez la majorité des patients, de graves effets secondaires : état d'hypoglycémie, coma d'acidocétose, problèmes digestifs et autres. De plus, ces ADO ne sont pas disponibles dans certaines régions du monde ou ils coûtent chers et deviennent, dans les deux cas, inaccessibles pour certains patients.

Pour ces raisons, les gens retournent de nouveau vers la médecine traditionnelle, dite conventionnelle, particulièrement vers la thérapie par les plantes dite phytothérapie. Cette forme de thérapie est accessible vue la biodiversité végétale du globe terrestre et sa richesse en plantes antidiabétiques.

En Algérie, nombre important d'espèces végétales est utilisé comme remède contre le diabète sucré dont la majorité n'est pas évaluée scientifiquement. Le fenugrec, le ginseng, l'origan, la lavande et autres sont des exemples de plantes réputées antidiabétiques. *Zygophyllum geslini* connue sous le nom arabe de "Aggaya" est une herbe saharienne utilisée par la population algérienne contre plusieurs maladies dont le diabète sucré.

Cette espèce endémique, objet de notre travail, est très peu étudiée. Le présent travail s'intéresse à l'évaluation de l'activité antidiabétique de ce végétal par la réalisation d'une série d'essais effectués sur le rat Wistar rendu diabétique par la streptozotocine comme modèle de diabète expérimental.

Notre premier objectif est la mise en évidence des effets antidiabétiques de l'extrait aqueux brut de la partie aérienne de *Z. geslini* et de ses fractions obtenues par extraction liquide-liquide. Le fractionnement du dit extrait permet de cibler une fraction de molécules chimiques ayant la meilleure activité sur le diabète induit par la streptozotocine.

1. Définition du diabète sucré:

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

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 jeûne est supérieure ou égale à 1.26g/l. On distingue quatre types de diabète sucré suivant la cause de la maladie (étiologie) dont les plus répandus sont le diabète de type 1 et 2 [OMS, 2002].

Le nombre de personnes atteintes de diabète sucré dans le monde connaît une croissance accélérée. Il était 135 millions en 1995 et pourrait atteindre 300 millions de personnes en 2025. L'augmentation attendue du nombre de diabétiques de type 2 se traduira par plus de 130 millions de nouveaux cas dans le monde entre 2007 et 2025, essentiellement dans les pays en voie de développement. Le diabète est responsable d'une morbidité et d'une mortalité accrues [Yang *et al.*, 2012].

2. Complications du diabète sucré:

L'hyperglycémie chronique est la cause des complications organiques spécifiques touchant particulièrement les yeux, les nerfs, les reins, le cœur et les vaisseaux [Racah, 2004].

Les complications de cette affection restent très graves et constituent un risque de mortalité très élevé. La mortalité cardiovasculaire en France chez les personnes atteintes d'un diabète sucré de type 2 est approximativement le double de celle des sujets non diabétiques [Drouin *et al.*, 1999].

Les diabétiques de type 2, précisément, sans aucun passé coronaire avaient un risque d'infarctus myocardique aussi élevé que celui des témoins non diabétiques qui avaient déjà présenté antérieurement un infarctus [Buysschaert *et al.*, 1999].

A coté de l'hyperglycémie chronique et la glycation non enzymatique des protéines, un facteur très important impliqué dans la genèse de ces complications est le stress oxydatif [Punitha *et al.*, 2005 ; Raccach, 2004; Guerci *et al.*, 2001].

Le métabolisme cellulaire normal de l'oxygène produit de manière continue de faibles quantités d'espèces oxygénées activées dont font partie les radicaux libres (O_2 ; OH ; ...), le peroxyde d'hydrogène et l'oxygène singulet [Pincemail *et al.*, 1999 ; Huang *et al.*, 2004]. Dans certaines conditions, une surproduction d'espèces oxygénées activées (EOA) due à l'activation de divers mécanismes biochimiques peut submerger rapidement les défenses antioxydantes ; c'est le stress oxydatif [Punitha *et al.*, 2005 ; Pincemail *et al.*, 1999].

Les EOA sont des molécules instables, potentiellement toxiques pour l'organisme car elles peuvent inactiver des protéines, induire des cassures au sein de l'ADN avec, comme conséquence, une altération du message génétique, dégrader les sucres, oxyder les lipoprotéines et initier des processus de peroxidation lipidique au sein de la membrane cellulaire en s'attaquant aux acides gras polyinsaturés [Raccach, 2004]. Parfaitement, le diabète sucré provoque une augmentation de la production des EOA d'une part et d'autre part, une diminution des antioxydants, ce qui est à l'origine des micro et des macro angiopathies [Eshrat, 2002].

2.1. Complications chroniques

Toute la gravité du diabète sucré réside dans la survenue des complications chroniques dégénératives responsables d'une surmortalité chez les diabétiques. Un bon équilibre glycémique prévient l'apparition de certaines d'entre elles (microangiopathie, neuropathie) ou à défaut retarde leur survenue. Ces complications nécessitent une prise en charge pluridisciplinaire pour ralentir leur aggravation [Yang *et al.*, 2012]. Elles sont classées en 3 groupes :

2.1.1. Microangiopathie :

Elle résulte d'une atteinte diffuse des artérioles et des capillaires. Elle touche tous les organes mais la localisation la mieux étudiée est les vaisseaux de la rétine « rétinopathie » qui reste la première cause, chez de nombreux cas, de cécité chez les sujets âgés de 20 à 64 ans. Environ 12% des diabétiques de type 1 dans le monde sont aveugles après 30 ans de diabète et

7% des diabétiques de type 2 sont aveugles après 20 ans de diabète [Grimaldi *et al.*, 2009]. La cataracte ainsi que le glaucome sont les deux formes les plus répandues d'une rétinopathie.

La néphropathie diabétique est la première cause d'insuffisance rénale chronique. Elle est définie comme une glomérulopathie spécifique du diabète sucré. Elle peut conduire à l'insuffisance rénale jusqu'au stade ultime terminal nécessitant la dialyse [Halimi *et al.*, 2011].

2.1.2. Macroangiopathie :

Elle est liée à une atteinte des artères de gros et moyen calibre. Son support anatomique est une athérosclérose non spécifique. On peut citer plusieurs formes de cette complication.

Les artères des membres inférieurs peuvent être le lieu d'une artériopathie dont l'aspect le plus évocateur est la gangrène. Ce type de complication peut se traduire au niveau des troncs artériels supraortiques par des accidents vasculaires cérébraux [Yang *et al.*, 2012].

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

2.1.3. Neuropathie :

Elle est due à des lésions du système nerveux aussi bien somatique (neuropathie périphérique) que végétatif (neuropathie autonome). Ces complications chroniques ne sont pas inéluctables chez tous les diabétiques [Grimaldi *et al.*, 2009].

2.2. Complications métaboliques aiguës du diabète sucré :

Trois principales complications métaboliques aiguës sont connues, l'acidocétose, le coma hyperosmolaire et l'acidose lactique [Gautier, 2004]. Elles sont, le plus souvent, la conséquence d'erreurs thérapeutiques ou d'un défaut de surveillance. Leur prévention est possible si le malade est conscient.

L'acidocétose est de loin la plus fréquente. Elle touche surtout les diabétiques de type 1 mais aussi certains diabétiques de type 2 [Yang *et al.*, 2012]. En plus, on distingue d'autres

complications aiguës telle que, l'hypoglycémie [Grimaldi *et al.*, 2009], l'acidose lactique et le coma d'hyperglycémie [Dirckx, 1998].

3. Traitement du diabète sucré:

Un bon contrôle glycémique du diabète sucré est recommandé pour retarder, voir prévenir la survenue et ralentir la progression des complications [Jaspreet *et al.*, 2003]. Pour atteindre ces objectifs, plusieurs thérapies sont à notre disposition. Un régime alimentaire bien équilibré en glucides, en protéines et en lipides [Gin et Regalleau, 1999] ainsi que l'exercice physique [Charbonnel et Cariou, 1997] sont des composantes essentielles du traitement du diabète sucré.

Encore, l'insulinothérapie occupe une place importante dans l'arsenal thérapeutique du diabète de type 1 [Gin et Regalleau, 1999] et du diabète de type 2 [Dirckx, 1998]. Ce dernier nécessite chez la majorité des patients et surtout pendant les premiers stades, une prise en charge médicamenteuse et cela par l'intervention des antidiabétiques oraux qui sont classés selon leur mode d'action en trois catégories :

- Les sulfamides hypoglycémisants stimulent la sécrétion d'insuline par les cellules β du pancréas en les sensibilisant à l'action du glucose [Dey *et al.*, 2002].
- Les biguanides classés en deuxième lieu n'agissent pas sur la sécrétion insulinaire, ce sont des potentialisateurs d'effets de l'insuline [Thulé, 2012].
- Les inhibiteurs des alpha-glucosidases constituent la troisième classe des antidiabétiques oraux. Ils atténuent la glycémie post-prandiale par leur action directe comme agent inhibiteur des alpha-glucosidases intestinales en ralentissant la digestion des polysaccharides [Hermans, 1998].

3.1. Les antidiabétiques oraux:

3.1.1. Les sulfamides :

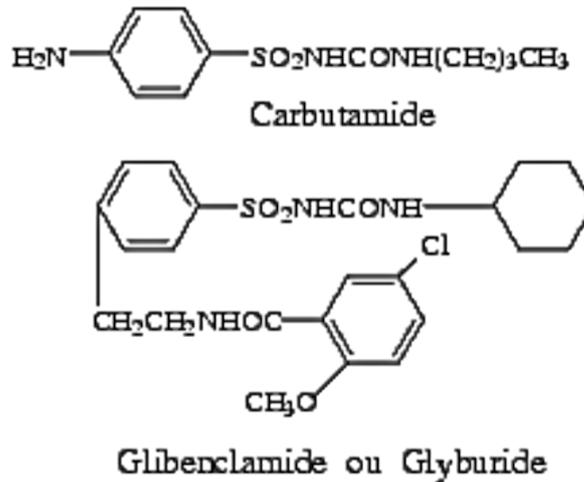


Figure 1 : structure des sulfamides (carbutamide et glibenclamide) [Anonyme 01, 2008].

Les sulfamides hypoglycémiantes (sulfonylurées) sont administrés aux diabétiques dès les années 1950. Amarel[®] est un dérivé de référence, efficace en une prise quotidienne. Il a été commercialisé depuis 1996 [Vaubourdolle, 2007].

Les sulfamides se fixent sur la protéine SUR (SulfonylURée) des canaux K_{ATP} des cellules β des ilots de Langerhans. Ils induisent la fermeture des canaux potassiques ATP-sensibles, la dépolarisation des cellules et la sécrétion de l'insuline. L'afflux de calcium dans le cytoplasme des cellules bêta-pancréatiques induit l'exocytose des vésicules contenant l'insuline d'une façon similaire à celle observée après stimulation par le glucose [Guillausseau, 2003]. L'efficacité hypoglycémiante des sulfamides dépend donc de la capacité résiduelle du pancréas à sécréter de l'insuline [Leutenegger, 1996].

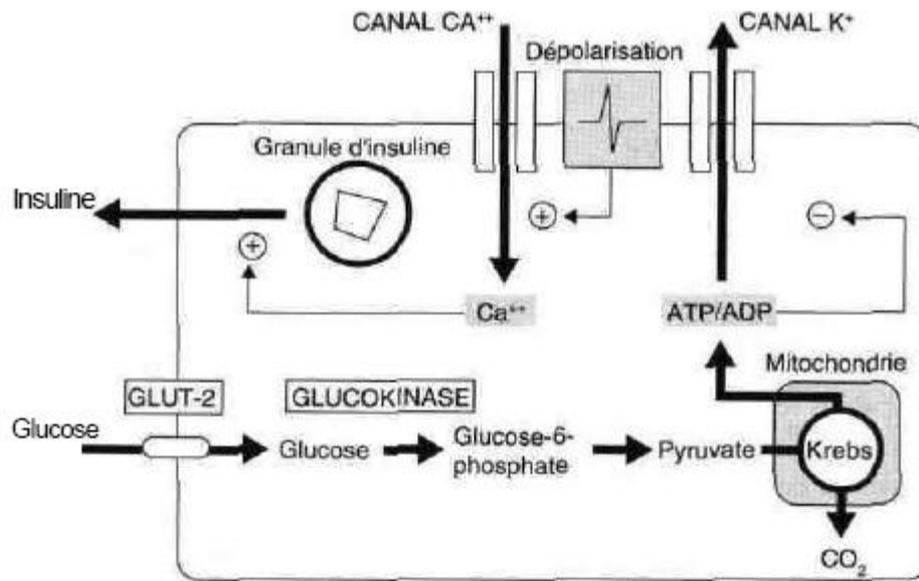


Figure 2 : Schéma de mécanisme de sécrétion de l'insuline [Mosbah et Andreelli, 2012].

Le principal effet indésirable des insulinosécrétagogues est l'hypoglycémie, une diminution anormale de la glycémie au dessous de 0,50 g/l.

Les autres effets indésirables sont observés chez 3 à 4% des patients recevant des sulfamides hypoglycémiantes: réactions cutanées, troubles gastroduodénaux et les complications hématologiques qui sont rares (anémie hémolytique) [Guillausseau, 2003]. Les effets tératogènes sont réels chez l'animal à des doses très largement supra-thérapeutiques.

3.1.2. Les biguanides:

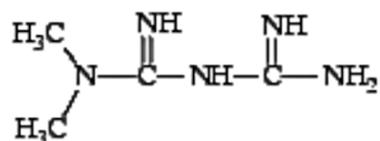


Figure 3: structure des biguanides [Keen et Jarrett, 1968]

Leur introduction, en 1957, dans la thérapie du diabète, a constitué un progrès considérable [Darnaud, 1999].

Les biguanides sont antihyperglycémiantes. Ils réduisent la glycémie basale et postprandiale en diminuant la production hépatique du glucose (inhibition de la néoglucogénèse et de la glycogénolyse et favorisant la capture et l'utilisation périphérique du glucose principalement au niveau musculaire (augmente la sensibilité à l'insuline). Sur le plan moléculaire, ils stimulent la glycogène synthétase et augmente la capacité de transport de tous les types de transporteurs membranaires de glucose (GLUT). Ce sont des médicaments du diabète de type 2. On les utilise lorsque la stimulation du pancréas n'est ni nécessaire ni recherchée [Stora, 2007].

La metformine agit en diminuant l'insulinorésistance [Slama, 2000]. De plus, on observe une diminution du taux des acides gras, cholestérol et triglycérides chez les sujets traités par les biguanides [Damiens, 1985]. Comme ils n'ont pas d'effet pancréatique, ils ne provoquent jamais d'hypoglycémie.

Les effets secondaires les plus fréquents sont les troubles digestifs qu'on observe dans 10 à 30% des cas [Perlemuter, 1994]. Les troubles rencontrés sont : goût métallique dans la bouche, nausées, vomissement et aussi diarrhée [Darnaud, 1999]. Ces effets sont maximums en début de traitement, et peuvent être atténués par une augmentation graduelle des doses et la prise des comprimés au cours ou au décours du repas.

L'acidose lactique induite par les biguanides est une complication rare mais sévère, avec une mortalité supérieure à 50%. L'acidose lactique concerne essentiellement des sujets âgés [Guillausseau, 2003]. Elle est favorisée par toutes les causes prédisposant à l'accumulation d'acide lactique (diminution de l'élimination : insuffisance rénale ou hépatique, augmentation de l'accumulation : toutes les causes d'hypoxie telles que insuffisances cardiaque, respiratoire, etc.) [Perlemuter, 1994].

3.1.3. Les glinides :

Les glinides représentent une nouvelle famille d'insulinosécréteurs dont l'action est plus rapide et moins prolongée que les sulfamides [Saudon, 2003]. Ils sont des dérivés de l'acide benzoïque [Vaubourdolle, 2007]. Un seul représentant de cette classe thérapeutique est actuellement disponible sur le marché français : la repaglinide, appelé Novonorm® [Saudon, 2003].

Les glinides ont une action globalement superposable à celle des sulfamides sur les canaux potassiques [Vaubourdolle, 2007]. Ils se lient à la surface des cellules β et stimulent, via une fermeture des canaux potassiques ATP sensibles et un influx de calcium, la sécrétion d'insuline. Les glinides sont particulièrement efficaces pour contrôler l'hyperglycémie postprandiale et limiter les hypoglycémies tardives. Dans certains cas, leur action très courte autorise un échappement glycémique en fin de nuit, caractérisé par une glycémie à jeûne élevée [Buysschaett, 2006].

Les effets indésirables observés sont des troubles gastroduodénaux et des réactions cutanées [Guillausseau, 2003].

Le risque d'hypoglycémie n'est pas nul puisque le produit agit en stimulant la sécrétion d'insuline mais le contrôle de cet effet est facilité par la souplesse d'administration du produit [Perlemuter, 1994].

3.1.4. Les thiazolidinédiones ou glitazones :

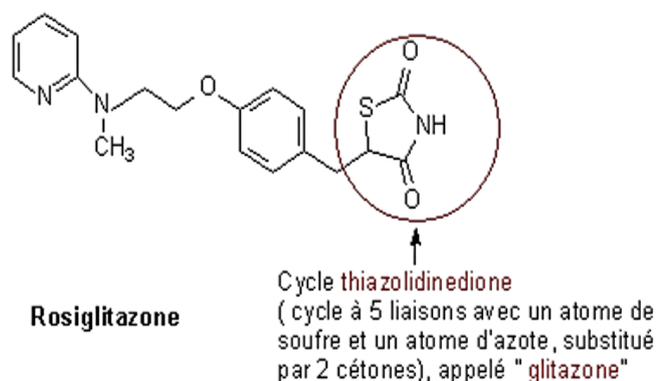


Figure 4: structure des thiazolidinédiones [Anonyme 01, 2008]

Les thiazolidinediones font partie d'une toute nouvelle famille [Saudon, 2003]. Une première thiazolidinedione, la troglitazone a été commercialisée aux Etats-Unis en 1997 et retirée du marché en 2000 en raison de son hépatotoxicité. Deux autres thiazolidinediones ont été mises sur le marché français en 2002, la rosiglitazone et la pioglitazone.

Les glitazones sont des insulinosensibilisateurs purs [Guillausseau, 2003]. Ils augmentent donc la captation musculaire de glucose, probablement grâce à une action directe sur le transporteur musculaire de glucose. Elles ont également, une action sur les cellules graisseuses (adipocytes) en permettant une diminution des taux sanguins de triglycérides et d'acides gras libres, améliorant ainsi indirectement la captation du glucose et son oxydation par le muscle.

La cible de ces molécules est un récepteur appelé PPAR- γ (peroxisome proliferator-activated receptor). Les PPAR- γ , présents sur les cellules graisseuses, exercent une action de contrôle sur la masse graisseuse. La stimulation de ces récepteurs par les glitazones provoque la destruction des grosses cellules graisseuses actives au plan métabolique et par conséquent, diminue les taux d'acides gras libres du sang, réduisant au final l'insulino-résistance [Saudon, 2003].

Plusieurs travaux indiquent que les glitazones, à côté de leur effet insulinosensibilisant, influencent favorablement certains facteurs de risque cardio-vasculaire, dont le taux de protéines inflammatoires, la dyslipidémie et la pression artérielle [Bysschaett, 2006]. Utilisées seules ou en association avec la metformine, la rosiglitazone et la pioglitazone n'entraînent pas d'hypoglycémie, mais elles potentialisent l'effet hypoglycémiant des sulfamides hypoglycémiants [Guillausseau, 2003].

3.1.5. Les inhibiteurs des alpha glucosidases intestinales :

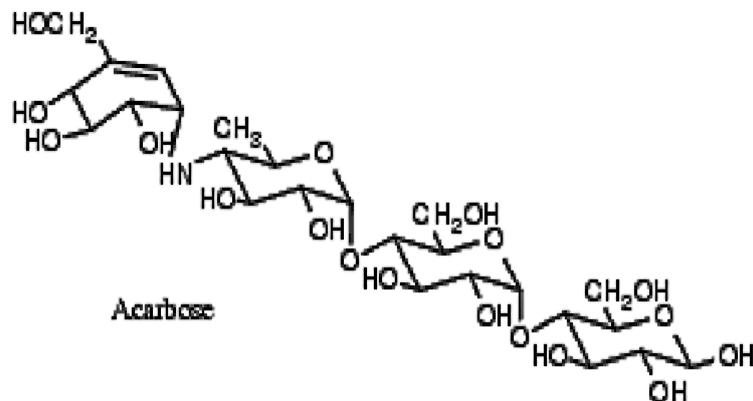


Figure 5: structure de l'acarbose [Anonyme 01, 2008]

Les inhibiteurs des alpha glucosidases (acarbose[®]) sont également d'une utilisation intéressante [Bysschaert *et al.*, 1999].

Les α -glucosidases sont des enzymes contenues dans la salive, le suc pancréatique et les cellules de l'intestin grêle (les anthérocytes). Elles hydrolysent les glucides alimentaires pour leur permettre d'être absorbés sous forme monosaccharidique, qui seuls peuvent franchir la barrière intestinale [Saudon, 2003].

Les inhibiteurs d'alpha glucosidases intestinales ralentissent le clivage enzymatique des sucres alimentaires en mono et disaccharides. L'absorption du glucose après un repas est ainsi retardée dans le temps. Les inhibiteurs de l'alpha glucosidase sont essentiellement actifs sur l'hyperglycémie postprandiale [Guillausseau, 2003].

L'effet sur la glycémie à jeûne est par contre beaucoup moins évident [Leutenegger, 1996].

Les principaux effets secondaires des inhibiteurs d'alpha glucosidases intestinales sont digestifs et liés à l'arrivée d'oligosaccharides dans le colon, favorisant la croissance bactérienne et la présence de substance osmotiquement actives dans la lumière intestinale. Les manifestations cliniques, qui affectent dans certaines séries jusqu'à 50% des patients, sont représentées par des flatulences, un météorisme et de la diarrhée. Ces troubles seront prévenus

par l'utilisation de faibles doses initiales, avec une augmentation progressive [Guillausseau, 2003].

3.2. Traitement naturel

Plusieurs plantes sont utilisées traditionnellement pour traiter le diabète sucré [Marles et Farnsworth, 1994]. Cependant, juste une minorité de ces plantes connaît une évaluation scientifique. On peut citer, *Momordica charantia*, *Catharanthus roseus*, *Trigonella foenum-graecum*, *Allium cepa*, *Allium sativum*, et autres [Al-Achi, 2005]. Ce qui est remarquable est l'existence de plusieurs composés d'origine végétale, semblant donner cet effet bénéfique.

La plante représente la forme majeure de traitement traditionnel dans le monde entier. Elle est caractérisée par ses effets positifs avec moins d'effets secondaires graves. L'usage de la médecine traditionnelle est très répandu et revêt une importance sanitaire et économique croissante. Dans les pays en voie de développement, l'utilisation courante de la médecine traditionnelle est accessible et abordable, particulièrement pour les patients les plus pauvres du monde vu le coût élevé de certains médicaments ainsi que leur indisponibilité sur le marché [OMS, 2002].

1. Introduction :

Depuis la nuit des temps, les hommes apprécient les vertus apaisantes et analgésiques des plantes. Aujourd'hui encore, les deux tiers de la pharmacopée ont recours à leurs propriétés curatives. À travers les siècles, les traditions humaines ont su développer la connaissance et l'utilisation des plantes médicinales. Si certaines pratiques médicales paraissent étranges et relèvent de la magie, d'autres au contraire semblent plus fondées et plus efficaces. Pourtant, toutes ont pour objectif de vaincre la souffrance et d'améliorer la santé des hommes [Larousse, 2001].

La phytothérapie est l'art de se soigner par les plantes [OMS, 2002]. C'est une médecine très ancienne. Actuellement, de nombreux médicaments tirent leur origine des plantes médicinales. Cette forme de médecine ne s'oppose pas aux autres thérapies, elle augmente l'efficacité d'un traitement ou atténue ses effets secondaires [Larousse, 2001].

Une plante est dite médicinale lorsqu'au moins une partie possède des propriétés curatives ou préventives à l'égard des maladies avec ou sans principes actifs déterminés [Claisse-Dauchy, 1996 ; Bruneton, 1999]

La plante est un ensemble de secrets. Par son organisation bien structurée, elle constitue un élément très riche en substances actives. La feuille est le site de toutes les synthèses chimiques et la partie la plus utilisée en thérapeutique. Aussi, la tige et surtout la partie externe de la tige, notamment l'écorce, sont souvent utilisées. La fleur renferme dans ses différentes parties bon nombre de composés appréciables [Wichtl et Anton, 2003]. Si les fruits et les graines fournissent des réserves nutritionnelles et une grande quantité de substances actives, les racines peuvent aussi stocker certains principes actifs comme les alcaloïdes, sans oublier les tubercules rhizomes et bulbes qui contiennent grand nombre de principes essentiels.

2. Principes actifs des plantes :

Les principes actifs des plantes sont de nature organique: polysaccharides, acides aminés [Al-Achi, 2005], flavonoïdes, saponosides, acides gras, alcaloïdes [Marles et Farnsworth, 1994 ; Dey *et al.*, 2002] ou de nature minérale, tel que le chrome organique qui potentialise l'effet de l'insuline [Aharonson *et al.*, 1969 ; Evans et Bowman, 1992].

A coté du chrome, le vanadium, un insulino-mimétique [Thompson et Godin, 1995] connu avant la découverte de l'insuline, a été utilisé pour le contrôle de la glycémie [Dey *et al.*, 2002]. D'autres minéraux tels que le magnésium, le cuivre, le sélénium et le fer ont également des effets bénéfiques [Thompson et Godin, 1995 ; Ducros et Favier, 2004].

C'est d'abord la chimie dite d'extraction qui a permis d'isoler des composants à partir de plantes telle que la morphine du *Papaver somniferum*. La chimie dite de synthèse a permis, ensuite, de reproduire et reconstituer ces principes végétaux en prenant modèle sur la plante. Par ailleurs, les chercheurs ont réussi à déterminer comment ces substances agissent sur l'organisme [Larousse, 2001]. Donc, les plantes médicinales doivent leurs actions à plusieurs éléments actifs qu'on peut analyser chimiquement [Verdrager, 1978].

2.1. Les alcaloïdes :

Formant un groupe très large, les alcaloïdes possèdent presque tous un atome d'azote qui les rend pharmaceutiquement très actifs. Certains sont des médicaments connus qui ont des vertus thérapeutiques avérés, c'est le cas d'un dérivé de la pervenche « *Vincarosea* » employé pour traiter certains cancers [Nowitz et Bottet, 2000 ; Larousse, 2001]. De plus, ils ont une action physiologique remarquable sur le système nerveux central ou sur le système nerveux autonome sympathique et parasympathique dont ils agissent en petite quantité.

2.2. Les saponosides :

Ce sont des molécules de forme hétérosidique. Ils se divisent en saponosides à génine triterpénique et stéroïdique. Les saponosides (saponines) doivent leur nom au fait que comme le savon, elles produisent de la mousse en contact avec l'eau [Bruneton, 1999].

Les saponines stéroïdiques ont une structure chimique similaire à celle de nombreuses hormones humaines (cortisol et œstrogène) et confèrent aux plantes qui les contiennent une activité hormonale, comme la réglisse « *Glycyrrhiza glabra* ». Les triterpénoides présents dans les racines de primevère « *Premulaveris* » sont de puissants expectorants, mais peuvent aussi faciliter l'absorption des éléments nutritifs [Larousse, 2001].

2.3. Les phénols :

Il existe une très grande variété de composés phénoliques, du plus simple comme l'acide salicylique au plus complexe comme les tannins. On suppose que les plantes en les produisant, cherchent à se prémunir contre les infections et les insectes phytophages [Nowitz et Bottet, 2000].

Les phénols sont surtout des antiseptiques « arbutoside de la busserole » et des antalgiques [Wichtl et Anton, 2003].

Les acides phénoliques comme l'acide rosmarinique, sont fortement antioxydantes et anti-inflammatoires et peuvent avoir des propriétés antivirales [Nowitz et Bottet, 2000].

2.4. Les flavonoïdes :

Ce sont des pigments végétaux, en particulier, jaune et orange. Les flavonoïdes présents dans nombreuse plantes sont des anti-inflammatoires qui assurent une bonne circulation sanguine.

La rutine présente dans plusieurs plantes telle le citron renforce les parois des vaisseaux capillaires [Larousse, 2001]. Ce sont aussi des antiagrégants plaquettaires non toxiques et empêchent l'adhésion du thrombus à la paroi vasculaire « prévention des infarctus » [Wichtl et Anton, 2003].

2.5. Les tannins :

Ce sont des substances de saveur astringente ayant la propriété de tanner la peau et de se combiner aux protéines animales par des liaisons hydrogènes [Pousset, 1989].

Ce sont des composés polyphénoliques qui permettent de stopper les hémorragies et de lutter contre les infections. Les plantes riches en tanins sont utilisées pour retendre les tissus souples comme dans le cas des veines variqueuses, pour drainer les sécrétions excessives, comme dans la diarrhée et pour réparer les tissus endommagés par un eczéma ou une brûlure [Nowitz et Bottet, 2000].

2.6. Les glycosides cardiotoniques :

Ils sont présents dans de nombreuses plantes médicinales telles que les digitales. Ils ont une action puissante sur le cœur ; ils aident à maintenir le rythme cardiaque en cas d'affaiblissement et ils sont également diurétiques [Nowitz et Bottet, 2000 ; Larousse, 2001].

2.7. Les glycosides cyanogènes :

Bien que ces substances soient à base de cyanure, un poison très violent, prises en petite doses, elles ont des effets sédatifs et relaxants sur le cœur et les muscles [Larousse, 2001].

2.8. Les polysaccharides :

On les trouve dans toutes les plantes. Du point de vue phytothérapie, les plus importants sont les mucilages et les gommages qui absorbent de grandes quantités d'eau, produisant une masse gélatineuse qui peut être utilisée pour protéger les tissus enflammés et calmer la douleur [Nowitz et Bottet, 2000].

Un effet hypoglycémiant a été observé avec le fenugrec et le tamarin, éventuellement par ralentissement de la résorption des sucres induit par les mucilages [Teuscher *et al.*, 2005].

2.9. Les anthocyanes :

Ils sont issus de l'hydrolyse des anthocyanidines. Ils donnent aux fleurs et aux fruits leurs teintes bleu, rouge ou pourpre. Ces puissants antioxydants nettoient l'organisme des radicaux libres et maintiennent une bonne circulation du sang [Bruneton, 1999].

2.10. Les huiles essentielles :

Il s'agit de mélanges de composés lipophiles, volatiles et souvent liquides, extraits de la plante grâce à des procédés physiques. Les huiles essentielles sont responsables de l'odeur caractéristique de la plante [Teuscher *et al.*, 2005].

Elles sont utilisées pour leurs parfums dans les préparations cosmétologiques et pour leurs propriétés antiseptiques et anti-inflammatoires. D'autres sont utilisées comme édulcorants [Domart et Bourneuf, 1988].

2.11. Les éléments minéraux :

Dans de nombreux cas, les minéraux contenus dans une plante participent activement à son activité thérapeutique. Le pissenlit « *Taraxacum officinale* » est un puissant diurétique où son effet est dû à sa concentration en potassium [Nowitz et Bottet, 2000].

3. Quelques plantes antidiabétiques :

Plusieurs plantes sont connues avoir une activité antidiabétique, hypoglycémiante, antihyperglycémiante ou hypolipidémiante. Ardemment, plus de 1123 plantes sont utilisées traditionnellement pour traiter le diabète sucré [Marles et Farnsworth, 1994]. Cependant, la majorité de ces plantes n'est pas évaluée scientifiquement.

3.1. *Momordica charantia*,

Momordica charantia, communément appelée «melon amer, gourde amère ou Karela, est une plante très amère. Elle est très utilisée contre le diabète sucré [Jung *et al.*, 2006]. Au fil des années, les chercheurs étudient la relation entre *Momordica charantia* et le diabète. Une étude montre que cette plante améliore la tolérance au glucose chez le rat rendu diabétique. Aussi la tolérance au glucose de 73% des patients diabétiques a été améliorée par le jus de fruits de *Momordica charantia* [Garau *et al.*, 2003 ; Leatherdale *et al.*, 1981].

Un peptide ayant un effet hypoglycémique, polypeptide-P, a été isolé à partir du fruit, les graines et les tissus des *Momordica charantia*. C'est un agent hypoglycémiant très efficace lorsqu'il est administré par voie sous cutanée à la gerbille, langurs et l'Homme [Paul et Raychaudhuri, 2010]. De plus, cinq triterpénoïdes cucurbitanes ont été isolés à partir du fruit de melon amer. Les structures de ces composés identifiés par HPLC sont mentionnées sur la figure 6 [Wang *et al.*, 2008].

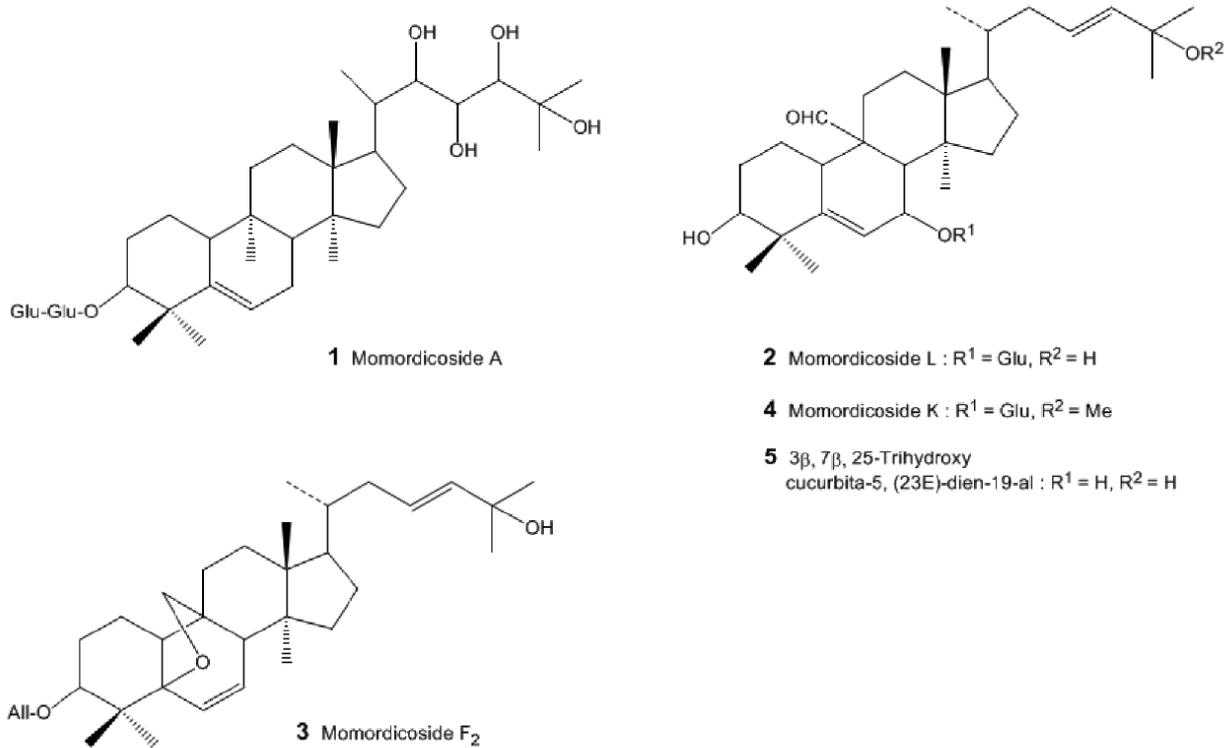


Figure 6: triterpénoïdes cucurbitanes isolés à partir du fruit de *Momordica charantia*

Une étude réalisée *in vitro* montre que le composé 5 ainsi que d'autres saponosides (momordicine I, momordicine II, 3-hydroxycucurbita-5,24-dien-19-al-7,23-di-O-β-glucopyranoside, et kuguaglycoside G) isolés à partir de la même plante stimulent la sécrétion d'insuline [Keller *et al.*, 2011].

3.2. *Trigonella foenum-graecum*

Le fenugrec, *Trigonella foenum-graecum* fait partie de la famille des fabacées et pousse dans l'Inde, l'Égypte et d'autres régions du monde. Il est utilisé comme une épice de cuisson et un agent aromatisant [Hajimehdipoor *et al.*, 2010].

La graine est la partie utilisée en médecine traditionnelle pour le traitement de la constipation, l'hyperlipidémie, le diabète sucré et après la grossesse pour favoriser la lactation.

La plupart des études sont à court terme et ne tiennent pas suffisamment compte de détails. Dans une étude de 10 jours, 10 patients atteints de diabète de type 1 consomment 100

g/jour de poudre de graines dégraissées. Les résultats montrent une diminution de la glycémie à jeun passant d'une valeur de base moyenne de 2,72 à 1,96 g/l [Shane-McWhorter, 2009].

La 4-hydroxyisoleucine est un acide aminé extrait des graines de fenugrec, présente une activité intéressante en stimulant la sécrétion d'insuline glucose-dépendante [Broca *et al.*, 1999]. La teneur moyenne en cet acide aminé est environ 0,4% [Hajimehdipoor, 2009]. Une autre étude réalisée par Broca et ses collaborateurs sur deux modèles de rats ayant une insulino-résistance montre que la 4-hydroxyisoleucine améliore la sensibilité des cellules à l'insuline, diminue l'insulino-résistance et inhibe la libération hépatique du glucose [Broca *et al.*, 2004].

De plus, un autre composé est isolé à partir du fenugrec ; c'est la diosgénine, un saponoside dont la recherche de son activité biologique montre qu'il agit au niveau hépatique. Cette molécule inhibe l'anabolisme des lipides par suppression de l'expression des ARNm des gènes codant la lipogénèse [Uemura *et al.*, 2011]. Ce composé est le saponoside majoritaire des graines du fenugrec [Raju, 2006].

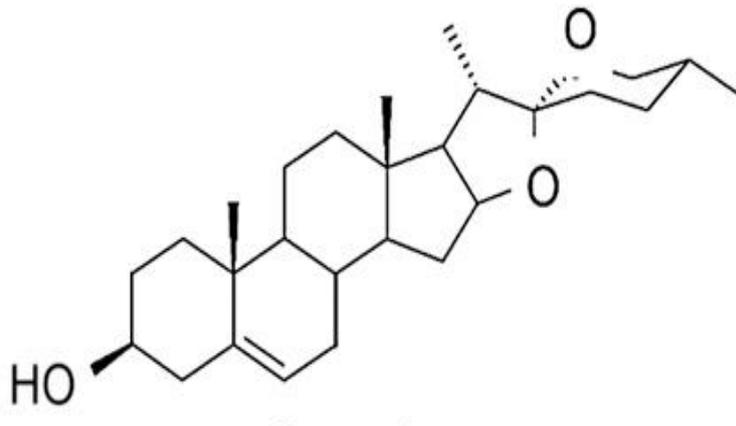


Figure 7: diosgenine

3.3. *Allium cepa*

Allium cepa de la famille des liliacées est utilisée dans la médecine traditionnelle depuis des centaines d'années. L'utilisation la plus populaire de cette espèce est contre l'hypertension artérielle [Ikram, 1971], comme antiseptique [Khaki *et al.*, 2010], hypoglycémique et hypocholestérolémique [Mathew et August, 1975]. Le principe actif de cette plante est l'allylpropyldisulfide, un composé soufré [Kumari *et al.*, 1995].

L'extrait aqueux d'*Allium cepa* testé à différentes doses chez le rat Wistar provoque une diminution dose-dépendante de l'hyperglycémie. Une réduction de l'ordre de 75,4% de la glycémie initiale pour une dose de 300mg/kg [Ozougwu, 2011].

D'autre part, l'extrait organique (éther diéthylique/ éthanol) de la même plante agit au niveau intestinal par inhibition des α -glucosidases et diminution de l'absorption intestinale des glucides, ce qui diminue la glycémie post-prandiale [Kim *et al.*, 2011].

3.4. *Allium sativum*

L'ail, *Allium sativum*, est une des plantes médicinales les plus utilisées contre le diabète sucré [Mahesar *et al.*, 2010]. Au Maroc, cette plante figure parmi les traitements traditionnels les plus populaires [Bnouham *et al.*, 2002].

Les extraits aqueux des bulbes de l'ail, d'*Allium cepa* et de *Zingiber officinale* réduisent la glycémie chez le rat wistar rendu diabétique par l'alloxane. En comparant les trois espèces, *A. sativum* présente la meilleure activité [Eyo *et al.*, 2011]. Testé chez le rat Wistar rendu diabétique par la streptozotocine, *A. sativum* est significativement efficace sur la glycémie comparé au glibenclamide [Eidi *et al.*, 2006]. En outre, il réduit la cholestérolémie [Khatibi, 2011; Choudhary, 2008 ; Banerjee et Maulik, 2002].

Sur le plan clinique, l'effet de l'ail sur le diabète associé à une dyslipidémie a été étudié. Cette étude montre que *Allium sativum* associé au *Curcuma longa* diminuent le taux d'hémoglobine glyquée, la glycémie et améliorent les paramètres lipidiques [Sukandar *et al.*, 2010 ; Rizwan *et al.*, 2011].

L'ail contient nombre important de principes actifs responsables de ses effets médicaux. Ce sont des composés soufrés tel que le S-allyl cystéine sulfoxide responsable de

la majorité des effets bénéfiques de l'ail. Aussi, l'ail contient environ 1% d'alliin qui se transforme par l'alliinase en allicine (S-allylcystéine sulfoxide). Ce dernier est doué, en plus de son pouvoir antidiabétique, d'une activité anticancéreuse [Martha *et al.*, 2007].

3.5. Ginseng :

Le ginseng est un nom qu'on attribue à plusieurs espèces végétales dont le *Panax ginseng* (asiatique ginseng), *Eleutherococcus senticosus* (ginseng sibérien), *P. quiquefolius* (ginseng américain) et *P. japonicus* (ginseng japonais) [Xie *et al.*, 2005].

Les racines du ginseng sont utilisées depuis des centaines d'années dans la médecine traditionnelle et particulièrement contre le diabète sucré. Plusieurs études ont montré scientifiquement l'usage de ces racines qui ont amélioré le diabète chez le rat et le patient diabétique [Shane-McWhorter, 2009]

La racine du ginseng asiatique contient des substances chimiques actives appelées ginsénosides (ou panaxosides) auxquelles on attribue les propriétés médicinales de la plante [Attele *et al.*, 2002].

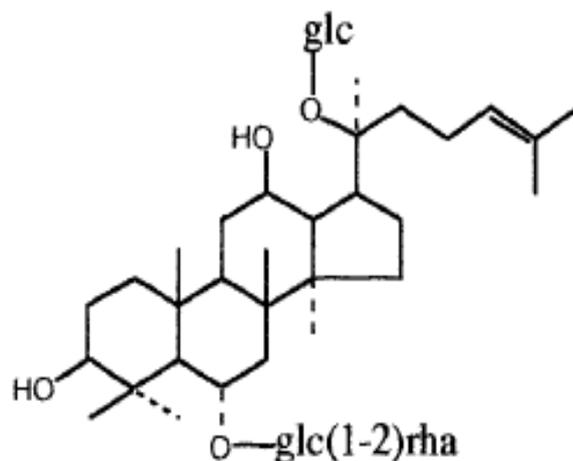


Figure 8: Ginsénoside

Le mécanisme d'action du ginseng reste mal connu. Certains chercheurs proposent la possibilité de son action au niveau des cellules en augmentant la pénétration du glucose et qu'il pourrait potentialiser l'effet du glucose sur la sécrétion de l'insuline [Shane-McWhorter, 2009]. Le ginseng américain semble efficace sur la glycémie post-prandiale [Vuksan *et al.*, 2001].

D'autres travaux montrent que les glycopeptides du ginseng sont responsables d'un effet antihyperglycémiant [Wang *et al.*, 2003].

3.6. *Zygophyllum geslini* :

En Algérie, plusieurs plantes sont utilisées traditionnellement pour traiter le diabète sucré ; parmi elles, le *Zygophyllum geslini* Coss. [Smati *et al.*, 2004], objet de notre étude.

Le *Zygophyllum geslini* est une Zygophyllacée vivace de la classe des Magnoliopsides, de l'ordre des Sapindales. C'est une plante en petits buissons ramifiés, à rameaux blanchâtres, à petites feuilles charnues et composées de deux folioles. Les fleurs sont petites et blanches et le fruit est prolongé en lobes, piriforme régulièrement dilaté depuis la base jusqu'au sommet mais non muni de cornu recourbé en crochet. Il est une fois et demie plus long que large.

Le pédoncule est fructifère, aussi long que le fruit. La portion libre des carpelles est trois à quatre fois plus courte que la portion soudée, faisant à peine saillie [Ozenda, 1977].

Le *zygophylle geslini* est une espèce endémique du Sahara septentrional algérien. Plusieurs espèces du même genre partagent avec le *zygophylle geslini* le nom vernaculaire de "aggaya" telles que *Z. album*, *Z. cornutum* [Baba Aïssa, 1999], *Z. gaetulum* et *Z. waterlot* [Jouad *et al.*, 2001 ; Eddouks, 2002]. Ces espèces sont utilisées en médecine traditionnelle comme remèdes de différentes affections, notamment, le *Z. gaetulum* qui est très utilisé au Maroc contre le diabète sucré. Des études réalisées sur cette plante montrent que l'extrait aqueux peut diminuer la glycémie des rats rendus diabétiques [Jouhari *et al.*, 2000]. Il est également efficace chez des patients souffrant du diabète de type 2 [Jouhari *et al.*, 1999]. De même pour *Zygophyllum cornutum*, Aggaya de la Tunisie, où il a été rapporté que cette espèce est très efficace quand elle est testée sur le lapin [Perez et Paris, 1958].

Les espèces du genre *Zygophyllum* sont très riches en saponosides. A partir des racines de *Z. coccineum* et la partie aérienne de *Z. album* et *Z. dumosum* a été isolé un

hétéroside triterpénique : Zygophyloside F. C'est un dérivé d'acide quinovique [Elgamal *et al.*, 1995].

La plante est très riche en saponosides où les deux classes sont présentes : les saponosides à génine stéroïdique et ceux à génine triterpénique. On note aussi la présence des tanins, flavonoïdes, alcaloïdes, coumarines, glucosides cardiotoniques, anthracénosides, huiles volatiles et acides gras [Medjboub, 2006].

L'extrait dichlorométhanique des racines de *Z. geslini* montre un effet cytotoxique significatif contre les cellules KB « carcinome de l'épiderme buccal humain ». Cette activité est due à un produit actif : le 3 β -(3,4- dihydroxycinnamoyl)-érythradiol (Figure 9) [Smati *et al.*, 2004].

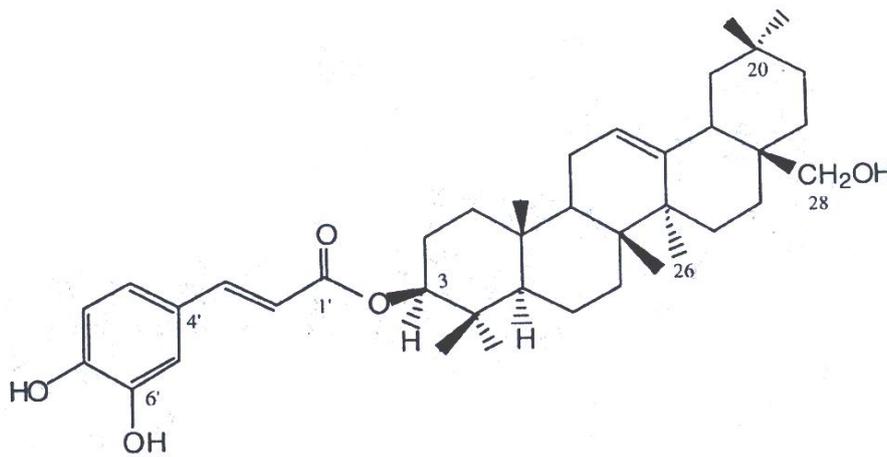


Figure 9 : 3 β -(3,4- dihydroxycinnamoyl)-érythradiol

1. Introduction :

Les méthodes d'études de l'activité antidiabétique des plantes médicinales sont variables. Certaines sont effectuées sur l'animal (pré-clinique) et d'autres sur des patients diabétiques (clinique). Le choix du modèle de diabète, la voie du traitement, le type de préparation des extraits de plantes ainsi que les paramètres d'évaluation de l'activité antidiabétique sont les points les plus importants à fixer avant l'étude.

2. Définition du diabète expérimental :

Le diabète expérimental consiste à produire, chez l'animal, un état comparable au diabète sucré, en vue de mieux comprendre le diabète sucré de l'homme ou de trouver de nouvelles thérapies [Wright *et al.*, 1980].

Le comité du conseil national américain sur les modèles animaux pour la recherche et le vieillissement définit le modèle animal pour la recherche biomédicale celui où une physiologie ou un comportement peut être étudié ou celui où une pathologie, peut être induite ou spontanée, est recherchée et dont les signes ressemblent à celle de l'Homme ou d'un autre animal [Eddooks *et al.*, 2012]

En se basant sur cette définition, les modèles animaux utilisés en recherche biomédicale peuvent être classés en cinq groupes:

- a) les modèles spontanés où la maladie ou ses conditions se produisent spontanément chez les animaux comme chez les humains,
- b) expérimentalement,
- c) des modèles génétiquement modifiés dans lesquels la maladie ou ses conditions sont induites chimiquement/chirurgicalement ou par manipulation génétique,
- d) les modèles négatifs, y compris les animaux résistants à une condition ou une maladie particulière,
- e) les modèles orphelins, y compris des modèles animaux de la maladie inconnue à ses homologues de l'Homme [Chatzigeorgiou *et al.*, 2009].

Durant ces dernières années, les études entreprises visant à la mise au point de modèles adéquats de diabète chez l'animal, notamment dans le cas du diabète de type 2 (sans obésité associée) ont abouti à différents types de modèles obtenus essentiellement chez le rat. L'exploitation de ces modèles de diabète apporte des confirmations en faveur de l'idée selon laquelle les anomalies de l'insulino-sécrétion et de la sensibilité à l'insuline seraient secondaires à une réduction plus ou moins marquée de la population de cellules β [Etuk, 2010].

3. Modèles animaux de diabète sucré :

Le diabète expérimental peut être induit chez l'animal par injection de substances diabétogènes [Crouch *et al.*, 1978] ou spontanément sous l'effet d'un régime hypercalorique ou de stress [Vogel et Vogel, 1997].

Le diabète expérimental par pancréatectomie n'est plus utilisé pour des raisons de difficultés techniques et aussi car la conséquence est une ablation de la sécrétion d'insuline ce qui est le but recherché ainsi que d'autres hormones comme le glucagon [Dupin, 1992].

3.1. Diabète spontané :

Plusieurs espèces animales ont une forte prédisposition au diabète sucré, des espèces de souris, de rats, de hamsters, de cobayes, de porcs miniatures, de singes et autres [Ganong, 2005].

Le modèle de diabète choisi est en fonction de la pathologie à étudier. Certains animaux développent un diabète ressemblant au diabète de type 2 ou de type 1. Dans certaines situations, la pathologie induite est, seulement, une partie du diabète sucré, une insulino-résistance, une réaction auto-immune contre les cellules β , une rétinopathie, ...

Donc, le choix du modèle de diabète est un point crucial pour confirmer l'effet des extraits ou de molécules testés.

3.1.1. Diabète de type 1:

Cinq modèles animaux de diabète spontané sont principalement préférés pour étudier le diabète auto-immun: la souris NOD, le rat BB, le rat LETL, le rat PDK

et le rat LEW-DID. La souris NOD et le rat BB sont les plus utilisés [Chatzigeorgiou *et al.*, 2009].

3.1.1.1. Le rat BB (Bio-breeding):

Le rat BB est un modèle de diabète spontané associé à une déficience en insuline et une insulinite due à la destruction auto-immune des cellules β pancréatiques et peut être plus sévère que chez les rats rendus diabétiques par la STZ [Horowitz et Samson, 2004]. Le rat BB développe un diabète de type 1 après exposition au stress chez les deux sexes, mâle et femelle [Vogel et Vogel, 1997 ; Mordes *et al.*, 2004].

3.1.1.2. La souris NOD (Non Obese Diabetic) :

Les souris NOD représentent un modèle d'étude du diabète de type 1. Il s'agit d'une souche de souris consanguines dont une grande majorité développe spontanément un diabète similaire au diabète de type 1 humain, au bout de 90 à 180 jours de vie. Elles ont pour particularité d'avoir un CMH II d'un type particulier (type IA g7) et de développer spontanément la maladie [Chatzigeorgiou *et al.*, 2009].

De nombreuses caractéristiques du diabète de type 1 humain et du diabète du rat BB se retrouvent dans ce modèle: destruction auto-immune des cellules β des îlots du pancréas, activité anormale des lymphocytes T, sensibilité de la maladie aux immunosuppresseurs et la composante génétique de la maladie localisée à l'intérieur du CMH [Cavan *et al.*, 1992 ; Chatzigeorgiou *et al.*, 2009].

3.1.2. Diabète de type 2:

Le diabète sucré de type 2 est une maladie très complexe et hétérogène. Plusieurs espèces peuvent développer un diabète ressemblant à cette pathologie. Ces animaux sont le plus souvent des espèces de rats et de souris, obèses (*Psammomys obesus*, souris *ob/ob*, souris *db/db*, et le rat Zucker *fa/fa*) ou non obèse (le rat *Goto-Kakizaki* et la souris mutante non-obèse C57BL/6 Akita) [Chatzigeorgiou *et al.*, 2009].

3.1.2.1. Le rat *Psammomys obesus* (PO)

Il appartient à la famille des Gerbillidae, encore appelé le rat des sables. *PO* vit dans le désert de l'Afrique du nord et des pays d'orient [Vogel et Vogel, 1997, 2007]. Il préfère les

feuilles et les tiges des plantes de la famille des Chénopodiacées et qui représentent son régime alimentaire. Ces plantes sont très riches en sels minéraux, en eau et en fibres [Dupin, 1992].

Dans son milieu naturel, cet animal se nourrit de plantes salées pauvres en calories. Soumis à un régime standard de laboratoire, 40% des animaux deviennent obèses et développent un diabète de type 2 à partir du 3^{ème} mois. Les 60% restants ne présentent pas de diabète mais restent obèses avec des taux élevés d'insuline plasmatique [Shafrir et Renold, 2001].

Le rat des sables répond à l'augmentation alimentaire provoquant une surcharge calorique par un accroissement du poids corporel dû à une augmentation de la taille des adipocytes ou cellules graisseuses, une hyperinsulinémie et une intolérance au glucose à différents degrés. L'effet du régime sur l'installation du diabète est réversible. Par contre, au-delà de 6 mois de régime, quelques animaux qui ont développé le diabète présentent une chute pondérale considérable, les taux d'insuline plasmatique diminuent fortement et celui du glucose plasmatique augmente. Ces rats des sables développent un diabète insulino-dépendant constituant la dernière phase de la maladie [Marquié *et al.*, 1997 ; Shafrir *et al.*, 2006].

3.1.2.2. Souris *ob/ob* et souris *db/db* :

Ces deux espèces présentent une mutation génétique causant un diabète de type 2 non obèse avec une transmission autosomale récessive. La physiopathologie de cette affection est un défaut de la synthèse de la leptine ou de sa fonction.

Pour la souris *ob/ob*, il s'agit d'une mutation au niveau du chromosome 6 de la souris de souche C57BL/6J. Cette mutation est dans le gène *ob* codant pour la synthèse de la leptine conduisant à une surcharge pondérale de l'animal et une obésité aboutissant à une insulino-résistance [Srinivasan et Ramarao, 2007].

Pour la souris *db/db*, la mutation est dans le chromosome 4 de la souris de souche C57BL/KsJ et précisément sur le gène *db* codant la synthèse des récepteurs de leptine. L'animal est polyphagique, obèse et développe une insulino-résistance [Chatzigeorgiou *et al.*, 2009].

3.1.2.3. Rat *Goto-Kakizaki* (GK) :

Le rat GK est un modèle de diabète polygénique produit par l'équipe de Goto et ses collaborateurs [Goto *et al.*, 1975] et cela par élevage sélectif d'individus de rat Wistar présentant une tolérance au glucose anormale.

Il est caractérisé par l'absence d'obésité, une hyperglycémie à jeûne modérée et stable, une hypoinsulinémie, une lipidémie normale et une intolérance au glucose. Ces pathophysiologie sont observées à partir de deux semaines d'âge avec des complications avancées [Portha, 2003].

Chez l'adulte, le nombre de cellules β diminue de 60% avec une diminution du stock en insuline dans les cellules pancréatiques. De plus, une insulino-résistance est observée au niveau du foie, du muscle et du tissu adipeux [Chatzigeorgiou *et al.*, 2009 ; Srinivasan et Ramarao, 2007].

3.2. Diabète induit chimiquement :

3.2.1. Diabète induit par la streptozotocine :

Le diabète sucré peut être induit chez l'animal par différentes techniques dont l'injection de la STZ qui est largement utilisée [Szkudelski, 2001]. La STZ est un glucosamine nitrosé (figure 10) [Anderson *et al.*, 1974; Povoski *et al.*, 1993] qui entraîne un effet cytotoxique sélectif des cellules β des îlots de Langerhans [Anderson *et al.*, 1974 ; Robbins *et al.*, 1980 ; Crouch *et al.*, 1978].

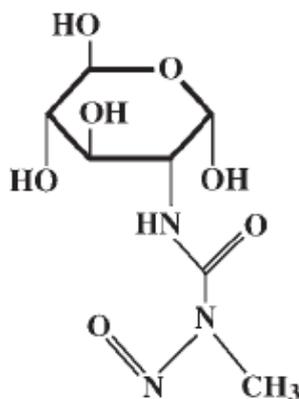


Figure 10: Streptozotocine

Le mécanisme d'action de cet agent diabétogène reste encore mal connu. Cependant, les études antérieures ont montré son action sur les îlots de Langerhans en réduisant la masse des cellules β et par conséquent une insulinopénie caractéristique d'une hyperglycémie chronique ou transitoire [Aughsteen, 2000; Szkudelski, 2001; Chen et Ianuzzo, 1981].

Le glucose qui constitue la molécule de la STZ permet sa pénétration dans les cellules β pancréatiques à travers les transporteurs de glucose GLUT2. A l'intérieur de la cellule, la STZ se décompose en espèces réactives oxygénées qui provoquent une alkylation de l'ADN qui se défragmente ce qui active la poly(ADP-ribose)polymérase, enzyme clé de la réparation de l'ADN. Cette réaction consomme le NAD et l'ATP comme cofacteurs enzymatiques conduisant à leur déplétion et à la nécrose de la cellule β [Szkudelski, 2001].

En plus de son impact sur le métabolisme des hydrocarbures qui est bien étudié, la STZ provoque une altération du métabolisme glucidique, lipidique et protéique due à la défaillance en insuline [Szkudelski, 2001; Szkudelski et Szkudelska, 2002; Junod *et al.*, 1969]. En revanche, des études antérieures ont dévoilé l'effet indirect de cette toxine sur la signalisation de l'insuline. L'hyperglycémie chronique est à l'origine d'une insulino-résistance résultante d'une diminution d'autophosphorylation du récepteur de cette hormone [Kadowaki *et al.*, 1984]. Récemment démontré, elle active l'expression de la protéine kinase C, une protéine responsable de la déphosphorylation du récepteur de l'insuline [Davidoff *et al.*, 2004]. De plus, l'injection de la STZ est à l'origine d'une chute de poids [Junod *et al.*, 1969; Chen et Ianuzzo, 1981].

Plusieurs travaux réalisés en vue de mieux comprendre le mécanisme pathogène de la STZ, ont montré que ce produit diminue la défense antioxydante de la cellule, particulièrement une inhibition de l'activité superoxyde dismutase [Robbins *et al.*, 1980; Gandy *et al.*, 1982; Crouch *et al.*, 1978; Rajasekaran *et al.*, 2005].

La dose choisie de la STZ est variable selon la voie d'administration, l'animal et surtout la pathologie voulue [Junod *et al.*, 1969; Chen et Ianuzzo, 1981]. Par exemple, dans les essais préliminaires, il est important de garder la vitalité de l'animal où on injecte de faibles doses de STZ (dose inférieure ou égale à 60mg/kg par *IV*) [Jarrin *et al.*, 2002].

3.2.1. Diabète induit par l'alloxane:

L'alloxane, le 2,4,5,6-tetraoxypyrimidine, est une pyrimidine oxygénée. Cette molécule est préparée par oxydation de l'acide urique sous l'action de l'acide nitrique [Szkudelski, 2001].

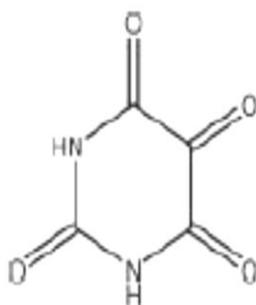


Figure 11: Alloxane

L'alloxane, par une analogie structurale au glucose, pénètre à travers les transporteurs de glucose GLUT2 des cellules β pancréatiques. Au cytosol, l'alloxane est réduit en acide dialurique. Cette réduction est assurée par plusieurs agents tels que le glutathion réduit, la cystéine, l'acide ascorbique et les groupements SH des protéines. L'alloxane se relie avec deux groupements thiol du site actif de la glucokinase formant un pont disulfure et inactivant l'enzyme [Lenzen *et al.*, 1988].

L'acide dialurique formé est ré-oxydé en alloxane, ce qui génère des espèces réactives oxygénées et active à la réaction de Fenton [Skudelski, 2001 ; Ankur et Shahjad, 2012].

D'autre part, les espèces réactives oxygénées attaquent l'ADN et induisent une défragmentation de ce dernier. Ce mécanisme est semblable à celui de la streptozotocine [Ankur et Shahjad, 2012].

L'alloxane inhibe la sécrétion de l'insuline glucose-dépendante et augmente la perméabilité des membranes des cellules β [Watkins *et al.*, 1964]. Cette substance toxique diminue le taux de l'hormone de croissance au niveau de l'adénohypophyse [Hazelwood et Hazelwood, 1964].

4. Préparation du matériel végétal :

Afin de rechercher les éventuels effets antidiabétiques des plantes, on préfère se référer à la mère nature en étudiant plusieurs points tels que la partie utilisée de la plante, la saison de récolte, la préparation, l'usage traditionnel, la durée de traitement, ...

Souvent, on conserve les mêmes préparations qui sont essentiellement des extraits bruts aqueux, la poudre entière, le jus, la plante fraîche ou sèche, etc. Les extraits sont préparés par macération, infusion ou décoction.

Une première étape est obligatoire avant l'étude, c'est l'identification botanique de l'espèce végétale par plusieurs botanistes. On ne peut s'attendre à profiter de toute l'efficacité d'un remède naturel si la plante recherchée n'est pas la bonne ou si sa qualité laisse à désirer [Harbone, 1998]. En effet, afin de tirer le meilleur parti des plantes médicinales, il convient de veiller à ce que les herbes et leurs dérivés soient d'excellente qualité. Cela exige qu'elles soient cultivées dans de bonnes conditions, correctement séchées, bien conservées et que leur date limite de consommation soit respectée. Le recours à des plantes de mauvaise qualité est bien souvent une perte de temps et d'argent [Larousse, 2001].

En conservant la mère nature, on commence l'investigation de l'activité des plantes sur des extraits bruts où on utilise, dans la majorité des cas, l'eau et en seconde position l'éthanol [Harbone, 1998 ; Khatibi, 2011]. Dans le but de séparer les molécules actives on procède, ensuite, aux techniques de fractionnement [Bruneton, 1999].

5. Voie d'administration des extraits végétaux :

Les extraits préparés, afin d'être évalués scientifiquement, doivent être séchés à la fin de l'extraction. Cela permet la bonne conservation et une maîtrise des doses administrées ainsi qu'une concentration des principes actifs [Mathieu et Fonteneau, 2008].

Lors de son administration à l'animal, l'extrait est re-solubilisé dans un solvant approprié. Pour les extraits lipophiles, on peut utiliser des détergents comme le tween 80 et la gomme adragante. L'extrait reconstitué doit être bien homogénéisé voire solubilisé [Williamson *et al.*, 1996].

La voie d'administration qui est souvent choisie est la voie orale pour de multiples raisons. D'une part, on se réfère aux bases ethnopharmacologiques; les gens utilisent, généralement, les plantes antidiabétiques en avalant les tisanes qui en découlent ou en les consommant entièrement. Subséquemment, c'est la voie la plus proche de la réalité [Eddouks *et al.*, 2002]. D'autre part, c'est une voie d'administration physiologique qui offre un certain nombre de critères d'efficacité et de commodité. De plus, elle ne nécessite aucun matériel particulier. Du point de vue pharmacologique, la voie orale est la plus couramment utilisée (70 à 80% des médicaments sont administrés *per os*). Cette voie est, généralement, bien acceptée par les patients [Bourin et Jolliet, 1999].

A coté des avantages de la voie orale, cette dernière peut causer une diminution de l'activité des molécules actives suite à leur dégradation par les enzymes hépatiques [Touitou, 2007]. Aussi, il existe des risques de destruction par les sucs digestifs ou une irritation du tube digestif par certains composés. Par conséquent, la voie parentérale devient plus avantageuse que la voie *per os* [Lüllmann *et al.*, 1998, Garau *et al.*, 2003, Wang *et al.*, 2003].

6. Evaluation de l'activité antidiabétique :

La recherche sur l'animal, dite préclinique, dure des années. Elle débute par des études de toxicité aigue et chronique.

L'étude pharmacologique évaluant les effets antidiabétiques d'une poudre ou d'un extrait est réalisée d'abord sur l'animal sain et sur un animal présentant le diabète. Des essais *in vitro* sont également possibles sur des cultures cellulaires. Mais ces études ne peuvent pas remplacer les études sur l'animal entier qui rendent mieux compte des effets d'un médicament sur l'organisme [Cohen et Jacquot, 2011].

Pour l'évaluation de l'activité antidiabétique, plusieurs paramètres physiologiques sont étudiés. La variation du poids corporel est un paramètre important à coté des paramètres biochimiques qui varient selon le modèle animal et la phase de recherche. La composition des tissus et leur structure sont aussi étudiées [Wright *et al.*, 1980].

Le passage à l'étude clinique sur l'Homme est décidé si le développement du médicament paraît intéressant au terme des études toxicologiques et pharmacologiques précédentes sur l'animal. La recherche clinique se déroule en quatre phases d'essais thérapeutiques dans un cadre légal [Kintz, 1998].

Pour la phase 1, la recherche est effectuée sur des volontaires sains afin de vérifier les effets montrés chez l'animal et établir une relation dose-effet. A la phase 2, le test se fait sur des patients diabétiques. Si la substance montre une efficacité réelle et pas d'effets secondaires, on passe à la phase 3. A cette étape, l'action thérapeutique de la nouvelle substance est comparée à celle du médicament de référence. Cela doit être effectué sur un groupe plus important de patients. Les trois premières phases permettent la mise du médicament sur le marché. Après, c'est la phase 4 qui consiste au suivi du médicament et de ses effets secondaires [Lüllmann *et al.*, 1998 ; Touitou, 2007]

1. Objectif :

Le premier objectif de notre travail est d'étudier l'activité antidiabétique de la partie aérienne de *Zygophyllum geslini* Coss. sur le diabète sucré induit chez le rat wistar. La pathologie est induite chez l'animal par injection d'une substance diabétogène, la streptozotocine.

Dans ce travail, l'extrait aqueux brut étudié est soumis à une série de fractionnement liquide-liquide. Les fractions obtenues sont testées afin de rechercher une éventuelle activité antidiabétique. Toutes ces fractions ont fait l'objet d'une étude phytochimique en caractérisant les grandes familles de composés végétaux et en quantifiant certains groupes chimiques. A partir des tests biologiques, nous avons sélectionné la fraction la plus efficace.

La fraction qui a montré une bonne activité antidiabétique est étudiée pour évaluer l'activité antiradicalaire.

2. Matériel végétal et extraction:

2.1. Récolte :

Le *zygophyllum* étudié dans cette approche provient du Sahara algérien. L'espèce *Zygophyllum geslini* Coss. a été identifiée d'après Ozenda (1977). La cueillette des échantillons de *Z. geslini* a été faite au mois de Mai 2008 et 2009 dans la région d'Ougrout, située à 120 km du Nord-Est de la wilaya d'Adrar (sud-ouest de l'Algérie).

2.2. Traitement :

Après récolte, le matériel végétal (partie aérienne) est séché à l'air libre et à l'abri de la lumière et de la chaleur. Ensuite, il est broyé afin de procéder à l'extraction.

2.3. Extraction :

L'organigramme en-dessous résume les étapes suivies pour préparer les différentes fractions de l'extrait aqueux brut.

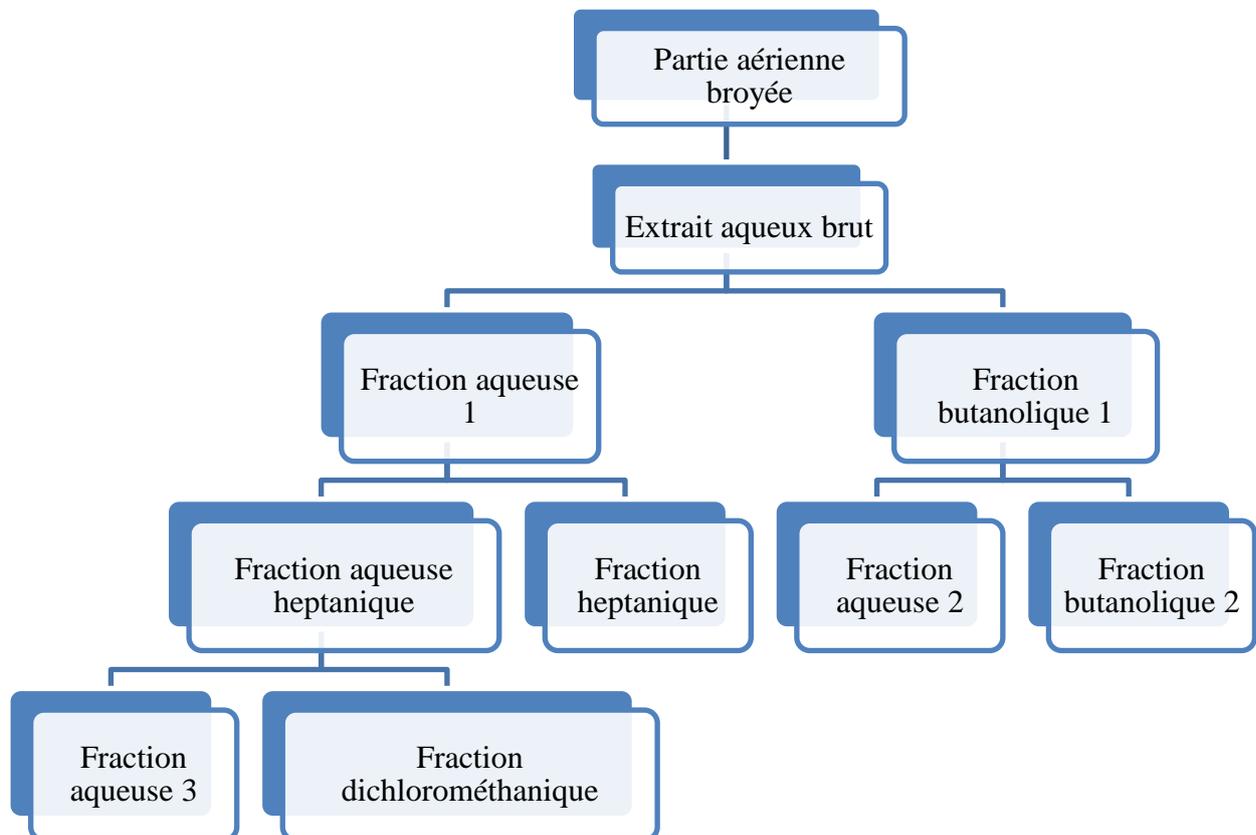


Figure 12: Organigramme du fractionnement de l'extrait brut aqueux.

Extrait aqueux brut: **EAB**, Fraction aqueuse 1: **FA1**, Fraction butanolique 1: **FB1**, Fraction heptanique : **FH**, Fraction aqueuse heptanique: **FAH**, Fraction aqueuse 2: **FA2**, Fraction butanolique 2: **FB2**, Fraction aqueuse 3: **FA3**, Fraction dichlorométhanique: **FDM**

2.3.1. Préparation de l'extrait brut aqueux :

L'extraction se fait par macération du broyat de la plante à température ambiante dans l'eau distillée à raison de 10% (P/V) pendant 24 heures. Après, on procède à une filtration. Le filtrat est ensuite utilisé pour le fractionnement liquide-liquide ou séché à 50°C à l'étuve jusqu'à l'obtention d'un résidu sec. Par conséquent, un résidu sec est obtenu. Ce dernier est conservé dans des piluliers en verre ambré à une température de +4°C.

2.3.2. Fractionnement de l'extrait aqueux brut:

L'extrait aqueux brut, non séché, subit une série d'extractions liquide-liquide afin de récupérer 8 fractions (voir organigramme).

La première extraction se fait par le *n*-butanol en récupérant deux fractions, organique (**FB1**) et aqueuse (**FA1**). Cette dernière est extraite par l'heptane dont le résultat est toujours, deux fractions, heptanique (**FH**) et aqueuse dite aqueuse heptanique (**FAH**). La fraction FA_H subit une extraction liquide-liquide par le dichlorométhane pour avoir les fractions, aqueuse 3 (**FA3**) et dichlorométhanique (**FDM**).

La fraction FB₁ est ré-extraite par l'eau distillée (lavage). Cela permet l'obtention de deux fractions, butanolique (**FB2**) et aqueuse (**FA2**).

Les extractions sont répétées plusieurs fois afin d'extraire le maximum de composés. Les fractions organiques sont évaporées à sec au moyen d'un rotavapeur. En parallèle, les fractions aqueuses sont séchées à 50°C à l'étuve pendant 48 heures. Les résidus secs obtenus sont conservés dans des piluliers en verre, à l'abri de la lumière et à température de +4°C. Les rendements d'extraction sont déterminés par rapport à 100g de matériel végétal sec.

3. Etude phytochimique :

Une recherche phytochimique est effectuée parallèlement aux différents tests biologiques. Cette contribution est réalisée, en premier temps, sur la plante entière, ensuite sur les différentes fractions de l'extrait aqueux brut.

La phytochimie de la plante est réalisée sur la plante entière ou traitée par trois solvants de polarités différentes à savoir, l'éther diéthylique, l'éthanol et l'eau. Les extraits bruts (étherique, éthanolique et aqueux) sont préparés par macération de 5 g de la poudre végétale dans 100ml de solvant. Pour les fractions, les tests phytochimiques se font sur le résidu sec ou solubilisé dans de l'eau distillée.

Par ailleurs, les teneurs en composés phénoliques et sucres totaux sont recherchés sur l'EAB et ses fractions en suivant la même technique décrite pour la partie aérienne. EAB et les fractions obtenues sont reconstituées à des concentrations connues.

3.1. Phytochimie qualitative :

La phytochimie qualitative consiste en la mise en évidence des différentes familles de composés par la réalisation de réactions chimiques caractéristiques.

3.1.1. Tanins :

A 2 ml de la solution à tester ajouter 2 à 3 gouttes de solution de FeCl₃ à 2%. Un test positif est révélé par l'apparition d'une coloration bleue-noire et un précipité (laisser reposer quelques minutes) [Karumi *et al.*, 2004].

3.1.2. Saponosides :

Test 1 : 5 ml de la solution à tester sont bien mélangés avec 10 ml d'eau distillée pendant 2 mn. La formation d'une mousse persistante après 15 mn confirme la présence des saponosides [Karumi *et al.*, 2004].

Test 2 : Evaporer 10 ml d'extrait éthanolique. Traiter le résidu obtenu avec 10 ml de chloroforme anhydre. Mélanger 5 ml de la solution chloroformique avec 5 ml d'anhydride acétique. Ajouter quelques gouttes d'acide sulfurique concentré. Agiter puis laisser reposer. L'apparition d'une coloration violacée fugace virant au vert confirme la présence des hétérosides stéroïdiques [Karumi *et al.*, 2004].

Test 3 : 5 ml de la solution à tester sont mélangés avec 2 ml de chloroforme et 3 ml d'acide sulfurique concentré. Une couleur rouge-marronne de la couche d'interface indique la présence des triterpènes hétérosidiques [Edeoga, 2005].

3.1.3. Flavonoïdes :

Traiter 5 ml de chaque extrait avec quelques gouttes de HCl concentré. Ajouter une quantité de tournures de magnésium (Laisser agir). La présence des flavonoïdes est confirmée par l'apparition d'une couleur rouge ou orange [Karumi *et al.*, 2004].

3.1.4. Glucosides cardiotoniques :

Ce test est basé sur la réaction de Keller-Kiliani. A 1 ml de chaque extrait ajouter 5 ml d'acide acétique contenant des traces de FeCl₃ et 5 ml d'acide sulfurique contenant des traces

de FeCl_3 . La présence des glucosides cardiotoniques est confirmée par la formation de deux phases, une colorée en brun rouge (acide acétique) et la deuxième en bleu-vert (acide sulfurique) [Edeoga *et al.*, 2005].

3.1.5. Coumarines:

Placer 1g d'échantillon de la plante humide dans un tube à essai. Couvrir le tube avec un papier imbibé d'une solution de NaOH et le placer dans un bain marie pendant quelques minutes. Ajouter 0,5 ml de NH_4OH (10%). Mettre deux taches sur un papier filtre et examiner sous la lumière ultraviolette. La fluorescence des taches confirme la présence des coumarines [Benmehdi, 2000].

3.1.6. Anthracénosides :

Ce test est réalisé sur l'extrait éthanolique. En premier lieu, prendre 25 ml de l'extrait éthanolique, ajouter 15 ml d'HCl 10%, porter à reflux pendant 30 mn, refroidir la solution et l'extraire 3 fois avec 15 ml d'éther diéthylique afin d'obtenir deux phases, aqueuse et étherique.

Le test de la présence des anthracénosides est basé sur la réaction de Borntrager. Evaporer 8 ml de la phase étherique, récupérer le résidu avec 2 ml d'eau chaude, ajouter quelques gouttes d' NH_4OH à 10%. Le test est positif par l'apparition d'une coloration rouge orangée.

3.1.7. Alcaloïdes :

Deux réactifs sont utilisés : réactif de Mayer et réactif de Wagner qui sont préparés comme suit :

- * *Réactif de Mayer* : 5 g de KI et 1,358 g de HgCl_2 solubilisés dans 100 ml d'eau distillée.
- * *Réactif de Wagner* : 2 g de KI et 1,27g d' I_2 solubilisé dans 100 ml d'eau distillée.

Ce test se fait par ajout de quelques gouttes de chaque réactif, séparément, aux différents extraits étudiés. L'apparition d'un précipité confirme la présence des alcaloïdes [Bruneton, 1999].

3.1.8. Amidon :

Traiter l'extrait aqueux avec le réactif d'amidon. L'apparition d'une coloration bleue violacée indique la présence d'amidon [Benmehdi, 2000].

* *Réactif d'amidon* : 1,2 g d'I₂ et 2,5 g de KI solubilisés dans 500 ml d'eau distillée. Le test est positif par l'apparition d'une coloration rouge orangée

3.1.9. Anthraquinones :

Bouillir 1 g de la plante pendant quelques minutes en présence de 10 ml de KOH 0,5 N et 1ml d'H₂O₂ à 5%. Refroidir le mélange, filtrer puis acidifier le filtrat avec l'acide acétique. Extraire la solution acide obtenue avec 10 ml de benzène. Agiter l'extrait benzénique en présence de 5 ml de NH₄OH. Une réaction positive est révélée par la formation d'une couleur rouge au niveau de la couche alcaline [Benmehdi, 2000].

3.1.10. Mucilages :

Mélanger 1 ml d'extrait aqueux et 5 ml d'alcool absolu. Un test positif est révélé par l'apparition d'un précipité floconneux.

3.1.11. Acides aminés :

Ce test est basé sur la réaction des acides aminés avec la ninhydrine. A 1ml de la solution à tester (solubilisée dans l'eau distillée) ajouter 1ml de solution de ninhydrine préparée dans l'acétone (ou éthanol) dont la concentration est de 1%. Chauffer dans le bain marie et observer le changement de couleur. La présence des aminoacides est confirmée par l'apparition d'une couleur violette [Harbonne, 1993].

3.2. Phytochimie quantitative :

Dans cette étape, nous avons estimé les teneurs de certains composants de la partie aérienne de la plante en question dont nous avons prélevé cinq échantillons sur lesquels l'analyse a été faite.

3.2.1. Humidité:

❖ Principe:

Cette méthode analytique est basée sur le séchage complet du matériel végétal frais à une température de 80°C jusqu'à obtention d'un poids stable. L'humidité est le pourcentage en eau perdue après séchage par rapport à la matière fraîche [AFNOR, 1990].

❖ Mode opératoire:

Cinq grammes de chaque échantillon "plante fraîche" sont emballés dans le papier d'aluminium, et placés dans l'étuve à 80°C jusqu'à séchage total. Après, les échantillons sont retirés et placés dans un dessiccateur pour se refroidir, puis pesés en utilisant la même balance analytique utilisée pour les pesés préalables.

❖ Expression des résultats:

Le taux d'humidité est exprimé en (%) selon la formule suivante:

$$H (\%) = [(M_2 - M_3) / (M_2 - M_1)] \times 100$$

M₁: la masse du papier aluminium vide en gramme

M₂: la masse du papier aluminium + la prise d'essai avant le séchage

M₃: la masse du papier aluminium + la prise d'essai après le séchage

H: humidité

Le pourcentage en matière sèche (MS%) est exprimé selon la formule suivante:

$$MS (\%) = 100 - \%H$$

3.2.2. Sucres totaux:

❖ Principe:

Pour l'analyse des sucres totaux, nous avons suivi la méthode de Dubois *et al.*, (1956). Le principe de cette méthode est qu'en milieu acide et à chaud, les liaisons glycosidiques des hydrocarbures sont hydrolysées. Les oses simples ainsi libérés subissent une déshydratation intramoléculaire pour donner des dérivés furfuraux. La fonction aldéhyde des furfuraux se condense ainsi en milieux acides avec l'hydrolyse d'un composé phénolique pour donner des acétals ou héli-acétals de couleur rougeâtre qui absorbent dans le visible (450-500 nm).

❖ Extraction:

Le protocole d'extraction consiste à peser 50 mg du matériel végétal sec puis les mettre dans 50 ml d'eau distillée, et laisser agir pendant 24 h à température ambiante. Ensuite, cet extrait est soumis à une filtration. Pour le dosage des sucres totaux dans les fractions de l'extrait brut aqueux, ces dernières sont solubilisées dans l'eau distillée à des concentrations connues.

❖ Dosage:

Dans des tubes à essais, on introduit 1ml de la solution à doser, puis 1ml de la solution de phénol (5%). Les tubes sont soigneusement agités. Puis 5ml d'acide sulfurique concentrés sont ajoutés à l'aide d'une pipette graduée. Après séjour de 30mn à l'obscurité, les mesures d'absorbance (densité optique, DO) sont effectuées à 490nm.

Par ailleurs, le calibrage du spectrophotomètre (UV-VIS spectrophotometer, SHIMADZU) se fait avec un blanc contenant : 1ml d'eau distillée, 1ml de phénol à 5% et 5ml de H₂SO₄.

❖ Expression des résultats:

Une courbe d'étalonnage corrélant la variation de la DO en fonction de la concentration de glucose a été tracée. A partir de cette courbe on détermine la concentration de notre échantillon en sucres totaux. Le taux des sucres en % par rapport à la matière sèche est obtenu par la formule suivante:

$$ST (\%MS) = [(CxV)/P] \times 100$$

C: concentration en sucres de l'extrait en mg/ml

V: volume de l'eau distillé utilisé en ml

P: la prise d'essais en mg

ST: sucres totaux

$$ST (\%MF) = [ST (\%MS) \times \%MS]/100$$

%MS: la teneur en matière sèche en %

MF : matière fraîche

3.2.3- Protéines:

❖ Principe:

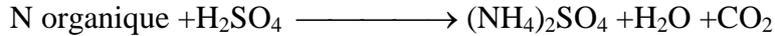
Le dosage des protéines par la méthode de Kjeldahl est basé sur la minéralisation totale de la matière biologique en milieu acide, suivie de la distillation de l'azote sous forme d'ammoniaque. En effet, le matériel biologique est minéralisé dans l'acide sulfurique concentré (H₂SO₄) à chaud (600°C) pendant 4 heures en présence du catalyseur de la digestion (mélange de K₂SO₄, CuSO₄ et sélénium). A la fin de la minéralisation l'azote se trouve sous la forme minérale [(NH₄⁺)₂, SO₄²⁻]. Afin de pouvoir distiller l'azote par entraînement à la vapeur d'eau, il faut d'abord neutraliser l'acide sulfurique et transformer l'azote sous forme d'ammoniac gazeux (NH₃). Au cours de la distillation l'azote de l'ammoniac est entraîné à la vapeur d'eau et piégé dans l'acide borique ensuite titré par l'acide sulfurique (0,1N). L'opération se fait, donc, en trois étapes, minéralisation, distillation et titrage [AFNOR, 1977].

❖ Mode opératoire:

Minéralisation:

Peser 1g de l'échantillon et l'introduire dans le matras de l'appareil à minéralisation (Gerhardt). Ajouter une quantité appropriée de catalyseur (5g de sulfate cuivrique et une

petite quantité de sélénium), 5g de sulfate de potassium et 10ml d'acide sulfurique pure. Homogénéiser, et chauffer le matras jusqu'à l'obtention d'une solution limpide de couleur verdâtre Laisser ensuite refroidir.



Distillation:

Cette étape se fait en utilisant l'appareil distillateur (Gerhardt). Le contenu du matras est versé dans le ballon de distillation. Ensuite, on ajoute 80ml d'eau distillée (goutte à goutte) et 80ml de solution d'hydroxyde de sodium (33%). Un bécher contenant 25ml d'acide borique (4%) est placé à l'autre extrémité de l'appareil. On commence la distillation du mélange par chauffage du ballon de façon à recueillir plus de 50 ml de distillat.



Titrage:

Le titrage se fait à l'aide de H₂SO₄ (0,1N) en plaçant le bécher au dessous d'une burette. On fait écouler l'acide sulfurique jusqu'au virage de la couleur du jaune clair au rose pâle. On lit le volume de H₂SO₄ versé nécessaire pour la neutralisation.

$$N(\%) = \frac{0.014 \times 0.1 \times V}{P} \times 100$$

V: volume de H₂SO₄ versé

P : prise d'essai en gramme

0,014 : correspond à l'acide sulfurique.

0,1 : normalité de H₂SO₄.

N : l'azote

$$\text{Protéines (\%)} = N(\%) \times 6,25$$

6,25 : facteur de conversion pour les protéines végétales

3.2.4. La cellulose brute :

❖ Le principe:

La teneur en cellulose brute des aliments est déterminée par la méthode conventionnelle : la méthode de Weende. Les matières cellulosiques constituent le résidu organique obtenu après deux hydrolyses successives l'une en milieu acide, l'autre en milieu alcalin [Weende, 1809 selon les normes AFNOR, 1997].

❖ Mode opératoire

On prend 3g de l'échantillon broyé. Ensuite, on ajoute 200ml d'acide sulfurique (H_2SO_4 ; 0,225N). Le tout est mis dans un bain marie pendant 30mn à une température de 100°C. Une filtration est réalisée à l'aide de papier filtre. Après, on ajoute 200ml de NaOH (0,313N) à l'infiltrat et on poursuit l'hydrolyse en le mettant toujours dans le bain marie pendant 30mn à une température de 100°C. Une deuxième filtration est faite. Un rinçage du papier filtre est effectué afin de récupérer toute la matière insoluble. Cette dernière est mise, d'abord, dans l'étuve à 105°C jusqu'à séchage complet, puis pesée (P1), ensuite dans le four à moufle à 600°C pendant 1h puis pesée (P2). La différence entre les deux poids représente la cellulose brute.

❖ Expression des résultats :

$$CB (\%) = \frac{P_1 - P_2}{P_0} \times 100$$

p_1 : poids de la capsule après le séchage (dessiccation)

p_2 : poids de la capsule après incinération.

p_0 : poids de l'échantillon de départ.

CB : Cellulose Brute

3.2.5. Matière minérale MM :

❖ Principe:

Cette méthode analytique est basée sur l'incinération d'une prise d'essai dans une atmosphère oxydante à une température supérieure à 500°C jusqu'à combustion complète de la matière organique. Le résidu obtenu exprime la teneur en cendres [Lafon et *al.*, 1966].

❖ Mode opératoire:

Cinq grammes de la matière sèche sont déposés dans un creuset (noter le poids total). Le tout est mis dans un four à moufle à 600°C jusqu'à obtention des cendres blanches, ce résidu est enfin pesé.

❖ Expression des résultats:

$$\text{MM (\%)} = \frac{(\text{P3}-\text{P1})}{(\text{P2}-\text{P1})} \times 100$$

P1: poids de creuset vide en gramme.

P2: poids de creuset vide + prise d'essai en gramme avant incinération.

P3: poids de creuset en gramme après incinération.

MM: matière minérale.

3.2.6. Composés phénoliques:

❖ Principe:

Ce test est basé sur la réduction de fer ferrique en fer ferreux par les tanins et d'autres polyphénols ce qui aboutit à la formation d'un complexe ferreux-ferricyanide coloré. Ce produit est appelé " bleu de prusse" qui absorbe à 720nm [Martin et Larry, 1977].

❖ Mode opératoire:

Dans des tubes à essais stériles, on introduit 1 ml d'extrait végétal et 3ml de la solution de FeCl₃ (0.1M dans HCl 0.1N). Puis, on ajoute 3 ml de K₃Fe(CN)₆ (0.008N). Les tubes sont

soigneusement agités. Après séjour de 1mn à la température ambiante, les mesures d'absorbance (DO) sont effectuées à 720nm.

Par ailleurs, le calibrage du spectrophotomètre se fait avec un blanc contenant 1ml d'eau distillée, 3ml de FeCl₃ et 3 ml de K₃Fe (CN)₆.

❖ **Extraction:**

On suit le même mode d'extraction mentionné pour les sucres totaux.

❖ **Expression des résultats:**

Une courbe d'étalonnage a été tracée pour différentes concentrations d'acide gallique. A partir de cette courbe, on détermine la concentration de notre échantillon en composés phénoliques par rapport à la matière sèche.

$$\text{CP (\%MS)} = [\text{C} \times \text{V} / \text{P}] \times 100.$$

C: concentration en composé phénolique de l'extrait en (mg/ml).

V: volume d'eau distillée utilisée en (ml).

P: prise d'essai (mg).

CP: composés phénoliques.

$$\% \text{CP (\%MF)} = \text{CP (\%MS)} \times \% \text{MS} / 100$$

%MS: la teneur en matière sèche en %.

3.2.7. Dosage des sels minéraux (K, Na, Ca) par spectrophotomètre à flamme :

❖ **Principe:**

La photométrie à flamme repose sur le fait que tout atome situé à un niveau énergétique dit excité émet des radiations caractéristiques en retournant à l'état fondamental.

L'excitation des atomes se fait au moyen de la chaleur. La mesure est réalisée sur une raie choisie où l'intensité est proportionnelle à sa concentration [Salgarolo, 2003].

❖ **Extraction:**

Dans des tubes à essais. On introduit 0,5g des cendres blanches puis on ajoute 5ml de HCl pur. Bien agiter, puis laisser agir.

❖ **Mode opératoire:**

Tout d'abord on doit régler la flamme du spectrophotomètre qui doit être bleu et on choisit le paramètre qu'on veut doser. Le calibrage du spectrophotomètre s'effectue avec l'eau distillée. La lecture d'émission est réalisée par émergence du capillaire dans la solution à doser jusqu'à la stabilisation d'émission.

❖ **Expression des résultats:**

Une courbe d'étalonnage a été tracée pour différentes concentrations de NaCl, KOH et CaCl₂ respectivement pour le dosage de Na, K et Ca.

A partir des ces courbes, on détermine la concentration de nos échantillons en Na, K et Ca. Le pourcentage des sels minéraux par rapport à la matière sèche est obtenu par la formule suivante:

$$SM (\%MS) = (C \cdot V \cdot P \times 100) / (P' \times m)$$

C:concentration de l'élément minéral en (g/l).

V : volume de HCl en (l).

P:Poids total des cendres en (g).

m : prise d'essai de la plante en (g).

P' : prise d'essai des cendres (g).

$$SM (\%MF) = [\%SM (\%MS) \times \%MS] / 100$$

3.2.8. Dosages des sels minéraux (Cr, Mn, Cu) par le spectrophotomètre multiparamètre spécifique d'ion HI 83 200 :

❖ Principe:

L'analyse colorimétrique est basée sur le principe que certains composants spécifiques réagissent avec d'autres par changement de couleur (réaction colorimétrique). L'intensité du changement de couleur correspond directement à la concentration de l'ion mesuré [Manuel d'utilisation, 2004].

❖ Mode opératoire:

Tout d'abord, on choisit le paramètre qu'on veut doser en appuyant sur la touche appropriée. Après, on introduit 10ml de solution qu'on veut doser dans une cuvette nettoyée soigneusement et placée dans le logement prévu à cette effet, en respectant l'ergot d'alignement, puis en appuyant sur la touche "ZERO". Lorsque l'afficheur indique "0.0", on ajoute un sachet de réactif (chaque paramètre a son réactif spécifique) qui doit être bien agité jusqu'à dissolution complète. On place la cuvette dans le logement en respectant l'ergot d'alignement puis en appuyant sur la touche "TIMER". L'affichage de concentration apparait sur l'afficheur après un certain temps (ce temps varie d'un paramètre à l'autre et l'unité de concentration change selon la gamme "Haute" ou "Basse").

❖ Expression des résultats:

Le pourcentage en sels minéraux par rapport à la matière sèche est obtenu par la formule suivante:

$$SM(\%MS) = C.V.P.100 / P'. m$$

C: concentration de sel minéral (g/l).

V: volume de HCl (l).

P: poids total des cendres (g).

P': prise d'essai des cendres (g).

m: la prise d'essai de la plante sèche (g).

SM: sel minéral

$$\text{SM (\%MF)} = [\text{SM(\%MS)} \times (\%MS)] / 100$$

4. Recherche de l'activité antidiabétique:

La recherche de l'activité antidiabétique est effectuée sur le rat wistar rendu diabétique par la streptozotocine.

4.1. Réactif biologique, rat wistar :

Une grande partie de ce travail s'est déroulée au niveau de l'animalerie de l'université de Mascara, Faculté SNV. La première étape consiste à l'élevage des animaux dans le but d'obtenir un nombre important de rats mâles *Rattus norvegicus* variété Wistar qui sont nourris par l'aliment de bétail (ONAB).

Afin de ne pas stresser l'animal, les animaux se trouvent dans des conditions constantes et contrôlées (température plus ou moins constante de 25°C et un rythme nyctéméral de 12h/12h).

Les tests de l'activité antidiabétique de la plante en question sont effectués à l'âge de 3 mois où les rats présentent un poids entre 220 et 300g. De ce fait, l'élevage des animaux constitue l'étape la plus longue.

4.2. Induction du diabète sucré :

Le diabète sucré est induit chez le rat par injection intraveineuse de la streptozotocine "STZ" (S-0130 Sigma) à raison de 50 mg/kg à travers la veine de la queue [Babu *et al.*, 2003]. La STZ est préparée dans du tampon citrate 100 mM, pH 4,5 à une concentration de 50 mg/ml [Crouch *et al.*, 1978].

Les rats maintenus à jeûne pendant une nuit, sont anesthésiés avec du chloral hydraté administré par voie intrapéritonéale à une dose de 200 mg/kg [Calapai, 1999].

Vue son instabilité en solution ainsi qu'à température ambiante, la STZ doit être préparée juste avant l'injection. Il est, donc, déconseillé de conserver la solution même à basse température [Chen et Ianuzzo, 1981].

Après deux semaines d'injection de la STZ, l'installation du diabète sucré est vérifiée chez les rats par l'analyse de la glycémie et de la glucosurie. Les animaux présentant une glucosurie positive et une glycémie supérieure à 1,6 g/l sont impliqués dans la présente étude.

4.3. Répartition des rats :

Après l'installation du diabète chez les rats, ces derniers sont répartis en différents groupes: Groupes des normaux témoins, Groupes des normaux traités, Groupes des diabétiques témoins, Groupes des Diabétiques traités.

L'extrait aqueux brut de la partie aérienne de *Zygodhylum geslini* ainsi que ses fractions sont testées. Cela a nécessité une période plus prolongée en réalisant l'expérimentation en stades, tout en conservant la même distribution des groupes de rats.

Les groupes témoins ne reçoivent pas de traitement par les extraits. En même temps, les groupes traités reçoivent quotidiennement différentes doses de l'extrait correspondant.

4.4. Gavage des extraits végétaux :

La voie d'administration est la voie orale. A cet effet, le résidu sec obtenu après extraction est solubilisé dans la solution de tween 80 à 5%. Les groupes témoins reçoivent la solution de Tween 80 à 5%. La solubilisation de certains extraits est effectuée à l'aide d'un agitateur. Le gavage est réalisé à l'aide d'une sonde de gavage à raison de 10ml/kg.

La concentration préparée est en fonction de la dose choisie. En effet, une dose testée de EAB de 500mg/kg correspond à une solution de concentration égale à 500mg/10ml.

Les doses testées des fractions, FA1, FB1, FA2, FB2, FAH, FA3 et FDM sont respectivement 300, 200, 75, 100, 200, 100 et 50mg/kg.

4.5. Prélèvement sanguin :

Le prélèvement du sang se fait sur l'animal vivant (sans anesthésie), maintenu à jeûne pendant 16 h, par ponction dans le sinus rétro orbital à l'aide d'une pipette pasteur préalablement rincée avec l'anticoagulant EDTA à 0,01%. Cette technique a été décrite par Noller en 1955, et par Riley en 1960 [Laroche et Rousselet, 1990]. Le sang est récupéré dans des tubes à hémolyse sans anticoagulant et centrifugé à 3000 tours/mn pendant 15mn à une température de 4°C.

Après la centrifugation du sang, le sérum obtenu est conservé dans des tubes eppendorf à une température de -4°C en vue de l'analyse des différents paramètres biochimiques.

4.6. Chronologie de l'expérimentation animale:

Les tests de l'activité antidiabétique sont effectués sur des rats Wistar rendus diabétiques après installation de la pathologie qui a nécessité une période de deux semaines. Ce temps est nécessaire pour réussir un état d'hyperglycémie chronique. Le traitement des animaux par les différents extraits s'étale sur une période comprise entre deux et quatre semaines. A la fin de chaque expérimentation, un test de tolérance orale au glucose est effectué. L'effet de la fraction considérée comme active sur le diabète est comparé à celui d'une molécule antidiabétique, glimépiride.

De plus, un suivi à court terme de la glycémie ainsi que le test de l'hyperglycémie provoquée par voie intraveineuse sont ajoutés.

4.7. Essais à long terme :

Après chaque semaine, le sang est prélevé pour la détermination de certains paramètres sériques. De plus, le poids des animaux a été pris. A la fin de l'expérimentation, un test de tolérance orale au glucose est effectué.

4.7.1. Glycémie :

Le dosage du glucose sérique est basé sur une technique enzymatique colorimétrique par Kit-Spinreact par la méthode de Trinder (1969). Le D-glucose est transformé par la glucose oxydase en acide gluconique et en peroxyde d'hydrogène lequel oxyde, en présence de la

peroxydase, le phénol en un complexe chromogène coloré en rouge dont l'absorbance est mesurée à 505 nm.

4.7.2. Test de tolérance orale au glucose :

Afin de vérifier l'efficacité des extraits administrés durant les semaines d'expérimentation, un test de tolérance orale au glucose est fait et ce, par gavage de 3g/kg de glucose au rats des différents lots où la glycémie est suivie pendant 2 heures.

4.8. Test à court terme :

Ce test est réalisé, seulement, sur la fraction qui a prouvé une bonne activité antidiabétique où nous avons suivi l'évolution de la glycémie pendant trois heures. Quatre groupes de rats, diabétiques traités, normaux traités, normaux témoins et diabétiques témoins sont inclus dans ce test. Les deux premiers groupes sont traités par la fraction la plus active de l'extrait brut aqueux à la même dose testée à long terme. Nous devons préciser que ces groupes d'animaux n'ont pas reçu de traitement préalable.

4.9. Test de l'hyperglycémie provoquée par voie intrapéritonéale :

Chez deux groupes de rats normaux, nous avons provoqué un état d'hyperglycémie par injection intrapéritonéale de 3g/kg de glucose. Un des deux reçoit une dose de l'extrait, dont l'effet est recherché, 1 heure avant le gavage du glucose. La glycémie est suivie pendant 2 heures.

4.10. Effet du Glimépiride :

Le glimépiride est un agent antidiabétique du groupe des sulfamides [Abletshausen *et al.*, 2005]. Son effet sur la glycémie est comparé à celui de la fraction dite active. Dans cette étape, nous avons suivi le même plan tracé pour l'évaluation des effets des extraits végétaux ; induction du diabète, traitement à long terme et le test de tolérance orale au glucose. La dose administrée quotidiennement de glimépiride est 0,1mg/kg de poids corporel.

5. Recherche de l'activité antiradicalaire:

Le DPPH (Diphenylpicrylhydrazyl) est, pratiquement, le radical libre le plus stable. En solution dans le méthanol, le DPPH est caractérisé par une couleur violette dont l'intensité est mesurée à 515 nm. En présence d'un donneur d'hydrogène, le DPPH est réduit à la forme non

radicalaire de couleur jaune pâle. Ce passage, de la première forme à la deuxième, est accompagné d'une diminution de l'absorbance qui peut exprimer le pourcentage de réduction de DPPH [Sánchez-Moreno *et al.*, 1998]

$$\% \text{ DPPH réduit} = [(\text{DO}_{\text{contrôle}} - \text{DO}_{\text{E}}) / \text{DO}_{\text{contrôle}}] \times 100$$

Où : $\text{DO}_{\text{contrôle}}$ est l'absorbance du DPPH à t_0 .

DO_{E} est l'absorbance après avoir ajouté l'acide ascorbique (ou l'extrait).

Effectivement, on a recherché d'éventuelle efficacité antiradicalaire de la fraction la plus active. De ce fait, différentes concentrations de cette fraction ainsi que de l'acide ascorbique ont été étudiées.

Par définition, une concentration de l'acide ascorbique (extrait) qui peut réduire 50% du DPPH est dite EC_{50} (exprimée en mg de substrat/g de DPPH).

A 1 ml de la solution du DPPH à 0,005 g/l (préparé dans du méthanol), on ajoute 1 ml de l'échantillon à étudier (l'acide ascorbique ou la fraction active) préalablement solubilisé dans le méthanol. La variation de l'absorption est suivie en fonction du temps jusqu'à la stabilité [Molyneux, 2004].

6. Etude statistique :

L'étude statistique de comparaison entre les différents groupes de rats est réalisée par un test de Student de distribution bilatérale et de type hétéroscédastique (type 3). Ce test nous donne le degré de signification P où la différence est significative si $P < 0,05$.

1. Etude phytochimique :

1.1. Phytochimie de la plante (partie aérienne) :

1.1.1. Tests qualitatifs :

Le screening phytochimique réalisé sur la partie aérienne de *Zygophyllum geslini* nous a permis d'avoir les résultats présentés au tableau 1.

Tableau 1 : Tests phytochimiques réalisés sur la partie aérienne de *Zygophyllum geslini*

<i>Composé</i>		<i>Test réalisé sur</i>		
		Extrait aqueux	Extrait éthanolique	Extrait etherique
Mucilages		+	/	/
Tanins		+	+	-
Saponosides	Tests 1	+	-	-
	Stéroïdes	+	-	-
	Triterpénoïdes	+	+	+
Flavonïdes		+	-	-
Glucosides cardiotoniques		+	+	-
Coumarines		Test positif réalisé sur la partie aérienne humide		
Anthracénosides		+	+	-
Alcaloïdes	Test 1	+	-	/
	Test 2	+	/	/
Amidon		-	-	-
Anthraquinones		Test – réalisé sur la poudre de la partie aérienne		
Huiles volatiles		/	/	+
Acides gras		/	/	+
Emodols		/	/	-
Acides aminés		+	/	/

+ : Détecté

- : Non détecté

/ : Non effectué

La plante contient des mucilages qui sont détectés au niveau de l'extrait aqueux. L'ajout du FeCl_3 aux trois extraits a permis de mettre en évidence la présence des tanins au niveau de l'extrait aqueux et éthanolique et leur absence dans l'extrait étherique.

Le *Z. geslini* est très riche en saponosides. Les deux types sont présents, ceux à génine triterpénique et ceux à génine stéroïdique par l'apparition de couleur violacée fugace virant vers le vert. Les flavonoïdes sont faiblement présents dans la partie aérienne.

D'autres métabolites sont mis en évidence. Un résultat positif de la réaction de Keller-Kiliani effectué sur l'extrait aqueux et éthanolique confirme la présence des glucosides cardiotoniques.

L'analyse qualitative des coumarines permet d'observer les taches fluorescentes confirmant la présence des coumarines. On note aussi la présence des anthracénosides.

Ainsi, nous avons constaté l'existence des alcaloïdes sels au niveau de l'extrait aqueux prouvée par la formation de précipité ainsi que l'huile volatile et les acides gras révélés par l'obtention d'un résidu arôme et un résidu gras.

La recherche des acides aminés montre une richesse dans l'extrait aqueux. La partie aérienne de la plante est dépourvue d'amidon, d'anthraquinone et d'émodols.

La partie aérienne de *Zygophyllum geslini* est très riche en composés pouvant être actifs. Nous pouvons conclure que l'eau est le solvant qui permet une bonne extraction des différentes familles de molécules chimiques.

1.1.2. Tests quantitatifs :

Ces tests ont été effectués sur cinq échantillons prélevés de la même zone de récolte. Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau 2.

Pour 100g de matière fraîche de la partie aérienne, nous avons trouvé plus de 63g d'eau. Cette teneur est plus ou moins élevée. Elle est caractéristique des plantes succulentes de la région d'Adrar.

Tableau 2 : teneurs en différentes matières organiques et inorganiques exprimées en % par rapport à la matière fraîche estimées dans la partie aérienne de *Z. geslini*

	<i>Echan 1</i>	<i>Echan 2</i>	<i>Echan 3</i>	<i>Echan 4</i>	<i>Echan 5</i>	<i>Moyenne</i>	
<i>Humidité</i>	68,28	60,64	59,75	61,22	61,76	63,13	
<i>Matière sèche</i>	31,72	39,36	40,25	34,78	38,24	36,87	
<i>Sucres totaux</i>	3,78	5,22	5,88	3,94	5,23	4,8	
<i>Protéines</i>	0,18	0,26	0,29	0,27	0,30	0,26	
<i>Celluloses brutes</i>	6,91	13,44	7,36	7,50	14,73	9,98	
<i>Composés phénoliques</i>	3,94	5,69	6,27	4,17	4,18	4,85	
<i>Matière minérale</i>	7,53	9,06	8,79	8,82	8,70	8,18	
	<i>Na</i>	0,049	0,060	0,061	0,059	0,057	0,057
	<i>K</i>	0,037	0,039	0,042	0,042	0,045	0,041
	<i>Ca</i>	0,016	0,022	0,024	0,024	0,029	0,023
	<i>Cu</i>	0,24 10 ⁻⁵	0,30 10 ⁻⁵	0,32 10 ⁻⁵	0,41 10 ⁻⁵	0,35 10 ⁻⁵	0,32 10 ⁻⁵
	<i>Cr</i>	3,17 10 ⁻⁵	1,69 10 ⁻⁵	0	0	7,26 10 ⁻⁵	2,42 10 ⁻⁵
	<i>Mn</i>	0,1 10 ⁻⁵	0,082 10 ⁻⁵	0	0	0	0,036 10 ⁻⁵

La matière fibrillaire (cellulose brute) occupe une place importante dans la composition de cette espèce. Près de 10g ont été analysés dans les échantillons étudiés.

La matière minérale ou cendres, présente une teneur importante. Elle est du même ordre que le taux des fibres. Ces minéraux sont représentés surtout par des éléments tels que le Na (0,057g) et le K (0,041g).

La plante, précisément la partie étudiée contient une teneur considérable en sucres. Le taux de 4,8g est très important pour comprendre la physiologie de cette espèce.

Comme tout matériel biologique, la plante contient une quantité en protéines. Cette dernière est faible et estimée à 0,26g dans 100g de matière fraîche. Cette quantité est certainement incluse dans la structure des cellules.

Les composés phénoliques sont présents en taux élevé. Cela a été montré par les tests phytochimiques, par la mise en évidence de la présence des flavonoïdes, tanins et autres.

1.2. Phytochime de l'extrait aqueux brut et ses fractions :

1.2.1. Tests qualitatifs :

Afin d'expliquer les effets de l'EAB et ses fractions, il est très important de suivre leur composition chimique. L'extrait aqueux est très riche en composés pouvant avoir une activité antidiabétique. On note la présence des mucilages, tanins, saponosides, flavonoïdes, glucosides cardiotoniques, alcaloïdes et acides aminés. L'existence de ces familles de composés est vérifiée dans les fractions issues de EAB.

Tableau 3 : Tests phytochimiques réalisés sur l'extrait aqueux brut (EAB) et ses fractions

Composé		Résultat								
		EAB	FA1	FB1	FA2	FB2	FH	FAH	FA3	FDM
Mucilages		+	+	+	+	+	+	+	+	+
Tanins		+	+	+	faible	+	-	faible	faible	faible
Saponosides	Test 1	+	+	+	+	+	+	faible	+	-
	Stéroïdes	+	+	+	+	+	-	faible	+	faible
	Triterpénoïdes	+	+	+	+	-	-	+	+	+
Flavonoïdes		+	-	-	-	-	-	-	-	-
Glucosides cardiotoniques		+	+	+	-	+	-	+	+	-
Alcaloïdes	Test 1	+	+	+	+	+	-	+	+	-
	Test 2	+	+	+	+	+	-	+	+	-
Acides aminés		+	+	+	+	-	-	+	+	+

FA1 : fraction aqueuse 1

FB1 : fraction butanolique 1

FA2 : fraction aqueuse 2

FB2 : fraction butanolique 2

FH : fraction heptanique

FAH : fraction aqueuse heptanique

FA3 : fraction aqueuse 3

FDM : fraction dichlorométhanique

En observant attentivement le tableau 3, on peut remarquer la variabilité de la composition des différentes fractions. Pour les fractions FA1 et FB1, on observe l'existence des mêmes familles de composés trouvées dans EAB à l'exception des flavonoïdes qui sont absents dans toutes les fractions. Cela est expliqué par leur présence en faible concentration dans EAB et leur dilution en fonction des fractionnements liquide-liquide.

Pour les fractions FA2 et FB2 issues de FB1, on constate une différence au niveau des acides aminés et des saponosides triterpéniques qui ne sont présents que dans FA2. En revanche, les glucosides cardiotoniques sont présents dans FB2 et absents dans FA2. Cette dernière est moins riche en tanins.

Après extraction heptanique de FA1, on a obtenu FH et FAH dont la composition est nettement différente. FAH est très riche par rapport à FH qui est dépourvue de tanins, saponosides, glucosides cardiotoniques, alcaloïdes et d'acides aminés. Ici, on doit faire la liaison entre la composition de FH et son effet sur le diabète sucré où on a testé pendant une semaine la fraction FH chez des rats normaux et diabétiques à raison de 20mg/kg administré quotidiennement. Si aucun effet positif sur l'évolution de la glycémie n'a été observé, une chute importante de poids corporel des rats à cette faible dose a été marquée (résultat non montré). Sur le tableau 3, on observe que le test 1 des saponosides est positif alors que les deux autres tests sont négatifs ; comme le test 1 est une simple réaction pour produire une mousse, il reste, donc, non spécifique et incomplet. Enfin, on peut déduire que FH contient une famille de composés non définie, probablement absente dans FAH et responsable de la toxicité de FH.

FA3 et FDM sont les fractions filles de FAH après traitement par le dichlorométhane. La fraction organique FDM est pauvre par rapport à FA3. La fraction aqueuse est très riche en molécules ; on marque la présence de mucilages, tanins, saponosides, glucosides cardiotoniques, alcaloïdes et acides aminés.

Cette différence de composition des huit fractions issues de EAB montre que on a réussi à fractionner l'extrait aqueux brut. Qu'on parle de la présence des saponosides, par exemple, dans FA1 et FB1, on doit préciser qu'il s'agit de la famille de molécules dont certaines sont présentes dans FA1 et d'autres dans FB1.

Ce résultat permet d'attirer l'attention sur les idées classiques qui dictent que l'extraction d'une famille de composés se fait par un solvant bien précis, c'est le cas du butanol qui est connu pour l'extraction des saponosides. Pour l'évaluation de l'activité biologique des plantes médicinales, plusieurs auteurs soulignent l'importance des essais bioguidés, la chimie des extraits et leurs activités biologiques en parallèle.

1.2.2. Tests quantitatifs :

1.2.2.1. Rendement d'extraction :

L'estimation des rendements de l'extrait aqueux brut et de ses fractions est résumée dans le tableau 4. Les valeurs sont représentées en g par rapport à 100g de plante sèche (partie aérienne).

Tableau 4 : Rendement d'extraction de l'EAB et ses fractions (par rapport à la plante sèche)

	<i>EAB</i>	<i>FA1</i>	<i>FBI</i>	<i>FA2</i>	<i>FB2</i>	<i>FH</i>	<i>FAH</i>	<i>FA3</i>	<i>FDM</i>
Rendement (%)	26,33	16,23	8,33	/	/	0,64	14,17	11,8	1,88

Le rendement en EAB, qui est le plus important, est de l'ordre de 26%. On remarque que celui des fractions aqueuses est toujours élevé par rapport à celui des fractions organiques. La fraction heptanique (FH) présente le rendement le plus faible (0,64%).

1.2.2.2. Teneurs en composés phénoliques et sucres totaux :

Le tableau 5 regroupe les teneurs estimées en composés phénoliques et sucres totaux de l'extrait aqueux brut et ses fractions. Dans 100mg d'EAB, on trouve 0,97mg de composés phénoliques et plus de 10mg de sucres totaux. EAB est donc riche en sucres totaux qui se trouvent sous forme de mucilages et surtout d'hétérosides mis en évidence par les tests phytochimiques (tableau 3).

La quantité des composés phénoliques dans les fractions étudiées est d'environ 1%. Par contre, les concentrations en sucres sont variables et importantes ; la fraction FA1 est la plus riche en sucres avec près de 20% suivie de FDM (\approx 19%).

Tableau 5 : teneurs en composés phénoliques et sucres totaux dans EAB et ses fractions (mg/100mg d'extrait)

	<i>EAB</i>	<i>FAI</i>	<i>FBI</i>	<i>FAH</i>	<i>FDM</i>	<i>FA3</i>
Composés phénoliques %	0,97	1,01	1,00	0,99	1,11	1,09
Sucres totaux %	10,36	19,90	16,98	15,92	18,86	12,80

2. Recherche de la toxicité aigue de l'extrait aqueux brut :

L'extrait aqueux brut administré aux rats males Wistar à de fortes doses de 1 ; 1,5 et 3 g/kg ne provoque ni effet toxique aigu, ni mortalité. Cela montre que l'EAB ne présente pas un risque de toxicité même à fortes doses.

Pour l'évaluation de l'activité antidiabétique, nous avons testé la dose de 500mg/kg qui est six fois plus faible que 3g/kg, dose confirmée sans toxicité aigue. Le risque de perte de l'animal durant les expériences est, donc, éloigné.

3. Evaluation de l'activité antidiabétique de *Zygothymus geslini* :

Les essais d'évaluation de l'activité antidiabétique de EAB et ses fractions ont été réalisés en plusieurs étapes afin de suivre l'efficacité en fonction des extractions liquide-liquide. Pour chaque essai, nous avons des lots prévus de rats normaux (sains) et diabétiques, traités et témoins (non traités).

Les rats sont rendus diabétiques par la STZ injectée par voie intraveineuse. Il faut attendre 15 jours pour confirmer l'installation de la pathologie chez l'animal. L'hyperglycémie résultante était variable d'un animal à l'autre.

3.1.Evaluation des effets de l'extrait aqueux brut (EAB) :

3.1.1. Effet sur la glycémie à jeun :

Après l'installation de l'hyperglycémie, nous avons commencé le traitement par gavage de l'extrait aqueux brut de *Zygothymus geslini* à la dose de 500mg/Kg chez les rats traités. Les résultats sont mentionnés dans la figure 13.

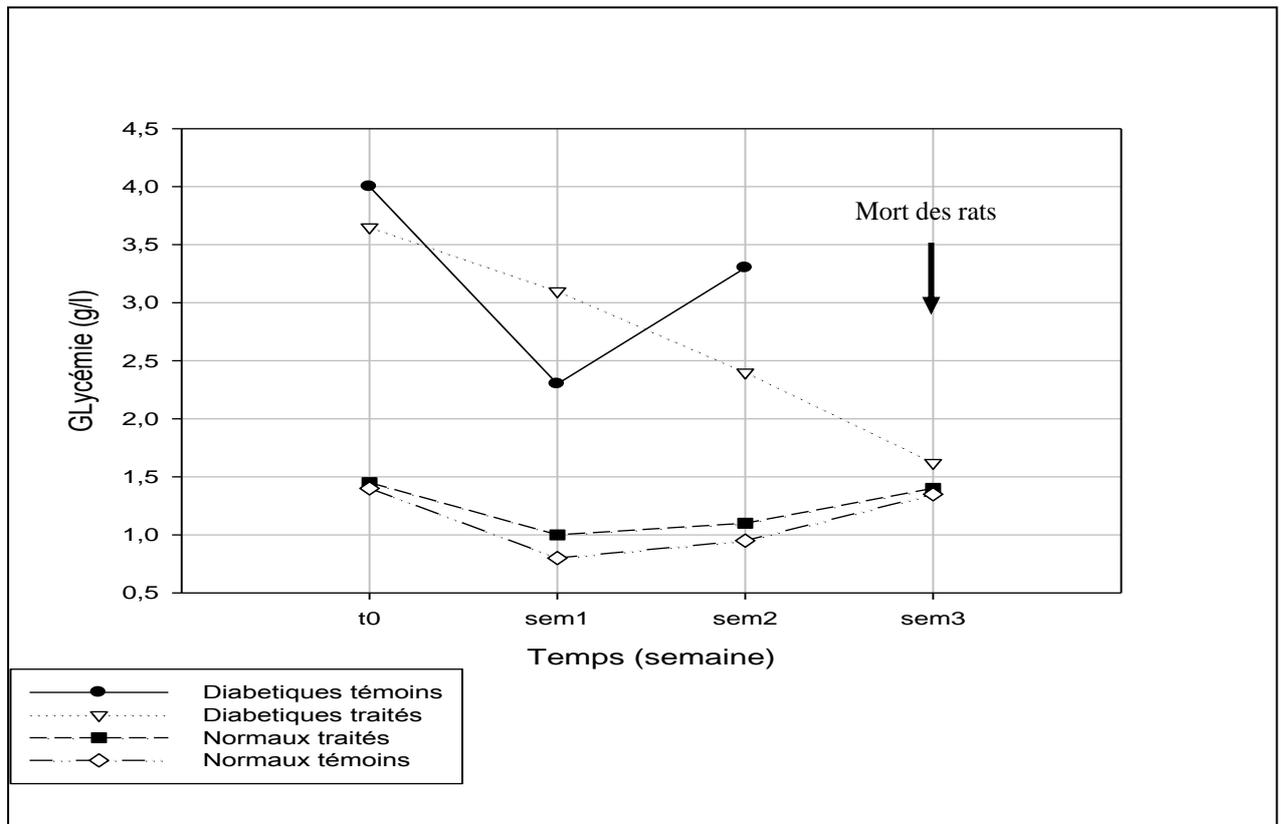


Figure 13: Effet de l'extrait aqueux brut (EAB) sur l'évolution de la glycémie

Durant les 3 semaines, nous avons enregistré chez les rats diabétiques traités une diminution progressive de la glycémie à partir de la 1^{ère} semaine. Elle varie de 3,65 à 1,62 g/l représentant plus de 17 % après une semaine et 51% à la dernière semaine. Cette diminution est significative à la fin d'expérimentation. Pour les rats diabétiques non traités, dès la 2^{ème} semaine, la glycémie est re-augmentée entraînant la mort de tous les rats de ce lot.

En revanche, pour les rats normaux traités et témoins, nous n'avons remarqué aucun changement significatif de la glycémie. Celle-ci reste dans les limites normales.

3.1.2. Effet sur le poids corporel :

Au cours de toute la période d'expérimentation les rats ont été pesés régulièrement. L'évolution du poids corporel est mentionnée dans la figure 14.

Nous avons enregistré une diminution progressive du poids corporel chez les rats diabétiques témoins (non traités) par rapport aux autres lots ainsi que leur mort après 3 semaines d'expérimentation.

Pour les rats diabétiques traités, nous avons observé une diminution du poids corporel après l'injection de la STZ, puis une re-augmentation dès la 2^{ème} semaine du traitement jusqu'à la fin d'expérimentation. En revanche, aucun changement n'a été remarqué pour la croissance corporelle des rats normaux témoins, alors qu'une faible variation du poids a été observée chez les rats normaux traités. Toutes ces observations restent statistiquement non significatives.

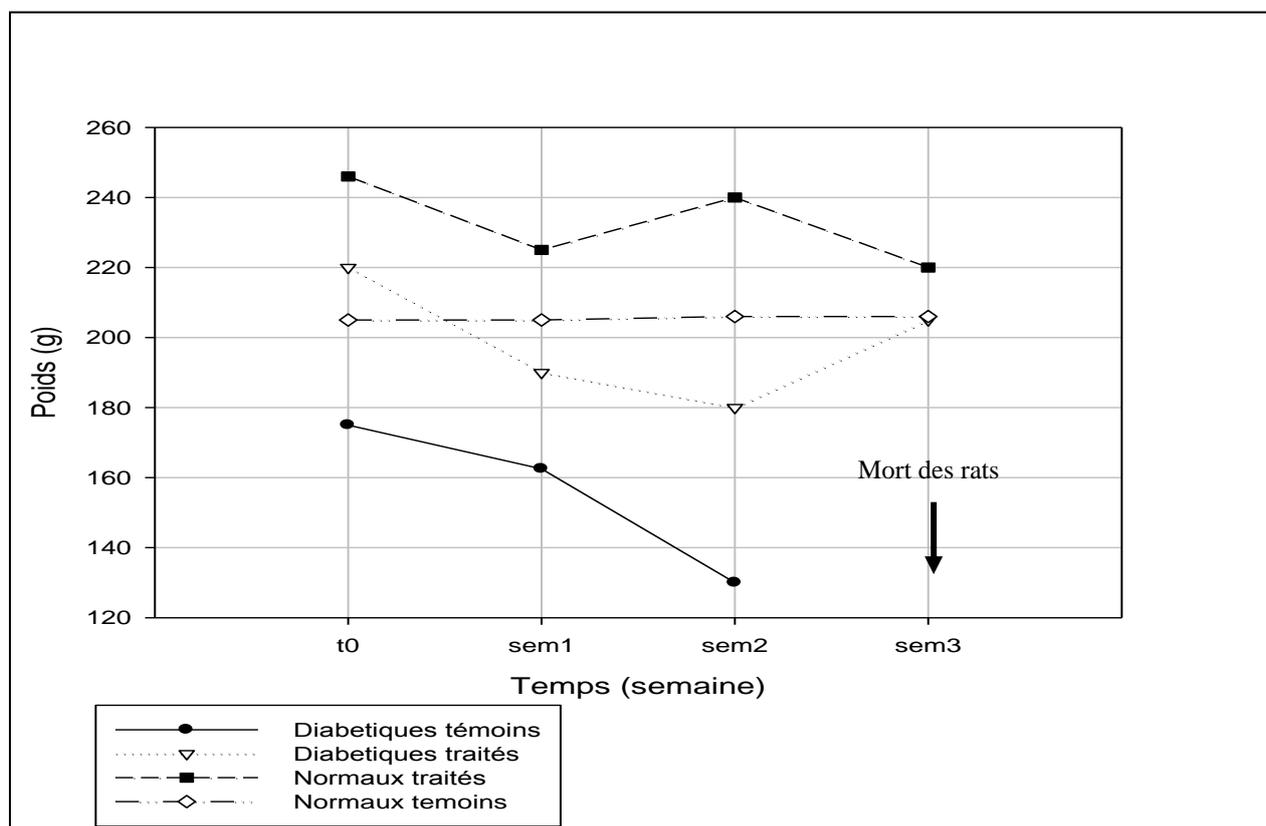


Figure 14: Effet de l'extrait aqueux brut (EAB) sur l'évolution du poids corporel.

3.1.3. Effet sur la tolérance orale au glucose :

L'administration de 3g/kg du glucose a provoqué chez les rats un état d'hyperglycémie. Les résultats de ce test sont mentionnés dans la figure 15. Une hyperglycémie est observée chez les deux groupes de rats une heure après gavage de la solution glucosée. En parallèle, une régulation de la glycémie est observée après le pic. Ce qui est remarquable est l'amélioration de cette régulation chez les rats traités. En comparant la glycémie, point par point, aucune différence significative n'est notée. Par contre, la diminution de la glycémie des rats normaux traités du temps t1 (1h) jusqu'au temps t2 (2h) est très significative.

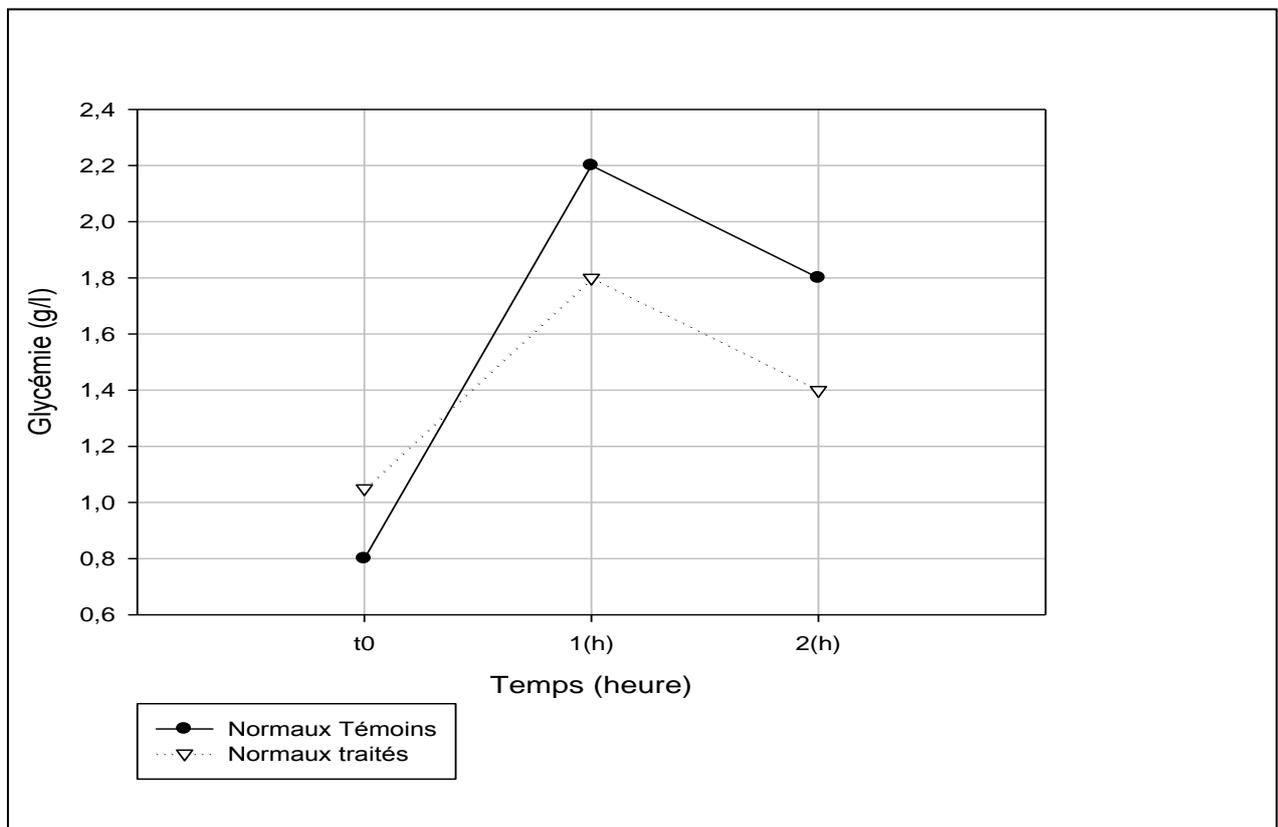


Figure 15: Effet de l'extrait aqueux brut (EAB) sur la tolérance orale au glucose des rats normaux.

3.1.4. Glycémie en pourcentage :

Nous avons essayé de représenter la diminution de la glycémie, pendant les trois semaines, sous forme de pourcentage par rapport à la glycémie initiale. Pour les diabétiques traités, nous remarquons une diminution de la glycémie de l'ordre de 51% à la troisième semaine, alors que celle des diabétiques témoins est faible (13%). Sur les quatre lots d'expérimentation, nous avons observé la mort des diabétiques témoins à la troisième semaine.

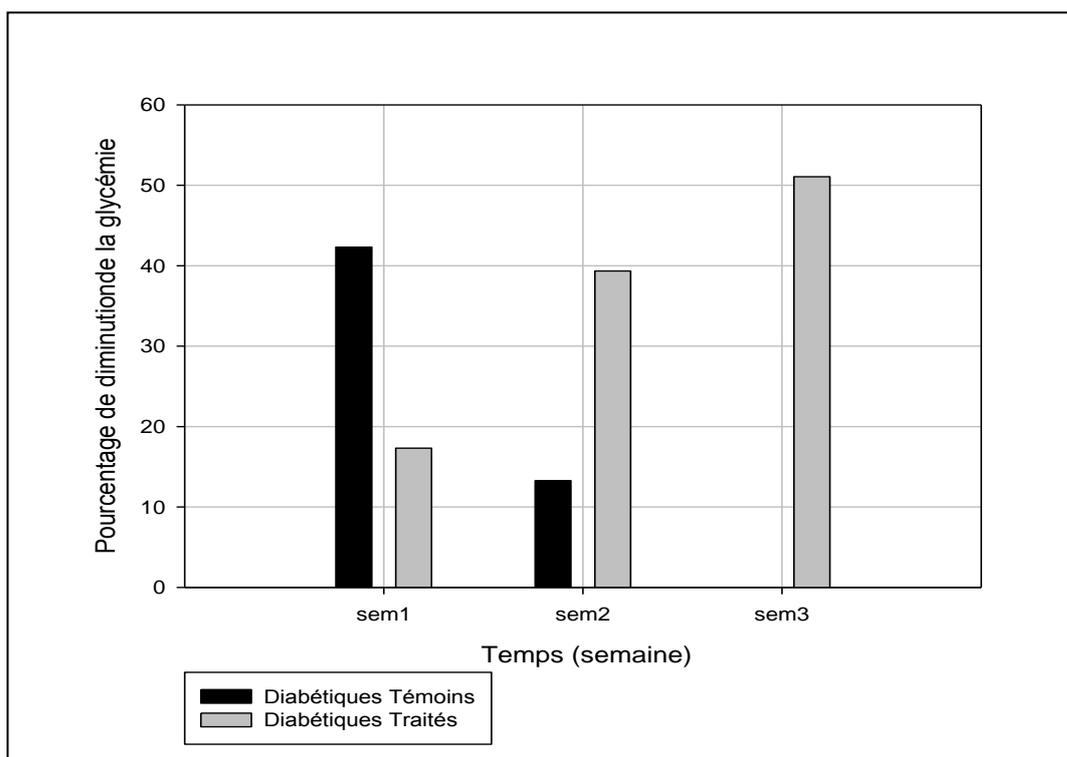


Figure 16: Effet de l'extrait aqueux brut (EAB) sur la glycémie (% par rapport à la glycémie initiale).

3.2. Evaluation des effets de FA1 (fraction aqueuse 1) et FB1 (fraction butanolique 1) :

3.2.1. Effet sur la glycémie à jeun :

Durant les deux semaines de traitement, nous avons observé une diminution de la glycémie des deux lots de diabétiques traités, par FA1 et FB1 (figure17). Cette variation est

importante chez les diabétiques traités par FB1, une diminution hautement significative à la 1^{ère} semaine. Mais nous pouvons remarquer qu'à la 2^{ème} semaine, les deux groupes ont des glycémies proches.

A partir de ces résultats, il semble que les deux extraits sont efficaces sur la glycémie à jeun et que la fraction FB1 est plus efficace avec un effet montré dès la première semaine.

Pour les rats normaux, la glycémie reste, dans les limites, normale. Une légère diminution est observée et qui reste statistiquement non significative.

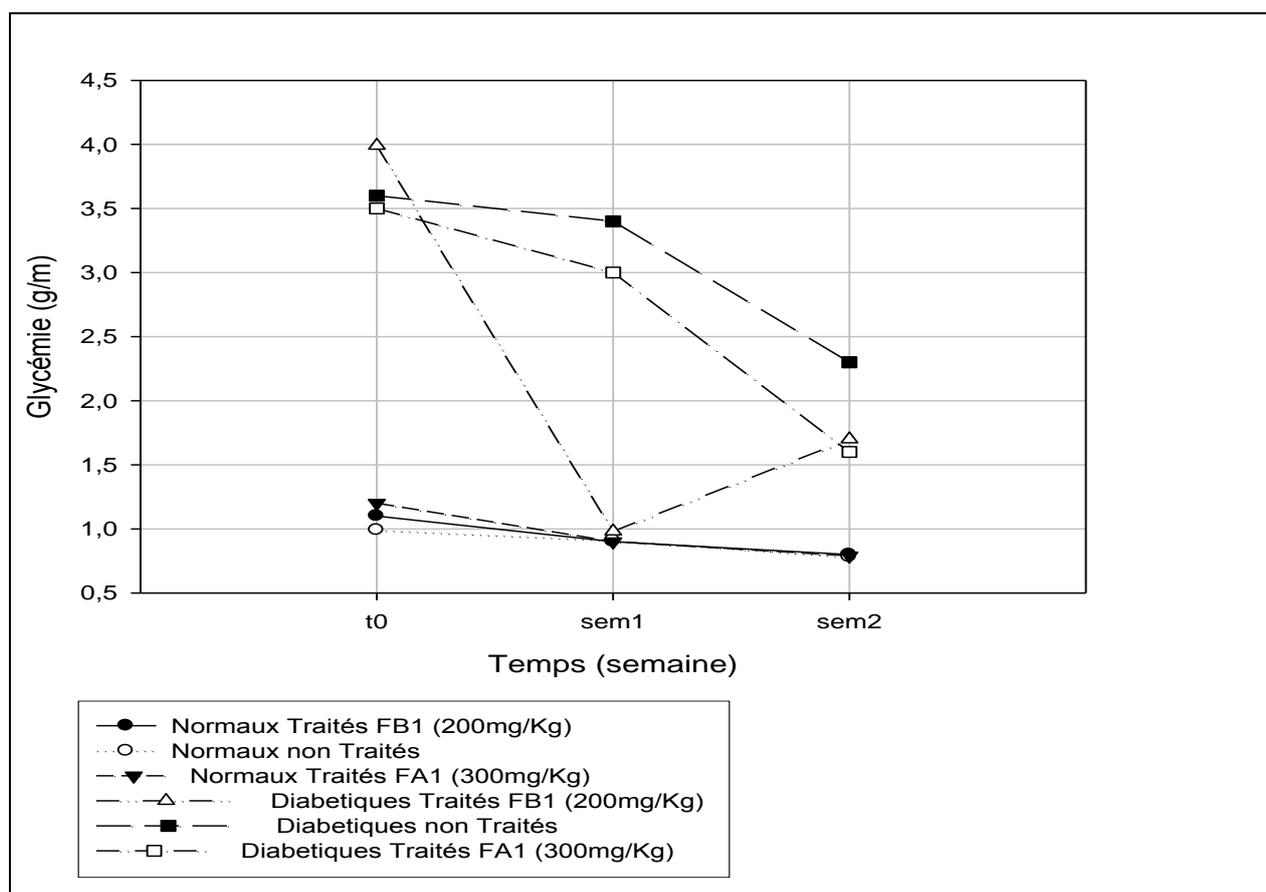


Figure 17: Effet de FA1 et FB1 sur l'évolution de la glycémie

3.2.2. Effet sur le poids corporel :

Nous remarquons que les diabétiques témoins présentent une diminution de la croissance (figure 18). Par contre, cette chute de poids est corrigée chez les rats traités par FA1 et FB1. La croissance est améliorée chez les rats normaux traités par FA1.

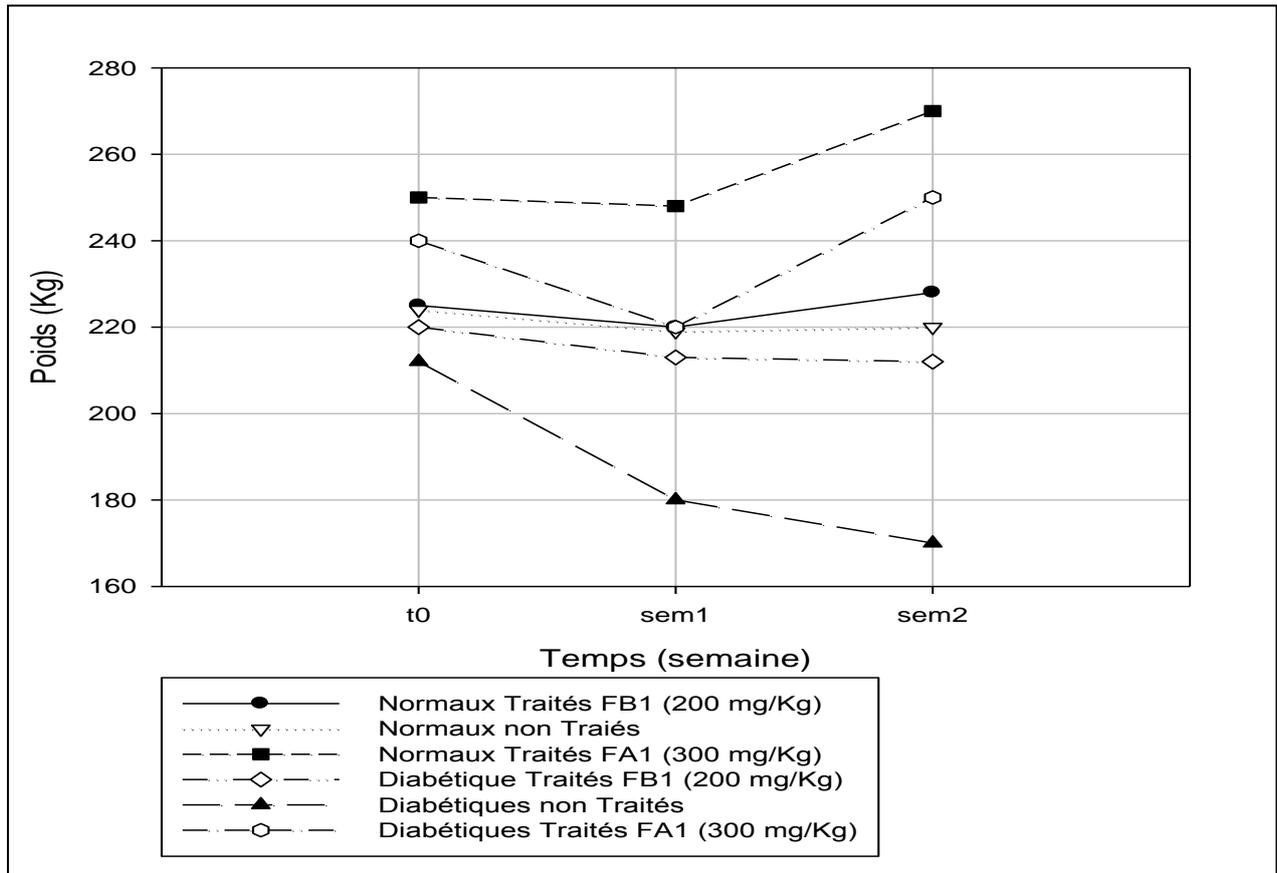


Figure 18: Effet de FA1 et FB1 sur l'évolution du poids corporel

3.2.3. Effet sur la tolérance orale au glucose :

Le schéma de la variation de la glycémie des rats après une surcharge en glucose (figure 19) montre une amélioration de la réponse au glucose des rats diabétiques traités par FA1. Par contre, ceux traités par FB1 présentent une élévation importante de la glycémie après une heure. Cette augmentation est plus importante par rapport à celle des diabétiques témoins. De plus, la tolérance des rats normaux est améliorée par FA1.

A partir de ce test simple, nous pouvons conclure que la fraction FA1 pourrait agir positivement sur la glycémie post-prandiale contrairement à FB1.

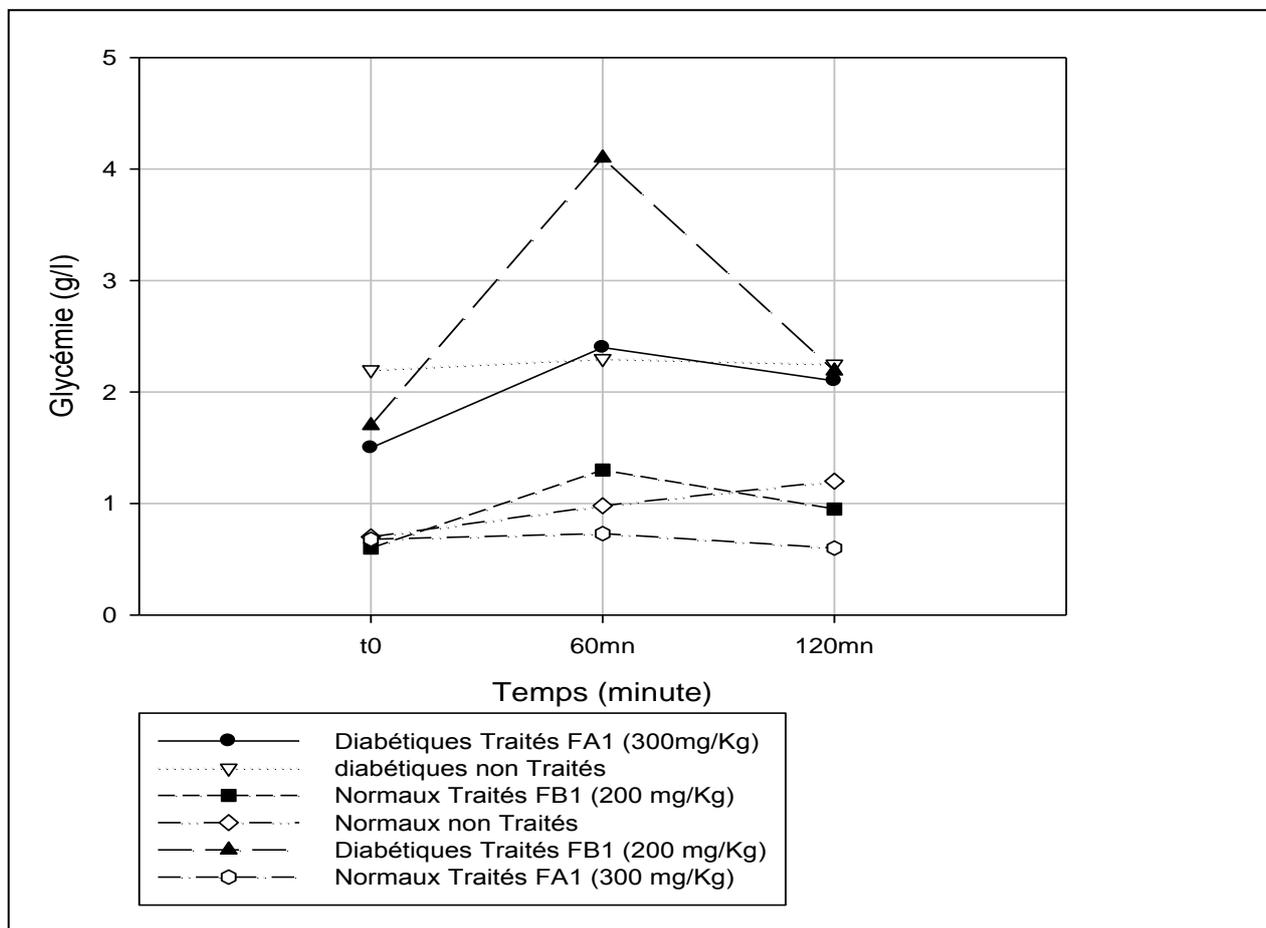


Figure 19: Effet de FA1 et FB1 sur la tolérance orale au glucose

3.3.Evaluation des effets de FA2 (fraction aqueuse 2) et FB2 (fraction butanolique 2):

3.3.1. Effet sur la glycémie à jeun :

La figure 20 illustre l'élévation de la glycémie des rats témoins et traités par FA2 et FB2. Le traitement d'une semaine des rats diabétiques par 100mg/kg de la FB2 provoque une diminution de la glycémie alors qu'une re-augmentation est observée à la 2^{ème} semaine. La fraction FA2 à 75mg/kg semble être non efficace et sans influence sur la glycémie des rats diabétiques.

Chez les rats normaux, l'évolution de la glycémie est normale et qu'aucune hypoglycémie n'a été provoquée chez les normaux.

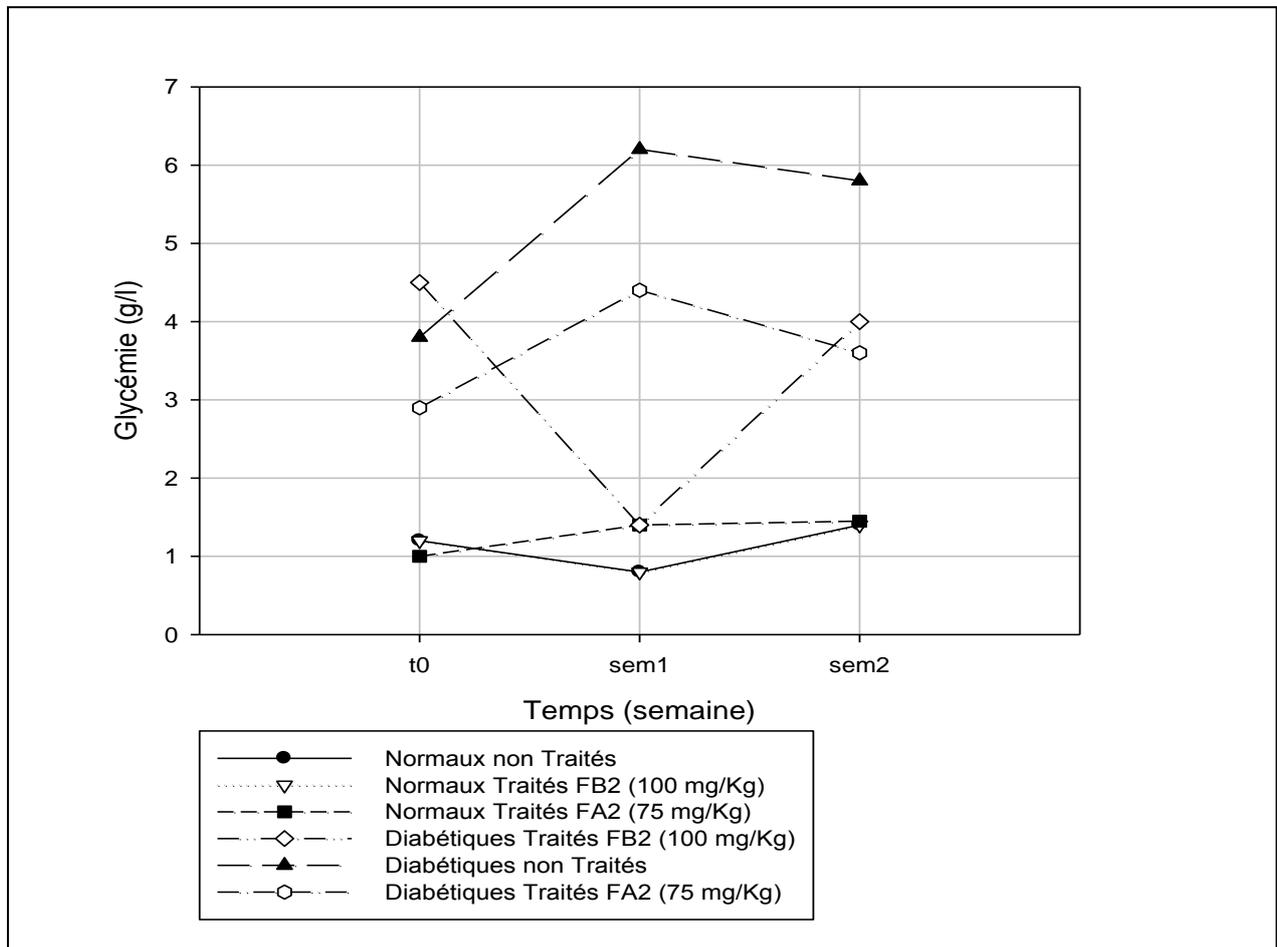


Figure 20: Effet de FA2 et FB2 sur l'évolution de la glycémie

3.3.2. Effet sur le poids corporel :

Sur la figure 21 qui représente l'évolution du poids corporel des différents lots, nous remarquons une amélioration de la croissance des diabétiques traités par FB2 mais une altération de celle des normaux.

Par contre, la fraction FA2 corrige la croissance des diabétiques et n'influe pas sur celle des normaux.

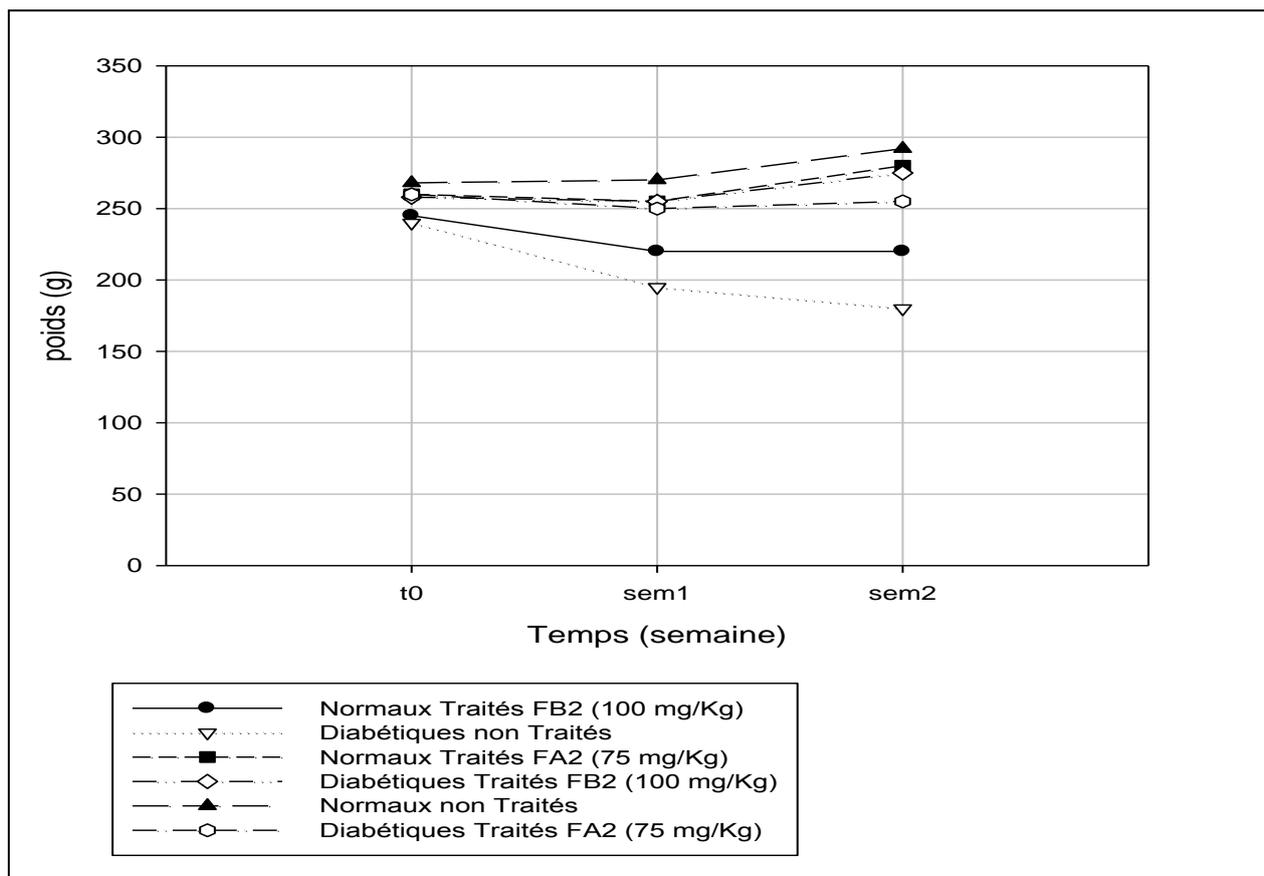


Figure 21: Effet de FA2 et FB2 sur l'évolution du poids corporel.

3.3.3. Effet sur la tolérance orale au glucose :

La figure 22 résume la réponse des rats à une surcharge orale au glucose. La fraction FB2 qui a amélioré la glycémie à jeun des diabétiques, après une semaine de traitement, n'a pas d'effet sur la tolérance au glucose ; la glycémie reste en constante augmentation. De même, pour la fraction FA2, la réponse des diabétiques à la surcharge en glucose est perturbée.

A partir de ce résultat, nous pouvons conclure que ces deux fractions aux doses testées ne sont pas efficaces sur la glycémie post-prandiale.

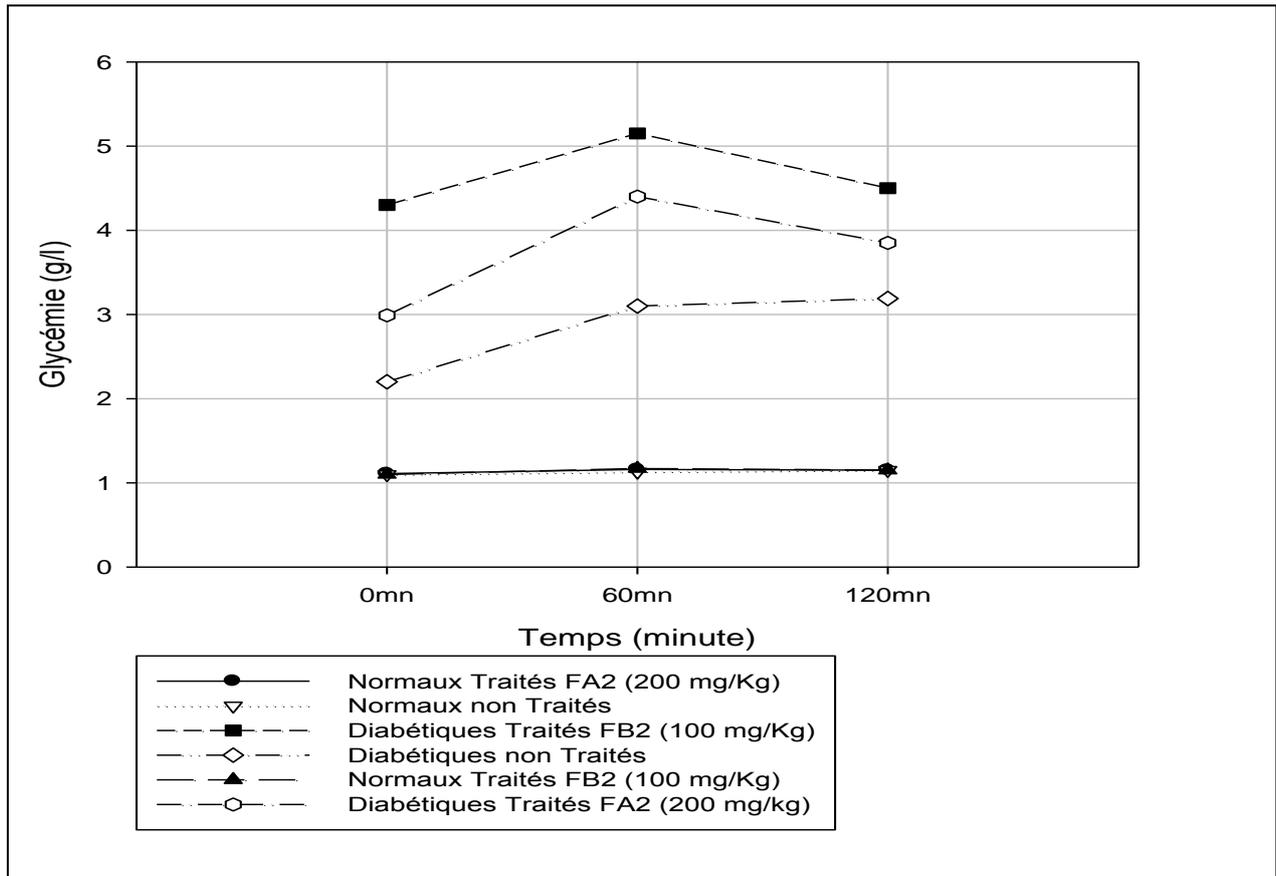


Figure 22: Effet de FA2 et FB2 sur la tolérance orale au glucose.

3.4. Evaluation des effets de FAH (fraction aqueuse heptanique) :

3.4.1. Effet sur la glycémie à jeun :

Nous représentons sur la figure 23, l'évolution de la glycémie durant les deux semaines de traitement. Les rats diabétiques traités par FAH présentent une diminution importante dès la première semaine de traitement et qui continue jusqu'à la 2^{ème} semaine. Cette variation est statistiquement significative. Pour les diabétiques témoins, la glycémie est en constante augmentation.

Pour les rats normaux, le traitement par FAH provoque une légère diminution de la glycémie qui reste dans ses valeurs normales.

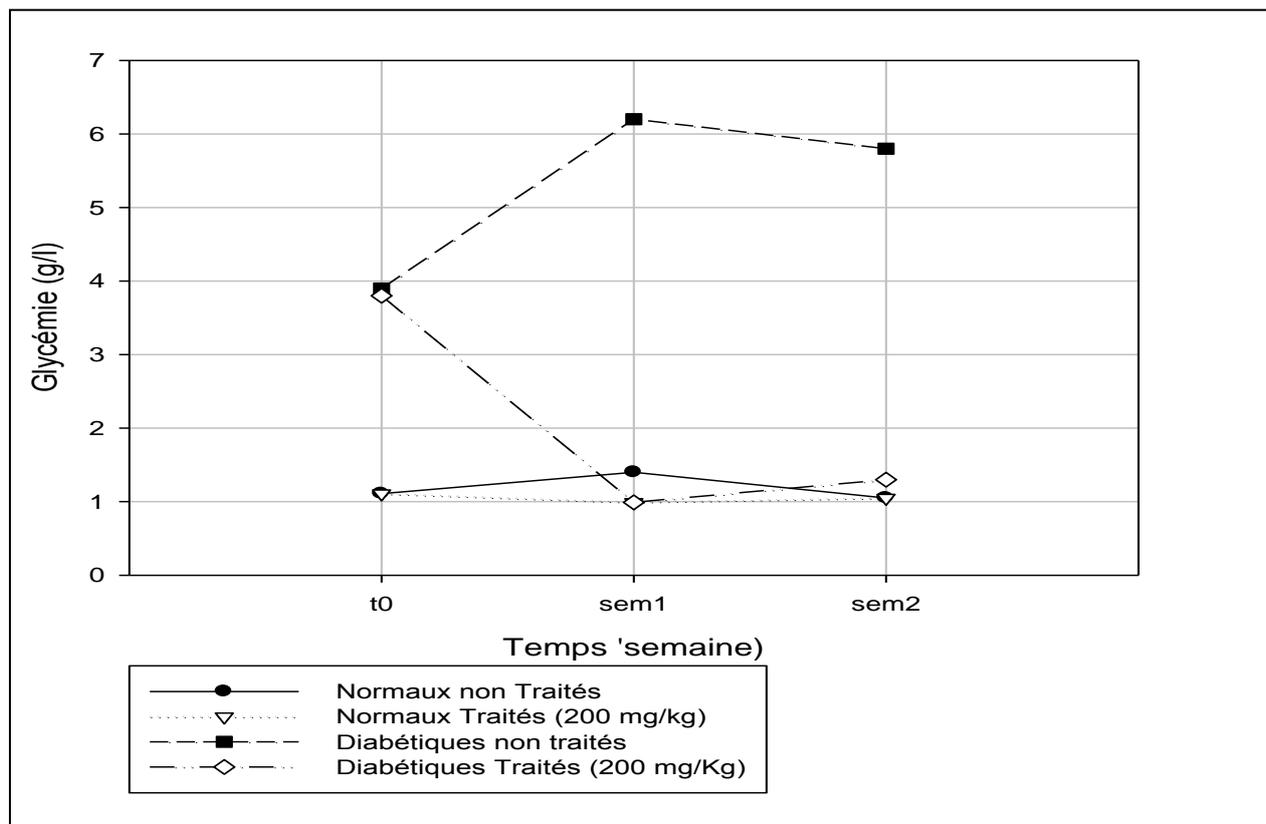


Figure 23: Effet de FAH sur l'évolution de la glycémie

3.4.2. Effet sur le poids corporel :

Les courbes illustrées sur la figure 24, montrent une légère diminution du poids corporel des diabétiques témoins. Elle suit la même variation que celle des normaux témoins.

Nous pouvons clairement remarquer la stabilité de la croissance des diabétiques traités par FAH, ce qui explique l'effet positif de cette fraction sur la croissance des animaux. La fraction FAH n'agit pas sur l'évolution du poids des rats normaux.

Ce résultat montre que la fraction FAH n'a pas d'effet négatif sur la croissance des animaux.

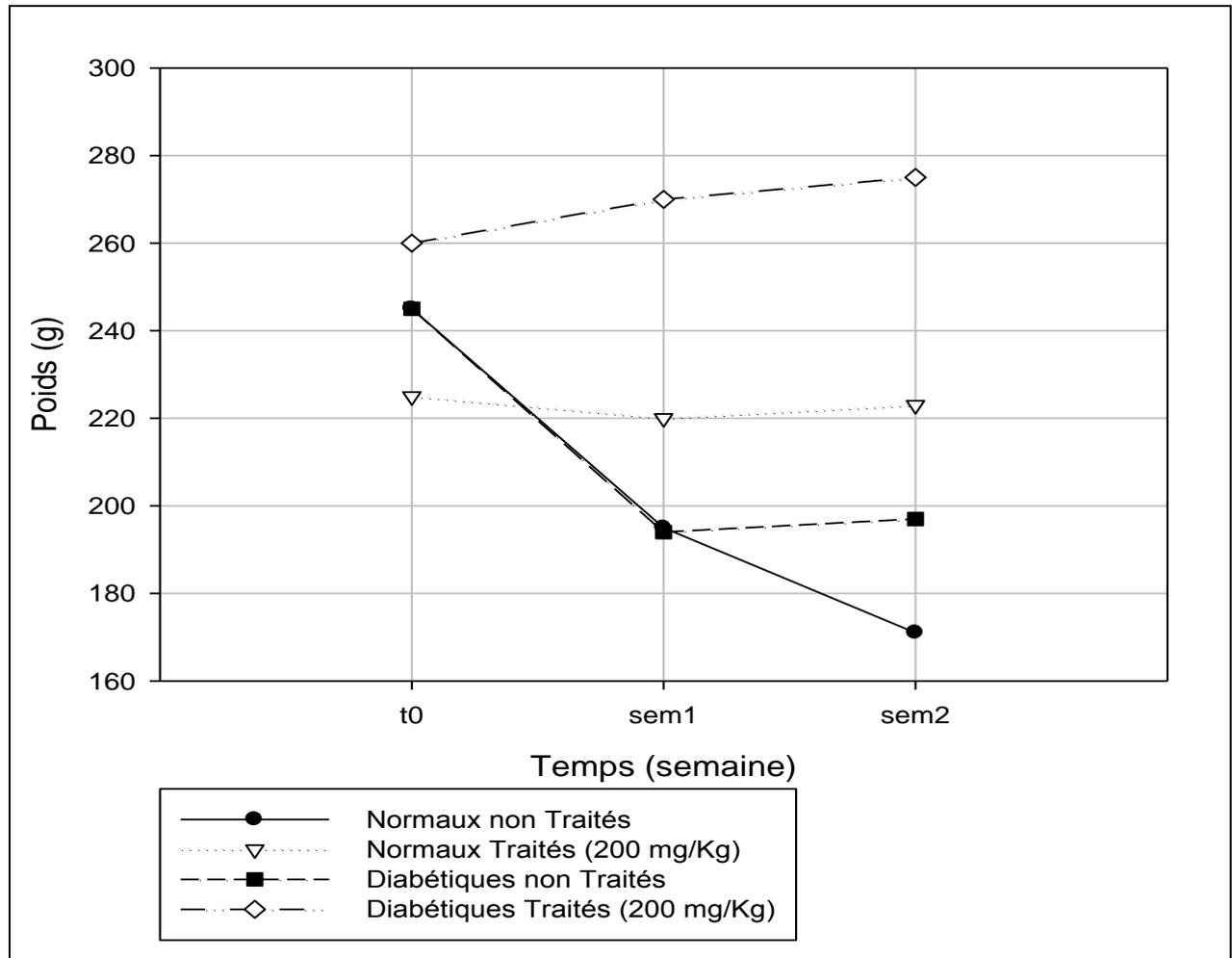


Figure 24: Effet de FAH sur l'évolution du poids corporel.

3.4.3. Effet sur la tolérance orale au glucose :

La réponse des animaux au glucose est schématisée sur la figure 25. Les diabétiques traités par FAH tolèrent mieux le glucose. En observant attentivement l'allure de la réponse au glucose de ce groupe, nous pouvons conclure l'effet positif de cette fraction sur la tolérance au glucose. Une augmentation modérée, après 1 heure, est rapidement corrigée à la deuxième heure. En parallèle, la glycémie des diabétiques témoins est en continuelle augmentation.

La réponse des rats normaux est habituelle ; une légère augmentation avec une régulation à la deuxième heure.

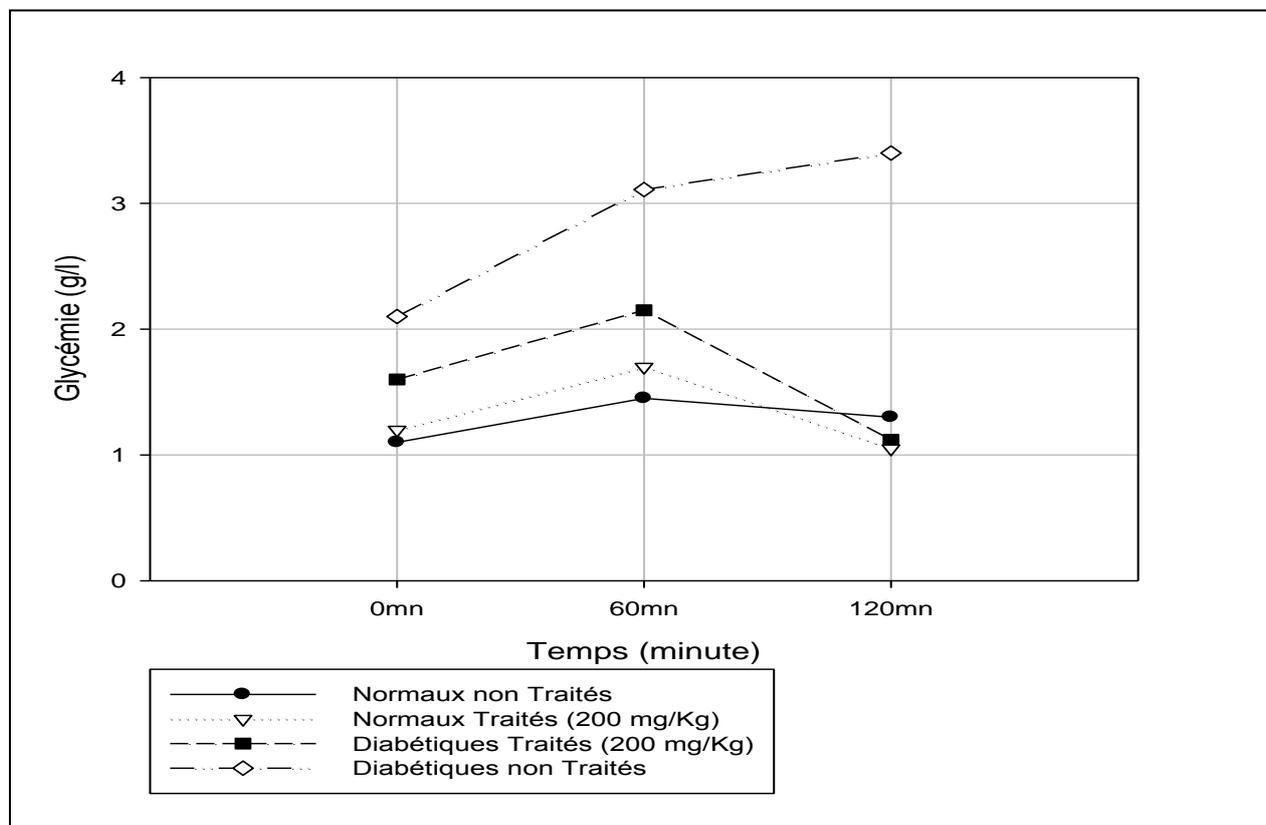


Figure 25: Effet de FAH sur la tolérance orale au glucose.

3.5. Evaluation des effets de FA3 (fraction aqueuse 3) et FDM (fraction dichlorométhanique):

3.5.1. Effet sur la glycémie à jeun :

Sur la figure 26, sont mentionnées les courbes d'évolution de la glycémie des six groupes de rats. Les diabétiques traités par FDM ont une variation proche de celle des diabétiques témoins. Cela montre que cette fraction, à la dose testée, ne corrige pas l'hyperglycémie provoquée par la STZ.

Par contre, un effet positif et hautement significatif de FA3 est noté chez les diabétiques traités par cette fraction. Cet effet apparait dès la première semaine et persiste jusqu'à la fin

d'expérimentation. La glycémie qui en résulte est du même ordre que celle des normaux. Elle atteint, à la quatrième semaine, un niveau plus bas que les normaux non traités.

Ce résultat est intéressant et reflète l'efficacité de *Z. geslini* et spécialement celle de l'extrait aqueux brut.

Chez les normaux, qu'ils soient traités par FDM ou par FA3, la variation est normale.

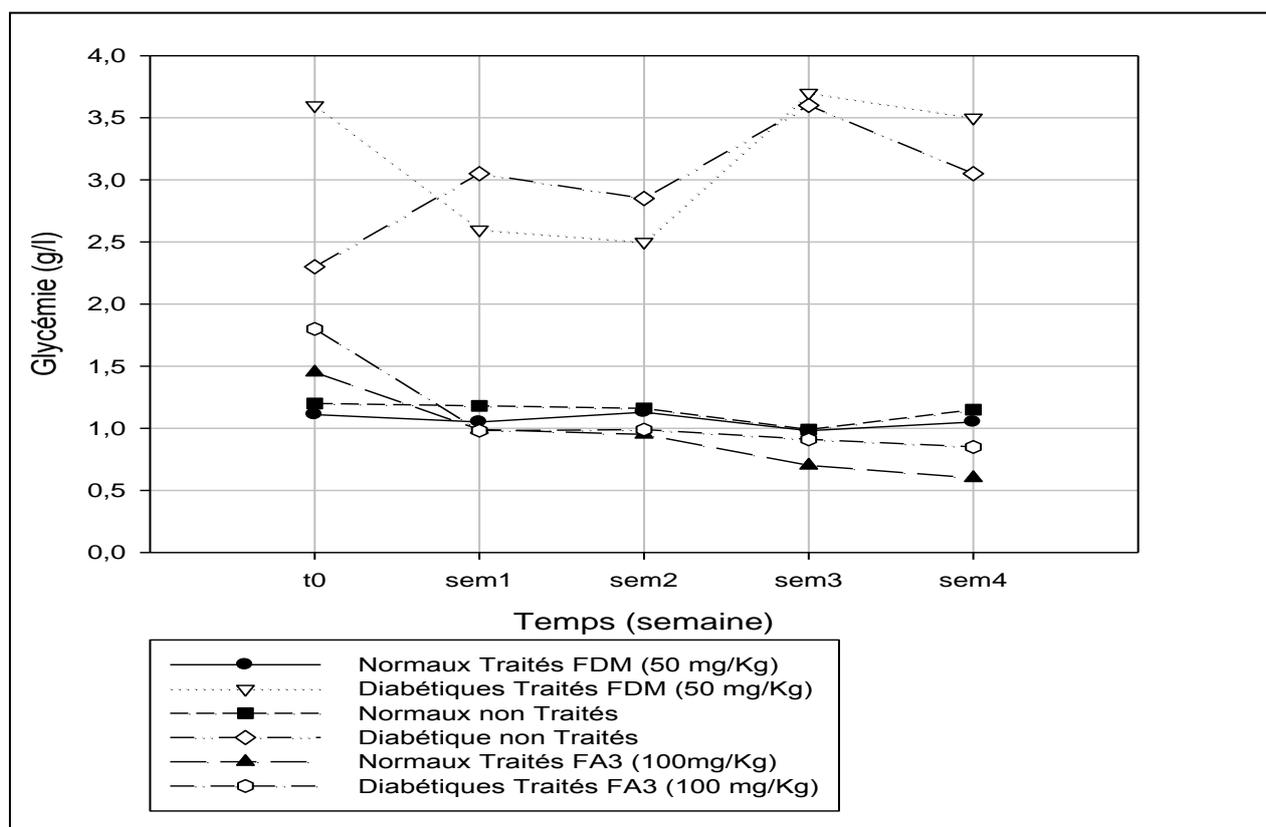


Figure 26: Effet de FA3 et FDM sur l'évolution de la glycémie

3.5.2. Effet sur le poids corporel :

La croissance des diabétiques traités par FDM telle qu'elle est montrée sur la figure 27, révèle une diminution progressive du poids corporel durant les semaines d'expérimentation.

En revanche, l'évolution du poids corporel des diabétiques traités par FA3 est constante durant les quatre semaines.

La croissance des normaux traités par FDM est similaire à celle des normaux témoins. De même pour les normaux traités par FA3 où la croissance est normale.

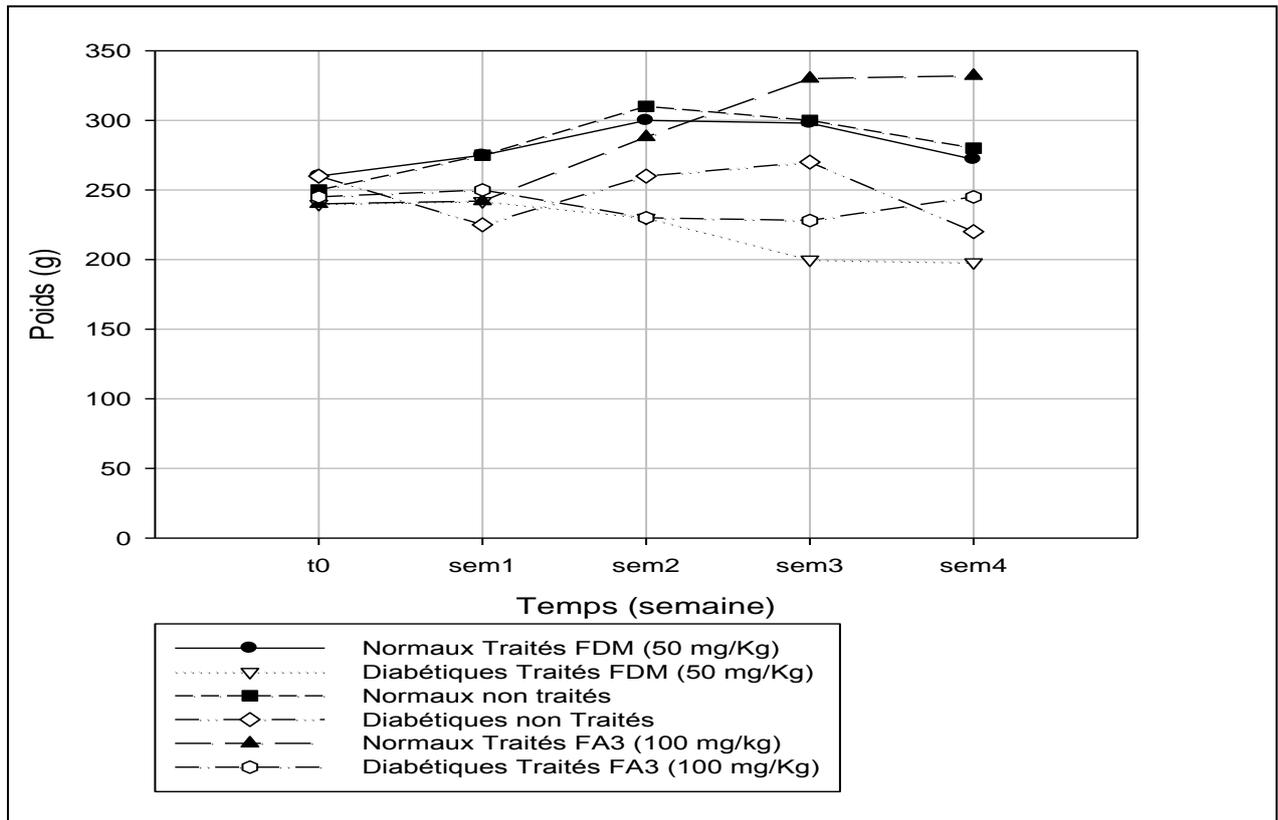


Figure 27: Effet de FA3 et FDM sur l'évolution du poids corporel.

3.5.3. Effet sur la tolérance orale au glucose :

Après une surcharge de 3g/kg de glucose, nous avons suivi la glycémie des animaux. Les résultats sont illustrés sur la figure 28.

Il est évidemment remarquable que la réponse des diabétiques traités par FDM est perturbée. Elle suit la même évolution que celle des diabétiques témoins. Cependant, une tolérance positive est enregistrée chez les diabétiques traités par FA3.

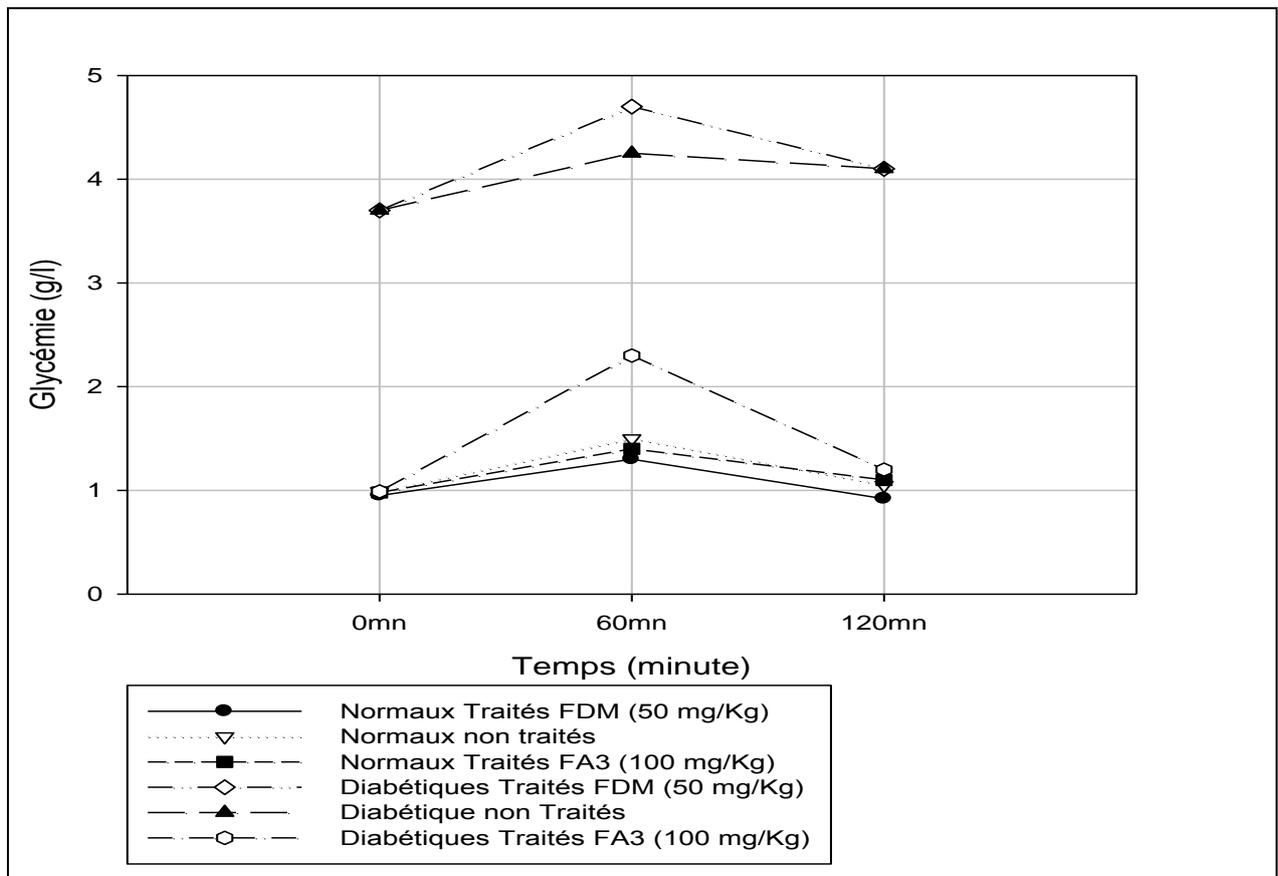


Figure 28: Effet de FA3 et FDM sur a tolérance orale au glucose.

Chez les trois lots de rats normaux, la réponse au glucose reste physiologique avec une régulation de la glycémie à la deuxième heure.

4. Effet de FA3 à court terme :

Le schéma de l'évolution de la glycémie pendant 3 heures, illustré sur la figure 29, montre une diminution de la glycémie des diabétiques traités par 100mg/kg de FA3 à partir de la 1^{ère} heure. Cet effet est observé jusqu'à la troisième heure où la glycémie diminue de 22% par rapport à sa valeur initiale. Cette variation est statistiquement non significative.

Par contre, chez les normaux, on observe une légère augmentation de la glycémie suite au gavage de 100mg/kg de FA3.

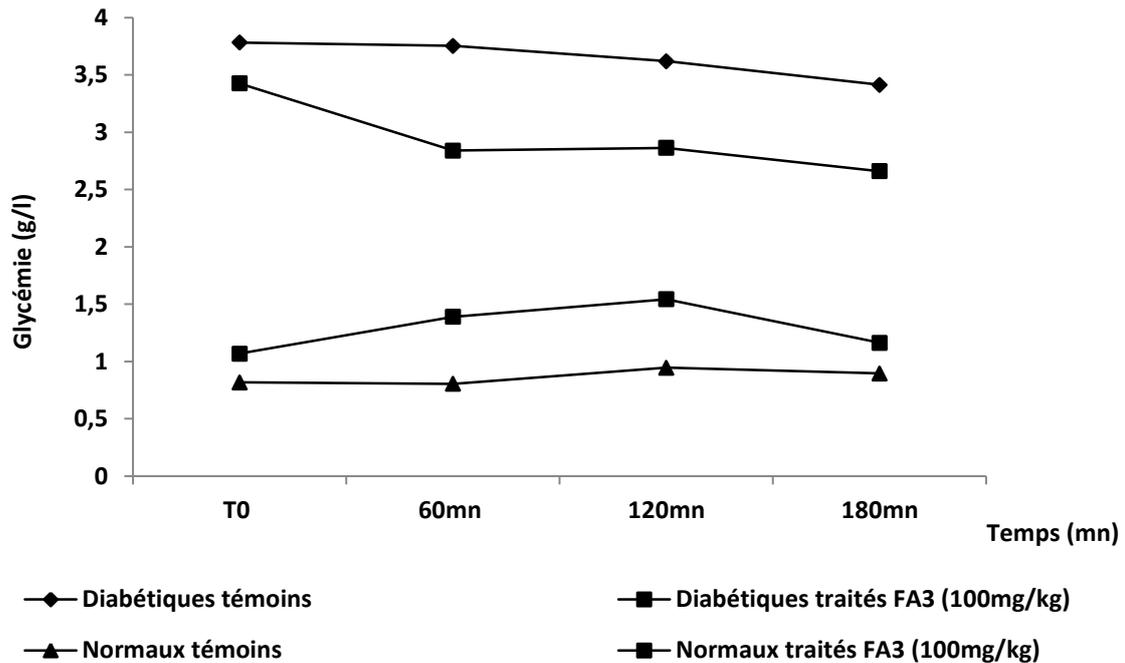


Figure 29: Effet de FA3 (100mg/kg) sur l'évolution de la glycémie pendant trois heures

5. Effet de FA3 sur l'hyperglycémie provoquée par voie intrapéritonéale :

Sur la figure 30, nous avons résumé l'évolution de l'hyperglycémie provoquée par voie intrapéritonéale. Il est clair que FA3 n'a pas corrigé cet état d'hyperglycémie chez les rats normaux. Ce test qui reste incomplet car il est réalisé seulement sur des rats normaux. Il devrait, également, être réalisé sur des rats rendus diabétiques.

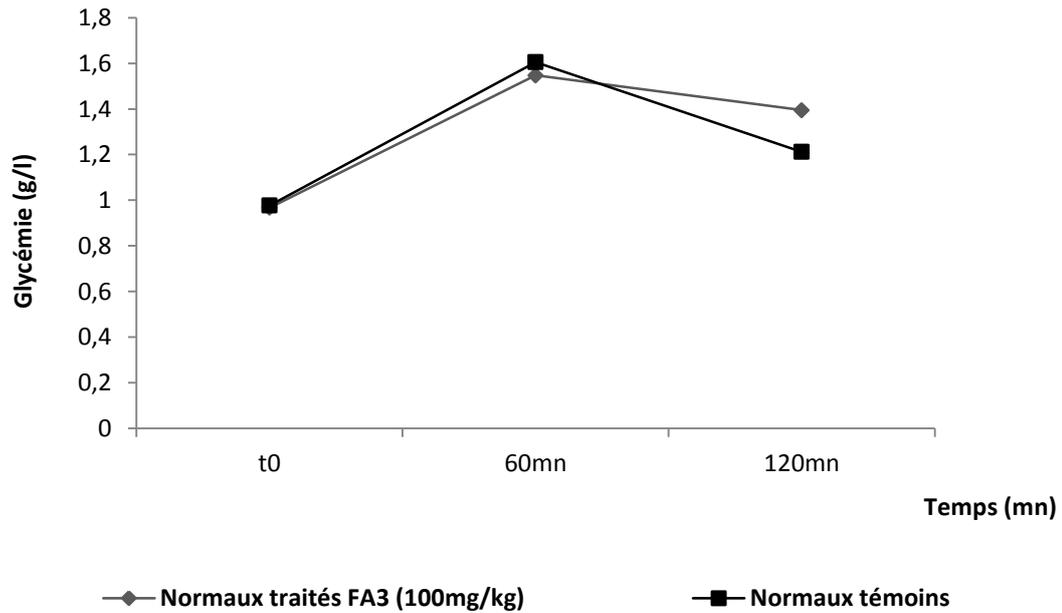


Figure 30: Effet de FA3 (100mg/kg) sur l'évolution de l'hyperglycémie provoquée par voie intrapéronéale

6. Comparaison des effets de FA3 avec ceux du glimépiride :

6.1. Effet sur la glycémie à jeun:

A travers la série d'essais réalisés, nous avons conclu que FA3 semble la plus efficace. A cet effet, nous avons comparé ses effets sur le diabète avec ceux d'un agent antidiabétique.

La figure 31 schématise l'effet de FA3 et du Glimépiride sur la glycémie à jeun. Le glimépiride à 0,1mg/kg provoque une réduction significative de la glycémie à la 2^{ème} semaine. Cependant, l'effet de FA3 atteint un niveau de réduction significatif dès la 1^{ère} semaine.

La glycémie des rats normaux reste dans l'intervalle des valeurs normales. Il semble de ces résultats que la fraction FA3 à 100mg/kg est plus efficace que le glimépiride à 0,1mg/kg.

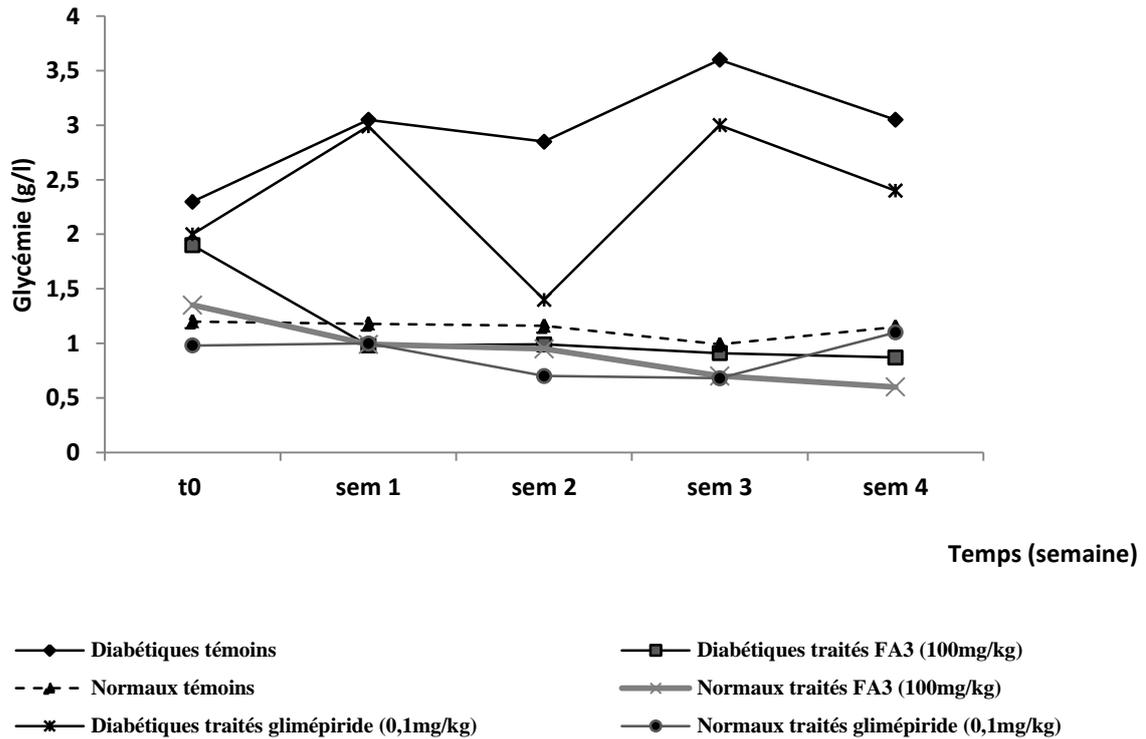


Figure 31: Effet de FA3 et du glimépiride sur la glycémie à jeun pendant les quatre semaines de suivi

6.2. Effet sur le poids corporel :

La croissance des rats illustrée sur la figure 32, montre une amélioration de la courbe du poids corporel des rats normaux traités par FA3. Celle des normaux traités par glimépiride est presque constante et sans variation notable.

L'évolution du poids des diabétiques traités par FA3 est corrigée à la 4^{ème} semaine où celle des diabétiques traités par glimépirides est perturbée.

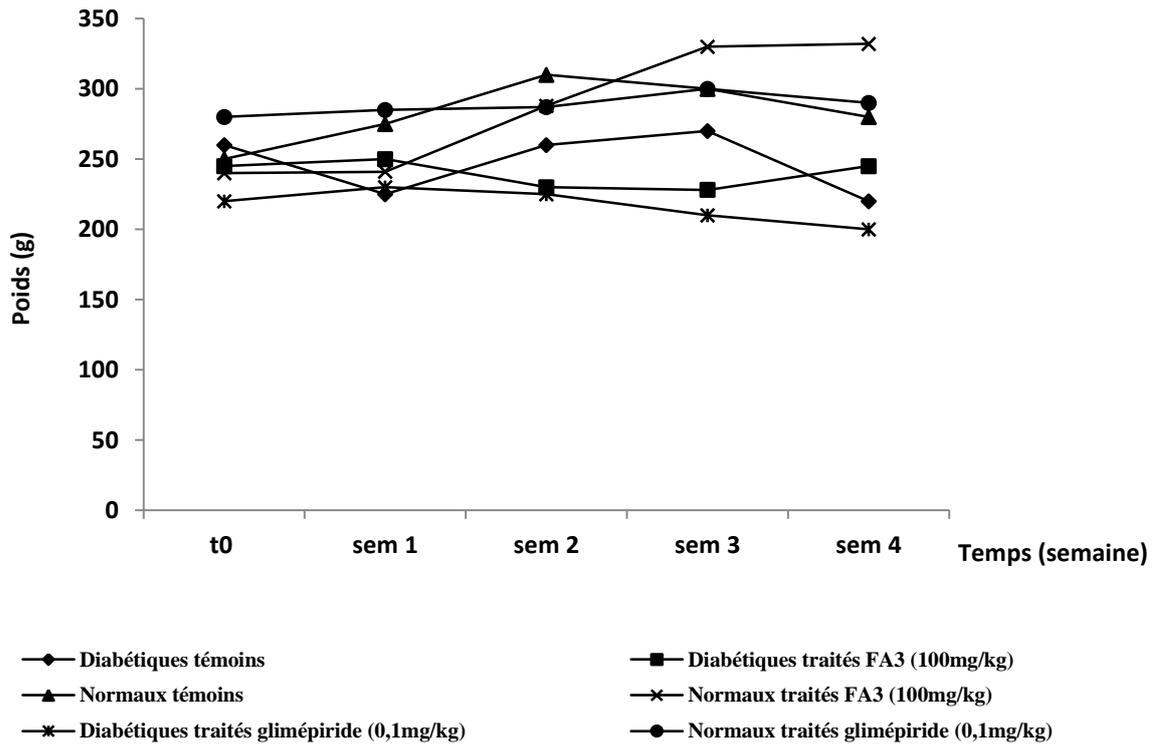


Figure 32: Effet de FA3 et du glimépiride sur le poids corporel pendant les quatre semaines de suivi

6.3. Effet sur la tolérance orale au glucose :

Ici, sur la figure 33, nous pouvons observer l'écart entre les effets de glimépiride et de FA3. Cette dernière améliore significativement la réponse des rats à la surcharge orale de glucose où la glycémie revient à son niveau initial à la 2^{ème} heure.

La réponse des rats normaux est physiologique dont nous avons noté une rapide correction du pic à la deuxième heure.

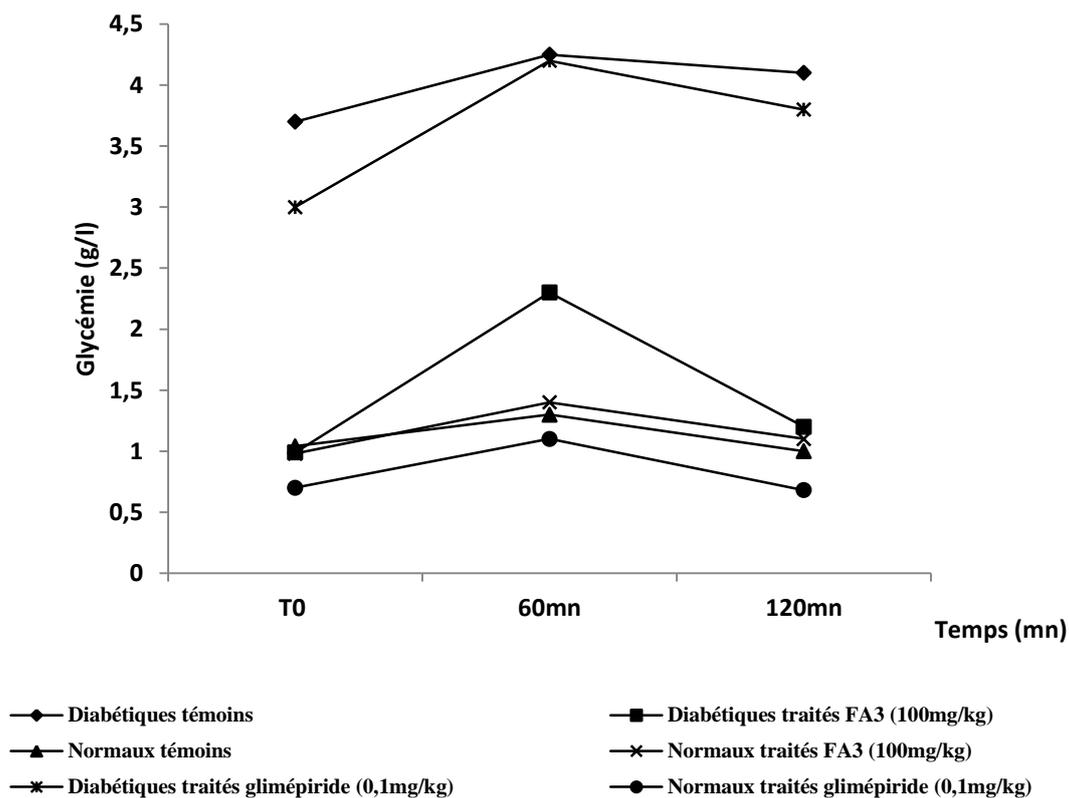


Figure 33: Effet de FA3 et du glimépiride sur la tolérance orale au glucose

7. Evaluation du pouvoir antiradicalaire de FA3 :

Le pouvoir antioxydant d'un extrait végétal est un paramètre important pouvant avoir une forte relation avec l'activité antidiabétique. Cette propriété est évaluée par différentes techniques dont celle du radical DPPH qui est très utilisée.

La figure 34 trace la variation du pourcentage de réduction de DPPH en fonction des différentes concentrations utilisées de FA3. A partir de cette courbe, nous pouvons tirer un seul paramètre qui est le EC₅₀ qui est égal à 30892,87 mg/g de DPPH ; valeur calculée graphiquement. Comparée à d'autres valeurs, celle-ci est assez élevée. Pour l'acide ascorbique la valeur de EC₅₀ est 123,94 mg/g.

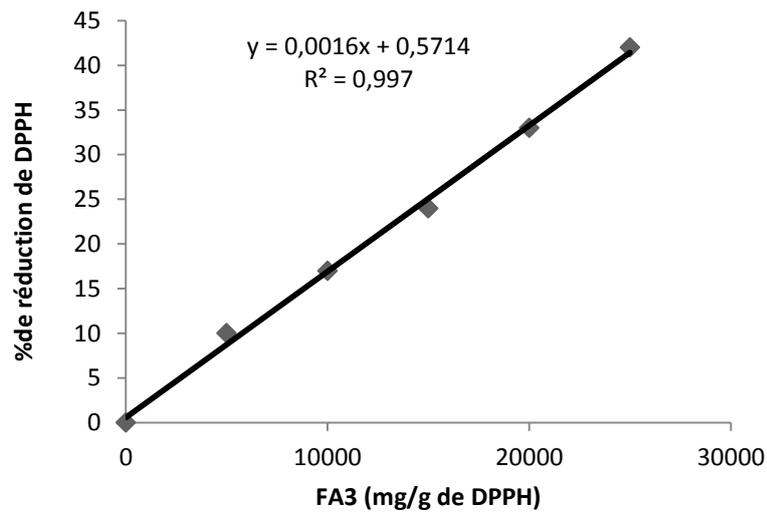


Figure 34: variation du pourcentage de réduction de DPPH en fonction de la concentration de FA3

Au cours des dernières décennies, une attention particulière a ciblé l'utilisation des plantes médicinales dans le traitement et le contrôle du diabète sucré conformément aux recommandations de l'OMS [Bnouham *et al.*, 2002].

En Algérie, la recherche des plantes hypoglycémiantes a connu ces dernières années un essor à travers les enquêtes ethnopharmacologiques et l'évaluation scientifique de ces plantes. Un inventaire réalisé en 2000 par Benmehdi, classe les plantes les plus utilisées par la population tlemcenienne pour soigner le diabète sucré. Parmi elles, figure *Zygophyllum geslini*, objet de ce travail [Benmehdi, 2000]. Cette plante est connue sous le nom vernaculaire arabe « Aggaya ». Elle est utilisée pour traiter le diabète sucré et les problèmes digestifs. Dans la région d'Adrar, cette espèce est largement consommée comme condiment. Aussi, elle est utilisée contre les affections de la peau et comme désinfectant pour le nourrisson.

Plusieurs espèces du genre *Zygophyllum* partagent le nom de « Aggaya » telles que *Z. album*, *Z. cornutum* [Baba Aïssa, 1999], *Z. gaetulum* et *Z. waterlot* [Jouad *et al.*, 2001 ; Eddouks, 2002] et *Z. geslini*, espèce endémique d'Algérie [Ozenda, 1977]. Les travaux réalisés sur cette dernière sont limités à ceux de Smati *et al.* (2004) évaluant l'effet cytotoxique des racines de *Z. geslini* et l'identification d'un triterpénoïde.

Dans un travail antérieur, réalisé dans le cadre de l'obtention du diplôme de magistère [Medjdoub, 2006], nous avons contribué à l'évaluation de l'activité antidiabétique de l'extrait éthanolique de la partie aérienne de *Z. geslini*. La présente étude constitue, donc, une suite au travail précédent et ce, par l'évaluation de l'activité antidiabétique de l'extrait aqueux de la partie aérienne de la même plante.

Les résultats préliminaires nous ont permis de conclure que l'extrait aqueux est plus efficace que l'extrait éthanolique. De ce fait, ceci nous a poussé à l'étude de l'évaluation des effets antidiabétiques de l'extrait aqueux et ses fractions extraites ainsi que la mise en évidence des différentes familles de composés chimiques présents dans les extraits testés.

Phytochimie de la plante :

Les tests phytochimiques réalisés sur la partie aérienne de *Z. geslini* montrent la présence de saponosides, acides aminés, tannins, alcaloïdes, glucosides cardiotoniques, mucilages, flavonoïdes, coumarines, anthracénosides, huile volatile et acides gras. De plus, nous avons estimé à plus de 63% le taux d'humidité, près de 5% de sucres, 10% de cellulose et environ 5% de composés phénoliques. Ces teneurs ont été confirmées par les tests phytochimiques qui ont montré une richesse en mucilages et tannins.

Les mucilages sont des polysaccharides hétérogènes comprenant du D-mannose dans leur structure [Bruneton, 1999]. Les sucres solubles peuvent assurer plusieurs fonctions pour la cellule végétale dont certaines demeurent mal connues ; ils représentent une forme de stockage d'énergie et ils sont des protecteurs contre la déshydratation du fait de leur pouvoir hydrophile. Aussi, ils rentrent dans la structure de certaines molécules comme les acides nucléiques et les hétérosides [Harbone, 1998]. Dans la cellule végétale, les sucres sont les premières (et les seules) molécules formées par le système de photosynthèse et du fait, elles sont les précurseurs de toutes les molécules existant dans la cellule [Bruneton, 1999]. Les sucres occupent, donc, une place capitale dans la physiologie du végétal. Spécialement, les mucilages foliaires assurent plusieurs fonctions pour le végétal ; ils interviennent dans les réponses aux blessures, l'interaction hôte-pathogène, le transport de l'eau et dans la réponse aux stress abiotiques [Ghanem *et al.*, 2010]. Cela, pourrait expliquer la richesse de *Z. geslini* en mucilages surtout qu'elle fait partie des halophytes et qu'elle est exposée aux stress biotique et abiotique. Ici, on peut citer l'exemple des espèces de *Ziziphus* (*Z. mauritiana* Lamk. et *Z. rotundifolia* Lamk.) qui tolèrent la sécheresse et qui sont riches en mucilages (7 à 10% par rapport au poids sec) [Clifford *et al.*, 2002]. Les espèces d'*Astragalus* dont la majorité se développe dans les régions arides du monde sont, également, riches en mucilages [Niknam et Salehi lissar, 2004]

Les composés phénoliques constituent un groupe vaste de molécules dont font partie les tannins, les flavonoïdes, les coumarines, les anthraquinones, les phénols simples et les acides phénols. Dans ce modeste travail, nous avons confirmé la richesse de *Z. geslini* en tannins. Ces derniers sont, dans certaines conditions, des précurseurs de flavonoïdes [Harbone, 1998].

La composition chimique d'une plante reflète directement sa physiologie qui peut être le résultat d'une adaptation à un environnement. Pour discuter les teneurs en composés détectés dans *Z. geslini*, il faut, avant tout, maîtriser les notions de physiologie végétale.

Phytochimie de l'extrait aqueux brut :

Les tests phytochimiques réalisés sur la partie aérienne montrent sa richesse en plusieurs composés pouvant être à l'origine des effets antihyperglycémiantes trouvés au cours de cette étude. L'extrait aqueux, qui est l'axe de cette contribution, contient la majorité de composés décelés dans la plante ce qui peut être ardemment lié avec son efficacité contre le diabète.

Cet extrait est très riche en saponosides, acides aminés, tannins, alcaloïdes, glucosides cardiotoniques, mucilages et flavonoïdes.

Les principes actifs antidiabétiques extraits des plantes sont de natures différentes. Dans le chapitre 3, nous avons cité plusieurs cas dont celui de *Momordica charantia* où il s'agit de **triterpénoïdes** (Momordicosides) et de **polypeptides** [Garau *et al.*, 2003 ; Leatherdale *et al.*, 1981 ; Wang *et al.*, 2008]. *Trigonella foenum-graecum*, une espèce connue par ses vertus antidiabétiques tire cette propriété à partir des **alcaloïdes** (Trigonelline) [Marles et Farnsworth, 1994 ; Dey *et al.*, 2002] et les **acides aminés** (4-hydroxyisoleucine) qu'elle en contient [Broca *et al.*, 1999]. Les fruits de *Blighia sapida* contiennent des **acides aminés**, cyclopropanoïdes nommés hypoglycine A et B et qui sont doués d'une activité antidiabétique remarquable [Marles et Farnsworth, 1994].

Catharantus roseus, une autre espèce anciennement connue en tant que plante antidiabétique, connaît une évaluation scientifique depuis 1920. Les principes actifs hypoglycémiantes extraits de cette espèce sont des **alcaloïdes** (catharantine, leurosine, lochnerine, tetrahydroalstonine, vindoline et vindolinine) [Marles et Farnsworth, 1994].

Aussi, les **sels minéraux** sont un puissant antidiabétique. Chez *Atriplex halimus*, le chrome organique (Glucose Tolerance Factor: GTF) régule la glycémie en potentialisant l'effet de l'insuline [Aharonson *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].

Les **saponosides** qui sont classés selon la génine qui les constitue en deux types, les stéroïdiens et les triterpéniques [Bruneton, 1999], sont doués d'activité antidiabétique [Lacaille-Dubois et Wagner, 1996]. En plus des Momordicosides isolés de *Momordica charantia*, cette plante contient une famille variée de **saponosides** (momordicine I, momordicine II, 3-hydroxycucurbita-5,24-dien-19-al-7,23-di-O- β -glucopyranoside, et kuguaglycoside G) responsable d'effet antidiabétique [Keller *et al.*, 2011]. Ici, nous pouvons ajouter les espèces du genre *Zygothallum* qui sont, généralement, riches en saponosides. Plusieurs travaux ont permis d'isoler et d'identifier différentes molécules de cette famille de composés. Nous pouvons citer, les hétérosides d'acide quinovique isolés à partir de *Zygothallum album* [Hassanean *et al.*, 1993], zygothalloside F de *Z. album* et *Z. dumosum* [Elgamal *et al.*, 1995] ainsi que zygothalloside D et E isolés à partir de *Z. propinquum* [Ahmad *et al.*, 1993]. Smati *et al.*, ont isolé le 3 β -(3,4-dihydroxycinnamoyl)-érythradiol à partir de *Z. geslini* [Smati *et al.*, 2004].

Le Zygothalle endémique du Maroc, *Z. gaetulum*, connu traditionnellement comme antidiabétique et dont cette propriété est évaluée scientifiquement [Jaouhari *et al.*, 1999; Jaouhari *et al.*, 2000] est très riche en zygothalloside N [Aquino *et al.*, 2001].

Les **flavonoïdes** de *Pterocarpus marcipium* représentés par l'épicatchine potentialisent l'effet insulinosécrétagogue du glucose au niveau des cellules β pancréatiques [Marles et Farnsworth, 1994].

L'extrait aqueux brut de *Z. geslini* est très riche en **mucilages** et qui sont présents dans toutes les fractions qui en découlent.

Les **mucilages** isolés à partir des graines du fenugrec additionnés à l'aliment du rat Wistar rendu diabétique, diminuent l'activité des disaccharidases intestinales [Kumar *et al.*, 2005]. D'autres travaux rapportent l'effet bénéfique des mucilages sur le diabète [Mahmoud *et al.*, 2008; Xue *et al.*, 2007]. Cette propriété serait le résultat de la composition de ces molécules dont il est connu, depuis plusieurs décennies, qu'elles sont de nature polysaccharidique et contiennent des protéines. L'analyse des cendres qui en découlent montre la présence du Calcium, Potassium, Fer, Phosphore et Magnésium [Anderson et Lowe, 1947; Woolfe *et al.*, 1976]. Du point de vue composition, les travaux de Metaxatos *et al.* réalisés sur des mucilages isolés à partir d'algues, montrent la structure en monosaccharides (glucose, galactose, xylose, fucose, mannose, rhamnose, arabinose et glucosamine). Aussi, 15

acides aminés (arginine, glutamine, acide aspartique, serine, lysine, glycine, thréonine, alanine, tyrosine, méthionine, valine, phénylalanine, isoleucine, leucine et histidine ont été mis en évidence [Metaxatos *et al.*, 2003].

Également, les **dérivés soufrés de la cystéine** détectés dans le genre d'*Allium* (*A. sativum* et *A. cepa*) sont à l'origine de l'efficacité antidiabétique des plantes qui en contiennent. Ces composés sont des insulino-mimétiques et agissent en compétition avec l'insuline [Marles et Farnsworth, 1994 ; Dey *et al.*, 2002]. Une autre hypothèse concernant le mécanisme d'action de ces molécules suppose qu'elles stimulent la sécrétion d'insuline et agissent comme antioxydant [El-Demerdash *et al.*, 2005].

Phytochimie des fractions de l'extrait aqueux brut Z. geslini :

Le fractionnement des extraits bruts par extraction liquide-liquide, utilisant des solvants de polarités différentes, est recommandé afin de séparer les différents constituants. Cette étape précède les analyses chromatographiques et spectroscopiques [Harbone, 1998].

De ce fait, l'EAB est fractionné par une série d'extractions liquide-liquide où nous avons utilisé, le butanol, l'heptane et le dichlorométhane. Ces solvants sont souvent employés dans les extractions liquide-liquide vue leur non miscibilité avec l'eau. Ces extractions sont bio-guidés. En effet, les fractions obtenues sont soumises, en même temps, aux tests phytochimiques et biologiques.

En effectuant des examens phytochimiques sur les des différentes fractions, nous constatons une variation dans la composition. Les mucilages constituent la seule famille de composés présente dans toutes les fractions. De plus, les saponosides, les glucosides cardiotoniques, les acides aminés et les alcaloïdes sont présents dans la majorité des fractions. Néanmoins, les tannins ne sont repérés que dans les premières fractions.

Au début, nous avons choisi le butanol car il permet une bonne extraction des saponosides [Bruneton, 1999] surtout que l'EAB en est très riche. Cependant, les tests phytochimiques montrent que ces composés se trouvent dans les deux fractions qui découlent de ce premier fractionnement (FA1 et FB1). Nous avons pu conclure qu'il s'agit de molécules différentes ; c'est un fractionnement de la même famille chimique et non pas par famille chimique.

L'exemple des saponosides peut expliquer la présence des mêmes familles chimiques dans les fractions issues de la même extraction. Face à ces résultats, nous pouvons se référer aux techniques modernes qui recommandent un bio-guidage des essais phytochimiques doivent être bio-guidés [Touitou, 2007].

Plus loin, nous avons discuté les résultats de l'activité antidiabétiques où il ressort que FAH et FA3 sont les fractions les plus actives vis-à-vis le diabète. Ces deux fractions sont riches en, mucilages, saponosides, glucosides cardiotoniques, alcaloïdes et acides aminés. Plus haut, il est rapporté que ces familles chimiques peuvent avoir des effets bénéfiques sur le diabète sucré.

Activité antidiabétique :

La discussion du mode opératoire est souvent négligée malgré son importance capitale. Le choix de la plante, la voie d'administration, le diabète induit ainsi que les paramètres suivis sont des points essentiels à fixer afin d'avoir des résultats discutables.

Dans le chapitre 3, nous avons discuté les différents modèles expérimentaux du diabète où la STZ est très utilisée pour son induction [Anderson *et al.*, 1974]. Cette toxine détruit les cellules β pancréatiques dont le premier effet est un état d'hyperglycémie qui peut être, transitoire ou chronique [Junod *et al.*, 1969]. Les autres effets de la STZ sont peu discutés ; des études *in vitro* montrent son effet lipolytique sur les adipocytes isolés [Szkudelski et Szkudelska, 2002].

Dans cette approche, nous avons fixé comme objectif l'étude de l'activité antidiabétique des fractions de l'extrait aqueux brut en suivant l'évolution de la glycémie à jeun et la réponse des animaux à une surcharge orale de glucose. Ces deux paramètres sont les plus recherchés dans la thérapie du diabète sucré. Cette dernière est basée sur l'insuline et les antidiabétiques oraux (ADO) qui sont représentés par les sulfamides, les biguanides, les inhibiteurs des alpha-glucosidases et autres. Pour ces classes de médicaments, on discute principalement les effets sur le pancréas (insulinosécrétion), sur le foie (métabolisme glucidique) et sur les intestins (absorption des sucres). Ceci est résumé en deux mécanismes, à jeun et post-prandial [Touitou, 2007 ; Bloomgarden, 2004 ; Malher et Alder, 1998].

Actuellement, plusieurs stratégies thérapeutiques sont focalisées sur :

- 1) la réduction de la production excessive du glucose par le foie,
- 2) l'augmentation de la sécrétion d'insuline stimulée par le glucose,
- 3) l'amélioration de la sensibilité des cellules à l'insuline [Wagner, 2002].

La dose testée de EAB est la même que celle de l'extrait éthanolique (testé antérieurement) afin de pouvoir comparer entre les deux extraits dont il semble que EAB est plus efficace sur le diabète. Pour les fractions de EAB, les doses sont choisies en fonction du rendement d'extraction ; une dose est faible quand son rendement est faible et *vice versa*.

Activité antidiabétique de l'extrait aqueux brut :

L'EAB est doué d'une activité antihyperglycémiant remarquable. Chez les normaux, il améliore la tolérance orale au glucose. De plus, il ne présente aucun risque de toxicité aiguë. Ces constatations expriment des effets positifs, à jeun et post-prandial, qui pourraient être expliquées par des mécanismes à différents niveaux.

D'une part, les substances de EAB semblent **stimuler la sécrétion de l'insuline**. Cette hypothèse est argumentée par l'effet positif observé après une surcharge de glucose. Ce test simple reflète la physiologie de la sécrétion d'insuline dont il est connu que la présence des aliments dans la lumière intestinale stimule les entérocytes à libérer le Glucagon like peptide-1 (GLP-1) et le Glucose-dependent insulintropic peptide (GIP). Ces hormones intestinales provoquent la sécrétion de l'insuline glucose-dépendante et inhibent la sécrétion du glucagon [Baggio et Drucker, 2004 ; Brubaker et Drucker, 2004].

Ce travail préliminaire met en évidence certaines hypothèses qui doivent, dans le futur, être prises en considération. L'EAB semble potentialiser l'effet insulinosécrétagogue des GLP-1 et GIP ou il stimule directement la sécrétion d'insuline. Cet éventuel mécanisme est proche de celui des sulfamides hypoglycémiant qui se fixent sur un récepteur spécifique au niveau des cellules β et stimulent directement la sécrétion d'insuline [Bloomgarden, 2004 ; Malher et Alder, 1998]. La metformine, un agent antidiabétique, diminue l'hyperglycémie en potentialisant l'effet insulinosécrétagogue du GLP-1 [Bloomgarden, 2004] (*).

D'autre part, l'EAB améliore l'hyperglycémie à jeun résultante des effets toxiques de la STZ. Cela pourrait être le résultat d'une **potentialisation des effets d'insuline** ou d'un **insulino-mimétisme**. La pharmacologie indexe des médicaments antidiabétiques qui agissent en potentialisant les effets de l'insuline dont on connaît principalement la classe des biguanides représentés par la metformine [Lüllmann *et al.*, 1998]. Cette dernière permet de normaliser un niveau trop élevé de glucose en présence d'insuline. Elle inhibe la néoglucogenèse [Bloomgarden, 2004] et la glycogénolyse [Malher et Alder, 1998].

Pour soutenir cette dernière hypothèse, nous pouvons ajouter l'exemple des thiazolidinediones, une nouvelle classe d'agents antidiabétiques. Ces principes actifs sont des potentialisateurs d'insuline puissants. En se fixant sur le PPARs (Peroxisome proliferator-activated receptors), ils agissent sur les adipocytes où ils contribuent à trois effets : 1) potentialiser l'effet de l'insuline sur le stockage et le métabolisme des acides gras libres, 2) induire la production des adipocytokines (Adiponectine, leptine) augmentant la sensibilité des cellules (Muscle et foie) à l'insuline [Kurlawalla-Martinez *et al.*, 2005], 3) diminuer la production des facteurs induisant l'insulinorésistance tels que le TNF α (Tumor necrosis factor alpha) et la résistine [Wagner, 2002].

A coté des thiazolidinediones, le vanadium est connu pour ses vertus antidiabétiques, bien avant la découverte de l'insuline ; c'est un insulino-mimétique [Dey *et al.*, 2002].

Pañeda *et al.* ont montré l'activité insulino-mimétique d'un composé isolé à partir des graines de *Lathyrus sativum*. Ce composé nommé GPI (Glycosyl-phosphatidylinositol) a des propriétés chromatographiques et hydrolytiques similaires à celles du GIP isolé des hépatocytes du rat [Pañeda *et al.*, 2001]. Le GPI est impliqué dans la transduction des signaux de plusieurs hormones par la libération de molécules d'inositolphosphate glycane (IPG) comme second messenger [Bogdanowicz et Pujol, 2001].

Le L-783,281 est un insulino-mimétique d'origine fongique. Il induit l'activation des récepteurs d'insuline à activité tyrosine kinase aboutissant aux effets de l'insuline [Roper *et al.*, 2002 ; Qureshi *et al.*, 2000].

Activité antidiabétique des fractions de l'extrait aqueux brut :

L'extrait aqueux est un mélange complexe dont le principe actif responsable de l'activité antidiabétique peut être soit une molécule soit une combinaison de substances. De ce fait, nous avons procédé au fractionnement afin de cibler la fraction la plus active contenant le moins de composés.

La fraction est dite active quand elle exerce les deux effets positifs ; la régulation de l'hyperglycémie à jeun et l'amélioration de la tolérance orale au glucose (*voir tableau 1, Annexe 1*).

- *Activité antidiabétique de FA1 et FB1 :*

Il ressort des résultats obtenus que FA1 améliore la tolérance orale au glucose et diminue l'hyperglycémie à jeun alors que FB1 agit seulement sur la glycémie à jeun. Nous pouvons, évidemment, constater que FA1 est plus active que FB1.

Pour expliquer les effets bénéfiques de FA1, nous proposons le même mécanisme suggéré pour l'extrait aqueux brut.

Pour FB1, l'effet est observé sur l'hyperglycémie à jeun qui est le résultat d'une production hépatique de glucose par deux phénomènes importants, la néoglucogenèse et la glycogénolyse [Wright *et al.*, 1980]. Il est donc possible que FB1 inhibe ces deux réactions biochimiques aboutissant à la diminution de l'hyperglycémie à jeun. FB1 est une fraction de molécules solubles dans le butanol et peuvent fortement être liposolubles. Cette propriété peut conférer à ces molécules la possibilité de traverser la membrane plasmique des hépatocytes. A l'intérieur des cellules, les molécules peuvent réagir avec les enzymes (inhibition) intervenant dans le métabolisme glucidique (néoglucogenèse et glycogénolyse).

Un autre mécanisme est l'antagonisme du glucagon sur son récepteur conduisant à l'inhibition des effets biologiques de cette hormone hyperglycémiant. Actuellement, les molécules diminuant la vitesse de la libération hépatique du glucose, par des mécanismes moléculaires variables, sont très recherchées [Wagner, 2002].

- *Activité antidiabétique de FA2 et FB2 :*

L'effet de FA2 n'est pas notable et peut être négligé. Cependant, celui de FB2 est noté seulement sur la glycémie à jeun. Cela montre que nous avons pu fractionner FB1 et obtenir une fraction active ; c'est FB2. Celle-ci a reproduit les mêmes effets que FB1. Le mécanisme moléculaire probable est celui supposé pour FB1.

Activité antidiabétique de FAH :

FAH est une fraction issue de FA1. Elle agit positivement sur l'hyperglycémie à jeun et sur la tolérance orale au glucose. Ces effets sont semblables à ceux de FA1. Ces résultats peuvent avoir les mêmes explications proposées pour l'extrait aqueux brut.

Ce résultat est très intéressant et nous a poussé à poursuivre le fractionnement de FAH par le dichlorométhane.

- *Activité antidiabétique de FA3 et FDM :*

FA3 et FDM sont les fractions de FAH dont FDM n'a pas d'effets sur le diabète néanmoins FA3 est la fraction la plus active dans cette étude. Elle améliore la tolérance orale au glucose et diminue, voire normaliser la glycémie à jeun.

Ces effets positifs peuvent avoir tous les éventuels mécanismes proposés précédemment, à savoir : diminution de l'insulinorésistance et l'insulinomimétisme, diminution de la production hépatique du glucose ainsi que la stimulation de la sécrétion d'insuline.

Nous pouvons proposer un autre mécanisme représenté par la prolifération des cellules β . Il est possible que FA3 favorise la prolifération et la régénération des cellules β . En effet, après avoir interrompu le traitement par FA3 pendant une semaine, aucune augmentation de la glycémie à jeun n'a été observée.

En plus des hormones intestinales, GIP et GLP-1, qui stimulent la sécrétion d'insuline, une troisième hormone intestinale, GLP-2 (Glucagon-like peptide 2) est responsable de la prolifération des cellules β pancréatiques [Baggio et Drucker, 2004]. A côté de ce médiateur, une autre hormone gastrique, gastrine, module la croissance des cellules pancréatiques.

L'administration de la gastrine chez le rat traité par l'alloxane induit la régénération des cellules β pancréatiques. Cette hormone augmente la masse des cellules β [Brubaker et Drucker, 2004]. Les molécules présentes dans FA3 peuvent exercer un effet similaire à ces hormones prolifératives.

- *Effet de FA3 sur l'évolution de la glycémie pendant 3 heures :*

Ce test, si simple, vient confirmer le mécanisme proposé où l'extrait (FA3) inhibe la production hépatique de glucose.

- *Effet de FA3 sur l'hyperglycémie provoquée par voie intrapéritonéale :*

Quand le glucose est administré par voie orale, la stimulation de la sécrétion d'insuline est plus importante que par voie parentérale (injectable). Le contact du glucose avec les cellules intestinales provoque la libération des incrétines intestinales (GIP et GLP-1) qui potentialisent l'effet insulinosécrétagogue du glucose [Baggio et Drucker, 2004 ; Wright *et al.*, 1980].

Pour le test de l'hyperglycémie provoquée par voie intrapéritonéale, la fraction FA3 n'a pas corrigé cet état. L'efficacité de FA3 est marquée quand le glucose est administré par voie orale. Cela nous amène à accepter l'hypothèse suggérée plus haut (paragraphe^(*)) et qui suppose que FA3 potentialise les effets des GIP et GLP-1. Par conséquent, une autre hypothèse sera moins acceptée parlant d'insulinomimétisme.

- *Comparaison des effets de FA3 avec ceux du glimépiride :*

Le glimépiride est un sulfamide hypoglycémiant [Derosa et Salvadeo, 2009]. Grâce à ses propriétés pharmacocinétiques et pharmacodynamiques, ce principe actif est administré en monodose journalière [Campbell, 1998]. Il stimule la sécrétion d'insuline en se fixant sur un récepteur spécifique au niveau des cellules β ; c'est le seul sulfamide qui peut s'internaliser à l'intérieur de la cellule [Derosa et Salvadeo, 2009]. Les sulfamides sont, généralement, non prescrits pour les patients souffrant de complications cardio-vasculaires alors que le glimépiride échappe de cette classification où il peut améliorer certaines perturbations aggravant ces complications [Overkamp *et al.*, 2002]. Une autre action du glimépiride est postpancréatique où il potentialise l'effet de l'insuline [Hribal *et al.*, 2001].

Les résultats obtenus montrent que les effets de FA3 sur l'hyperglycémie à jeun et sur la tolérance orale au glucose sont meilleurs que ceux du glimépiride. Cela peut être dû à la dose du glimépiride qui semble insuffisante sachant qu'elle est comprise entre 1 et 8mg/jour chez le patient diabétique.

En résumé :

Nous avons pu obtenir une fraction (FA3) de l'extrait aqueux brut qui est efficace sur le diabète induit chez le rat par la streptozotocine. Le mécanisme par lequel agissent les (la) molécules contenues dans cette fraction reste à rechercher. Trois effets, directs ou indirects, sont possibles : stimulation de la sécrétion d'insuline, potentialisation des effets de l'insuline ou régénération des cellules β .

La fraction FA3 contient plusieurs composés, mucilages, tanins, saponosides, glucosides cardiotoniques, alcaloïdes et acides aminés. L'activité antidiabétique pourrait être attribuée à l'un ou à une combinaison de molécules.

A la fin de ce travail, nous pouvons conclure que *Zygophyllum geslini*, précisément, 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.

La mise en évidence des familles chimiques existant dans cet extrait montre une richesse en plusieurs composés tels que, les saponosides, les mucilages, les tannins, les acides aminés, les glucosides cardiotoniques, les alcaloïdes et les flavonoïdes. Pour cela, le fractionnement de ce mélange qui nous a paru nécessaire nous a permis d'obtenir huit fractions.

La phytochimie des fractions de l'extrait aqueux brut révèle une composition variable. Les mucilages constituent la seule famille de composés présente dans toutes les fractions. De plus, les saponosides, les glucosides cardiotoniques, les acides aminés et les alcaloïdes sont présents dans la majorité des fractions. Néanmoins, les tannins ne sont repérés que dans les premières fractions.

L'activité antidiabétique des fractions obtenues montre que la fraction aqueuse, dite FA3, issue de l'extrait brut après traitement par le butanol suivi de l'heptane et le dichlorométhane est la plus active et reproduit les mêmes effets de l'extrait brut. Nous avons proposé plusieurs mécanismes d'action dont le plus accepté est celui potentialisant les effets des incretines intestinales GIP, GLP-1 et GLP-2. Ces dernières stimulent la sécrétion d'insuline et régénèrent les cellules pancréatiques.

Comme perspective, nous envisageons une purification plus poussée de cette fraction afin de cibler la ou les molécules actives vis-à-vis le diabète sucré dans le but de les classer parmi les principes actifs antidiabétiques. Par la suite, le ou les mécanismes d'action seront recherchés et les éventuels effets secondaires seront évalués.

A coté des effets positifs de FA3, d'autres fractions ont montré un effet non négligeable sur le diabète et peuvent être testées d'une autre manière en variant certains paramètres tels que la dose administrée aux rats. D'autre part, une purification de ces fractions s'avèrerait indispensable.

- Anonyme 1 : Allain P. Les médicaments. 3ème Edition. Mise à jour Aout 2008 : <http://www.pharmacorama.com/privacy.php>
- Abletshauser C., Brunel P., Usadel KH., Hanefeld M. Effect of nateglinide and glimepiride in reducing postprandial hyperglycaemia in patients with type 2 diabetes mellitus. *The British Journal of Diabetes and Vascular Disease*. 2005 ; 5(2) :93-99.
- AFNOR. Recueil de normes françaises. Méthodes d'analyses françaises et communautaires. Aliments des animaux. Dosage de la teneur en eau. Paris. 1990.
- AFNOR. Recueil de norms françaises. Méthodes d'analyses françaises et communautaires. Aliments des animaux. Dosage de la teneur en protéines. Paris. 1977.
- Aharonson Z, Shani J Mishkinsky, Sulman FG. Hypoglycaemic effect of the salt bush (*Atriplex halimus*) - a Feeding source of the sand rat (*Psammomys obesus*). *Diabetologia*. 1969; 5: 379-383.
- Ahmad VU., Uddin GS., Ali MS. Saponins from *Zygophyllum propinquum*. *Phytochemistry*. 1993 ; 33 (2) : 453-455.
- Al-Achi A. Herbs that affect blood glucose levels. *Women's Health in Primary Care*. 2005; 8(7): 325-330.
- Anderson E., Lowe H. The composition of flaxseed mucilage. *J Bio Chem*. 1947 ; 289-297.
- Anderson T, Schein PS, McMenamin MG, Cooney DA. Streptozotocin Diabetes: Correlation with extent of depression of pancreatic islet nicotinamide adenine dinucleotide. *Journal of clinical investigation*. 1974; 54:672-677.
- Anderson T., Schein PS., McMenamin MG., Cooney DA. Streptozotocin Diabetes: Correlation with extent of depression of pancreatic islet nicotinamide adenine dinucleotide. *Journal of clinical investigation*. 1974; 54:672-677.
- Ankur R., Shahjad A. Alloxan induced diabetes : mechanism and effects. *International journal of research in pharmaceutical and biomedical sciences*. 2012; 3(2) :819-823.
- Aquino R., Tortora S., Fkih-Tetouani S., Capasso A. Saponins from the roots of *Zygophyllum gaetulum* and their effects on electrically-stimulated guinea-pig ileum. *Phytochemistry*. 2001; 56 :393-398.
- Attele AS., Zhou YP., Xie JT., Wu JA., Zhang I., Dey., Pugh W., Rue PA., Polonsky KS., Yuan CS. Antidiabetic effects of *Panax ginseng* berry extract and the identification of an effective component. *Diabetes*. 2002; 51: 1851-1858.
- Aughstee AA. An ultrastructural study on the effect of streptozotocin on the islets of Langerhans in mice. *J of Electron Microscopy*. 2000; 49(5):681-690.
- Baba Aïssa F. Encyclopédie des plantes utiles. Flore d'Algérie et du Maghreb. Ed. *Librairie Moderne-Rouiba* (1999). Alger.

- Babu V, Gangadevi T, Subramoniam A. Antidiabetic activity of ethanol extract of *Cassia klainii* leaf in streptozotocin induced diabetic rats and isolation of an active fraction and toxicity evaluation of the extract. *Indian Journal of Pharmacology*. 2003; 35:290-296.
- Baggio LL., Drucker DJ. Glucagon-like paptide-1 and glucagon-like peptide-2. Best practice and research clinical endocrinology and metabolism. 2004; 18 (4):531-554.
- Banerjee SK., Maulik SK. Effect of garlic on cardiovascular disorders : a review. *Nutrition journal*. 2002; 1: 4-14.
- Benmehdi H. valorisation de certaines plantes médicinales à activité hypoglycémiante comme la coloquinte. Mémoire en chimie (Magistère) Tlemcen. 2000.
- Bloomgarden ZT. Glycemic treatment, Control of glycemia. *Diabetes care*. 2004 ; 27(5) :1227-1234.
- Bnouham M., Mekhfi H., Legssyer A., Ziyat A.. Ethnopharmacology Forum Medicinal plants used in the treatment of diabetes in Morocco. *Int J Diabetes & Metabolism*. 2002 ; 10:33-50.
- Bogdanowicz P., Pujol JP. Rôle des inositolphosphates glycanes dans la signalisation intracellulaire : relations avec la pathologie. *Médecine et sciences*. 2001 ; 17 :577-587.
- Bourin M., Jolliet P. Pharmacologie générale et pratique. Edition Ellipses.1999.
- Broca C, Gross R, Petit P, Sauvaire Y, Manteghetti M, Tournier M, et al. 4-Hydroxyisoleucine: experimental evidence of its insulinotropic and antidiabetic properties. *Am J Physiol*. 1999; 277(4 Pt 1):E617-623.
- Brubaker PL., Drucker DJ. Minireview : Glucagon-Like peptides regulate cell proliferation and apoptosis in the pancreas, gut, and central nervous system. *Endocrinology*. 2004 ; 145 (6) :2653-2659.
- Bruneton J. Pharmacognosie, Phytochime, Plantes médicinales. *Ed TEC et DOC, 3^{ème} édition*. 1999.
- Buyschaert M, Vandeleene B, Parus I, Hermans MP. Le diabète sucré d'une réalité d'aujourd'hui à un défi de demain. *Louvain Med*. 1999; 118 : S189-S195.
- Calapai G, Corica F, Corsonello A, Sautebin L, Di Rosa M, Campo GM, Buemi M, Mauro VN, Caputi AP. Leptin increases serotonin turnover by inhibition of brain nitric oxide synthesis. *J. Clin. Invest*. 1999; 104:975-982.
- Campbell RK. Glimepiride: role of a new sulfonylurea in the treatment of type 2 diabetes mellitus. *Ann Pharmacother*. 1998 ; 32(10) : 1044-1052.
- Charbonnel B, Cariou B. Diabète non insulino-dépendant: indications thérapeutiques. *Médecine thérapeutique*. 1997 ; 3 : 103-111.
- Chatzigeorgiou A., Halapas A., Kalafatakis K., Kamper E. The Use of Animal Models in the Study of Diabetes Mellitus. *In vivo*. 2009 ; 23: 245-258.

- Chen V, Ianuzza CD. Dosage effect of streptozotocin on rat tissue enzyme activities and glycogen concentration. *Can J Physiol Pharmacol.* 1981; 60: 1251-1256.
- Choudhary R. Beneficial effect of *Allium sativum* and *Allium tuberosum* on experimental hyperlipidemia and atherosclerosis. *Pak J Physiol.* 2008; 4(2): 7-9.
- Claisse-Dauchy R. Médecine traditionnelle du Maghreb. 1996.
- Clifford SC., Arndt SK., Popp M., Jones HG. Mucilages and polysaccharides in *Ziziphus* species (Rhamnaceae): localization, composition and physiological roles during drought-stress. *J Exp Bot.* 2002 ; 53(366):131-138.
- Cohen Y., Jacquot C. Pharmacologie. Edition Masson. 2008.
- Crouch R, Kimsey G, Priest DG, Sarda A, Buse MG. Effect of streptozotocin on erythrocyte and retinal superoxide dismutase. *Diabetologia.* 1978; 15:53-57.
- Damiens B. Diabète et nutrition. Edition Vigot. Paris. 1985.
- Darnaud CJ. Que je sais : le diabète. 10^{ème} Edition Presse universitaire de France. Paris. 1999.
- Davidoff AJ, Davidson MB, Carmody MW, Davis ME, Ren J. Diabetic cardiomyocyte dysfunction and myocyte insulin resistance: role of glucose-induced PKC activity. *Molecular and Cellular Biochemistry.* 2004; 262:155-163.
- Derosa G., Salvadeo SAT.. Glimepiride- pioglitazone Hydrochloride in the Treatment of Type 2 Diabetes. *Clinical Medicine: Therapeutics.* 2009; 1: 835–845.
- Dey lucey MD, Anoja S, Attele DDS, Chun-Su Yuan MD. Alternative therapies for type 2 diabetes. *Alternative medicine Review.* 2002; 7(1): 45-58.
- Dirckx JH. The Honeyed Siphon: Diabetes Mellitus Past, Present and Future. *Perspectives Fall.* 1998; 35-41.
- Domart A., Bourneuf J. Nouveau Larousse des plantes médicinales. Librairie Larousse. Paris. 1988.
- Drouin P, Buckle JF, Charbonnel B, Eschwege E, Guillausseau PJ, Plauin PF, Daninos JM, Balarac N, Sauvanet JP. Diagnostic et classification du diabète sucré : les nouvelles critères. *Diabète et métabolisme.*1999; 25 :72-83.
- Dubois M., Gille KA., Hamilton JD. Colorometric methods for determination of sugars and related substances. *Anal Chem.* 1956 ; 28 :350-356.
- Ducros V, Favier A. Métabolisme du sélénium. EMC-Endocrinologie. 2004; 1(1) : 19-28.
- Dupin H. Alimentation et nutrition humaine. Edition Esf. 1992, p62.

- Eddouks M, Maghrani A, Lemhadri M, Ouahidi M.-L, Jouad H. Ethnopharmacological survey of medicinal plants used for the treatment of diabetes mellitus, hypertension and cardiac diseases in the south-east of Morocco (Tafilalet). *J of Ethnopharmacology*. 2002; 82:97-103.
- Eddouks M., Chattopadhyay D., Zeggwagh NA. Animal Models as Tools to Investigate Antidiabetic and Anti-Inflammatory Plants. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2012 ; Article ID 142087 doi:10.1155/2012/142087, 14 pages.
- Edeoga HO, Okwu DE, Mbaebie BO. Phytochemical constituents of some Nigerian medicinal plants. *African Journal of Biotechnology*. 2005; 4(7): 685-688.
- Eidi A., Eidi M., Esmaeili E. Antidiabetic effect of garlic (*Allium sativum* L.) in normal and streptozotocin-induced diabetic rats. *Phytomedicine*. 2006; 13: 624-629.
- El-Demerdash FM., Yousef MI., Abou El-Naga NI. Biochemical study on the hypoglycemic effects of onion and garlic in alloxan-induced diabetic rats. *Food and Chemical Toxicology*. 2005 ; 43 :57-63.
- Elgamal HA., Shaker KH., Pöllmann K., Seifert K. Triterpenoids from *Zygophyllum* species. *Phytochemistry*. 1995 ;40(4) :1233-1236.
- Eshrat HM. Hypoglycaemic, hypolipidemic and antioxidant properties of combination of *curcumin* from *Curcuma longa* Linn. And partially purified product from *Abroma augusta* inn. in streptozotocin induced diabetes. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*. 2002; 17(2): 33-43.
- Etuk EU. Animals models for studying diabetes mellitus. *Agri Biol J.N.Am*. 2010; 1(2): 130-134.
- Evans GW, Bowman TD. Chromium Picolinate Increases Membrane Fluidity and rate of Insulin Internalization. *J of Inorganic Biochemistry*. 1992; 46: 243-250.
- Eyo JE., Ozougwu JC., Echi PC. Hypoglycaemic effects of *Allium cepa*, *Allium sativum* and *Zingiber officinale* aqueous extracts on alloxan-induced diabetic *Rattus norvegicus*. *Medicinal journal of islamic world academy of sciences*. 2011; 19(3): 121-126.
- FID. Atlas du diabète de la FID. Cinquième édition. 2012.
- Gandy SE, Buse MG, Crouch RK. Protective role of superoxide dismutase against diabetogenic drugs. *America society for clinical investigation*. 1982; 70: 650-658.
- Ganong W. Physiologie médicale. Ed Boecha Université, Paris. 2005, p330.
- Garau C., Cummings E., David AP., Singh J. Beneficial effect and mechanism of action of *Momordica charantia* in the treatment of diabetes mellitus : a mini review. *Int J Diabetes and metabolism*. 2003; 11: 46-55.
- Gautier JF. L'activité physique comme moyen de traitement du diabète de type 2 : le rationnel. *Annales d'Endocrinologie*. 2004 ; 65(1) : 44-51.

- Ghanem ME., Han RM., Classen B., Quetin-Leclercq J., Mahy G., Ruan CJ, Qin P., Pérez-Alfocea F., Lutts S. Mucilage and polysaccharides in the halophyte plants species *Kosteletzkya virginica*: Localization and composition in relation to salt stress. *Journal of Plant Physiology*. 2010 ;167 : 382-392.
- Gin H et Rigalleau V. Diabétiques et diabète. *EMC- Endocrinology nutrition*. 1999; 10-366-R-10: 6p.
- Goto Y., Kakizaki M. Masaki N. Spontaneous diabetes produced by selective breeding of normal Wistar rats. *Proc Jpn Acad*. 1975; 51: 80-85.
- Grimaldi A., Hartemann-Heurtier A., Halbron M., Sachon C. Guide pratique du diabète. Edition Masson, 2009.
- Guerci B, Bohme P, Kearney-Schwartz A, Zannad F, Drouin P. Endothelial dysfunction and type 2 diabetes. *Diabetes Metab*. 2001; 27: 436-447.
- Guillausseau PJ. Vivre et comprendre : le diabète de type 2. Ellipses Edition Marketing. Paris. 2003.
- Hajimehdipour H, Sadat-Ebrahimi SE, Amanzadeh Y, Izaddoost M, Givi E. Identification and quantitative determination of 4-Hydroxyisoleucine in *Trigonella foenumgraecum* L. *Iran. J. Medicinal Plants*. 2010; 9 (6): 29-34.
- Halimi JM., Joly D., Choukroun G., Combe C., Dussol B., Fauvel JP., Quere S., Fiquet B. Quel est le profil des patients diabétiques de type 2 suivis en Néphrologie recevant un double blocage du système rénine angiotensine ? *Néphrologie & Thérapeutique*. 2011 ; 7(5) :372-373.
- Harbone JB. Phytochemical Methods, a guide to modern techniques of plant analysis. Ed Chapman et Hall, 3^{ème} Edition. 1998.
- Hassanean HH., Desoky EK., A. El-Hamouly MM. Quinovic acid glycosides from *Zygophyllum album*. *Phytochemistry*. 1993 ; 33 (3) : 663-666.
- Hazelwood RL., Hazelwood BS. Influence of alloxan diabetes on growth hormone content of the rat hypophysis. *AJP*. 1964; 206(5) :1137-1144.
- Hermans MP. Diabète de type 2 et adaptation thérapeutique. *Louvain Med*. 1998; 118 : S2-S8.
- Horowitz M., Samson M. Gastrointestinal function in diabetes mellitus. Ed Wiley. 2004, p66.
- Hribal ML., D'Alfonso R., Giovannone B., Lauro D., Liu YY., Borboni P., Federici M., Lauro R., Sesti G. The sulfonylurea glimepiride regulates intracellular routing of the insulin-receptor complexes through their interaction with specific protein kinase C isoforms. *Mol Pharmacol*. 2001 ; 59(2):322–330.

- Huang DJ, Lin CD, Chen HJ, Lin YH. Antioxidant and antiproliferative activities of sweet potato (*Ipomoea batatas* [L.] Lam 'Tainong 57') constituents. *Bot. Bull. Acad. Sin.* 2004; 45: 179-186.
- Ikram MA. A review on chemical and medicinal aspects of *Allium cepa*. *Pak J Sci Ind Res.* 1971; 14(5): 395-398.
- Jaouhari JT, Lazrek HB, Jana M. the hypoglycaemic activity of *Zygophyllum gaetulum* extracts in alloxan-induced hyperglycaemic rat. *J of Ethnopharmacolog.* 2000; 69:17-20.
- Jaouhari JT, Lazrek HB, Seddik A, Jana M. hypoglycaemic response to *Zygophyllum gaetulum* extracts in patients with Non-Insulino-Dependent Diabetes Mellitus. *J of Ethnopharmacology.* 1999; 64:211-217.
- Jarrin M., Sánchez H., Fernández P., García-Layana A., López M. Streptozotocin Induced Diabetes in Wistar Rat: Is it a Good Model of Diabetic Retinopathy?. *Invest Ophthalmol.* 2002;43: E-Abstract 1334.
- Jaspreet V, Sivakami S, Shahani S, Sulhar AC, Banavalikar MM, Biyani MK. Antihyperglycemic effect of three extracts from *Momordica charantia*. *J of ethnopharmacology.* 2003; 88: 107-111.
- Jouad H, Haloui M, Rhiouani H, El Hilaly J, Eddouks M. ethnobotanical survey of medicinal plants used for the treatment of diabetes, cardiac and renal diseases in the north centre region of Morocco (Fez-Boulemane). *J of Ethnopharmacology.* 2001; 77: 175-182.
- Jung M., Park M., Lee HC., Kang YH., Kang ES., Kim SK. Antidiabetic Agents from Medicinal Plants. *Current Medicinal Chemistry.* 2006 ; 13 : 1203-1218.
- Jung M., Park M., Lee HC., Kang YH., Kang ES., Kim SK. Antidiabetic agents from medicinal plants. *Current medicinal chemistry.* 2006; 13: 1203-1218.
- Junod A, Lambert AE, Stauffacher W, Renold AE. Diabetogenic action of streptozotocin: relationship of dose to metabolic response. *J of Clinical Investigation.* 1969; 48:2129-2139.
- Kadowaki T, Kasaga M, Akamuma Y, Ezaki O, Takaku F. Decreased autophosphorylation of the insulin receptor kinase in streptozotocin diabetic rats. *J Biol Chem.* 1984 ; 259: 14208-14216.
- Karumi Y, Onyeyili PA, Ogugbuaja VO. Identification of active principles of *M. balsamina* (Balsam Apple) leaf extract. *J Med Sci.* 2004; 4(3):179-182.
- Keen H., Jarrett RJ. The uses of biguanides in diabetes mellitus. *Postgrad. med. J.* 1968; 44: 466-471.
- Keller AC., Ma J., Kavalier A., He K., Brillantes AM., Kennelly EJ. Saponins from the traditional medicinal plant *Momordica charantia* stimulate insulin secretion in vitro. *Phytomedicine.* 2011; 19(1): 32-37.

- Khaki A., Fathiazad F., Ahmadi-Ashtiani HR., Rezazadeh SH., Rastegar H., Imani AM. Compartments of quercetin et *Allium cepa* (onion) on blood glucose in diabetic rats. *Journal of medicinal plants*. 2010; 9(6): 107-112.
- Khatibi R. comparison the potency of *Allium sativum* and *Allium tuberosum* against Atherosclerosis. *Journal of agricultural science*. 2011; 3(4): 211-214.
- Kim SH., Jo SH., Kwon YI., Hwang JK. Effects of onion (*Allium cepa* L.) extract administration on intestinal α -glucosidases activities and spikes in postprandial blood glucose levels in SD rats model. *Int J Mol Sci*. 2011; 12: 3757-3769.
- Kintz P. Toxicologie et pharmacologie médicolégales. Edition Elsevier-Masson. 1998.
- Kumar GS., Shetty AK., Salimath PV. Modulatory effect of fenugreek seed mucilage and spent turmeric on intestinal and renal disaccharidases in streptozotocin induced diabetic rats. *Plant Foods Hum Nutr*. 2005 ; 60(2) :87-91.
- Kumari K., Mathew BC., Augusti KT. Antidiabetic and hypolipidaemic effects of S-methyl cysteine sulfoxide isolated from *Allium cepa* L. *Indian J Biochem. Biophys*. 1995; 32: 49-54.
- Kurlawalla-Martinez C., Stiles B., Wang Y., Devaskar SU., Kahn BB., Wu H. Insulin hypersensitivity and resistance to streptozotocin-induced diabetes in mice lacking PTEN in adipose tissue. *Molecular and cellular biology*. 2005 ; 25 (6) :2498-2510.
- Lacaille-Dubois MA. Et Wagner H. A review of the biological and pharmacological activities of saponins. *Phytomedicine*. 1996 ; 2(4) :363-386.
- Laroche MJ., Rousselet E. les animaux de laboratoire : Ethique et bonnes pratiques. Edition Masson, 1990.
- Larousse. Encyclopédie des plantes médicinales : identification, préparation et soins. 2^{ème} Edition, Edition Larousse. Paris. 2001.
- Leatherdale BA, Panesar RK, Singh G, Atkins TW, Bailey CJ, Bignell AH. Improvement in glucose tolerance due to *Momordica charantia* (karela). *Br Med J*. 1981; 282 (6279):1823-1824.
- Lenzen S., Freytag S., Panten U. Inhibition of glucokinase by alloxan through interaction with SH groups in the sugar-binding site of the enzyme. *Mol Pharmacol*. 1988; 34:395-400.
- Leutenegger M. le généraliste et le diabétique non-insulinodépendant. Edition Frison Roche. Paris. 1996.
- Lüllmann H., Mohr K., Zeigler A. Atlas de poche de pharmacologie. 2^{ème} édition Médecine-Sciences, Flammarion. 1998.
- Mahesar H., Bhutto MA., Khand AA., Narejo NT. Garlic used as an alternative medicine to control diabetic mellitus in alloxan-induced male rabbits. *Pak J Physiol*. 2010; 6(1) :39

- Mahmoud AMS., Naglaa HMH., Mona HA. Hypoglycemic Effects of Taro Mucilage on Streptozotocine-Induced Diabetic Rats. *J.Biol.chem.Environ.sci.* 2008 ; 3 :1-17.
- Malher RJ., Alder ML. Type 2 Diabetes mellitus : update on diagnosis, pathophysiology, and treatment. *Journal of clinical endocrinology and metabolism.* 1998 ; 84 (4) :1165-1171.
- Marles RJ, Farnsworth NR. Plants as sources of antidiabetic agents. *Econ Med Plant Res.* 1994; 6:149-187.
- Marquie G, Duhault J, Espinal J, Petkov P, Jablenska R, Khallayoun S, Bennani N. S15261, a novel agent for the treatment of insulin resistance. Studies on *Psammomys obesus*. Effect on pancreatic islets of insulin resistant animals. *Cell Mol Biol.* 1997 ; 43:243-251.
- Martha T., Zainab MA., Khaled KA., Lemia HS., Muslim A. Antidiabetic and hypolipidaemic properties of garlic (*Allium sativum*) in streptozotocin-induced diabetic rats. *Int J Diabetes and Metabolism.* 2007; 15:108-115.
- Martin LP., Larry GB. Rapid visual estimation and spectrophotometric determination of tannin content of Sorghum grain. *J Agri Food Chem.* 1977; 25(6) :
- Mathew PT., Augusti KT. Hypoglycaemic effects of onion, *Allium cepa* L. on diabetes mellitus. A preliminary report. *Indian J Physio Pharmacol.* 1975; 19(4): 212-217.
- Mathieu MJ., Fonteneau MJ. Le manuel porphyre du préparateur en pharmacie. Edition Porphyre. 2008.
- Medjdoub H. Etude phytochimique et activités biologiques de *Zygophyllum geslini* Coss. Mémoire de magistère, Université de Tlemcen. 2006.
- Ménat E. Diététique du Diabète, la solution est dans votre assiette. Edition Alpen, 2005.
- Metaxatos A., Panagiotopoulos C., Ignatiades L. Monosaccharide and aminoacid composition of mucilage material produced from a mixture of four phytoplanktonic taxa. *Journal of experimental marine biology and ecology.* 2003 ; 294 (2) :203-217.
- Molyneux P. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakar J. Sci. Technol.* 2004; 26(2): 211-219.
- Mordes JP, Bortell R, Blankenhorn EP, Rossini AA, Greiner DL. Rat models of type 1 diabetes: Genetics, environment, and autoimmunity. *ILAR J.* 2004 ; 45:278-291.
- Mosbah H., Andreelli F. Physiologie de la sécrétion d'insuline. *Médecine des Maladies Métaboliques.* 2012 ; 6 (3) : 215-219.
- Niknam V., Salehi lissar Y. Chemical composition of *astragalus*: Carbohydrates and mucilage content. *Pak. J.bot.* 2004 ; 36(2): 381-388.
- Nowitz T., Bottet J. Encyclopédie des plantes médicinales : identification, préparation, soins. Edition Larousse. 2000.

- OMS. Stratégie de l'OMS pour la médecine traditionnelle pour 2002-2005. WHO /EDM /TRM /2002.1.
- Overkamp D., Volk A., Maerker E., Heide PE., Wahl HG., Rett K., Häring HU. Acute effect of glimepiride on insulin-stimulated glucose metabolism in glucose-tolerant insulin-resistant offspring of patients with type 2 diabetes. *Diabetes care*. 2002. 25(11):2065–2073.
- Ozenda P. Flore du Sahara. 2^{ème} édition (Ed du Centre National de la Recherche scientifique). Paris.1977. 318-320.
- Ozougwu JC. Antidiabetic effects of *Allium cepa* (onions) aqueous extracts on alloxan-induced diabetic *rattus norvegicus*. *Journal of medicinal plants research*. 2011;5(7): 1134-1139.
- Pañeda C., Villar AV., Alonso A., Goñi FM., Varela F., Brodbeck U., León Y., Varela-Nieto I., Jones DR. Purification and characterization of insulin-mimetic inositol phosphoglycan-like molecules from Grass Pea (*Lathyrus sativum*) seeds. *Molecular medicine*. 2001; 7(7): 454-460.
- Paul A, Raychaudhuri SS. Medicinal uses and molecular identification of two *Momordica charantia* Varieties-a review. *Electronic Journal of Biology*. 2010 ; 6(2): 43-51.
- Perez CMM, Paris R. Sur une nouvelle plante hypoglycémiant, le *Zygophyllum cornutum* Cosson. Mémoire présenté à l'Académie de Pharmacie. Paris ; 1958.
- Perlemuter G. Endocrinologie : Diabétologie Nutrition. Edition ESTE. 1994.
- Pincemail J, Meurisse M, Limet R, Defraigne JO. L'évaluation du stress oxydatif d'un individu : une réalité pour le médecin. *Vaisseaux, Cœur, Poumons*.1999; 4(5)
- Portha B. Anomalies programmées de la sécrétion d'insuline dans le diabète de type 2 : le paradigme du rat GK. *Médecine et Sciences*. 2003; 19: 847-857.
- Pousset JL. Plantes médicinales africaines. Edition Ellipses. 1989.
- Povoski SP, McCullough PJ, Zhou W, Bell RH. Induction of diabetes mellitus in Syrian Golden Hamster using stored equilibrium solutions of streptozotocin. *American association for laboratory animal science*. 1993; 43(4):310-314.
- Punitha ISR, Rajendran K, Shirwaikar A, Shirwaikar A. Alcoholic stem extract of *Coscinium fenestratum* regulates carbohydrate metabolism and improves antioxidant status in streptozotocin-nicotinamide induced diabetic rats. *eCAM*. 2005; 2(3): 375-381.
- Qureshi SA., Ding V., Li Z., Szalkowski D., Biazzo-Ashnault DE., Xie D., Saperstein R., Brady E., Huskey S., Shen X., Liu K., Xu L., Salituro GM., Heck JV., Moller DE., Jones AB., Zang BB. Activation of insulin signal transduction pathway and antidiabetic activity of small molecule insulin receptor activators. *The journal of biological chemistry*. 2000 ; 275 (47) :36590-36595.
- Raccah D. Epidémiologie et physiopathologie des complications dégénératives du diabète sucré. *EMC-Endocrinologie*. 2004; 1(1) : 29-42.

- Rajasekaran S, Sivagnanam K, Subramaniam S. Antioxidant effect of *Aloe vera* gel extract in streptozotocin-induced diabetes in rats. *Pharmacological Reports*. 2005; 57: 90-96.
- Raju J. Alleviation of hepatic steatosis accompanied by modulation of plasma and liver TNF-alpha levels by *Trigonella foenum graecum* (fenugreek) seeds in Zucker obese (fa/fa) rats. *Int J Obes*. 2006;30(8):1298-1307.
- Rizwan AM., Rafeeq AK., Imran A. Effects of garlic on blood glucose levels and HbA1c in patients with type 2 diabetes mellitus. *Journal of medicinal plants research*. 2011; 5(13): 2922-2928.
- Robbins MJ, Sharp RA, Slonim AE, Burr IM. Protection against streptozotocin-induced diabetes by superoxide dismutase. *Diabetologia*. 1980; 18:55-58.
- Roper MG., Qian WJ., Zhang BB., Kulkarni RN., Kahn R., Kennedy RT. Effect of the insulin mimetic L-783,281 on intracellular [Ca²⁺] and insulin secretion from pancreatic β -cells. *Diabetes*. 2002 ; 51(1) :S43-S49.
- Salgarolo P. Pratique des manipulations de chimie. Edition Tec et Doc. Paris. 2003.
- Sánchez-Moreno C, Larrauri JA, Saura-Calixto F. A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. *J Sci Food Agric*. 1998; 76:270-276.
- Saudon EM. Harmanu. Editeur des Sciences et des arts. Paris 2003.
- Shafrir E., Ziv E., Kalman R. Nutritionally Induced Diabetes in Desert Rodents as Models of Type 2 Diabetes: *Acomys cahirinus* (Spiny Mice) and *Psammomys obesus* (Desert Gerbil). *ILAR Journal*. 2006 ; 47(3): 212-224.
- Shafrir E., Renold A. Memorial Lecture: Molecular background of nutritionally induced insulin resistance leading to type 2 diabetes from animal models to humans. *Int J Exp Diab Res*. 2001 ; 2:299-319.
- Shane-McWhorter L. American Diabetes Association Guide to Herbs and Nutritional Supplements. *American Diabetes Association*, 2009.
- Slama G. Prise en charge du diabétique non insulino-dépendant. Edition John Libbey Eurotext. Paris. 2000.
- Smati D, Longeon A, Guyot M. 3 β -(3, 4-Dihydroxycinnamoyl)-erythrodiol, a cytotoxic constituent of *Zygophyllum geslini* collected in the Algerian Sahara. *J of Ethnopharmacology*. 2004; 95: 405-407.
- Srinivasan K., Ramarao P. Animal models in type 2 diabetes research: An overview. *Indian J Med Res*. 2007 ; 125 :451-472.
- Stora D. Pharmacologie, bonne pratique. 3^{ème} Edition Prophyle-Malmaison. 2007.
- Sukandar EY., Permana H., Adnyana IK., Sigit JI., Ilyas RA., Hasimun P. Mardiyah D. Clinical study of turmeric (*Curcuma longa* L.) and garlic (*Allium sativum* L.) extracts as

antihyperglycemic and antihyperlipidemic agent in type 2 diabetes dyslipidemia patients. *International journal of pharmacology*. 2010; 6(4): 456-463.

- Szkudelski T, Szkudelska K. Streptozotocin induces lipolysis in rat adipocytes in vitro. *Phys Res*. 2002; 51:255-259.
- Szkudelski T. The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rats pancreas. *Physiol Res*. 2001; 50:536-546.
- Teuscher E., Anton R., Lobstein A. *Plantes aromatiques : épices, condiments, aromates et huiles essentielles*. Edition Tec et Doc. Paris. 2005.
- Thompson KH, Godin DV. Micronutrients and antioxidants in the progression of diabetes. *Nutrition Research*. 1995; 15(9): 1377-1410.
- Thulé PM. Mechanisms of current therapies for diabetes mellitus type 2. *Adv Physiol Educ*. 2012 ; 36: 275-283.
- Toutou Y. *Pharmacologie*. 2007. Ed Masson, 11^{ème} édition.
- Trinder P. determination of glucose in blood using glucose oxidase with an alternative oxygen receptor. *Ann Clin Biochem*. 1969; 6: 24-27.
- Uemura T, Goto T, Kang MS, Mizoguchi N, Hirai S, Lee JY, Nakano Y, Shono J, Hoshino S, Taketani K, Tsuge N, Narukami T, Makishima M, Takahashi N, Kawada T.. Diosgenin, the main aglycon of fenugreek, inhibits LXR α activity in HepG2 cells and decreases plasma and hepatic triglycerides in obese diabetic mice. *J Nutr*. (2011).
- Vaubourdolle M. *Médicaments*. Edition Wolters Kluwer SA. Paris. 2007.
- Verdrager J. *Ces médicaments qui ne nous viennent des plantes ou les plantes médicinales dans le traitement modernes*. Edition Maloine SA. Paris. 1978.
- Vogel HG, Vogel WH. *Drug discovery and evaluation; Pharmacological assays*. Heidelberg, Berlin: Springer-Verlag; 1997.
- Vuksan V., Sievenpiper JL., Wong J., Xu Z., Beljan-Zdravkovic U., Arnason JT., Assinewe V., Stavro MP., Jenkins AL., Leiter LA., Francic T. American ginseng (*Panax quinquefolius* L.) attenuates postprandial glycemia in a time-dependent but not dose-dependent manner in healthy individuals. *Am J Clin Nutr*. 2001; 73: 753-758.
- Wagner JA. Early clinical development of pharmaceuticals for type 2 diabetes mellitus: from preclinical models to human investigation. *The journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2002 ; 87(12) :5362-5366.
- Wang BX., Zhou QL., Yang M., Wang Y., Cui ZY., Liu YQ., Ikerjima T. Hypoglycemic activity of ginseng glycopeptide. *Acta Pharmaco Sin*. 2003; 24(1): 50-54.
- Wang YH, Avula B, Liu Y, Khan IA. Determination and quantitation of five cucurbitane triterpenoids in *Momordica charantia* by reversed-phase high-performance liquid

chromatography with evaporative light scattering detection. *J Chromatograph Sci.* 2008 ; 46:133-136.

- Watkins D., Cooperstein SJ., Lazarow A. Effect of alloxan on permeability of pancreatic islet tissue in vitro. 1964
- Wichtl M., Anton R. Plantes thérapeutiques. Edition Tec et Doc, 2003.
- Woolfe ML., Chaplid MF., Otchere G. Studies on the Mucilages Extracted from Okra Fruits (*Hibiscus esculentus* L.) and Baobab Leaves (*Adansonia digitata* L.). *J. Sci. Fd Agric.* 1917 ; 28 :519-529.
- Wright S., Keele CA., Neil E. Physiologie appliquée à la médecine. 2^{ème} Edition Flammarion-Sciences, Paris. 1980.
- Xie JT., Mehendale S., Yuan CS. Ginseng and diabetes. *The american journal of chinese medicine.* 2005; 33(3): 397-404.
- Xue WL., Li XS., Zhang J., Liu YH., Wang ZL., Zhang RJ. Effect of *Trigonella foenum-graecum* (fenugreek) extract on blood glucose, blood lipid and hemorheological properties in streptozotocin-induced diabetic rats. *Asia Pac J Clin Nutr.* 2007;16 (1): 422-426.
- Yang C., Li H., Wang Z., Zhang W., Zhou K., Meng J., Zhao Y., Pan J., Lv X., Liang H., Jiang X. Glycated albumin is a potential diagnostic tool for diabetes mellitus. *Clinical Medicine.* 2012; 12 (6):568–571.

Annexe 1 : résultats de l'extrait aqueux brut de *Zygodphyllum geslini*

Tableau 1 : résultat résumant les effets des fractions de EAB sur la glycémie à jeun et la tolérance orale au glucose

<i>Effet sur</i> <i>Fraction</i>	Glycémie à jeun	Tolérance orale au glucose
FA1 (300mg/kg)	+	+
FB1 (200mg/kg)	+	-
FA2 (75mg/kg)	-	-
FB2 (100mg/kg)	+	-
FAH (200mg/kg)	+	+
FH (20mg/kg)	Effet négatif avec toxicité (résultat non montré)	
FA3 (100mg/kg)	+	+
FDM (50mg/kg)	-	-

+ : effet positif

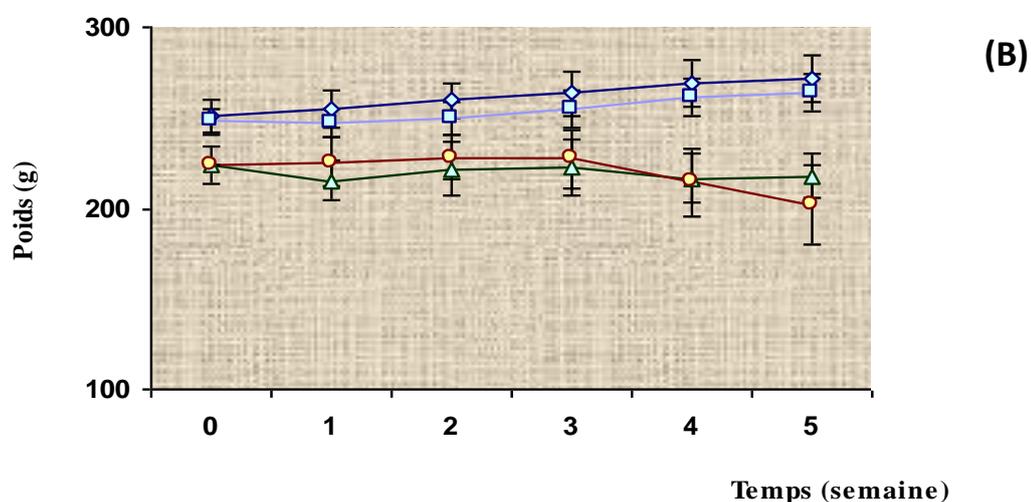
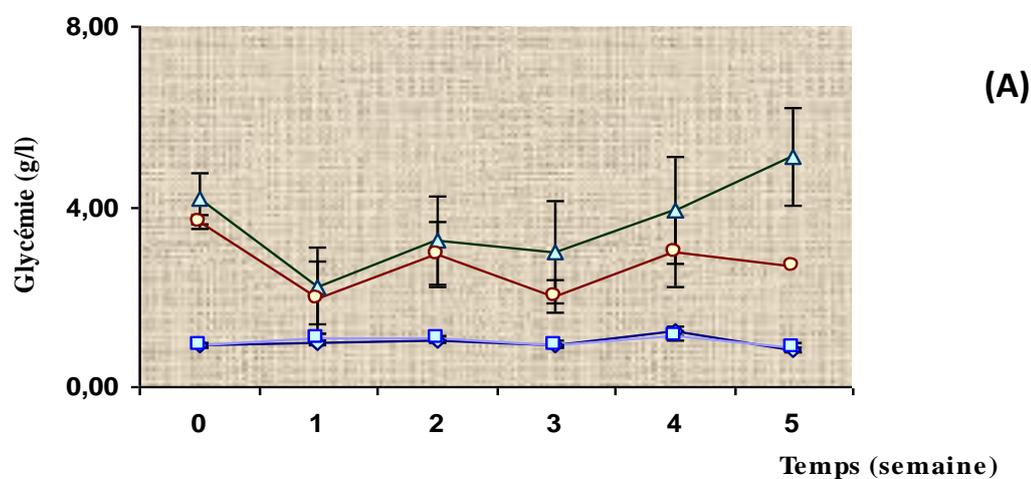
- : pas d'effet

Annexe 1 : résultats de l'extrait éthanolique brut de *Zygophyllum geslini*

Toxicité de l'extrait éthanolique :

Sept doses de l'extrait éthanolique ont été testées sur des lots de 4 rats. Les doses sont : 0,45 ; 0,9 ; 1 ; 11 ; 12 ; 15 ; et 19 g/kg administrées par voie orale. D'après les résultats obtenus, aucune toxicité n'a été remarquée.

Evolution de la glycémie pendant les 5 semaines :



—◇— Normaux témoins —□— Normaux traités —△— Diabétiques témoins —○— Diabétiques traités

Figure 01 : Evolution de la glycémie (A) et du poids (B) des rats normaux et diabétiques traités et témoins durant les cinq semaines de traitement par 500 mg/kg d'extrait éthanolique.

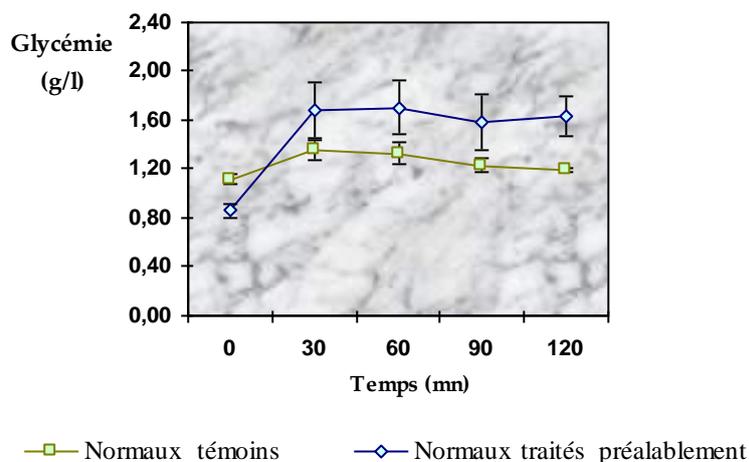


Figure 02 : Test de tolérance chez des rats normaux traités 1 heure (par 1 g/kg de l'extrait éthanolique) avant gavage de 3 g/kg de glucose.

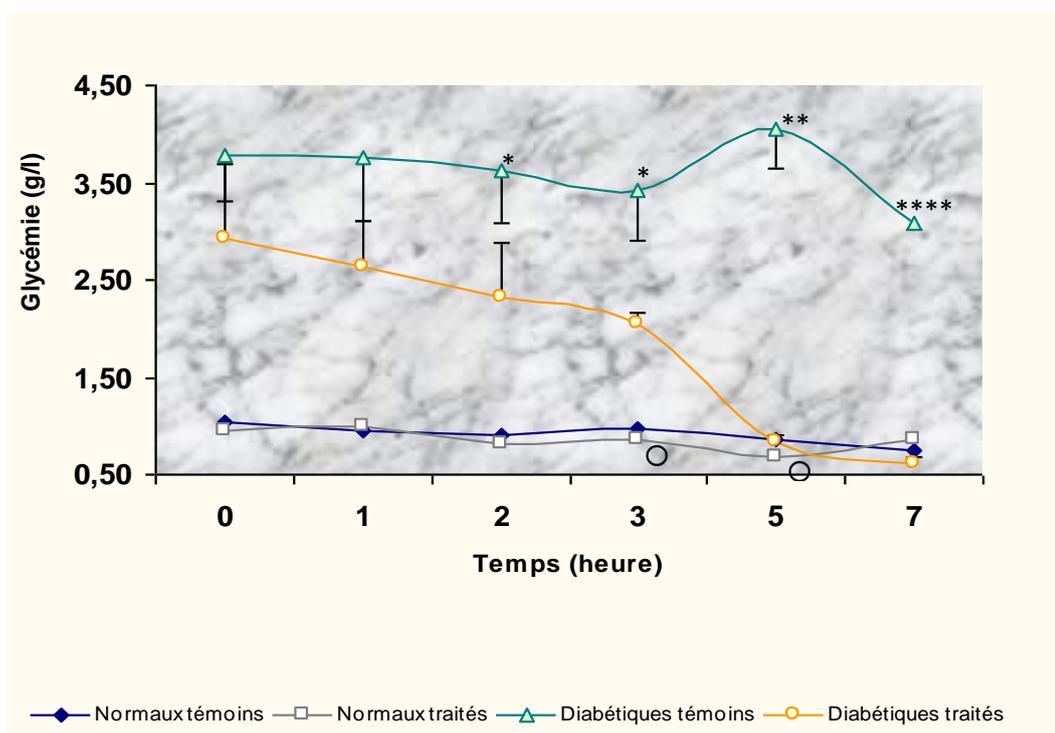


Figure 03 : Evolution de la glycémie des rats suivis 7 heures après gavage (ou non) de 1 g/kg d'extrait éthanolique.

* La signification de la différence entre les diabétiques témoins et les traités.
 ○ La signification de la différence entre les diabétiques témoins et les traités.

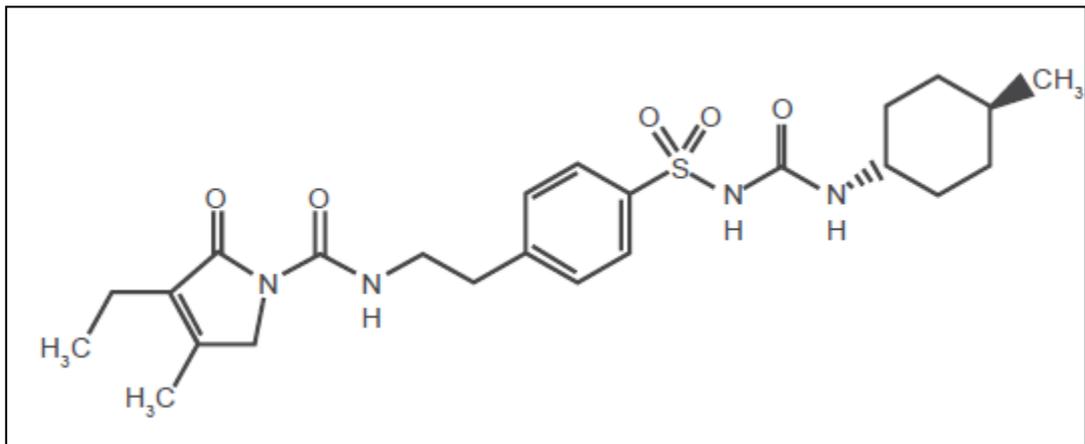


Figure 04 : structure du glimépiride



Figure 05: Photo de *Zygophyllum geslini* de la région d'Adrar

مرض السكري مرض كثير الانتشار يعالج بواسطة الانسولين و مضادات السكري. هذه الأدوية لها آثار جانبية خطيرة لهذا السبب ونظرا لعدم توفرها في بعض الأحيان يلجأ مريض السكري إلى التداوي بالنباتات الطبية .
الهدف من هذا العمل هو إختيار المفعول المضاد للسكري لعشب كثير الإستعمال هو زيغوفيلوم جسليني (العقابة) .لقد درسنا الجزء الهوائي و الذي استعملناه من اجل تحضير مستخلص مائي خام (م م خ) .
هذا الأخير استعمل لتحضير عدة أجزاء بواسطة الاستخلاص سائل-سائل قمنا بالفحص الكيميائي للمستخلصات المحضرة وكذا بتجارب المفعول المضاد السكري على جرذان و يستار ممرضة بواسطة السترابتوز توسين بجرعة 50 مغ/كغ .
النتائج بينت أن م م خ يحتوي على :موسولاج طنين ،سابونين ، أحماض أمينية ، فلافونويد ، غلوكوز القلب ، الكاويدات م م خ بجرعة 500 مغ /كغ يخفض بشكل نوعي نسبة السكر في الدم عند الجرد وهو صائم ويحسن تحمل الحيوان للغلوكوز المأخوذ عن طريق الفم .
تختلف آثار المستخلصات السبعة و تركيباتها حيث تحصلنا على : ثلاث مستخلصات جزئية لها نفس فعالية م م خ ، إثنان تؤثر فقط على سكر الفأر وهوصائم و البقية (2) ليس لها أي تأثير على السكري .
يتضح من هذا العمل أن هذه النبتة و بالتحديد م م خ يعدل بعض أخطاء السكري هذه الخاصة بقيت في المستخلصات الجزئية المحضرة إذا ، من المهم جدا اختيار المستخلص الجزئي الأكثر فعالية ودرسته كيميائيا ودراسة فعاليته ضد السكري .
كلمات مفتاحية : زيغوفيلوم جسليني،مستخلص مائي ، سترابتوز و توسين ،الاستخلاص سائل-سائل كيميائ النبات .

Le diabète sucré est une maladie très fréquente dans le monde entier. 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.

Le présent travail a pour objectif l'évaluation de l'activité antidiabétique de *Zygophyllum geslini*, une herbe très utilisée contre le diabète sucré. Nous avons étudié la partie aérienne qui a été utilisée pour préparer un extrait aqueux brut (EAB). Cet extrait subit une série de fractionnements liquide-liquide. EAB et les fractions qui en découlent, soumises au fur et à mesure à l'étude phytochimique, sont testés pour leur activité antidiabétique sur le rat wistar rendu diabétique par la streptozotocine à la dose de 50mg/kg.

Les résultats montrent la présence de plusieurs familles chimiques dans EAB qui sont, les mucilages, les tannins, les saponosides, les acides aminés, les flavonoides, les glucosides cardiotoniques et les alcaloïdes.

EAB à 500mg/kg réduit significativement l'hyperglycémie à jeun et améliore la tolérance orale des rats au glucose. Les effets des sept fractions de EAB ainsi que leur composition sont variables. Aux doses testées, trois fractions ont montré une action positive sur l'hyperglycémie à jeun et sur la tolérance orale au glucose, deux agissent seulement sur l'hyperglycémie à jeun alors que les deux restantes n'ont pas d'effets sur le diabète.

Il est évidemment clair que *Zygophyllum geslini*, précisément EAB régule certaines perturbations du diabète. Cette propriété est conservée dans les fractions préparées. Il sera, donc, crucial de choisir la fraction la plus active pour poursuivre le fractionnement chimique et l'évaluation de l'activité antidiabétique.

Mots clés : *Zygophyllum geslini*, Extrait aqueux, streptozotocine, fractionnement liquide-liquide, phytochimie

Diabetes mellitus is a very common disease in the world. It is treated by insulin and oral antidiabetic agents that can cause serious side effects. For this reason and because of their unavailability in some cases, diabetes is cured by herbs.

This work aims to evaluate the antidiabetic activity of *Zygophyllum geslini*, an herb widely used against diabetes mellitus. We studied the aerial part that was used to prepare a crude aqueous extract (CAE). This extract undergoes a series of liquid-liquid fractionation. CAE and fractions derived there from, subject to the phytochemical study were tested for their antidiabetic activity in 50mg/kg streptozotocin induced-diabetic Wistar rats.

The results show the presence of several chemical compounds in CAE, mucilages, tanins, saponins, amino acids, flavonoids, cardiac glycosides and alkaloids.

CAE at 500mg/kg significantly reduces fasting hyperglycemia and improves oral glucose tolerance in rats. The effects of the seven fractions of CAE and their composition are various. At the tested doses, three fractions showed a positive effect on fasting hyperglycemia and the oral glucose tolerance, two act only on fasting hyperglycemia, while the remaining have no effects on diabetes.

It is obviously clear that *Zygophyllum geslini* precisely CAE regulates certain disturbances of diabetes. This property is maintained in the prepared fractions. It is, therefore, crucial to choose the most active fraction for further chemical fractionation and evaluation of the antidiabetic activity.

Keywords: *Zygophyllum geslini*, aqueous extract, streptozotocin, liquid-liquid fractionation, phytochemistry