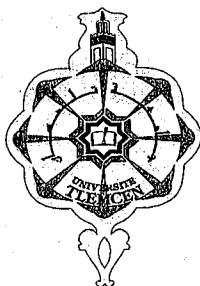
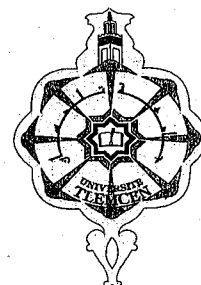


REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

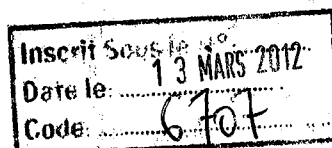
UNIVERSITE ABOUBEKR BELKAID -TLEMCEM-
FACULTE DES SCIENCES-DEPARTEMENT DE CHIMIE
LABORATOIRE DE CHIMIE ORGANIQUE SUBSTANCES
NATURELLES ET ANALYSE - COSNA -



MEMOIRE DE MAGISTERE
EN CHIMIE ORGANIQUE APPLIQUEE



THEME



ETUDE DE L'ACTIVITE HYPOGLYCEMIANTE
DU *BERBERIS VULGARIS* L.
(GHRISS)

Présenté par
M^{elle} MELIANI NAWEL

Devant le jury composé de

MR KAJIMA MULENGI	Président	Professeur	UABB - Tlemcen
MR CHOUKCHOU BRAHAM A.	Examineur	M.C.	UABB - Tlemcen
M.C. MR ARRAR Z.	Examineur	C.C.	UABB - Tlemcen
MR LAHFA F.	Examineur	C.C.	UABB - Tlemcen
MR TABTI B.	Promoteur	M.C.	UABB - Tlemcen

Année Universitaire 2003



REMERCIEMENTS

Ce travail a été réalisé au laboratoire de Chimie Organique Substances Naturelles et Analyses (COSNA) de la Faculté des Sciences université de Tlemcen, sous la direction de Monsieur B. TABTI qu'il veuille trouver ici l'expression de ma profonde gratitude pour ces conseils éclairés et encouragements qu'il n'a cessés de me prodiguer tout au long de ce travail malgré ses multiples occupations.

J'exprime ma profonde reconnaissance à Monsieur le professeur M. KAJIMA de l'université de Tlemcen. Je le remercie pour ces conseils fructueux et qui a bien voulu présider ce jury.

Mes chaleureux remerciements vont également à Monsieur A Coukchou Braham, maître de conférences à l'université de Tlemcen, pour son aimable participation au jury.

J'adresse mes sincères remerciements à messieurs F. LAHFA chargé de cours à l'université de Tlemcen, pour l'aide sans laquelle je n'aurai pas réalisé les tests biologiques et pour avoir honoré de sa présence le jury.

Qu'il me soit permis d'exprimer ma reconnaissance à Monsieur Z. ARRAR chargé de cours à l'université de Tlemcen pour avoir accepté d'examiner ce travail.

Je remercie Monsieur Bensaïd Okkacha pour ses précieux conseils et l'enrichissement scientifique dont j'ai bénéficié et pour avoir accepté d'examiner ce travail.

Je suis particulièrement reconnaissante à Monsieur M.A. DIB, pour l'aide précieuse, les conseils fructueux et les encouragements tout au long de mon travail.

Ma vive reconnaissance va également à Mr. H. BENMEHDI pour l'aide qu'il m'a apporté dans la réalisation de ce manuscrit.

J'exprime ma gratitude à monsieur H. ALLALI, à monsieur M. BENDAHOU, à monsieur M. DJAZIRI ainsi qu'à Mme S. MERIAH et Melle. K. BOUHADJRA

Je tiens à remercier enfin ma meilleure amie B. ZENASNI ainsi qu'à son mari, pour leur aide amicale et leur soutien moral, dont j'ai bénéficié.

Mes remerciements vont également à tous mes camarades du laboratoire pour leur amitié, et tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire.

Abréviations

δ	déplacement chimique
ADN	acide désoxyribonucléique
C.C	chromatographie sur colonne
C.C.M	chromatographie sur couche mince
DID	diabète insulino-dépendant
D_L	dose létale
DNID	diabète non-insulino - dépendant
IP	intrapéritonéale
J	constante de couplage
ppm	partie par million
Rdt	rendement
R_f	facteur de rétention
T_{fus}	température de fusion

LISTE DES TABLEAUX

- Tableau 1** : Nouveaux critères diagnostics du diabète sucré.
- Tableau 2** : Famille de plantes les plus citées pour leur activité hypoglycémiante.
- Tableau 3** : Etude comparative entre les plantes hypoglycémiantes et autres ;
- Tableau 4** : Dix plantes les plus utilisées et qui présentent plusieurs activités intéressantes pour les diabétiques.
- Tableau 5** : Résultats de l'enquête ethnopharmacologique (Tlemcen).
- Tableau 6** : Plantes par ordre d'utilisation décroissante et leur mode d'emploi.
- Tableau 7** : Plante à effet hypoglycémiant prouvé.
- Tableau 8** : Comparaison de la morphologie des trois espèces similaires du *Berberis* L.
- Tableau 9** : quelques composés chimiques isolés du *Berberis vulgaris* L..
- Tableau 10** : quelques composés isolés du *Berberis vulgaris* L. à activité antidiabétique.
- Tableau 11** : Résultat de l'examen phytochimique.
- Tableau 12** : Caractéristiques chromatographiques (CCM) des fractions A,B,C et D.
- Tableau 13** : Caractéristiques chromatographiques des alcaloïdes obtenus par la méthode 2 .
- Tableau 14** : Caractéristiques chromatographiques (CC) des fractions A, B,C et D.
- Tableau 15** : Caractéristiques chromatographiques (CCM) de la fraction D₃ .
- Tableau 16** : Caractéristiques chromatographiques (CCM) des saponosides .
- Tableau 17** : Caractéristiques chromatographiques (CC) des saponosides .
- Tableau 18** : Caractéristiques chromatographiques (CCM) des tannins .
- Tableau 19** : Teneur en métaux (Cu, Zn, Fe).
- Tableau 20** : Teneur en métaux (Na, K).
- Tableau 21** : Caractéristiques spectrales en RMN¹H de la fraction «esters méthyliques» .
- Tableau 22** : Caractéristiques spectrales en RMN¹³ C de la fraction «esters méthyliques» .
- Tableau 23** : Caractéristiques spectrales en IR de la fraction «esters méthyliques» .
- Tableau 24** : Caractéristiques spectrales en RMN¹³ C de la fraction A .
- Tableau 25** : Caractéristiques spectrales en RMN¹H de la fraction A .
- Tableau 26** : Caractéristiques spectrales en IR de la fraction A .
- Tableau 27** : quelques propriétés physico-chimiques de la fraction A .
- Tableau 28** : Caractéristiques physiques de la berberine tirées de divers travaux .
- Tableau 29** : Caractéristiques spectrales en RMN¹H de la fraction D₃₋₂ .
- Tableau 30** : Caractéristiques spectrales en RMN¹³ C de la fraction D₃₋₂ .
- Tableau 31** : Caractéristiques spectrales en IR de la fraction D₃₋₂ .
- Tableau 32** : Résultats de la dose létale chez les souris traitées par l'extrait brut aqueux du *Berberis vulgaris* .
- Tableau 33** : Résultats de la dose létale chez les souris traitées par l'extrait des saponosides.

B] ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE	42
CHAPITRE III	
Matériels et méthodes	44
CHAPITRE IV	
Résultats et discussion	
A] Examen phytochimique	61
B] Extractions	64
C] ANALYSES	71
CHAPITRE V	
Tests biologiques	
I- Détermination de la dose létale	81
II- Evolution de la glycémie et le poids	82
III-Conclusion	88
CONCLUSION GENERALE	89
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	100
GLOSSAIRE	
ANNEXES	

Avant propos

Les plantes sont des êtres statiques qui ne peuvent pas fuir devant les dangers, elles ont donc dû développer une grande variété de substances appelées métabolites secondaires.

Cependant depuis plusieurs années, on sait que ces substances ont des effets positifs sur la santé et sont l'objet de nombreuses recherches scientifiques.

Nous ne connaissons pas encore les mécanismes par lesquels agissent ces substances et il est nécessaire de les étudier plus à fond afin de pouvoir identifier les bénéfiques, les possibles effets collatéraux et comprendre comment ils agissent sur des pathologies aussi importantes comme le diabète, le cancer et les maladies cardio-vasculaires.

La médecine par les plantes est très répandue dans l'usage populaire produisant des guérisons que la médecine classique n'a pu procurer. Dans cette étude, et en adoptant une stratégie de recherche basée sur des méthodes scientifiques, on essaye de valoriser une plante très utilisée dans la médecine traditionnelle de la wilaya de Tlemcen pour le traitement du diabète, il s'agit du *Berberis Vulgaris* L. connu aussi comme anti-inflammatoire et préconisé dans le traitement de l'ulcère [1].

Cette étude est basée en premier lieu sur des tests phytochimiques et en second lieu sur l'extraction et l'identification sélective des familles de composés chimiques prépondérantes dans l'écorce de cette plante.

Notre recherche est subdivisée en quatre étapes :

* La partie chimique qui a été réalisée au laboratoire de Chimie Organique Substances Naturelles et Analyse (COSNA), Institut de chimie -Université de Tlemcen -

* Les tests biologiques sont effectués au laboratoire de physiologie animale - Institut de Biologie - Université de Tlemcen -

* L'étude Botanique de la plante a été faite au laboratoire de Botanique - Institut de Biologie - Université de Tlemcen -

* Les analyses spectroscopiques ont été réalisées au Laboratoire de Pharmacochimie Moléculaire et Systèmes Membranaires - Université Paris 7 - France.

* Les analyses des métaux par absorption atomique ont été réalisées au laboratoire de Catalyse et Synthèse en Chimie Organique par monsieur Abderrahim et celles par photométrie au laboratoire de monsieur Boucherit.

Nous présenterons dans une première partie l'étude chimique de cette plante basée sur des tests phytochimiques et sur l'extraction sélective des familles prépondérantes suivie par leurs élucidations.

Nous commenterons dans une deuxième partie les résultats des tests biologiques.



INTRODUCTION

INTRODUCTION GÉNÉRALE

La phytothérapie est une médecine qui utilise les plantes ou seulement la partie active de ces dernières ayant des propriétés thérapeutiques. Ces plantes sont appelées plantes médicinales.

Le gisement végétal est depuis longtemps une source généreuse pour le chimiste organicien, il y trouve des molécules nouvelles, utilisables directement ou pouvant servir de base à des réactions de synthèse chimique.

Un des guides du chimiste dans le problème d'une recherche phytochimique est la référence à l'empirisme et plus particulièrement aux usages traditionnels liés aux activités humaines. Cependant, si on veut faire l'histoire de la phytochimie et la phytothérapie, il faut remonter au siècle passé. Pendant les anciennes civilisations on s'aperçoit que les égyptiens furent parmi les premiers hommes qui ont enregistré dans leurs papyrus datant du 3^{ème} millénaire leurs connaissances sur les vertus des plantes médicinales; ils citaient le ricin, l'anis, la menthe, ...etc. Les babyloniens quant à eux nous ont laissé des tablettes d'argile portant des listes de drogues soigneusement établies; ces habitants cultivaient plusieurs espèces de plantes médicinales dans leurs jardins. Durant ces temps reculés, il n'y avait pas seulement les habitants du bassin méditerranéen qui s'adonnaient aux plantes pour guérir mais aussi des habitants de l'extrême orient Indes et Chine et ce sont les arabes qui donnèrent à la pharmacie son caractère scientifique. Les traditions pharmaceutiques arabes passèrent en Europe et influencèrent profondément les grandes Universités du IX^{ème} siècle [2].

En occident, l'utilisation thérapeutique des plantes s'est peu à peu estompée, au profit de la synthèse des molécules chimiques. Cependant depuis une dizaine d'années, on constate un vif regain

d'intérêt pour les plantes qui ne cesse de croître aujourd'hui. Malgré des preuves limitées d'efficacité, la médecine traditionnelle couvre la gamme entière des maladies depuis les maladies bénignes jusqu'aux maladies les plus graves.

Actuellement près de 50 % des spécialités pharmaceutiques sont d'origine naturelle (animale ou végétale). En effet, beaucoup de principes actifs d'extraction sont encore aujourd'hui irremplaçables par des produits de synthèse et certaines substances isolées, malgré leur ancienneté, restent les médicaments actuels (ex : digitaline, sennosides, morphine, scopolamine, ...etc.) ; d'autres voient leur emploi accru grâce à la découverte de nouvelles indications; d'autres encore constituent actuellement le point de départ de nombreuses hémisynthèses. Quant au renouveau de l'emploi des végétaux en nature (ou sous forme galéniques), il tient au désir croissant du retour aux thérapeutiques douces, lentes et naturelles qui sont souvent mieux tolérées par l'organisme que les produits de synthèse.

On assiste donc à la naissance de la phytothérapie; mais on est loin de l'empirisme et des remèdes secrets d'autrefois où les plantes médicinales étaient connues, standardisées et à teneur définie en principes actifs sont utilisées de façon scientifique. A côté de la phytothérapie, les végétaux sont, aussi, la source de nouvelles applications: développement de l'aromathérapie (thérapie par les huiles essentielles), emploi des plantes en cosmétologie, ...etc.

Les phytomédicaments comprennent les plantes, les produits d'origine végétale, les préparations et produits finis à base de plantes médicinales qui contiennent comme composants actifs des parties de plantes ou d'autres produits d'origine végétale ou des associations. Ces composants sont souvent en quantité extrêmement faible dans la plante, mais ce sont eux qui lui confèrent son activité thérapeutique.

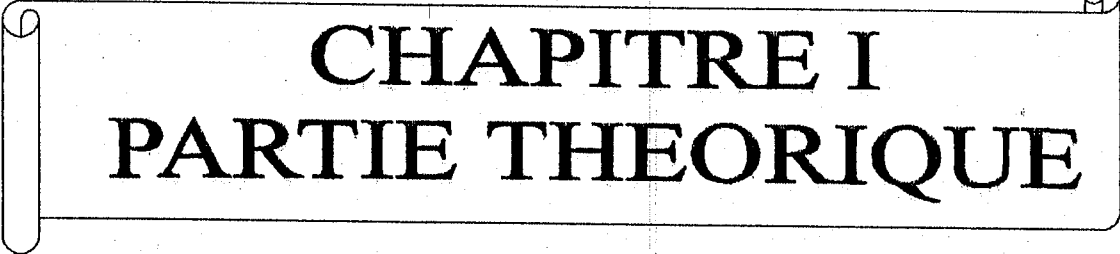
L'Organisation Mondiale de la Santé (O.M.S) considère que, dans de nombreux pays peu développés, les plantes et leurs composants représentent la première source de remèdes. L'organisation prépare d'ailleurs actuellement une gigantesque base de données afin d'y consigner la totalité des principes phytochimiques découverts à ce jour.

A chaque fois qu'elle le peut, l'industrie pharmaceutique s'efforce de synthétiser les principes actifs de ces produits naturels. Lorsqu'elle n'y parvient pas, les extraits de ces plantes sont proposés à l'état pur.

De nombreux éléments de cette médecine sont utiles; aussi l'OMS encourage les pays à identifier des remèdes et pratiques sans danger et efficaces pouvant être utilisés dans les services de santé publics et privés et les soutient dans cet effort. La stratégie de l'OMS pour la médecine traditionnelle pour 2001-2005 fait le point sur la médecine traditionnelle dans le monde et souligne le rôle et les activités de l'équipe OMS-Médecine traditionnelle (TRM). En outre, ce qui est plus important, c'est qu'elle offre à l'OMS et à ses partenaires un cadre d'action qui permet à la médecine traditionnelle de jouer un rôle beaucoup plus grand dans la réduction de la mortalité et la morbidité excessives, notamment parmi les populations pauvres [3].

Le but de notre recherche est d'apporter des éléments de connaissances chimiques, biologiques et biochimiques relatifs à une plante très utilisée en phytothérapie pour son activité anti-diabétique, il s'agit du *Berbéris vulgaris* L.

La méthode de travail que nous avons adoptée est basée sur une action pluridisciplinaire, visant une valorisation de la matière végétale, cette méthode permet de relier les éléments d'information apportés par les ethnobotanistes au travail des chimistes et des biologistes.



CHAPITRE I
PARTIE THEORIQUE

A] DIABETE ET PHYTOTHERAPIE

I- DIABÈTE

I-1- DESCRIPTION MEDICALE

Le diabète sucré est une maladie métabolique résultant d'une carence ou d'un défaut d'utilisation de l'insuline, caractérisé par une hyperglycémie chronique [4] .

Tableau1: nouveaux critères diagnostics du diabète sucré et les intolérances au glucose selon l'OMS et l'ADA [5].

Moment de la journée	Personne non diabétique	Personne diabétique
À jeun	entre 3,8 et 6,1 mmole /l	7 mmol/l et plus
De 1 à 2 heures après le repas	entre 4,4 et 7 mmol/l	11 mmol/l et plus

I -2- CLASSIFICATION DU DIABETE

Actuellement, et selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) et l'Association Américaine des Diabétiques (ADA) [6], le diabète sucré regroupe deux types majoritaires :

a- Diabète de type I

Diabète Insulino-Dépendant (DID), est une maladie auto-immune qui atteint surtout les enfants et les jeunes adultes ; elle touche environ 10 % des diabétiques [7] .

b- Diabète de type II

Diabète Non Insulino-Dépendant (DNID), il se caractérise soit par une production insuffisante d'insuline, soit par une mal utilisation de l'insuline par l'organisme. Cette maladie affecte environ 90 % des diabétiques, elle survienne chez les gens de plus de 40 ans et elle est liée à l'hérédité et des facteurs environnementaux (obésité, sédentarité et hypertension artérielle) [8] [9].

I -3- COMPLICATIONS POSSIBLES

Les diabétiques qui demeurent en hyperglycémie durant de longues périodes courent le risque de développer, avec le temps, de graves complications rattachées au diabète, citons :

✓ **Rétinopathie**

✓ **Neuropathie**

✓ **Néphropathie**

✓ **Les maladies cardiovasculaires** sont de deux à quatre fois plus fréquentes chez les diabétiques. En fait, 50 % des diabétiques meurent d'un trouble cardiovasculaire [10].

I -4- TRAITEMENT DU DIABETE

Le traitement du diabète de type I repose essentiellement sur l'insulinothérapie [11].

1-4-1. Diabète de type II.

La plupart des personnes atteintes peuvent contrôler leur diabète avec certains médicaments (sulfonylurées, biguanides, acarbose). Par la suite, des injections quotidiennes d'insuline peuvent être utilisées [12].

1-4-2. Alimentation et activité physique

Une alimentation équilibrée a pour but de diminuer le poids corporel surtout chez les diabétiques obèses. L'apport en graisses animales et en sucres raffinés sont à éviter. Par contre, les hydrates de carbone à absorption lente sont à préférer [13].

De même, l'exercice physique est conseillé pour les diabétiques puisqu'il assure une baisse du taux de sucre sanguin [14].

II- PHYTOTHERAPIE

II-1- INTRODUCTION

La plupart des espèces végétales possèdent des vertus thérapeutiques car elles contiennent des principes actifs qui agissent directement sur l'organisme. Les effets curatifs de certaines plantes à activité anti-diabétique sont très connus. Or, ce n'est que récemment que les éléments actifs à l'origine des actions thérapeutiques des plantes ont été isolés et étudiés. Il est donc indispensable de connaître la composition de ces plantes [15].

II-2- DEFINITION ET HISTORIQUE

II-2-1- Définition

la phytothérapie s'appuie à la fois sur le savoir traditionnel des plantes médicinales et sur les découvertes de la médecine moderne.

Dans le domaine du soin par les plantes, on remarque deux tendances majeures. Certains intervenants mettent surtout l'accent sur les connaissances empiriques des plantes et sur leurs effets reconnus depuis la nuit des temps (ethnopharmacognosie). D'autres se basent davantage sur les connaissances biochimiques et se préoccupent plutôt des symptômes des maladies et de l'action des principes actifs des plantes [16].

Selon l'OMS près de 90 % des habitants de certains pays en voie de développement se soignent par les plantes qui forment la matière première de 35 % des médicaments prescrits aujourd'hui dans les pays industrialisés et d'une bonne moitié des médications en vente libre [17].

II-2-2- Historique

Depuis très longtemps, les plantes médicinales jouent un rôle déterminant dans la conservation de la santé des hommes et dans la survie de l'humanité.

L'utilisation des plantes médicinales est encore aujourd'hui la forme de médecine la plus répandue à travers le monde. Cependant, vers la fin du XIX^e siècle, elle a connu un rapide déclin en Occident avec l'avènement de la médecine scientifique et l'apparition des médicaments « miracles » (aspirine, antibiotiques, cortisone, ...etc.).

Toutefois, depuis les années 70, entre autres à cause des effets indésirables des médicaments de synthèse, les gens se tournent de nouveau vers les plantes médicinales. Leur popularité grandissante a amené les scientifiques à entreprendre de nouvelles recherches [18].

Nos ancêtres avaient identifié un grand nombre de plantes et remarqué leurs propriétés curatives. De fait, jusqu'au XX^e siècle, dans chaque village quelqu'un possédait ses propres méthodes pour l'utilisation des plantes. Les hommes ont, pendant des milliers d'années, observé les effets - bons ou mauvais - provoqués par la consommation de telle ou telle racine, baie ou feuille [1].

II-3- USAGE DES PLANTES MEDICINALES

La phytothérapie ou médecine par les plantes est une science - ou un art - qui se complexifie de plus en plus. En principe, elle exige une longue formation. Il n'en reste pas moins que, bien informé, chacun peut se servir des plantes pour soigner des troubles mineurs (et même parfois sérieux, à titre complémentaire). Beaucoup de plantes ne présentent, en effet, que très peu de risques voire aucun. Voici donc les principales façons de préparer et d'utiliser les plantes médicinales.

II-3-1-Le choix des plantes

Aussi souvent que possible, il vaut mieux utiliser les plantes dans leur prime fraîcheur. Comme toute matière vivante, leurs éléments de base constituent des forces dynamiques interagissant avec les différents systèmes de l'organisme humain, eux-mêmes en

.....

continuel processus de transformation. Dans l'impossibilité de se procurer des plantes fraîches, on peut employer des plantes séchées.

II-3-2-Utilisation

Bien que l'usage exclusif d'une plante médicinale donne des résultats tout à fait valables, les associations de plantes sont souvent plus intéressantes.

On peut associer les plantes choisies dans des proportions égales, mais on peut aussi le faire dans des proportions qui varient selon l'intensité des différents symptômes ressentis [19].

a-En usage interne

L'usage interne des plantes médicinales se fait sous plusieurs formes citons : les infusions, les décoctions, les macérations, les teintures et les sirops (voire annexe) [1].

b-En usage externe

Mis à part les inhalations, les préparations qui suivent sont fort utiles pour des soins topiques en cas de blessures et infections locales citons par exemple : cataplasmes, compresses, huiles médicinales, pommades et onguents (voire annexe) [20].

II-4 - DES PLANTES AUX MEDICAMENTS

Malgré les énormes progrès réalisés par la médecine moderne, la phytothérapie offre de multiples avantages.

Aujourd'hui, les traitements à base de plantes reviennent au premier plan, car l'efficacité des médicaments tels que les antibiotiques décroît. En effet, les bactéries et les virus se sont peu à peu adaptés aux médicaments et leur résistent de plus en plus. De plus, les effets secondaires induits par les médicaments sont non négligeables.

A partir de la plante, on extrait des principes actifs :

- *Alcaloïdes* (morphine retirée de l'opium.)

- *Hétérosides* (digitaline et digoxine extraites des Digitales).

Une fois isolés et purifiés, les principes actifs peuvent être utilisés tels quels, ou légèrement modifiés afin d'obtenir des composés plus stables, plus solubles ou encore à effet thérapeutique meilleur.

Comme on peut extraire de la plante des précurseurs de principe actif dépourvus d'activité physiologique, ces substances servent pour préparer des composés actifs (Hémisynthèse) [21].

II-5- INTERACTIONS ENTRE LES PLANTES MEDICINALES ET LA MEDICATION TRADITIONNELLE

Beaucoup de plantes médicinales et de médicaments sont thérapeutiques à une certaine dose et toxiques à une autre. Des interactions entre les plantes médicinales et les médicaments peuvent augmenter ou diminuer les effets pharmacologiques ou toxiques des uns ou des autres, par action synergique ou antagoniste. Les plantes médicinales sont douées d'ubiquité. Il y a peu d'observations des effets adverses et/ou des interactions. Une seule étude (Doucet 1996) [22] faite sur 1 000 personnes âgées admises en urgence à l'hôpital : parmi celles-ci 538 étaient exposées à 1 087 interactions médicamenteuses ; 30 d'entre elles avaient des effets indésirables. En pratique courante, la polypharmacie est habituelle, et aux thérapeutiques prescrites s'ajoute bien souvent l'absorption additionnelle de médicaments variés issus de l'automédication, de vitamines, d'herbes médicinales, et d'aliments ou d'alcool [23].

II-6- AVANTAGES ET INCONVENIENTS DES PLANTES MEDICINALES :

Généralement, les plantes médicinales d'usage courant ne provoquent que très peu, voire aucun effet indésirable, c'est l'un de leurs principaux avantages. De plus, l'action synergique des divers constituants commence à être mieux comprise et acceptée

.....
scientifiquement [24]. Enfin, contrairement à certaines croyances populaires, plusieurs plantes ont des effets pratiquement immédiats sur le métabolisme [15].

Par contre, les médicaments de synthèse ont souvent une action plus directe et plus spectaculaire puisqu'ils sont formulés pour être immédiatement assimilés par l'organisme. Il est également plus facile de s'assurer de leur composition exacte, de leur qualité et de leurs conditions de conservation.

Tout ce qui est « naturel » n'est pas inoffensif. Certaines plantes sont toxiques et d'autres peuvent être nocives en interaction avec d'autres plantes, des médicaments ou des suppléments.

II-7-RELATION STRUCTURE/ACTIVITE

En plus de réhabiliter les plantes médicinales, les recherches scientifiques modernes ont permis de mettre en évidence leur mode d'action. Pendant longtemps, on s'est contenté d'utiliser les plantes médicinales sans comprendre pourquoi et comment elles agissaient. Les livres sur les plantes médicinales se contentaient d'énumérer les propriétés et les indications de chaque plante. Quand on consulte les manuels de phytothérapie qui faisaient référence à l'époque, on devient facilement confus par le nombre de propriétés attribuées à chaque plante et les contradictions apparentes, chaque plante semblant capable de tout faire! Encore aujourd'hui, la plupart des ouvrages de phytothérapie se contentent de cette approche insatisfaisante sur les plans scientifique et chimique. Rien d'étonnant dans ces circonstances que les résultats thérapeutiques soient si aléatoires! En réalité, nous savons maintenant que les propriétés des plantes médicinales dépendent de leurs composantes chimiques, aussi appelées principes actifs ; en d'autres mots, l'activité thérapeutique d'une plante dépend de sa structure chimique. Une meilleure connaissance des principes actifs est indispensable à la pratique d'une phytothérapie sérieuse et efficace [25].

B] PLANTES FACE AU DIABETE

I- PROPRIETES ANTIDIABETIQUES DES SUBSTANCES NATURELLES

Dans le monde entier, plusieurs plantes médicinales sont utilisées par la médecine populaire, comme remèdes pour le traitement de différents états d'hyperglycémie et plus précisément chez les diabétiques non insulino-dépendants. Parfois ces patients n'ont besoin d'aucune autre médication pour maintenir normales les valeurs de la glycémie .

Au cours de ces dernières années, l'étude scientifique de toutes les plantes anti-diabétiques a suscité un grand intérêt dû principalement à 3 motifs :

- 1°) Confirmer scientifiquement ce qui est utilisé par la médecine traditionnelle de certaines substances.
- 2°) Peu de produits de synthèse sont doués d'une activité anti-diabétique.
- 3°) La découverte de nouvelles structures pour une application thérapeutique, surtout pour les pays en voie de développement qui pourraient exploiter leurs propres ressources naturelles [26] .

II- LES PLANTES UTILISEES POUR LE TRAITEMENT DU DIABETE

Selon Thorne et Coll., plus de 1123 espèces de plantes ont été utilisées ethnopharmacologiquement ou expérimentalement dans le traitement du diabète [27]. Ces plantes représentent 725 genres et 183 familles dont les plus utilisées sont citées dans le tableau suivant :

Tableau 2 : familles de plantes les plus citées pour leur activité hypoglycémiant

Famille	Nombre d'espèces actives	nombre total d'espèces
Fabacées	127	18 000
Astéracées	98	21 300
Lamiacées	36	3 500
Liliacées	35	5 400
Poacées	30	10 000
Euphorbiacées	30	7 000

La moitié de ces espèces ont été utilisées en médecine traditionnelle dans le traitement des symptômes du diabète. Il est à noter que la moitié de ces remèdes traditionnels ont fait l'objet de tests biologiques réalisés sur des sujets normaux, chargés en glucose ou traités par l'alloxane et la streptozotocine afin d'évaluer l'activité hypoglycémiant [28]. Le tableau 2 montre que 81 % des plantes testées biologiquement donnent des résultats positifs en diminuant la concentration du glucose dans le sang. Il est mentionné aussi que 47 % d'espèces qui ne sont pas utilisées traditionnellement dans le traitement du diabète abaissent le taux du sucre dans le sang [29].

Tableau 3 : Etude comparative entre les plantes hypoglycémiantes et autres

	Utilisation traditionnelle	autres plantes
Nombre total de plantes testées.	295	541
Nombre total de plantes actives	238 (81%)	254 (47%)

La méthodologie d'évaluation de l'activité hypoglycémiant consiste à déterminer le glucose dans le sang et ses variations dans le temps après l'administration d'un extrait préparé à partir de l'espèce végétale considérée [29].

III- QUELQUES PLANTES ANTI-DIABETIQUE ET LEURS USAGES

Certaines sociétés pharmaceutiques d'Allemagne et d'autres pays d'Europe font la promotion de l'usage de formules à base de plantes dans le traitement du diabète au même titre que la thérapie à

l'insuline [30]. De leur côté, les Dr Andrew Weil, James A. Duke et Michael Murray suggèrent diverses plantes pour soigner le diabète.

Tableau 4 : 10 plantes parmi les plus utilisées dans le monde et dont elles présentent plusieurs activités intéressantes pour les diabétiques.

Plantes	Nom scientifique	Utilisation
Fenugrec	<i>Trigonella foenum-graecum</i>	Pris par voie orale, les graines de fenugrec seraient peut-être efficaces pour abaisser le taux de glucose sanguin chez les diabétiques [31]. Le fenugrec affecte le transit intestinal et ralentit l'absorption du glucose. Un composant, la 4-isoleucine, semble stimuler directement la sécrétion l'insuline [31]. Chez les personnes atteintes de diabète non insulino-dépendant l'ingestion des graines peut améliorer le taux de sucre sanguin et la sensibilité à l'insuline [31], [32]. Selon certaines études, la graine en poudre pourrait réduire le cholestérol sanguin chez les diabétiques [31], [32]. La dose habituellement utilisée est de 1 g à 2 g de graines de fenugrec ou l'équivalent 3 fois par jour [32], [33].
Ginseng Asiatique	<i>Panax ginseng</i>	Il permettrait d'améliorer le contrôle glycémique et d'augmenter le niveau d'énergie des patients atteints d'un diabète de type II. au cours d'une récente étude en double aveugle, la prise orale et quotidienne de 200 mg d'extrait de ginseng a permis d'améliorer le contrôle glycémique et d'augmenter le niveau d'énergie chez des diabétiques de type II [34].
Gymnéma	<i>Gymnema sylvestre</i>	Le Dr Andrew Weil et James Duke suggèrent ce remède utilisé pour traiter le diabète. De fait, des petites études montrent qu'en prise orale, le gymnéma serait peut-être efficace pour amener une réduction supplémentaire du taux de sucre sanguin et d'hémoglobine glycosylée chez les personnes affectées par les types I et II qui prennent de l'insuline ou des hypoglycémifiants oraux [35],[36]. Le gymnéma serait également utile pour réduire les taux de cholestérol total et de triglycérides chez les diabétiques de type I [35]. Pour le dosage : GS4, un extrait hydrosoluble provenant des feuilles du gymnéma. Utilisé pour faire baisser le taux de sucre sanguin, la dose habituellement prescrite était de 400 mg par jour de cet extrait.
<u>Myrtille</u>	<i>Vaccinium myrtillus</i>	Les anthocyanosides contenus dans ce fruit ont été étudiés en fonction de divers troubles oculaires. Ainsi, une petite étude non contrôlée a porté sur l'action qu'exercent les anthocyanosides sur les vaisseaux rétiniens dans le cas de différents types de rétinopathie. Chez les diabétiques en particulier, l'extrait standardisé de myrtille a eu un impact positif sur la perméabilité et la tendance à l'hémorragie [37]. Par ailleurs, la myrtille pourrait aussi prévenir la cataracte diabétique [38].
Poivre de cayenne	<i>Capsicum anuum</i>	Des études contrôlées, montrent que des applications topiques de poivre de cayenne peuvent soulager la neuropathie diabétique [39],[40],[41]. L'une d'elles montre qu'une préparation topique à base de <i>capsaïcine</i> est aussi efficace que l' <i>amitriptyline</i> , un médicament qui s'utilise par voie orale [41]. Il faut en appliquer 4 fois ou plus par jour pour soulager les douleurs sévères [40].
Xanthane	<i>Xanthomona s campestris</i>	Pris sous forme orale, ce produit serait peut-être efficace pour baisser les taux de glucose sanguin et de cholestérol chez les diabétiques. Pour l'usage de la gomme xanthane comme additif alimentaire [42] par les diabétiques, une dose typique serait de 12 g par jour [43].

IV- QUELQUES PRINCIPES ACTIFS AYANT UN POUVOIR ANTIDIABETIQUE

a-Acide alpha-lipoïque. Cet antioxydant naturel est utilisé depuis plus de 30 ans en Allemagne pour soigner la neuropathie diabétique [44]. Il s'emploie aussi pour améliorer la résistance à l'insuline et l'élimination du glucose en cas de diabète de type II. Ce produit s'administre par voie orale ou intraveineuse.

b-Acide Gamma-Linolénique (AGL). Plusieurs études suggèrent que cette substance a une action bénéfique sur l'évolution de la polyneuropathie diabétique distale [45], [46], [47].
Dosage : lors d'une étude contrôlée et randomisée, la prise orale quotidienne de 360 mg d'un supplément de AGL pendant 6 mois a permis d'améliorer de manière significative - par rapport à un placebo - plusieurs indicateurs de cette conséquence du diabète [45]. À noter que l'huile d'onagre (*Oenothera biennis*) est très riche en acide gamma-linolénique.

c-Chrome. En usage oral, il serait peut-être efficace à divers titres chez les diabétiques du type II [48]. Certaines preuves semblent aussi démontrer que ce supplément pourrait exercer les mêmes effets positifs chez les diabétiques du type I [47].

d-Magnésium : Les patients diabétiques ont tendance à avoir un faible taux de magnésium [49]. Certaines données suggèrent que le magnésium pourrait jouer un rôle protecteur contre le diabète de type II [50], [51].

e- Niacinamide (vitamine B3) : Il existe deux formes de vitamine B3 : la *niacine* (ou *acide nicotinique*) ou la *niacinamide* (ou *nicotinamide*). Cette dernière serait peut-être efficace pour :

- prévenir et traiter le diabète de type I [52];
- améliorer le contrôle glycémique en cas de diabète de type II [53].

- f- Vitamine E :** Celle-ci pourrait intervenir de deux façons :
- rôle préventif pour le diabète de type II ;
 - rôle préventif et curatif pour le diabète de type I [54],[55].

V- ENQUETE ETHNOPHARMACOLOGIQUE

L'éthnopharmacologie est l'une des démarches principales pour la recherche de plantes d'intérêt thérapeutique. Cette méthode repose sur l'utilisation de plantes en médecine populaire qui seront par la suite classées selon leurs vertus thérapeutiques.

Ces plantes sont alors récoltées, extraites puis testées. Dans ce cas, les enquêtes sont très utiles car leurs indications restreignent le champ d'action et permettent d'orienter les essais pharmacologiques.

L'utilisation de plantes à activité anti-diabétique est très connue dans la région de Tlemcen. Dans un travail, unique dans son genre, une enquête ethnopharmacologique a été réalisée en collaboration avec l'association des diabétiques de Tlemcen et les services de diabétologie du C.H.U. de Tlemcen [29]. L'enquête effectuée sur 634 patients a révélé que 82 patients se soignent avec le *Berberis vulgaris* L. ce qui nous a permis de dire que cette plante occupe une place privilégiée dans la Wilaya de Tlemcen pour le traitement du diabète.

Tableau 5 : Résultats de l'enquête ethnopharmacologique (Tlemcen),

Plantes	<i>Fenugrec</i> (Halba)	<i>Coloquinte</i> (Hantal)	<i>Berberis.</i> <i>Vulgaris</i> L. (Ghriss)	<i>Saccocalyx</i> <i>satureioides</i> (Zâatar)	<i>Lavandula</i> <i>staechas</i> (Halhal)	<i>Globularia</i> <i>Alypum</i> L. (Ain larneb)
Nombre de cas	126	111	82	57	54	53

VI- LE CHOIX DE LA PLANTE

Le choix de la plante étudiée est basé sur les résultats de l'enquête ethnopharmacologique réalisée par Mr. Benmehdi dans son mémoire de magister. Le tableau ci-dessous résume la liste des

plantes les plus utilisées contre le diabète dans la région de Tlemcen, ainsi leurs modes d'utilisation [29].

^{que}
Tableau 6 : Plantes par ordre d'utilisation décroissante et leurs modes d'emploi.

Nom scientifique des plantes	Nbr. de cas	Mode d'utilisation et glycémie
<i>Trigonella-foenum-graecum</i> L.(Halba)	126	.Feuilles en infusion ou en poudre ; graines sous forme d'un macérat ou d'une poudre .La quantité prise est soit un verre de l'infusé soit une demi cuillère de poudre en mélange avec du miel par jour, la glycémie chute de 1,5 à 0,9g/l.
<i>Citrullus colocynthis</i> L. (Hantal)	111	.Graines entièrement avalées, épicarpe en poudre mélangée avec les aliments, fruits frais en morceaux mis sous les pieds pendant le bain. La quantité prise est de 2 graines par jour. La glycémie diminue de 3 à 1,80g/l.
<i>Berberis vulgaris</i> L. (Ghriss)	86	.Feuilles fraîches en infusion ou en poudre, des racines sous forme de macérat. .La quantité prise est d'un verre de thé d'infusé ou de macérat par jour ou d'une cuillère de café de poudre en mélange avec du miel une fois par jour. La glycémie diminue de 3 à 1,87g/l.
<i>Saccocalyx satureioides</i> (Zâatar)	57	.Feuilles fraîches en infusion ; la quantité prise est d'un verre de thé par jour. La glycémie diminue de 2 à 1,20g/l.
<i>Lavandula staechas</i> (Helhel)	54	.Feuilles fraîches en infusion ; la quantité prise est d'un verre de thé 3 à 4 fois par jour. .La glycémie diminue de 3 à 1,20g/l.
<i>Globularia alypum</i> .L (Ain larneb)	53	.Feuilles fraîches en infusion. La quantité prise est d'une demi verre de thé par semaine. .La glycémie diminue de 3,5 à 1,70g/l.
<i>Stipa tenacissima</i> .L (El halfa)	43	.Tiges fraîches en décoction ; la quantité prise est d'un verre de thé 2 fois par jour. .La glycémie diminue de 2 à 0,5g/l.
<i>Nerum oleander</i> .L (Defla el bouria)	35	Sous forme d'un bain végétal à partir des feuilles fraîches ou en application directe sur la peau de la poudre des feuilles sèches mélangées avec le henné. La glycémie diminue de 4 à 1,20g/l.
<i>Zygophyllum album</i> .L (Aggaya)	31	.Feuilles fraîches en infusion ou sèches en poudre. La quantité prise est d'1 verre de thé par j. .La glycémie diminue de 3 à 1,80g/l.
<i>Marrubium vulgare</i> (Marriva)	30	.Feuilles fraîches en infusion ou bain végétal la quantité prise est d'un verre de thé 1 à 2 fois par jour. La glycémie diminue de 3 à 1,20g/l.
<i>Juniperus phoenicea</i> (El araâr)	29	.Feuilles fraîches en infusion. La quantité prise est d'un verre de thé 3 fois par jour .La glycémie diminue de 3,5 à 1,10g/l.
<i>Aloe vera</i> (mer ou sber)	28	.Feuilles fraîches en infusion ou graines entièrement avalées. La quantité prise, elle est d'un verre de thé de l'infusé 2 fois par jour ou 1 grainé par jour. La glycémie diminue de 3 à 1,5g/l.
<i>Artémisia herba alb</i> Asso (Shih)	24	.Feuilles fraîches en infusion. La quantité prise est d'un demi verre de thé 1 fois par jour .La glycémie diminue de 3 à 1,87g/l.
<i>Prunus dullis</i> (Ourag el khoukH)	22	.Feuilles fraîches en décocté. La quantité prise est de 5 cuillères à café 1 fois par jour .La glycémie diminue de 1,50 à 0,70g/l.
<i>Zizyphus lotus</i> .L.Desf (Ourag essedra)	15	.Racines fraîches en décocté. La glycémie diminue de 1,50 à 0,80g/l.
<i>Ajuga iva</i> .L. (Chendgoura)	10	.Feuilles sous forme de poudre. La quantité prise est d'une cuillère à café par mois.
<i>Rosmarinus officinalis</i> (Yazir)	10	.Feuilles fraîches ou racines en décocté. La quantité prise est d'un verre de thé par jour .La glycémie diminue de 2 à 1,20g/l.

C] ETUDE DES PLANTES

L'étude des plantes fait appel à des connaissances variées en botanique, en biologie végétale, en agronomie, en chimie et en pharmacologie. En effet cette étude commence par une identification très précise du matériel végétal ; elle nécessite ensuite une recherche chimique approfondie, avec l'isolement à l'état pur et la détermination de structure des différents constituants ; viennent ensuite les essais pharmacologiques avec l'évaluation de l'activité thérapeutique et de la toxicité des principes isolés. Puis selon l'importance thérapeutique de la plante se pose le problème éventuel de l'industrialisation (approvisionnement, mise en culture, amélioration de l'espèce, contrôle de qualité). Pour cela la connaissance des constituants chimiques est plus que souhaitable.

En effet, de telles informations peuvent servir, non seulement, pour la découverte des agents thérapeutiques, mais parce qu'elles peuvent être à l'origine de la révélation de nouvelles sources de matériaux économiques tels que, les tanins, les huiles, les gommés qui sont des précurseurs dans la synthèse des substances chimiques complexes ...etc. [62].

I- UNICITE DES PLANTES - Rappels théoriques

Les plantes sont composées de deux types de substances : les produits du métabolisme primaire indispensables à leur vie (essentiellement les polysaccharides) et les produits du métabolisme secondaire qui apparaissent souvent comme inutiles aux plantes mais qui ont des effets thérapeutiques remarquables : il s'agit des huiles essentielles, des flavonoïdes, des saponosides ...etc.

L'analyse chimique des être vivants à montré que, exception faite des molécules d'eau et des ions minéraux, toutes les substances qui les constituent sont des composés de carbone. Ce sont les substances organiques [63].

a- Métabolisme primaire :

Tous les êtres vivants ont un **métabolisme primaire** qui fournit les molécules de base : acides nucléiques (ARN, ADN), lipides, protéines, acides aminés, hydrates de carbone. Les métabolites primaires sont produits en quantité élevée par les plantes [64].



b- Sels minéraux :

Les sels minéraux sont les constituants qui restent après la calcination des tissus organiques sous forme de cendres, ils sont essentiels à l'organisme notamment parce qu'ils contrôlent l'équilibre hydrique (pression osmotique); règlent l'équilibre acide - base (pH) ; font partie de certaines structures (Os , dent) ; entrent dans la composition des enzymes et des hormones ; catalysent de nombreuses réactions du métabolisme [65].

c- Métabolisme secondaire :

Le métabolisme secondaire est une exclusivité du monde végétal. Ces substances ne paraissent pas essentielles à la vie de la plante : on les appelle **les métabolites secondaires**. Ces produits, à structure chimique souvent complexe, sont très dispersés et très différents selon les espèces.

Les métabolites secondaires sont produits en très faible quantité. Il existe plus de 200000 métabolites secondaires classés selon leur appartenance chimique. Cependant depuis plusieurs années, on sait que ces substances appelées encore phytonutriments ou phytoprotecteurs ou encore principes actifs ont des effets positifs sur la santé et sont l'objet de nombreuses recherches scientifiques [66].

Citons en séquence les différentes familles de composés :

I-1- Les polyphénols

Les polyphénols sont des pigments très abondants dans la nature et ils sont responsables des arômes et des couleurs des végétaux. Ils

constituent un des principaux groupes de métabolites secondaires. Nous pouvons néanmoins les diviser en quatre grands groupes:

- les acides phénoliques
- les lignanes
- les tannins
- les flavonoïdes qui à leur tour se divisent en plusieurs sous-groupes comme les flavones, les isoflavones, les anthocyanes, ...etc. [67].

Les polyphénols sont pour la plupart solubles dans l'eau, ont un poids moléculaire compris entre 500 et 3 000 daltons et peuvent se complexer avec des protéines [68].

* **Activité**

Les polyphénols ont été à plusieurs reprises montrés qu'ils empêcheraient le développement du processus cancéreux, les études ont également trouvés une plus grande capacité antioxydante de plasma sanguin après l'ingestion des polyphénols [69].

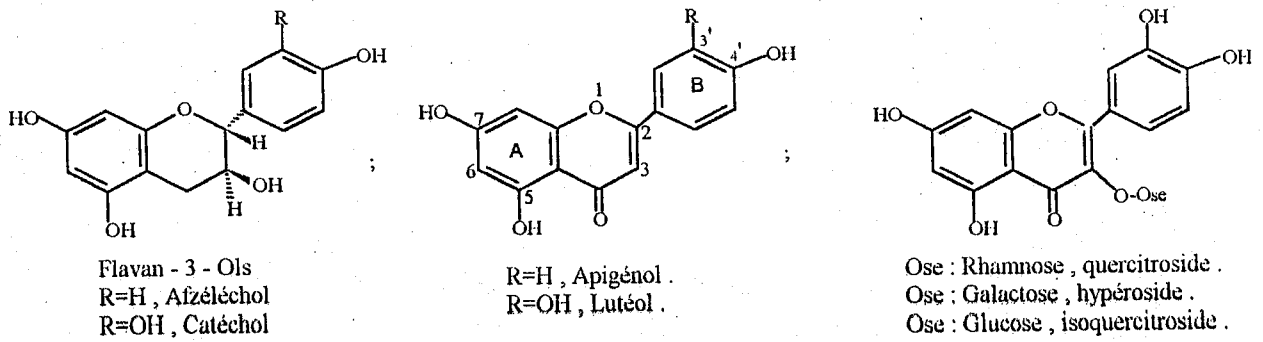
Mais tous ces avantages ne devraient pas nous pousser à consommer de grandes quantités de polyphénols. Ils peuvent former des complexes très stables avec certains minéraux comme le fer et empêcher ainsi leur absorption [70].

I-1-1- Les Flavonoïdes

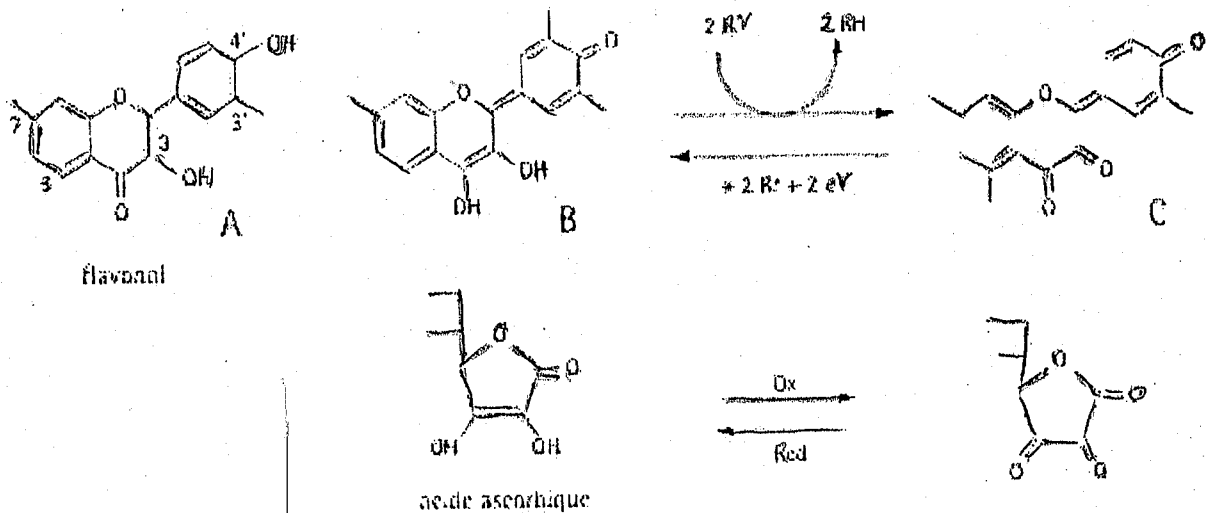
1- Définition

Les flavonoïdes sont les pigments (anthocyanes) qui donnent la couleur jaune aux fruits et légumes [71]. Ils sont des composés phénoliques dérivant du phényl-2-chromone. Cette famille est très répandue dans le règne végétal, généralement à l'état d'hétérosides, où la partie osidique peut être mono, di ou tri saccharidique. Tous les flavonoïdes (environ 3000) ont une origine biosynthétique commune et, de ce fait, possèdent le même élément structural de base C₆ - C₃ - C₆ comprenant deux noyaux aromatiques A et B et un hétérocycle oxygéné [72].

2- Structures



Les flavonols figurent parmi les polyphénols du type flavonoïde. Leur structure, très analogue à celle de la vitamine C, leur permet de piéger les radicaux libres à l'origine de nombreux troubles de dégénérescence [73].



Shéma 1 : structure de la flavonol et de la vitamine c.

3- Caractérisation (voir partie expérimentale)

4- Propriétés physico-chimiques

Les hétérosides sont hydrosolubles et solubles dans les alcools et les solutions d'hydroxyde alcalin [66].

5- Propriétés pharmacologiques

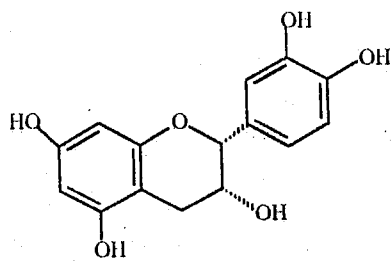
Les flavonoïdes réagissent avec de nombreuses enzymes de notre organisme et auraient un effet protecteur :

- Contre le cancer [74] ;
- Contre les maladies cardio-vasculaires ;

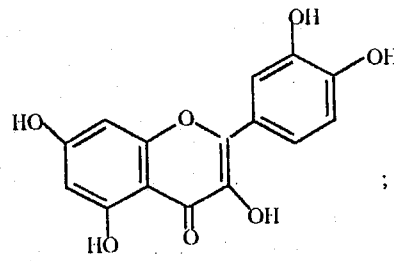
-Au niveau de la circulation sanguine, les flavonoïdes augmentent la résistance des vaisseaux sanguins ;

-Les flavonoïdes semblent être étroitement liés à leur exceptionnelle capacité à piéger et à neutraliser les radicaux libres [75].

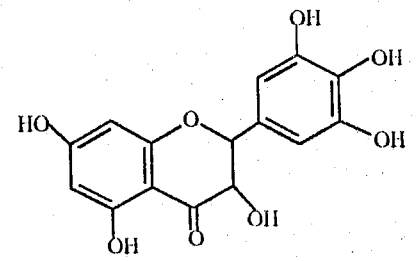
- Certains flavonoïdes possèdent une activité hypoglycémiant comme (-)l'épicatéchine ou le benzopyrane isolé de l'épicarpe de *Pterocarpus marsupium Roxb* est utilisé dans la médecine traditionnelle indienne pour le traitement du diabète. Concernant la quercétine et la myricétine, elles ont un caractère hypoglycémique [76].



(-) épicatéchine



quercétine



myricétine

I-1-2- Les tannins

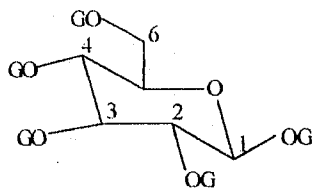
1- Définition

Les tannins sont des composés phénoliques (des phénols simples aux flavonoïdes condensés), hydrosolubles ayant une masse moléculaire comprise entre 500 et 3000 g/mol. Deux catégories se distinguent [67] :

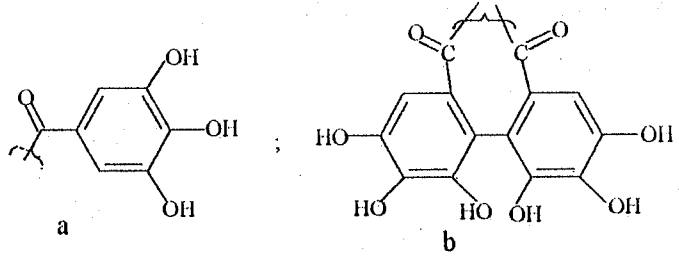
- Les tanins hydrolysables, esters de l'acide gallique [77].
- Les tanins condensés, formés de proanthocyanidines (schéma 2).

*] Tanins hydrolysables

Ce sont des esters d'un sucre et d'un nombre variable de molécules d'acide phénolique. Le sucre est généralement le glucose et l'acide phénolique, est soit l'acide gallique dans le cas des tanins galliques, soit l'acide hexahydroxydiphénique dans le cas des tanins éllagiques [66].



Structure de base des tanins hydrolysables



G = galloyl (a ou b)

*) Tanins condensés

Les tanins condensés ou proanthocyanidols sont des polymères flavoniques [66].

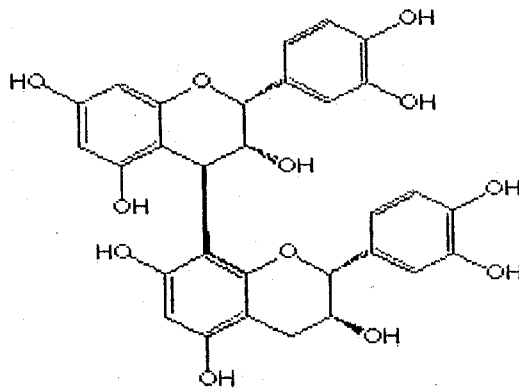


Schéma 2 : structure d'une proanthocyanidine (procyanidine B1) pouvant être présente dans les fruits de *Vitis vinifera* (cultivar pinot noir).

Plus récemment, un troisième groupe (phlorotannin) [78], [79] a été isolé à partir de diverses algues brunes (*Eisenia*, *Fucus*...), constitué exclusivement d'unités phloroglucinol liées de manière oxydative par des liaisons C-C et/ou C-O. Le fucufuroeckol en est un exemple typique (schéma 3).

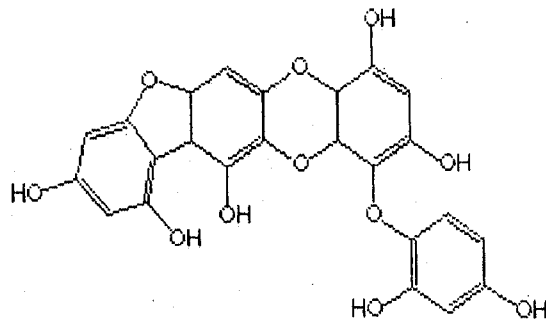


Schéma 3 : structure du fucufuroeckol extrait des algues brunes *Fucus vesiculosus*.

2- Propriétés physico-chimiques

Les tanins se dissolvent dans l'eau sous forme de solutions colloïdales. Ils sont solubles dans les alcools, l'acétone et dans les solutions d'hydroxyde de sodium et de carbonate de sodium. Comme tous les phénols les tanins réagissent avec le F_eCl_3 . Ils sont précipités dans des solutions aqueuses par les sels de métaux lourds et par la gélatine [66].

3- Caractérisation

Avec les sels ferriques, les tanins galliques et les tanins éllagiques donnent des précipités bleu-noirs et les tanins condensés des précipités brun-verdâtres.

- Les tanins galliques donnent une coloration rose avec KIO_3 ;
- Les tanins éllagiques sont colorés en rose par HNO_2 en milieu acétique ensuite la coloration vire au pourpre puis au bleu .
- Les tanins condensés sont colorés en rouge par la vanilline chlorhydrique [66].

4- Propriétés biologiques des tanins

La plupart des propriétés biologiques des tanins sont liées à leur pouvoir de former des complexes avec les macromolécules, en particulier avec les protéines [77], Anti-diarrhéique, Cicatrisant, Ils ont un effet antiseptique (antibactérien et antifongique) [66].

I-2- Les caroténoïdes

Les caroténoïdes sont des pigments végétaux qui vont du jaune au rouge et agissent comme anti-oxydants.

- Le bêta-carotène ou provitamine A est associé en petites doses à une diminution du risque de cancer du poumon.
- Les lycopènes auraient une action anticancéreuse en diminuant le risque de cancer de la prostate et se trouvent surtout dans les tomates
- La lutéine, d'entre tous les caroténoïdes, serait le pigment le plus efficace contre le cancer du côlon et se trouve dans les épinards, les brocolis, les tomates, les oranges, les céréales et les œufs [80].

I-3- Mucilages :

Particules donnant avec l'eau des mélanges colloïdaux (se trouvant en suspension dans un liquide) ; ce sont souvent des macroglucides gonflant avec l'eau. Ils se comportent comme adoucissant, expectorant, cicatrisant [80].

I-4- Saponosides

1- Définition

Les saponosides sont des substances hétérosidiques existant chez de nombreux végétaux : ils ont été trouvés dans plus de 80 familles [81].

2- Structure

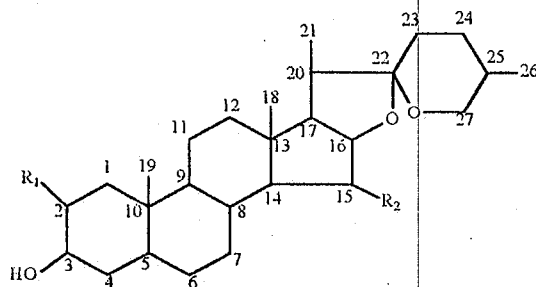
Par hydrolyse acide ou enzymatique les molécules de saponosides peuvent être scindées en leurs constituants.

a- Aglycones

Ils sont stéroïdiques ou triterpéniques.

* Stéroïdiques

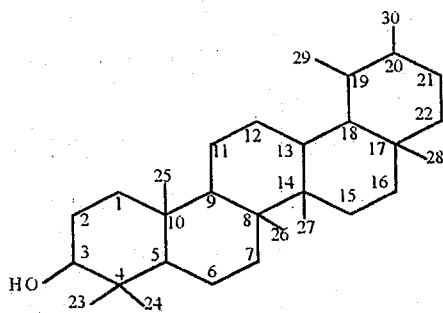
Ce sont des corps à 27 atomes de C. Ils possèdent le squelette du cholane, comme les stérols végétaux ou animaux [82]. Leur structure générale est la suivante :



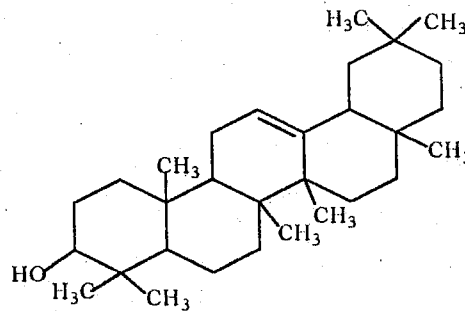
* Triterpéniques

Ils constituent la majorité des sapogénines des Dicotylédones. Le noyau fondamental est pentacyclique, citons par exemple le β -amyrine.

Presque toutes les sapogénines triterpéniques sont du type β -amyrine, qui possèdent un OH en 3, d'autres OH pouvant être fixés en 16,21,22 ...etc. Peuvent y figurer aussi divers substituants, par exemple des COOH [82].



Structure de base

 β -amyrine

b- Oses

On rencontre dans les saponosides les oses les plus divers : D - glucose, D - galactose, D - xylose, L - arabinose, L - fucose D - quinovose y figurent aussi les acides D - glycuronique et D - galacturonique. Les chaînes sucrées, qui peuvent être simples ou ramifiées sont généralement fixées sur OH en 3 ou COOH en 17 . L'ose terminal est souvent un pentose [82].

c- Composants acides

Assez récemment, Pinkas et coll. ont isolé par hydrolyse alcaline des acides organiques estérifiant la génine par l'intermédiaire de groupement OH ; acides formique(C₁), acétique (C₂), butyrique(C₄), isobutyrique (C₄), isovalérianique (C₅), méthylbutrique (C₅), tiglique (C₅), férulique (C₁₀), ...etc. Dans les aglycones du type β -amyrine l'estérification se fait le plus souvent en 16, 21, et 22 [82].

3- Propriétés physico-chimiques

Ils possèdent un ensemble de propriétés physicochimiques :

* pouvoir aphrogène (faculté de mousser fortement en solution aqueuse après agitation).

* Ils se présentent le plus souvent sous forme amorphe. Ils sont solubles dans l'eau, les alcools dilués, Ils agissent sur la lumière polarisée. Leur point de fusion est toujours élevé, compris entre 200 et 300°.

* Les saponosides donnent un certain nombre de réactions colorées, non spécifiques, mais fort utilisées pour leur mise en évidence. Signalons la réaction de Liebermann Burchardt.

* Les saponosides neutres précipitent par le sous-acétate de plomb et par l'eau de baryte [82].

4- Analyses

1)- **Réactions colorées** (voir partie expérimentale).

2)- **Analyse Quantitative** : L'analyse quantitative des saponosides consiste dans la détermination principalement de l'indice de mousse (voir partie expérimentale)

5- Propriétés pharmacologiques

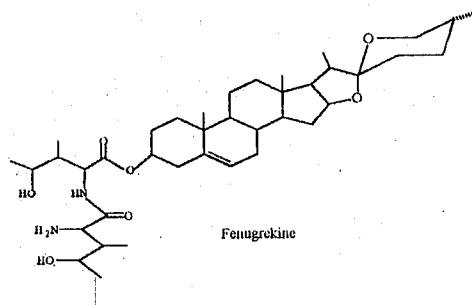
Beaucoup de saponosides sont de puissants antifongiques l'action antifongique serait due au pouvoir complexant des saponosides qui s'exercerait sur les stéroïdes de la membrane des champignons. Présentent aussi d'autres activités : antisiphilitique ; antirhumatismal ; dépuratif ; diurétique.

Les saponosides sont particulièrement toxiques pour les poissons et autres animaux aquatiques, ceci par simple contact.

La toxicité se montre faible par voie orale chez les mammifères, Plus marquée par voie parentérale, elle est alors très variable d'un hétéroside à l'autre : la DL₅₀ chez le rat est de 0,68 mg/kg pour le quillajoside et supérieure à 50 mg/kg pour l'hédérasaponosides C.

La « Saponine » du commerce est actuellement utilisée pour la préparation de savons liquides et de produits d'hygiène (pâtes, dentifrices, shampoings, sels de bain, lotions capillaires) qui lui doivent leurs propriétés détergentes et dégraissantes [82].

Les recherches montrent que les saponosides possèdent des propriétés antidiabétiques, surtout l'équipe de recherche **HIKINO'S** qui a isolé la Fenugrequine dont son remarquable activité hypoglycémiante a été mise en évidence [76].



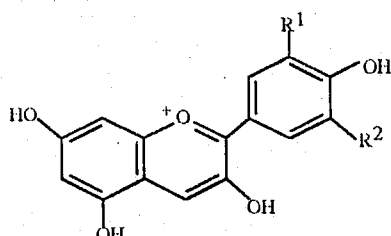
I-5- Anthocyanosides

1- Définition

Le terme d'anthocyanes, initialement forgé pour désigner la substance responsable de la coloration des fleurs en bleu. Ces pigments existent sous la forme d'hétérosides (les anthocyanosides) et leurs génines (les anthocyanidols) [66].

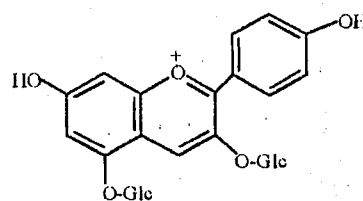
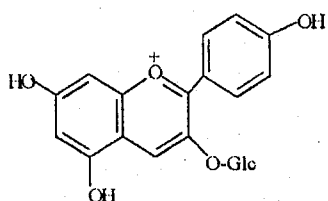
2- Structures

Les anthocyanidols existent en milieu acide sous la forme cationique. Ils sont toujours hydroxylés en position 3 et le plus souvent penta (3, 5, 7, 3',4') ou hexasubstitués.



$R_1 = R_2 = H$, Pélagonnidol.

L'hydroxyle en 3 est toujours lié à un sucre (très souvent le glucose) et les anthocyanosides les plus fréquents sont les 3-monosides et les 3,5-diosides [66].



3- Propriétés physico-chimiques

En milieu acide fort ($\text{pH} < 3$), la forme cationique colorée en rouge est stable. En milieu acide faible ($4 < \text{pH} < 6$), le cation perd un, puis deux protons, ce qui conduit à une anhydrobase neutre (-H) ou ionisée (-2H), stabilisée par résonance pour donner des formes quinonoïdes colorées en bleu. En outre, les anthocyanosides sont solubles dans l'eau et les alcools, insolubles dans les solvants organiques apolaires [66].

4- Action pharmacologique

Parmi les activités les plus connues des anthocyanosides, on peut citer :

- Traitement symptomatique des troubles liés à l'insuffisance veineuse et à la fragilité capillaire ;
- Ils sont proposés en ophtalmologie en cas des troubles circulatoires au niveau de la rétine.
- Comme beaucoup d'autres composés phénoliques, les pigments anthocyaniques se comportent comme des piègeurs de radicaux libres [66].

I-6- Huiles Essentielles

1-Définition

Mélanges complexes de substances odorantes contenues dans les végétaux. Ils sont non miscibles à l'eau et très volatiles (un simple froissement de feuille peut suffire) [1].

3- Propriétés physico-chimiques

les huiles essentielles sont caractérisées par :

- Leur état liquide à la température ordinaire.
- Leur volatilité à laquelle sont liés leur caractère odorant et la possibilité de les obtenir par entraînement à la vapeur d'eau
- Leur densité est souvent inférieure à 1.
- Elles possèdent un indice de réfraction souvent élevé et sont douées de pouvoir rotatoire.

- Petite solubilité dans l'eau . Elles sont solubles dans les alcools et dans la plupart des solvants organiques.
- Elles sont très altérables, sensibles à l'oxydation et donc de conservation limitée.
- La composition chimique d'une huile essentielle est très complexe. On y trouve généralement de nombreux constituants qui appartiennent à deux grands types chimiques :
 - ♣ Les composés terpéniques ;
 - ♣ Les composés aromatiques dérivés du phénylpropane [83].

4- Caractérisation et dosage

On peut les mettre en évidence à l'aide des colorants lipophiles comme le Soudan III qui colore en rouge les gouttelettes d'essence.

Leur dosage consiste à les séparer par hydrodistillation et à déterminer les caractéristiques physico-chimiques. D'autre part, l'identification des principaux constituants se fait par les méthodes chromatographiques (C.C.M, C.P.G) [84].

5- Propriétés pharmacologiques

Les huiles essentielles sont souvent employées comme excipients en pharmacie. Dans l'industrie, les huiles essentielles sont très utilisées comme aromatisantes des aliments, elles sont utilisées aussi en cosmétologie [85]. Elles ont un effet antiseptique (microbicide)[66].

I-7- Alcaloïdes

1- Définition

Classe de composés organiques actifs à caractère basique dû à la présence constante d'un atome d'azote, d'origine naturelle (le plus souvent végétales). Dans les végétaux, les alcaloïdes existent sous la forme de sels ou sous forme d'une combinaison avec les tanins[66]. On distingue trois classes d'alcaloïdes :

* *Alcaloïdes vrais* :

Ils existent à l'état de sels et sont biosynthétiquement formés à partir des acides aminés.

3- Caractérisation

Les méthodes de détection consistent, dans le cas le plus général, en une précipitation des alcaloïdes par des réactifs d'une assez grande spécificité tels que le réactif de **Mayer**, le réactif de **Wagner** et le réactif de **Dragendorff**. (Voir partie expérimentale) [66].

4- Extraction des alcaloïdes

L'extraction et l'isolation des alcaloïdes à partir de matériel végétal peuvent être obtenues par une triple extraction liquide-liquide [86] (voir annexe).

5- Révélation et identification des alcaloïdes

- Comme les alcaloïdes séparés sur une couche mince sont incolores, ils doivent être révélés. Cette révélation peut être effectuée par différents procédés, qui peuvent être utilisés en séquence:

* fluorescence et / ou phosphorescence : certaines substances absorbent les rayons ultraviolets de λ : 200 à 350 nm et réémettent des rayons de longueurs d'onde visibles de λ : 350 à 700 nm [86];

* le piégeage de fluorescence : cette méthode nécessite un indicateur fluorescent incorporé dans la couche mince (F254), qui lui procure une fluorescence jaune-verte lorsqu'elle est soumise à des rayons ultraviolets de λ : 254 nm. Certaines substances absorbent ces rayons (phénomène de "quenching") et apparaissent sous forme de tâches sombres sur la couche mince [87] ;

* Formation de dérivés colorés par transformation chimique des alcaloïdes à l'aide de réactifs sélectifs [88] citons par exemple :

- Le réactif de Dragendorff (voir annexe) ;
- Le réactif iodoplatinate (voir annexe) ;
- Le réactif de Marquis (voir annexe).

6- Action pharmacologique

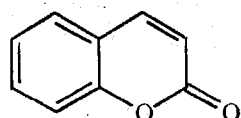
Intense activité pharmacologique, dans des domaines variés :

- * comme antidépresseurs (morphine) ou stimulants (caféine) ;
- * Ils ont une activité anticholinergique (atropine) et ganglioplégique (nicotine) ;

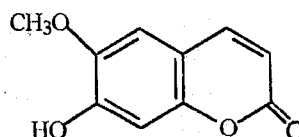
lactone: ouverture et solubilisation en milieu alcalin, fermeture en milieu acide. Il est également possible, dans quelques cas, de recourir à la sublimation [66].

3- Propriétés pharmacologiques

L'esculoside est présenté comme veinotonique et vasculoprotecteur. La coumarine, connue pour ses propriétés anti-oedémateuses, a fait l'objet d'études cliniques chez des patients atteints de cancers avancés : elle est immunostimulante et développerait une activité cytotoxique [66]. Certaines coumarines présentent une activité hypoglycémiante, citons la coumarine et scopoletine [76].



coumarine



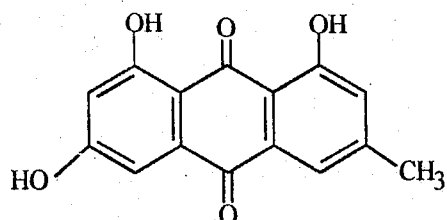
scopoletine

I-9- Anthraquinones - Anthracénosides - Emodols

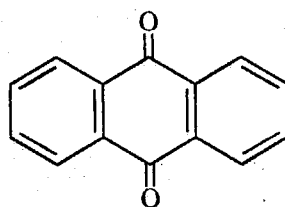
1. Définition

Les anthraquinones appartiennent à la famille des anthracénosides. Ces derniers regroupent tous les composés phénoliques, hétérosidiques, dérivés de l'anthracène de degré d'oxydation variable.

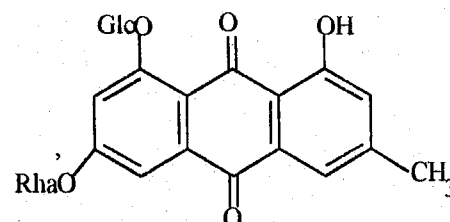
De plus, les émodols sont des dérivés hydroxyanthracéniques [89]. Quelques structures sont représentées ci dessous :



Emodole



Anthraquinone



Glucofranguloside - A -

2- Propriétés physico-chimiques

Les anthraquinones sont des composés colorés en orangé rouge, très peu solubles dans l'eau froide (sauf en milieu alcalin), soluble dans les solvants organiques et les alcools [89].

3- Caractérisation

La caractérisation de ces dérivés hydroxyanthracéniques met à profit la réaction de **Bornträger** qui n'est positive qu'avec les formes oxydées libres [66]. ET par le biais de l'acétate de magnésium en milieu méthanolique. La coloration rouge obtenue est plus intense et plus stable à la lumière que celle qui résulte de la simple réaction avec KOH.

II- POURQUOI LES PLANTES FABRIQUENT-ELLES DES METABOLITES SECONDAIRES ?

Depuis toujours les plantes ont constitué la source majeure de médicaments grâce à la richesse de ce qu'on appelle le *métabolisme secondaire*. Celui-ci produit des molécules variées permettant aux plantes de contrôler leur environnement animal et végétal et de survivre et se reproduire.

Parmi les milliers de molécules produites par ce métabolisme, l'homme sélectionne celles qui lui permettent de se défendre contre les agressions d'autres organismes vivants pathogènes (champignons, bactéries, virus...) et de corriger ses troubles métaboliques.

III- MECANISME D'ACTION DES PLANTES

Nous ne connaissons pas encore les mécanismes par lesquels agissent ces phytoprotecteurs et il est nécessaire de les étudier plus à fond afin de pouvoir identifier les bénéfiques, les possibles effets collatéraux et comprendre comment ils agissent sur des pathologies aussi importantes comme le cancer et les maladies cardio-vasculaires.

Il existe une relation évidente entre une grande consommation de plantes et une diminution du risque de souffrir certains types de

.....

cancer grâce au contenu en phytonutriments de ces végétaux. Mais les connaissances actuelles, ne nous permettent pas de conseiller la consommation d'un ou de plusieurs phytoprotecteurs en particulier . Cependant, ce que nous pouvons recommander est une grande consommation de fruits et légumes d'au moins 5 rations par jour afin de pouvoir recevoir de notre alimentation une quantité suffisante de ces substances.

Il est également important de savoir qu'il est préférable de les consommer à travers une alimentation variée qu'en forme de comprimés ; en effet, les phytoprotecteurs agissent en synergie entre eux en augmentant leur efficacité. Lorsque l'on cherche à identifier les principes actifs des plantes, on se heurte à de grandes difficultés car en fractionnant l'extrait, on perd une partie de l'activité pharmacologique. Nous nous sommes donc confrontés à une nouvelle pharmacologie qui aura des difficultés pour mettre en évidence les mécanismes d'action des principes actifs [1].

CHAPITRE II
ETUDE BOTANIQUE DU
BERBERIS VULGARIS L.

A] ETUDE BOTANIQUE

Plante : EPINE VINETTE

Origine : Europe

Nom commun : Epine vinette, vinettier

Nom Latin : *Berberis vulgaris* L.

Nom vernaculaire Arabe : "Ghriss"

Famille : Berberidacées

Catégorie : arbuste

Feuillage : persistant

Floraison : printemps

Couleur : jaune

Croissance : rapide

Hauteur : 1-3 m

Plantation : printemps

multiplication : semis, bouture à talon en été

Sol : tous, drainé

emplacement : soleil, mi-ombre

N.B : piquant.

* **Noms vulgaires :** La dénomination selon plusieurs langues.

En Français : Epine vinette , vinettier

En Allemand : Sauerdorn, Beerdorn, Wiilscherling

En Flamand : Sauseboom

En Italien : Berbero, crespino

En Anglais : Barberry, Pipperidge

1- Berbéridacées : cette famille renferme des plantes dont l'aspect peut être très varié, mais on reconnaît les berbéridées principalement à leurs étamines opposées aux pétales et dont les anthères s'ouvrent par deux petites valves ; ces étamines sont au nombre de 4 ou 6, et s'attachent directement sur le réceptacle de la fleur. Le pistil, libre d'adhérence avec les autres parties de la fleur, n'est pas divisé extérieurement en plusieurs parties et n'est pas divisé intérieurement en loges. Les fleurs sont

régulières ; les sépales et les pétales sont libres entre eux et tombent facilement ; les graines ont un albumen charnu. Les Berbéridées ont les fleurs en grappes et les feuilles non opposées ; ce sont des plantes vivaces.

La plupart des berbéridées contiennent un alcaloïde appelé berbérine. Les Berbéridées comprennent environ 135 espèces qui habitent les parties extra tropicales de l'hémisphère nord et parfois les parties tempérées des montagnes dans les régions tropicales [90].

2- BERBERIS : (du mot grec (berbéri), coquille; forme concave des pétales)

En allemand : Berberitze

En Flamand : Berberisse

En Italien : Berberide

En Anglais : Barberry

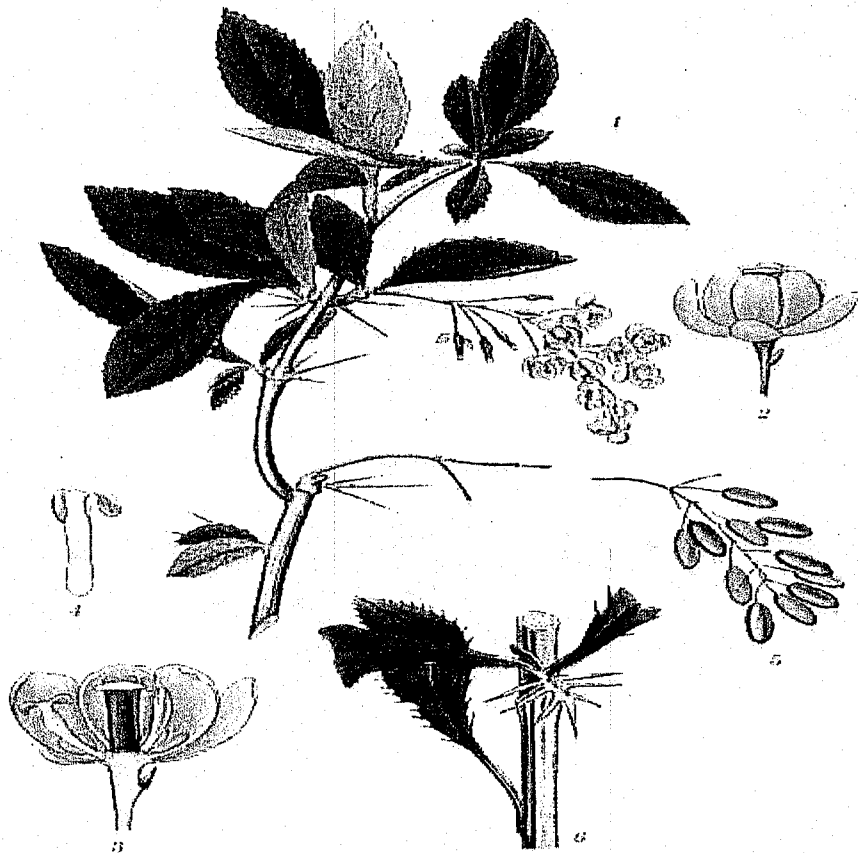
Ce genre est caractérisé par sa corolle à 6 pétales jaune, par ses étamines au nombre de 6, mais accompagnées de deux à trois bractées très courtes portant un stigmate un peu étalé en plateau. Le fruit est charnu. Ce sont des arbrisseaux dont les rameaux principaux ont des feuilles transformées en épines.

On a décrit environ 80 espèces de ce genre, habitant l'Europe, l'Asie, plus rarement le nord de l'Amérique et la Cordillère des Andes [90].

I- DESCRIPTION BOTANIQUE

Le *Berberis vulgaris* L. (Berbérisme vulgaire) est un arbrisseau épineux, au feuillage clair, d'environ 1 à 2 mètres de hauteur, qu'on peut trouver dans presque toute les régions, surtout sur les terrains calcaires. Il s'épanouit en mai et juin ses fleurs jaunes en petites grappes penchées ou pendantes ; il mûrit en septembre et octobre ses fruits rouges oblongs, sans noyau. Cet arbrisseau est remarquable par ses feuilles alternes qui, sur les rameaux allongés, sont ordinairement transformées en épines à une ou trois pointes, parfois plus, tandis que sur les rameaux courts qui croissent à l'aisselle de

ces feuilles épineuses, les feuilles sont aplaties, ovale, d'un vert clair, rétrécies en un court pétiole, bordées de fines dents aiguës qui se terminent chacune comme par une petite soie raide. Dans les très jeunes arbustes, les feuilles des rameaux allongés, au lieu d'être transformées en épine, sont à l'état de feuilles ordinaires. Il en est de même si on fait développer les branches dans l'air humide ; inversement, croissant dans l'air très sec, les feuilles deviennent plus épineuses. La fleur est remarquable par des étamines douées d'une sensibilité particulière ; lorsque les étamines sont étalées, il suffit d'exciter légèrement, avec une épingle par exemple, la région du filet dite « région sensible » pour voir l'étamine se redresser en s'appliquant sur le stigmate. Lorsque l'arbrisseau a moins de 25 ans, son bois est de couleur jaune citron, puis il passe plus tard à une couleur verdâtre [90].



SURTORN, BERBERIS VULGARIS L.

Schéma 4 : *Berberis Vulgaris* L.

II- USAGES ET PROPRIETES

Les fruits, confits dans du vinaigre, peuvent être employés en guise de câpres. Cet arbrisseau est cultivé dans les jardins et utilisé aussi pour former des haies ; mais on s'abstient de le propager, car on a reconnu que c'est sur ses feuilles que le champignon (*Puccinia graminis*) qui produit la rouille du Blé parcourt l'une des phases de son développement. On cultive aussi comme ornementales des formes à feuilles pourpres, ou encore des variétés à fruits jaunes, violets, pourprés, noirs ou blancs.

Les fleurs sont très visitées par les abeilles qui récoltent le liquide sucré se produisant par les nectaires, lesquels sont groupés par deux à la base de chaque étamine. On extrait de la plante une matière colorante jaune. La racine est amère et fébrifuge ; la partie interne de l'écorce est purgative ; ces fruits contiennent 6,62 % d'acides malique et 3,57 % de sucres. Les feuilles renferment de l'acide oxalique. [90].

Traditionnellement cette plante traite un grand nombre de conditions, en particulier d'infection et de problèmes d'estomac [91], [92].

II-1- Effets secondaires ou interactions

La Berberine isolée du *Berberis vulgaris* est peut causer des problèmes de foie et d'estomac chez les enfants [93]. D'autres symptômes de prise excessive de berberine incluent la léthargie, le saignement du nez, l'irritation de la peau et de l'œil, et l'irritation des reins [94].

III- DISTRIBUTION

Cette plante préfère les terrains calcaires, où elle est parfois très abondante et prend alors une certaine importance au point de vue de la géographie botanique ; peut s'élever jusqu'à 1,9 m dans les montagnes. Elle se trouve en France, Suisse, Belgique et presque dans toute l'Europe [90].

En Algérie, elle est fréquente dans les hautes montagnes, au-dessus de 1500 m à Djurdjura - Babors, Atlas de Blida, Aurées, montagnes du Hodna et l'Atlas Saharien [95].

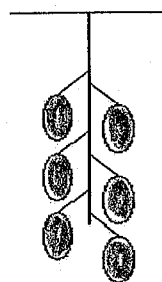
IV- ESPECES SIMILAIRES

Il existe des espèces similaires à notre plante, d'où la morphologie de ces dernières est regroupée dans le tableau ci-dessous.

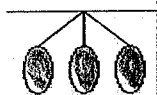
Tableau 8 : Comparaison de la morphologie des trois espèces similaires du *Berberis* L. [96].

Caractère	<i>Berberis thunbergii</i> D.C (<i>Berberis Japonaise</i>)	<i>Berberis ottawensis</i> Schneid. (hybride de B. thunbergii et B.vulgaris)	<i>Berberis</i> <i>vulgaris</i> L.
Epines de Branche	1 (peut avoir jusqu'à 3)	varie	3 (peut être 1)
Inflorescence*	Grappe	Grappe	Grappe
Marge de feuille	Entier	Très souvent entier	Dentelé
consistance de Baie	Sèche	Sèche	Juteux

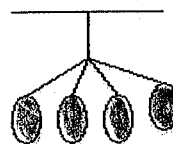
* Le schéma ci-dessous nous donne un dessin comparatif de l'inflorescence des trois espèces.



Berberis vulgaris



Berberis thunbergii



Berberis ottawensis

Schéma 5 : Comparaison de l'inflorescence des trois espèces [97].

B] ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

Selon les travaux effectués sur le *Berberis vulgaris* L. beaucoup de composés chimiques ont été isolés et testés. Le tableau ci-dessous résume les principaux constituants isolés de la plante en question.

Tableau 9 : Quelques composés chimiques isolés du *Berberis vulgaris* L. et leurs activités biologique [98].

Composés chimiques	Partie étudiée	Activité
Aluminium	Racine	Pesticide [99].
Acide ascorbique	Racine	Analgésique, antiagrégant, antidiabétique, Immunostimulant [100].
BERBAMINE	Plante	Analgésique [100], hypotensive [101]. Antibactérienne [102].
BERBERINE	Plante	Antibiotique, antipneumonique, Fongicide [103] Hypoglycémiant, Hypotensive[100],
β- carotène	Racine	Antioxydant [103], Antistress [104] Anticancéreux [105].
Acide caféique	Plante	Antibactérienne[103], Anti-inflammatoire [106]
Chrome	Racine	Antidiabétique [106], Hypotensive [107] Hypoglycémiant [107].
Fibre	Racine	Antidiabétique [100]
Fer	Racine	Antihémorragique [103]
Magnésium	Racine	Antidépresseur [104], Antihypoglycémiant [104], Hypotensive [107], Anti-inflammatoire [108].
Quercitine	Plante	Antidiabétique[100] ,Antihypertensive [109]
Tannin	Plante	Antidiarrhéique [100], Antidysentrique [100]
Zinc	Racine	Antidiabétique [107], Antirhumatismal [104]

* **Berberine** (Alcaloïdes)

- un composant très actif.
- Berberine et ses analogues (tels que l'oxyacanthine) sont antibactérien [110].
- Empêche la fixation des bactéries aux cellules humaines, donc empêchent l'infection [111]. Ce composé traite la diarrhée provoquée par des bactéries, telles que *E.coli* [112].
- Stimule également quelques cellules du système immunitaire pour mieux fonctionner [113].

* **Berberamine** (Alcaloïdes)

- Est un autre alcaloïde isolé du *Berberis*. Il peut aider à réduire l'inflammation [114].

- Est un antioxydant [115].

* Il existent divers composants chimiques dans la plante citant :
Dans l'écorce : berbérine, oxycanthine, résine, tannin, huile essentielle.

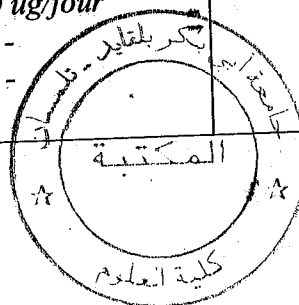
Dans les feuilles : berbérine, acide citrique et malique.

Dans les fruits : dextrose, lévulose, pectose, acide citrique, malique et tartrique, gomme, pectine [116].

* Vu leur importance dans le traitement du diabète, une série de composés ont été isolés de la plante étudiée. Le tableau suivant regroupe les plus importants:

Tableau 10 : Quelques composés isolés du *Berberis vulgaris* à activité antidiabétique [117].

Composés	Dose	Test	
		Rats	Hommes
Epicatchine	30 mg/kg	*	
Diphénylamine	10 mg/kg		*
Magnésium	400-800 mg/jour		
Fer	2-4 mg/jour		
Chrome	200-1,000 ug		*
PECTINE	10 g/jour		
ZINC	30 mg/jour		*
MANGANESE	10-30 mg/jour		
VANADIUM	25-100 ug/jour		
Quercitine			
Acide ascorbique			



A decorative horizontal banner with a scroll-like appearance on the left and right ends. The banner is outlined in black and contains the chapter title in bold, black, serif capital letters. A vertical line extends downwards from the left side of the banner.

CHAPITRE III
PARTIE EXPERIMENTALE

I- Caractérisation des produits

I-1- Chromatographie sur couche mince (CCM)

Ce type de chromatographie est effectuée sur feuilles d'aluminium recouvertes de gel de silice 60 F₂₅₄ et prêtes à l'emploi (Merck, épaisseur de la couche : 0,25mm). Les solvants utilisés sont indiqués dans la partie expérimentale et les produits sont visualisés à l'U.V et/ou révélés aux vapeurs d'iode.

I-2- Chromatographie sur colonne (CC)

Les extraits sont séparés sur colonne de gel de silice Merck, 60 F₂₅₄ de granulométrie 0,063-0,2mm. Les dimensions des colonnes utilisées ainsi que le choix des éluants dépendent des caractéristiques des composés à séparer.

I-3- Mesure des points de fusion

Les points de fusions sont déterminés à l'aide d'un banc Kofler et d'un Metler

I-4- Spectroscopie infrarouge (IR)

L'appareil que nous avons utilisé est un spectrographe PYE UNICAM SP3-200 (à réseau; 4000-600 cm⁻¹). Les produits liquides sont placés sous forme de film entre deux lames de NaCl.

I-5- Spectroscopie RMN

Les spectres RMN¹H ont été enregistrés sur un appareil :

* BRUCKER AC à 200 MHz.

Les spectres RMN¹³C ont été enregistrés sur BRUCKER AC à 260 MHz. Le solvant utilisé est le chloroforme deutéré et les références internes utilisées sont le TMS et le HMDS. Les abréviations utilisées dans la description des spectres sont les suivantes : s : singulet; t : triplet; m : multiplet; ma: massif.

I-6- Absorption atomique :

Appareil : Aanalyst 300 PerkinElmer

Lampe: cathodique HCl

Zn : $\lambda=213,9$ nm ; Cu : $\lambda=324,8$ nm ; Fe: $\lambda=248,8$ nm

I-7- Photométrie à flamme :

Appareil "JEWAY".

Etalon dilué au 1/200

}	10 m mol/K
	180 m mol/Na

II- Réactifs de caractérisation

II-1- Alcaloïdes

* Réactif de *Mayer* :

Dissoudre 1,358 g de $HgCl_2$ dans 60 ml d'eau . Dissoudre 5 g de KI dans 10 ml d'eau. Mélanger les deux solutions puis ajuster le volume total à 100 ml d'eau. Les alcaloïdes donnent avec ce réactif un trouble plus un précipité blanc.

* Réactif de *Wagner* :

Dissoudre 2 g de KI et 1,27 g de I_2 dans 75 ml d'eau. Ajuster le volume total à 100 ml d'eau. Les alcaloïdes donnent avec ce réactif un précipité brun.

* Réactif de *Dragendorff* :

Dans une fiole jaugée de 1 L, introduire successivement 20,80 g de bismuth finement pulvérisé, 38,10 g d'iode, 200 g d'iodure de potassium anhydre et 600 ml d'eau. Agiter pendant 30 mn, lorsque tout le bismuth est dissous, compléter le volume d'un litre avec de l'eau distillée. Mélanger et filtrer. Ce réactif donne avec les alcaloïdes un précipité rouge orangé.

II-2- Stéroïdes et hétérosides stéroïdiques et triterpéniques

* Réaction de *Liebermann Burchardt* :

Mélanger 5 ml de solution à tester avec 5 ml d'anhydride acétique et quelques gouttes d'acide sulfurique concentré. Agiter et laisser la solution reposer 30 mn à 21°C. Les stéroïdes donnent avec cette réaction une coloration violacée fugace virant au vert. D'autre part, cette réaction donne avec les hétérosides stéroïdiques et tritèrpéniques respectivement des colorations vert-bleu et vert-violet.

II-3- Saponosides

* *Indice de mousse* :

Dans une série de 10 tubes à essai de 16 cm de haut et de 16 mm de diamètre on verse successivement 1, 2, 3, ,10 ml d'une solution de saponosides de titre connu ou d'un décocté à 1% préparé par ébullition modérée des écorces pendant 30 minutes. Ajuster le volume de liquide à 10 ml avec de l'eau distillée et agiter dans le sens

de la longueur du tube pendant 15 secondes. Laisser reposer 15 minutes avant de mesurer la hauteur de la mousse. Si elle est inférieure à 1cm dans tous les tubes, l'indice est inférieur à 100. Si elle est de 1cm dans l'un des tubes, la dilution du saponosides ou de la drogue exprime l'indice de mousse.

* **Réaction de Tschugajew :**

Un fragment de chlorure de zinc donne en présence d'une solution chloroformique de saponosides mélangée à un excès de chlorure d'acétyle, à chaud, une coloration rouge de fluorescence jaune verdâtre.

* **Réaction de Noller, Smith, Harris et Walker :**

Les saponosides donnent une coloration rouge avec le chlorure de thionyle en présence de chlorure stannique.

* **Réaction de Hirschsohn :**

Avec l'acide trichloroacétique, à chaud, la coloration varie du jaune au rouge.

II-4- Anthraquinones, anthracénosides et émodols

* **Réaction de Bornträger :**

En milieu alcalin aqueux ces composés donnent à la solution une teinte vive variant, selon la structure et les substituants de la quinone, de l'orangée rouge au violet pourpre plus ou moins violacée.

II-5- Composés réducteurs

* **Liqueur de Fehling :**

La liqueur de **Fehling** est un mélange de deux solutions:

- Fehling A: dissoudre 5 g de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ dans 50 ml d'eau distillée.
- Fehling B: dissoudre 6,5 g de NaOH, 17,3 g de tartrate de sodium et potassium dans 35 ml d'eau distillée puis compléter le volume à 50 ml.

Les composés réducteurs donnent avec le réactif de **Fehling** un précipité rouge brique.

* *Réaction de Keller-Kiliani* :

L'addition de 5 ml d'acide sulfurique concentré contenant des traces de sels ferriques à une solution de volume 5 ml d'hétérosides dans l'acide acétique concentré contenant également des sels ferriques conduit à la formation d'un anneau brun-rouge. La solution acétique se colore lentement en bleu-vert.

II-6- Amidon

* *Réactif d'amidon* :

Dissoudre 1,2 g d'iode dans 50 ml d'eau distillée contenant 2,5 g d'iodure de potassium. Chauffer pendant 5 mn. Diluer jusqu'à 500 ml. Chauffer 5 ml de la solution à tester avec 10 ml d'une solution de NaCl saturée dans un bain-marie jusqu'à ébullition. Ajouter le réactif d'amidon. Un test positif est révélé par l'apparition d'une coloration bleu-violacée.

II-7- Ergolines

* *Réaction de Van Urk* :

L'addition du p-diméthylaminobenzaldéhyde en milieu acide à la solution d'ergolines donne une coloration bleu .

III- Examen phytochimique

Le but essentiel de l'examen phytochimique est la détection des classes de composés existants dans la plante étudiée. Ceci constitue la première étape dans la recherche des molécules à activités thérapeutiques.

Les tests physicochimiques sont basés sur:

- Essais de solubilité, notamment dans l'eau, l'éthanol et l'éther diéthylique.
- Réactions de coloration et de précipitation aisément réalisables dans des tubes à essai.
- Examen en lumière ultraviolette.

III-1- Produit végétal épuisé avec l'éthanol

Dans un ballon monocol, surmonté d'un réfrigérant, mettre 35 g de matériel végétal pulvérisé en présence de 150 ml d'éthanol. Porter à reflux pendant 1h. Filtrer le mélange, ensuite soumettre l'extrait éthanolique aux tests suivants:

♦ *Alcaloïdes sels:*

Deux essais ont été réalisés:

* Evaporer 25 ml de l'extrait éthanolique à sec. Ajouter 5ml d'HCl 2N au résidu et chauffer dans un bain marie. Filtrer le mélange puis diviser le filtrat en deux parties égales. Traiter la première avec quelques gouttes du réactif de **Mayer** et la seconde avec le réactif de **Wagner**.

Observation : Présence de turbidité ou précipitation.

(+) est enregistré si le réactif produit une légère opacité;

(++) est enregistré si le réactif produit une turbidité et non une floculation;

(+++ est enregistré si le réactif produit une floculation ou un précipité lourd.

* Evaporer 20 ml de la solution éthanolique. Ajouter 5ml d'HCl 10% au résidu et chauffer dans un bain marie. Filtrer le mélange et le basifier avec quelques gouttes d'une solution de NH₄OH 10% jusqu'à pH 9. Extraire la solution avec l'éther diéthylique ensuite concentrer à

sec. Dissoudre le résidu dans du HCl 2%. Caractériser les alcaloïdes avec le réactif de **Mayer**. Un test positif est révélé par l'apparition d'un précipité blanc jaunâtre.

◆ Flavonoïdes:

Traiter 5ml d'extrait alcoolique avec quelques gouttes d'HCl concentré et 0,5g de tournures de magnésium. La présence des flavonoïdes est mise en évidence si une couleur rose ou rouge se développe dans l'espace de 3mn.

◆ Stérols et stéroïdes :

Deux essais ont été effectués:

1^{er} essai :

Evaporer 10ml d'extrait alcoolique. Traiter le résidu obtenu avec 10 ml de chloroforme anhydre puis filtrer. Mélanger 5ml de la solution chloroformique avec 5ml d'anhydride acétique. Ajouter quelques gouttes d'acide sulfurique concentré. Agiter puis laisser reposer. Un test positif est révélé par l'apparition d'une coloration violacée fugace virant au vert(maximum d'intensité en 30 mn à 21°C).

2^{ème} essai :

Evaporer l'extrait alcoolique correspondant à 10 ml puis dissoudre le résidu obtenu dans 0,5 ml d'anhydride acétique et 0,5 ml de chloroforme. Traiter le filtrat avec la réactif de **Liebermann Burchardt**. Une coloration bleue-verte apparaît indique la présence des hétérosides stéroïdiques.

◆ Tanins :

Trois essais ont été réalisés :

1^{er} essai :

Evaporer à sec 25 ml d'extrait éthanolique. Dissoudre le résidu avec 10 ml d'une solution chaude de NaCl à 0,9%. Filtrer et diviser le filtrat en deux parties. Traiter la première avec quelques gouttes de solution de $FeCl_3$ (2 %) et prendre la deuxième comme témoin. Un test positif est confirmé par l'apparition d'une coloration bleu, bleu -

noir, verte ou bleu-verte selon que les tanins sont cathéchiques, galliques ou éllagiques . Ces colorations sont accompagnées de précipités.

2^{ème} essai :

A 1 ml de solution alcoolique, ajouter 2 ml d'eau et 2 à 3 gouttes de solution de FeCl_3 diluée. Un test positif est révélé par l'apparition d'une coloration bleu - noir et un précipité.

3^{ème} essai :

Mettre dans un ballon bicol surmonté d'un réfrigérant et d'une ampoule à addition, 5 g de KNO_2 et ajouter, goutte à goutte à $T = 0^\circ\text{C}$, 15ml d' HCl concentré. Barboter du HNO_2 résultant dans la solution à tester (milieu acétique). Les tanins éllagiques donnent un test positif qui est révélé par l'apparition d'une coloration rose qui vire au pourpre et enfin au bleu.

◆ Composés réducteurs :

Deux essais ont été faits:

1^{er} essai :

Traiter 1 ml de l'extrait éthanolique avec le réactif de **Keller-Kiliani**. Un test positif est révélé par la formation d'un anneau brun-rouge et la solution acétique se colore lentement en bleu-vert.

2^{ème} essai :

Traiter 1 ml de l'extrait éthanolique avec 2 ml d'eau distillée et 20 gouttes de la liqueur de Fehling puis chauffer. Un test positif est révélé par la formation d'un précipité rouge-brique.

Concernant les tests de caractérisation des anthracénosides, coumarines et anthocyanosides nous avons procédé aux étapes suivantes:

En premier lieu, prendre 25 ml de l'extrait éthanolique en présence de 15 ml de HCl 10%, porter à reflux pendant 30 mn. Refroidir la solution et l'extraire 3 fois avec 15 ml d'éther. Traiter les deux phases séparément.

♦ Anthracénosides :

Traiter 8 ml de la solution extractive étherée par le réactif de **Borntrager**. un test positif est révélé par l'apparition d'une teinte vive variant de l'orangé-rouge au violet-pourpre.

♦ Coumarines:

Deux essais ont été faits:

1^{er} essai :

Evaporer 5 ml de la solution extractive étherée. Dissoudre le résidu dans 1 à 2 ml d'eau chaude. Diviser le volume en deux parties. Prendre le demi volume comme témoin et ajouter à l'autre volume 0,5 ml de NH_4OH (10%). Mettre deux taches sur un papier filtre et les examinées sous la lumière U.V . Une fluorescence intense indique la présence des coumarines.

2^{ème} essai :

Placer 1 g 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. Procéder de la même manière que - a - pour confirmer ou infirmer la présence des coumarines.

♦ Anthocyanosides :

Doser la solution aqueuse acide avec du NaOH. S'il y a un virage de couleur à pH différent ceci indique la présence des anthocyanosides.

- $\text{pH} < 3$ la solution prend une coloration rouge.

- $4 < \text{pH} < 6$ la solution prend une coloration bleu.

III-2- Produit végétal épuisé avec de l'eau à chaud

Dans un ballon surmonté d'un réfrigérant, mettre 35 g d'écorces broyées en présence de 100 ml d'eau. Porter l'ensemble à reflux pendant 1h. Filtrer le mélange et soumettre l'extrait aqueux aux différents tests.

◆ Amidon :

Traiter 2 ml de solution avec le réactif d'amidon. L'apparition d'une coloration bleu violacée indique la présence d'amidon.

◆ Polyuronides :

Ajouter à 2 ml de la solution aqueuse, 10 ml d'éthanol et 4 à 5 gouttes d'hématoxiline. L'obtention d'un précipité violet note la présence des Polyuronides.

◆ Composés réducteurs :

Ajouter à 1 ml de solution 5 à 8 gouttes de liqueur de Fehling, chauffer la solution. Un précipité rouge brique marque la présence des hydrates de carbones.

◆ Saponosides :

Deux essais ont été effectués:

1^{er} essai :

Ajouter à 1 ml de la solution aqueuse un peu d'eau et ensuite agiter d'une manière forte. Une écume persistante confirme la présence des Saponosides.

2^{ème} essai :

Traiter l'échantillon de la plante avec l'eau bouillante. Refroidir puis agiter vigoureusement l'extrait obtenu jusqu'à la formation d'une mousse puis abandonner le mélange pendant 20 mn et classer la teneur en Saponosides:

- Pas de mousse = Test négatif
- Mousse moins de 1 cm = test faiblement positif
- Mousse de 1-2 cm = test positif
- Mousse plus de 2 cm = test très positif

♦ Les tanins :

Traiter 1 ml de la solution avec 1 ml d'eau et 1 à 2 gouttes de solution diluée de FeCl_3 . L'apparition d'une coloration verte foncée ou bleu verte indique la présence des tanins.

♦ Alcaloïdes sels :

D'autre part prendre 25 ml de l'extrait aqueux plus 15 ml de HCl (10%), porter l'ensemble à reflux pendant 30 mn, refroidir le mélange et l'extraire 3 fois avec de l'éther. Décanter et effectuer les tests sur les deux phases:

♦ Anthraquinones :

Bouillir 1 g d'échantillon de la plante pendant quelques minutes en présence de 10 ml de KOH 0,5 N auxquelles est ajoutée 1 ml de H_2O_2 diluée 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 NH_4OH . Une réaction positive est révélée par la formation d'une couleur rouge au niveau de la couche alcaline.

♦ Ergolines :

Traiter 5 ml de la solution aqueuse avec la réaction de **Van-Urk**. Un test positif est révélé par l'apparition d'une coloration bleu.

III-3- Produit végétal épuisé avec l'éther diéthylique

Dans un ballon, surmonté d'un réfrigérant à reflux, mettre 35 g de feuilles pulvérisées en présence de 150 ml d'éther diéthylique. Porter l'ensemble à un léger chauffage pendant 1h. Filtrer le mélange et le soumettre aux différents tests.

♦ Huiles volatiles:

Evaporer 20 ml de solution, le résidu ainsi obtenu est dissout dans l'éthanol. La solution éthanolique obtenue est ensuite concentrée à sec. Un test positif est révélé par l'obtention d'un résidu arôme. Concernant le résidu gras, ce dernier est saponifié, à la fin de la réaction ajouter un peu d'eau et extraire la solution avec l'éther diéthylique.

♦ Acides gras :

Acidifier la solution aqueuse alcaline, puis l'extraire avec l'éther diéthylique. La solution étherée est ensuite concentrée à sec. Un test positif est révélé par l'obtention d'un résidu gras.

♦ Stérols et Stéroïdes :

Concentrer la solution étherée insaponifiable à sec. Traiter le résidu obtenu avec la réaction de **Liebermann Burchardt**. Un test positif est révélé par l'apparition d'une coloration verte-violette ou verte-bleu.

♦ Alcaloïdes bases :

Evaporer 10 ml de solution étherée, dissoudre le résidu obtenu dans 1,5 ml de HCl 2%. Ajouter à la solution aqueuse alcaline 1 à 2 gouttes du réactif de **Mayer**. la formation d'un précipité blanc jaunâtre indique la présence des alcaloïdes bases.

♦ Emodols :

Evaporer 3 ml de l'extrait étherée. Dissoudre le résidu dans 1 ml de NH_4OH . Ensuite traiter la solution avec la réaction de **Bornträger**. Un test positif est révélé par l'apparition d'une teinte vive variant de l'orangé rouge au violet pourpre.

IV- Extractions sélectives

IV-1- Dégraissage du matériel végétal

* *Extraction en continue :*

Avec l'utilisation de l'appareil de soxhlet, extraire 100 g d'écorces broyées en présence d'éther de pétrole tout en chauffant pendant 2h. Ensuite évaporer le solvant. Le résidu obtenu sous forme d'un résidu gras représente la matière grasse.

* *Extraction discontinue :*

Dans un ballon de 500 ml surmonté d'un réfrigérant à reflux, mettre 100g d'écorces broyées en présence de 150 ml d'éther de pétrole. Porter l'ensemble à reflux pendant 2h. Filtrer le marc. Ensuite évaporer le solvant. Le résidu obtenu sous forme d'un résidu gras représente la matière grasse.

IV-2- Séparation des acides gras

Dans un ballon de 250 ml surmonté d'un réfrigérant à reflux, mettre 3,41g du résidu gras obtenu après dégraissage du matériel végétal, 15 ml d'éthanol, 15 ml d'eau et 3 g de hydroxyde de sodium en pastilles. Porter l'ensemble à reflux pendant 45 mn. Evaporer l'éthanol ensuite traiter la solution avec 15 ml d'éther diéthylique. Décantier et acidifier la phase aqueuse avec HCl concentré. Extraire cette dernière avec 20 ml d'éther diéthylique. Evaporer. Un résidu d'acides gras est obtenu.

IV-3- Estérification des acides gras

Dans un ballon de 250 ml surmonté d'un réfrigérant à reflux, mettre 3g d'acides gras en présence de 25 ml de méthanol. Ajouter goutte à goutte à l'aide d'une ampoule à addition 1 ml d'acide sulfurique concentré. Porter l'ensemble à reflux pendant 2h. Faire écouler le mélange dans une ampoule à decanter contenant 50 ml d'eau glacée. Extraire la phase aqueuse avec du chloroforme. Décantier et sécher la phase organique sur CaSO_4 anhydre. Enfin évaporer le solvant. Un résidu d'esters méthyliques est obtenu.

IV-4- Extraction des alcaloïdes

Deux méthodes sont utilisées pour l'extraction des alcaloïdes en milieu acide :

Méthode 1

Dans un ballon bicol de 500 ml surmonté d'un réfrigérant, mettre 90g d'écorces dégraissées en présence de 250 ml de HCl(2%) et 110 ml de l'acétate d'éthyle. Porter l'ensemble à macération à température ambiante pendant 10h. Filtrer le mélange et basifier la phase aqueuse acide avec du NH_4OH . La phase aqueuse basique est ensuite extraite plusieurs fois avec l'acétate d'éthyle. L'opération est répétée autant de fois jusqu'à ce que la phase aqueuse ne contienne plus d'alcaloïdes (ce qui peut se vérifier aisément par la négativité de la réaction de **Mayer** effectuée sur la phase aqueuse).

Le solvant organique contenant les alcaloïdes est décanté, débarrassé des traces d'eau qu'il peut renfermer par déshydratation sur (MgSO_4). Evaporer le solvant. Il reste alors un résidu sec des alcaloïdes totaux [118].

Méthode 2

Dans un ballon de 500 ml mettre 100g d'écorces dégraissées en présence de 1l de méthanol, porter l'ensemble à macération à température ambiante pendant 10h Filtrer le mélange et évaporer la phase organique, le résidu obtenu est traité avec HCl (5%, 500 ml).Filtrer la solution limpide obtenue et laisser à température ambiante pendant une nuit. Filtrer le précipité obtenu (fr.A). La solution acide est extraite avec du CH_2Cl_2 (3×50 ml).L'extrait organique est séché puis concentré pour donné la fr.B. La solution acide est basifiée (pH 8-9) avec du NH_4OH (cc). Extraire avec du CHCl_3 (8×200 ml).Evaporer le solvant pour donner la Fr.C. La solution aqueuse est ajustée à pH 3-4 avec du HCl (cc), ajouter le réactif de Mayer, filtrer le précipité obtenu et le rincer avec de l'eau froide. Mettre le précipité dans une suspension $\text{CH}_3\text{OH}/\text{H}_2\text{O}$, ajouter de l'amberlite (IRA400, cl-).

La résine est ensuite filtrée et la solution est concentrée pour donner la Fraction D.

IV- 5- Extraction des saponosides

Dans un ballon de 500 ml surmonté d'un réfrigérant à reflux, mettre 105g d'écorces broyées et dégraissées en présence de 280 ml d'eau distillée et 120 ml d'éthanol 96%. Porter l'ensemble à reflux pendant 8h. Filtrer le marc et extraire le filtrat avec 4x50 ml de n-butanol. Evaporer l'éthanol et l'eau. Concentrer la phase organique et précipiter les saponosides par l'ajout de 15 ml d'éther diéthylique.

IV- 6- Extraction des Tannins

Dans un ballon de 500 ml surmonté d'un réfrigérant à reflux, mettre 100 g d'écorces broyées et dégraissées en présence de 250 ml d'eau distillée et 160 ml d'acétone. Porter l'ensemble à une macération pendant 4 jours. . Filtrer et après élimination de l'acétone, extraire la solution deux fois avec 50 ml de dichlorométhane afin d'éliminer les pigments et les lipides. Décanté et extraire la phase aqueuse quatre fois avec 50 ml d'acétate d'éthyle. Sécher la phase organique sur Na_2SO_4 ensuite évaporer le solvant à sec.

V- Tests biologiques

V-I- Matériels

V-I-1- Animaux

Dans ce travail, nous avons utilisé des rats blancs albinos mâles et femelles de type *Wistar* de souche «*Rattus norvegicus*» âgés de 4 à 6 mois et ayant un poids variant de 145g à 350g. et des souris «*Mus musculus*»

Ces animaux sont répartis en 3 groupes :

N°du groupe	Nombres de lots	Type de lots	Nombre de rats
Groupe I	2	Normaux témoins	5
		Diabétiques témoins	5
Groupe II	2	Normaux traités par l'extrait brut	6
		Diabétiques traités par l'extrait brut	5
Groupe III	2	Normaux traités par les saponosides	5
		Diabétiques traités par les saponosides	6

Les rats sont gardés dans des cages en métal selon le sexe. Ces cages sont placées dans l'animalerie à une température de 25-30°C et sous un taux d'humidité compris entre 60% et 70%.

Ces animaux sont nourris avec un aliment de commerce fabriqué par **(C.A.O. ORAVIO, Mostaganem)** contenant du : maïs, tourteaux de soja, blé fourrager, calcaire, phosphates, sel, acides aminés, oligo-éléments, polyvitamines, antioxydant, facteur de croissance (antibiotiques), et boivent de l'eau de robinet à volonté.

V-I-2- Matériel végétal

L'étude a portée sur l'écorce du *Berberis vulgaris* L.

A) Préparation des extraits

a- Extrait brut

Dans un ballon bicol de 250ml surmonté d'un réfrigérant à reflux, mettre 50g d'écorce de racine du *Berberis vulgaris* L. en

présence de 1000ml d'eau distillée. Porter l'ensemble à reflux pendant 8h. Filtrer le mélange, et centrifuger le filtrat afin d'éliminer le maximum du marc. Garder l'extrait aqueux de concentration massique 50g/l dans un tube à froid (4-5°C).

Avant son injection aux rats, l'extrait est dilué dans le sérum physiologique à raison de 4,16g/kg .

b- Extrait des saponosides

L'extrait des saponosides a été préparé selon la méthode mentionnée dans la partie expérimentale. La 1^{ère} dose injectée est de 0,25 g/kg.

V-II- Protocole expérimental

V-II-1- Détermination de la dose létale

a) Détermination de la dose létale de l'extrait brut de *Berberis vulgaris*

Injecter en intrapéritonéale aux souris une dose de 0,625g/Kg de l'extrait aqueux d'écorces des racines de la plante étudiée préparé selon plusieurs concentrations à partir de la solution mère (50g/l).

b) Détermination de la dose létale des saponosides

Injecter aux souris une dose de 0,175g/Kg de l'extrait aqueux des saponosides préparés selon plusieurs concentrations.

V-II-2- Préparation de la streptozotocine :

100mg de la streptozotocine sont dissous dans 20ml eau physiologique NaCl 9% .

V-II-3- Induction du diabète chez les rats (diabète non insulino-dépendant DNID)

Dans cette étape, on a injecté par voie intrapéritonéale une dose de 65 mg/Kg de la streptozotocine.

V-II-4- Traitement

a) Traitement avec l'extrait brut aqueux de *Berberis vulgaris*

Après provocation du diabète chez les rats. Injecter par voie intrapéritonéale une dose de 0,062g/Kg d'extrait aqueux d'écorces des racines de la plante étudiée (dose létale diluée au 1/10).

b) Traitement avec l'extrait aqueux des saponosides

Après provocation du diabète chez les rats. Injecter par voie intrapéritonéale une dose de 0,024g/Kg d'extrait aqueux d'écorces des racines de la plante étudiée (dose létale diluée au 1/7).

V-II-5- Prélèvements sanguins

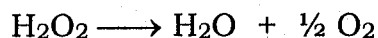
Le sang est prélevé chaque semaine sur l'animal vivant à jeun à l'aide d'une pipette pasteur coupée droite héparinée, au niveau de sinus rétro-orbital puis il est introduit dans des tubes à hémolyses ensuite il est centrifugé à 3000 tours/mn pendant 15 mn.

Le plasma est stocké dans des tubes à hémolyse à une température de -20°C en vue des dosages de la glycémie. La mesure de cette dernière est faite selon différentes étapes (voir annexe).

Glycémie

Elle est mesurée à jeun chez tous les animaux avant tout traitement.

Le dosage du glucose se fait par la méthode enzymatique à la glucose oxydase (voir annexe). Cet enzyme oxyde le glucose en acide gluconique avec formation d'eau oxygénée qui se décompose selon la réaction suivante:



Sous l'influence d'un peroxyde, l'oxygène libéré oxyde un leucodérivé incolore et donne une coloration proportionnelle à la quantité du glucose initialement présent.

A decorative horizontal scroll border with rounded ends and a small circular detail at the top right corner, framing the chapter title.

CHAPITRE IV

RESULTATS ET DISCUSSION

I- Examen phytochimique : Résultats et interprétations

I-1- Introduction

La partie de la plante utilisée dans cette étude est l'écorce achetée auprès des herboristes de la wilaya de Tlemcen; Les écorces sont finement broyées avant utilisation.

Au cours de l'examen phytochimique, trois solvants de polarités différentes (eau, éther diéthylique, éthanol) sont employés pour l'extraction des différentes familles de composés chimiques.

La méthode d'extraction consiste à projeter l'échantillon de la plante par petites quantités dans l'un des solvants d'extraction. Le mélange est ensuite porté à ébullition, ce qui permet d'extraire tous les principes actifs de la plante.

I-2- Tests phytochimiques

Les résultats des tests phytochimiques effectués sur l'écorce de *Berberis vulgaris* L. épuisée par l'éthanol, l'eau et l'éther diéthylique sont représentés dans le tableau suivant.

Tableau 11 : résultats de l'examen phytochimique

FAMILLE DE COMPOSES	RESULTATS
Alcaloïdes	+
Tanins	+
Saponosides	+
Huiles volatiles	+
Stérols	+
Composés réducteurs	+
Anthocyanosides	+
Anthracénosides	+
Anthraquinones	+
Amidon	-
Emodols	-
Flavonoïdes	-

+ : Test positif. - : Test négatif.

I-3- Interprétation des résultats

Les tests phytochimiques consistent à détecter les différentes familles de composés existantes dans la partie étudiée de la plante par des réactions qualitatives de caractérisation basée sur des phénomènes de précipitation ou de coloration par des réactifs spécifiques à chaque famille de composés. En effet, ces réactions se traduisent par l'apparition d'une turbidité, floculation ou changement de couleur qui nous renseigne sur la nature des familles existantes dans la plante.

Les résultats expérimentaux montrent la présence des alcaloïdes dans la partie étudiée de la plante. Etant donné que les tests sont positifs, les résultats expérimentaux tels que l'opacité, la turbidité, la floculation ainsi que la précipitation peuvent nous renseigner sur la force de basicité des alcaloïdes. Cette dernière est très variable, elle est étroitement fonction de la disponibilité du doublet libre de l'azote et permet de former des sels avec des acides minéraux tels que l'acide chlorhydrique ou avec les acides organiques tels que l'acide tartrique.

Les résultats mentionnés dans le tableau précédent résumant les résultats de l'examen phytochimique, montrent que les stérols, les saponosides, les coumarines, les anthocyanosides, les anthra-cénosides, les anthraquinones et les tanins sont présents dans la partie étudiée de la plante.

L'apparition d'une couleur verte suite à l'addition de l'acide sulfoacétique à l'extrait de la plante appelée réaction de **Liebermann Burchardt**, nous renseigne sur la présence d'un dérivé stéroïdique.

Une réaction positive avec une solution de chlorure ferrique confirmée par une coloration bleue-verte caractéristique des tanins.

Le test mettant en jeu la liqueur de **Fehling**, donne un précipité rouge brique, ce qui confirme la présence des composés réducteurs.

Le test de mise en évidence des anthocyanosides est réalisé par le suivi du changement de coloration en pratiquant un simple dosage avec une solution basique. Une teinte vive varie selon la structure et

les substituants de la quinone, de l'orangée rouge au violet pourpre plus au moins violacée.

D'autre part, il est à mentionner que les flavonoïdes, l'amidon et les émодols sont totalement absents dans la partie étudiée de la plante.

I-4- Conclusion

Le criblage phytochimique basée sur des tests spécifiques a permis de caractériser les différentes familles de composés chimiques existantes dans la plante. En effet, il est prouvé que les alcaloïdes, les stéroïdes et les tanins sont présents en quantités importantes. Cependant, les flavonoïdes, l'amidon et les emodols sont totalement absents dans la partie en question.

Ces familles de composés peuvent être à l'origine de la découverte d'agents thérapeutiques. Dans cette optique la mise en œuvre des techniques d'extraction, purification, séparation et de recristallisation éventuelle et d'identification devra permettre la découverte des principes actifs.

II- Extractions

II-1- Introduction

Après la mise en évidence des différentes familles de composés dans la partie étudiée de la plante, nous avons ciblé les familles qui sont prépondérantes dans cette dernière et dont leurs analogues isolées d'autres plantes possèdent des activités thérapeutiques comme la Coloquinte [29].

La deuxième étape de notre travail consiste à extraire ces différentes familles selon des méthodes d'extractions sélectives.

II-2- Rappels théoriques

L'isolation d'une substance naturelle ou synthétique nécessite souvent une extraction avec un solvant organique ou minéral. Il y a en général deux types d'extraction :

- l'extraction liquide - liquide continue et discontinue,
- l'extraction solide - liquide continue et discontinue.

Dans ce travail, nous avons eu recours à l'extraction solide - liquide continue et discontinue.

L'extraction des solides exige que la substance souhaitée ne soit qu'adsorbée à la surface du solide. En plus, le processus nécessite un long contact du solvant avec le solide. C'est pourquoi, l'extraction continue est souvent préférée par rapport à la méthode discontinue. En outre, la diffusion du composé à extraire vers l'extérieur du solide étant un phénomène lent. Pour cela, la pulvérisation du matériau avant l'extraction est plus que nécessaire [66].

II-2-1- L'extraction solide - liquide discontinue

La macération est un procédé discontinu qui consiste à laisser tremper le solide dans un solvant à température ambiante, chaud ou à l'ébullition, pour en extraire les constituants solubles. Après filtration, le résidu peut être remis dans le récipient d'extraction avec une nouvelle portion de solvant. Au besoin, le processus est répété plusieurs fois.

Cette méthode présente l'avantage d'être rapide, surtout avec les solvants à ébullition, mais le processus d'extraction n'est pas toujours très efficace. La période de trempage du solide dans le solvant varie généralement de quinze à trente minutes. La quantité de solvant nécessaire est environ dix à vingt fois la masse d'échantillon traité .

II-2-2- L'extraction solide - liquide continue

L'extraction continue est un procédé beaucoup plus long que l'extraction discontinue, mais elle a l'avantage d'être plus complète. Les méthodes habituelles mettent en jeu la macération, la percolation (lixiviation) ou l'entraînement à la vapeur.

La percolation consiste à faire passer lentement un solvant à travers une couche de substance pulvérisée, habituellement contenue dans une cartouche de papier épais et poreux ou une pochette de papier filtre. L'extracteur de **Soxhlet** est un appareil spécialement conçu pour l'extraction continue solide - liquide. L'avantage de cet extracteur est que le solvant condensé s'accumule dans un réservoir à siphon, ce qui augmente la durée du contact entre le solvant et le produit à extraire. Quand le solvant atteint un certain niveau, il amorce le siphon et retourne dans le ballon en entraînant la substance dissoute [66].

II-3- Dégraissage du matériel végétal

Le matériel végétal renferme souvent des quantités appréciables de graisses, mais aussi de cires, de terpènes, de pigments et d'autres substances lipophiles qui peuvent perturber le processus extractif, notamment en induisant la formation d'émulsions. On évitera plus ou moins totalement ces problèmes technologiques en procédant à une délipidation préalable de la drogue broyée pour l'extraction de chaque famille de composés [29].

Lors du dégraissage, nous avons utilisé deux méthodes.

Méthode d'extraction	Masse du produit végétal (g)	Masse de la matière grasse (g)	Rdt. (%)
Extraction continue	150	0,45	0,3
Extraction discontinue	150	0,30	0,2

On remarque à partir des rendements que l'écorce du *Berberis vulgaris* L. sont faibles en graisse. La nature de cette dernière représente le plus souvent les acides gras. En outre, on note que la méthode d'extraction en continu est plus rentable que celle en discontinu.

II-4- Identification des acides gras

Dans le but d'identifier les acides en question, nous avons isolé puis estérifié les acides gras

Les différents essais effectués sur le résidu gras obtenu lors de l'étape de dégraissage ont permis de retenir la méthode d'isolation la plus efficace mentionnée dans la partie expérimentale.

Dans le but d'analyser le résidu d'acides gras par chromatographie en phase gazeuse, on a transformé ces acides en esters méthyliques. Car ces derniers sont des dérivés volatils à polarité atténuée relativement aux acides gras correspondants, donc les moins adsorbés sur la colonne. Les résultats obtenus sont représentés ci-dessous :

Extraits	Rdt (%)	CCM			Rf	IR (cm ⁻¹)
		Eluant	Proportion	Nombre de tâches		
Acides gras	53,33	AcOEt/CHCl ₃	34 : 66	1	0,28	-
Esters d'acide gras	42,66	AcOEt /CHCl ₃	34 : 66	2	0,30 0,43	1732,91

On remarque que le rendement d'isolation des acides gras est très important, ce qui indique que le résidu obtenu lors de l'étape de dégraissage est très riche en acides gras.

L'analyse par C.C.M révèle que l'estérification des acides gras donne facilement les esters correspondants. Vu les valeurs distinctes des facteurs de rétention.

II-5- Extraction des différentes familles

II-5-1- Extraction des alcaloïdes

L'extraction des alcaloïdes est fondée, en règle générale, sur le fait qu'ils existent habituellement dans la plante à l'état de sels. Deux modes d'extraction ont été suivies dans ce cas.

a) La méthode 1

Tableau 12 : Caractéristiques chromatographiques (CCM) des fractions A, B, C et D

Aspect physique de l'extrait	Tf. (°C)	Rdt (%)	Chromatographie sur couche mince			
			Eluant	Proportions	Nombre de tâches	Rf
Fraction A solide jaune	180-186	0,11	CH ₂ Cl ₂ / CH ₃ OH	8 : 2	03	0,82 0,61 0,30
Fraction B solide marron	186-190	0,29	CH ₂ Cl ₂ / CH ₃ OH	8 : 2	04	0,92 0,80 0,40 0,17
Fraction C solide marron	142-150	1,10	CH ₂ Cl ₂ /CH ₃ OH	8 : 2	07	0,18 0,22 0,29 0,42 0,52 0,65 0,86
Fraction D solide marron verdâtre	186-190	1,40	CH ₂ Cl ₂ /CH ₃ OH	8 : 2	04	0,12 0,34 0,69 0,81

b) Méthode 2

Tableau 13: Caractéristiques chromatographiques des alcaloïdes obtenus par la méthode 2.

Aspect physique de l'extrait	T _f (°C)	Rdt (%)	Chromatographie sur couche mince			
			Eluant	Proportion	Nombre de Taches	R _f
Solide Marron	118-120	0,58	CHCl ₃ /C ₆ H ₁₂ /CH ₃ OH	4,5: 4,5 : 1	03	0.89 0.34 0.06

L'extraction des alcaloïdes par la première méthode reste avantageuse par rapport à la méthode 2, car elle permet de regrouper les alcaloïdes de même type et par conséquent, elle constitue une bonne méthode de séparation. L'analyse du résidu obtenu dans la deuxième méthode par chromatographie sur couche mince révèle la présence de trois taches importantes.

a) Séparation des alcaloïdes par chromatographie sur colonne

Les résultats, après séparation par chromatographie sur colonne de gel de silice 0,2 mm – 0,067 mm de la majorité des fractions des alcaloïdes obtenus par la première méthode, sont regroupés dans le tableau suivant :

Tableau 14 : Caractéristiques chromatographiques (Colonne) des fractions A,B,C et D

Fraction	m brute (g)	Eluant	Fraction obtenue (g)	Nombre de taches	R _f	Rdt (%)	T _{fus} (°C)
A	1,40	CH ₃ OH/CH ₂ Cl ₂ 2:3	1,22	1	0,58	87,14	190-191
B	1,17	CH ₃ OH/CH ₂ Cl ₂ 2:3	B ₁ : 0,60	4	/	51,28	/
			B ₂ : 0,27	3	/	23,07	/
			B ₃ : 0,14	1	0,20	11,96	100-105
			B ₄ : 0,10	2	/	08,55	/
D	4,06	CH ₂ Cl ₂ /CH ₃ OH 8:2	D ₁ : 0,60	1	0,63	14,77	Visqueux
			D ₂ : 0,11	mélange	/	2,70	Liquide
			D ₃ : 2,21	mélange	/	54,43	/

La purification de la fraction D₃ par chromatographie sur colonne nous a permis d'isoler deux alcaloïdes purs. Le tableau ci-dessous regroupe les résultats obtenus.

Tableau 15 : Caractéristiques chromatographiques de la fraction D₃.

Fraction	m brute (g)	Eluant	Fraction obtenue (g)	Nombre de taches	Rf	Rdt (%)	T _{fus} (°C)
D ₃	2,21	CH ₂ Cl ₂ /CH ₃ OH/NH ₄ OH 80:20:2	D ₃₋₁ : 0,11	1	0,39	04,97	180-81
			D ₃₋₂ : 0,82	1	0,43	37,10	201,6
			D ₃₋₃ : 0,66	mélange	/	29,86	/

II-5-2- Extraction des saponosides

Vu l'existence des saponosides dans le *Berberis Vulgaris L.*, nous avons procédé à l'extraction de cette famille de composés. Les résultats obtenus sont dressés dans le tableau ci-dessous :

Tableau 16 : Caractéristiques chromatographiques (CCM) de la fraction des saponosides.

Aspect physique de l'extrait	T _f (°C)	Rdt (%)	CCM			
			Eluant	Proportion	Nbre de taches	Rf
Solide Marron-orange	122-128	2,53	CH ₃ OH/C ₆ H ₁₂ /NH ₃	5 : 5 : 0.3	03	0.69 0.30 0.08

Le produit solide obtenu représente les saponosides à génine triterpénique. La réaction de **Liebermann Burchardt** confirme la présence des saponosides.

Les résultats de l'extraction de l'écorce du *Berberis Vulgaris L.* montrent la richesse de cette dernière en saponosides. En outre, L'analyse par C.C.M du résidu révèle la présence de trois composés.

a) Séparation des saponosides par chromatographie sur colonne

L'extrait des saponosides isolé de la plante a été purifié par chromatographie sur colonne. Les résultats obtenus sont regroupés dans le tableau suivant :

Tableau 17 : Caractéristiques chromatographiques (Colonne) des saponosides.

m brute (g)	Eluant	Fraction obtenue (g)	Nombre de taches	R _f	Rdt (%)	T _f (°C)
1,05	CH ₃ OH/NH ₄ OH 5: 0,3	S ₁ : 0,09	1	0,70	8,57	Liquide
		S ₂ : 0,50	2	/	47,61	/
		S ₃ : 0,20	1	0,61	19,04	/
		S ₄ : 0,13	1	0,41	12,38	/
		S ₅ : 0,02	1	0,14	1,9	Visqueux

La technique utilisée nous a permis de séparer une fraction notée S₁ avec un rendement de 6%, plus d'autres fractions S₃, S₄ et S₅ avec des rendements assez importants.

II-5-3- Extraction des Tannins

Dans l'extraction des composés de cette famille, le produit végétal a été épuisé à température ambiante. Le résidu obtenu donne un test positif avec le réactif spécifique des tanins.

Tableau 18: Caractéristiques chromatographiques de la fraction des tanins.

Extrait Aspect physique	m (g)	Rdt (%)	T _{fus} (°C)	Analyse par C.C.M			
				Eluant	Proportion (%)	Nombre de taches	R _f
Solide de couleur jaune	0,22	0,03	/	CHCl ₃ /EtOH	75/25	7	/

L'analyse par C.C.M du résidu des tanins révèle la présence de plus de sept produits dont les tâches correspondantes sont très rapprochées.

II-6-Conclusion

Au cours de ce travail, nous sommes arrivés à extraire plusieurs familles de composés suivant des méthodes sélectives d'extraction. Les résultats montrent que l'écorce de *Berberis vulgaris L.* est très riche en saponosides, acides gras et alcaloïdes. D'autre part, les tanins marquent aussi leur présence avec des quantités légèrement inférieures. La réaction d'estérification des acides gras nous a confirmé la présence de ces derniers dans le résidu isolé lors du dégraissage du matériel végétal. En outre, la chromatographie nous a permis de séparer quatre saponosides et cinq alcaloïdes purs.

III- ANALYSES

La majorité des produits isolés ont été soumis à des méthodes spectroscopiques d'analyse . Le dosage des sels minéraux dans la partie étudiée a été effectué par le biais de l'absorption atomique et la photométrie d'émission de flamme.

III-1- Analyse des sels minéraux

L'analyse chimique joue un grand rôle en minéralogie, physiologie, sciences médicales, agronomie, etc. Afin de déterminer la teneur (en pourcentage) des constituants minéraux dans la plante à étudier, nous avons recours à cette méthode chimique qui se divise en deux parties, l'analyse qualitative et l'analyse quantitative.

a) Analyse qualitative : c'est la méthode d'identification des éléments (ou des ions) qui composent la substance étudiée.

b) Analyse quantitative : elle permet de déterminer la composition quantitative des divers éléments présents dans le corps à étudier.

III-1-1-Absorption Atomique

Nous nous sommes intéressés tout particulièrement à l'analyse qualitative. Après la calcination totale de la matière végétale, nous avons utilisé une solution aqueuse à 10 g/l pour doser le cuivre, le zinc et le fer.

Tableau 19 : teneurs en métaux (Cu, Zn, Fe)

Eléments à doser	Dose (ppm)
Cu	0,113
Zn	0,293
Fe	0,976

III-1-2-Analyse par Photomètre à flamme

Pour le dosage du sodium et du potassium, l'échantillon calciné a été analysé par un photomètre de flamme. Les résultats obtenus sont regroupés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 20 : teneurs en métaux (Na, K)

Eléments à doser	Dose (Γ mol)
Na	70,9
K	42,3

III-2- Analyses spectrales**III-2-1- Analyse des esters méthyliques d'acides gras**

Dans le but d'identifier l'ester méthylique obtenu par estérification de la fraction d'acides gras obtenue lors du dégraissage de la matière végétale, nous avons utilisé l'infrarouge à transformée de Fourier et la résonance magnétique nucléaire (^1H et ^{13}C). L'interprétation des spectres obtenus est dressée dans les tableaux ci-dessous.

Tableau 21: Caractéristiques spectrales en RMN ^1H de la fraction «esters méthyliques».

RMN du proton-200MHz								
δCDCl_3 (ppm)	0,87-0,88	1,25-1,30	1,60	2,02	2,29	2,76	3,65	5,33-5,35
multiplicité	s(3)	m(18)	m(2)	m(2)	t(2)	m(1)	s(3H)	m(2H)
J (Hz).	/	/	/	/		/	/	/
Attribution	CH_3	CH_2	CH_2	CH_2	CH_2	CH_2	OCH_3	$\text{CH}=\text{CH}$

Tableau 22 : Caractéristiques spectrales en RMN ¹³C de la fraction «esters méthyliques».

RMN ¹³ C 300MHz					
δ CDCl ₃ (ppm)	14 -14,20	22,52-34,06	51,34	121,60-151,50	174,20
multiplicité	3C	25C	1C	12C	1C
Attribution	<u>C</u> H ₃	<u>C</u> H ₂	COO <u>C</u> H ₃	<u>C=C</u>	<u>COO</u> C ₃

Tableau 23 : Caractéristiques spectrales en IR de la fraction «esters méthyliques».

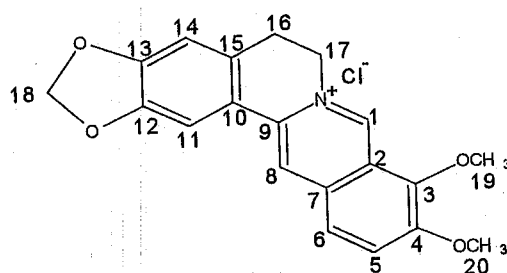
IR (4000-600 cm ⁻¹)								
ν(cm ⁻¹)	3025	2926,01	2847,77	1457,03	1435,57	3025	1732,91	1171,40 1196,62
Attribution	CH=CH	CH ₃	CH ₂	CH ₂	CH ₃	C=C	COOMe	COOCH ₃

III-2-2- Analyse des alcaloïdes

Au cours de notre travail, nous avons pu séparer par chromatographie sur colonne cinq alcaloïdes purs qui ont été soumis à des analyses spectroscopiques. Nous nous sommes limités seulement à interpréter les fractions notées A et D₃₋₂. Les différents résultats sont dressés dans les tableaux ci-dessous.

a) Pour la fraction A

D'après les données spectrales de la littérature [118], la **fraction A** correspond au chlorure de Berberine (alcaloïde quaternaire) de structure suivante :



* **Analyse par RMN ¹³C****Tableau 24** : Caractéristiques spectrales en RMN ¹³C de la fraction A.

RMN ¹³ C 300MHz						
δ DMSO(ppm)	28,61	57,62	58,07	62,99	104,08	106,95-152,56
multiplicité	1C	1C	1C	1C	1C	15C
Attribution	C ₁₆	C ₁₇	C ₂₀	C ₁₉	C ₁₈	C aromatiques

* **Analyse par RMN ¹H****Tableau 25** : Caractéristiques spectrales en RMN ¹H de la fraction A.

RMN du proton-200MHz									
δCD ₃ OD (ppm)	9,65-9,85	8,6-8,8	7,9 et 8,1	7,6	6,9	6-6,2	4,85-5	4-4,2	3,2
Multiplicité et Intégration	s (1H)	s (1H)	2 d ; 2H	s (1H)	s (1H)	s (2H)	q(2H)	s(6H)	m; 2H
J (Hz).	/	/	8	/	/	/	/	/	/
Attributions	H1	H8	H5-H6	H11	H14	H18	H17	H19-H20	H16

* **Analyse par IR****Tableau 26** : Caractéristiques spectrales en IR de la fraction A.

IR (4000-600 cm ⁻¹)							
ν(cm ⁻¹)	3057,97	2949,27 1363,40	2869,56 1495,70	1600,11	1556-1600	1272,89	1104,79
Attributions	Sel amine	CH ₃	CH ₂	C=C aromatique	Système aromatique substitué	C-O-C aryle	C-O-C aliphatique

Tableau 27 : Quelques propriétés physico-chimiques de la fraction A.

Fraction	Aspect Couleur	Rf	T _{fus} (°C)	UV λ _{max.} (nm)	Solubilité dans l'eau	[α] _D à 20 °C (°)
Fr.A isolée	Solide jaune	0,90	190,5	275 ; 344	Peu soluble	+12 (C = 0,25 dans l'acétone)

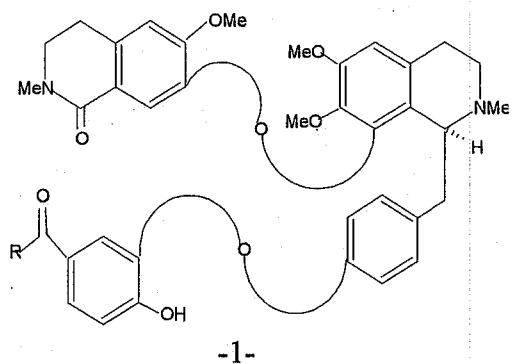
* **Etude comparative**

En comparant l'aspect, la couleur, la température de fusion, les données spectrales RMN ¹H, RMN ¹³C et les λ_{max.} avec les données de la littérature, la fraction A correspond bien au chlorure de berberine.

Tableau 28 : caractéristiques physiques de la berberine obtenue de divers travaux

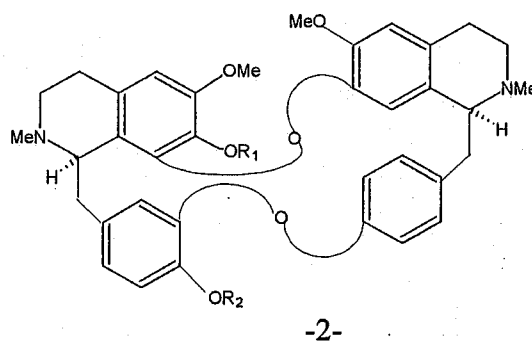
Référence	Aspect Couleur	T _{fus} (°C)	UV λ _{max} (nm)	Solubilité dans l'eau
[119]	S. jaune	208-209	265 ; 343	p.s.
[120]	S jaune	167	265 ; 345	-
Fraction A	S jaune	190-191	275 ; 344	p.s.

Parmi les seize alcaloïdes qui ont été isolés de la plante étudiée [119] dont les structures sont représentées ci-dessous, on estime que la fraction A est le chlorure de berberine, vu la similitude des résultats des analyses spectroscopiques.



R=OMe → (-)-Tejedine

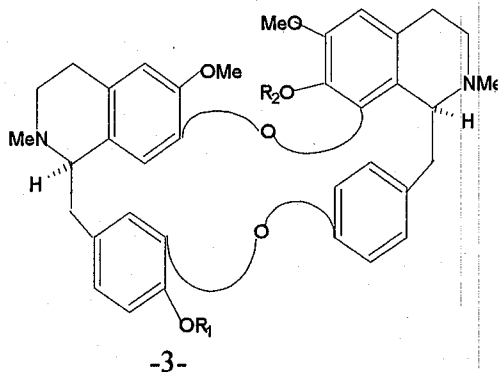
R=H → Baluchistanamine



R₁ = Me, R₂ = H → (+)-Berbamine

R₁ = R₂ = Me → (+)-Isotetrandrine

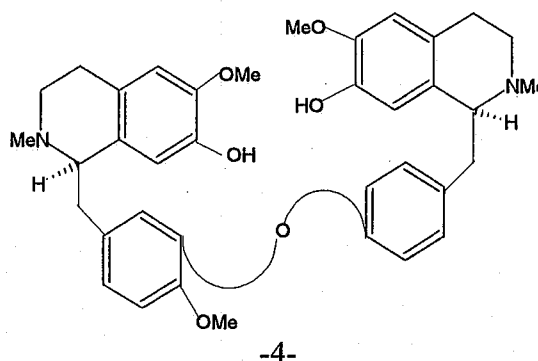
R₁ = R₂ = H → (+)-Obamegine



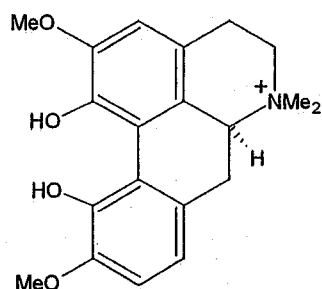
R₁ = H, R₂ = Me → (+)-Oxycanthine

R₁ = R₂ = Me → (+)-Obaberine

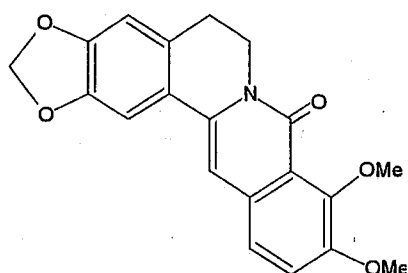
R₁ = R₂ = H → (+)-Aromoline



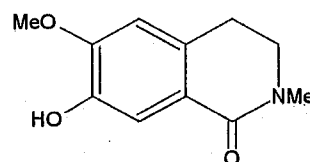
(+)-Thaligrisine



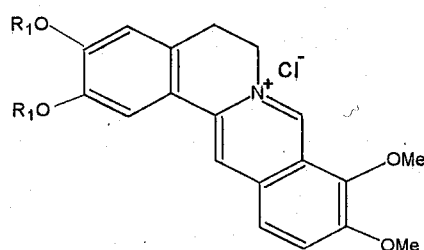
-5-
Magnoflorine chloride



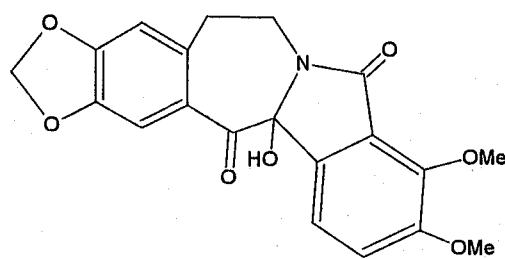
-6-
8-Oxyberberine



-7-
Thalifoline



-8-
 $R_1 + R_2 = CH_2 \rightarrow$ chlorure de Berberine
 $R_1 = H, R_2 = Me \rightarrow$ chlorure de Jatrorrhizine
 $R_1 = R_2 = Me \rightarrow$ chlorure de Palmatine



-9-
Chilinine

b) Pour la fraction D₃₋₂

*** Analyse par RMN ¹H**

Tableau 29 : Caractéristiques spectrales en RMN ¹³C de la fraction D₃₋₂.

RMN du proton - 200MHz								
δCD ₃ OD (ppm)	9,6-9,8	8,5-8,7	7,90	7,50	6,7-6,9	4,9-5,1	3,9-4,2	3-3,3
multiplicité	s(1H)	s(1H)	m(2H)	s(1H)	s(1H)	m(2H)	3 s(9H)	m(2H)
J (Hz).	/	/	/	/	/	/	/	/

Tableau 30 : Caractéristiques spectrales en RMN ¹³C de la fraction D₃₋₂.

RMN ¹³ C 300MHz				
δDMSO(ppm)	28,02 ; 28,58 et 57,07	57,45 ; 57,75 ; 57,97 et 62,98	104,07	106,85-152,45
Nombre de C	3C	4C	1C	24C
Attribution	CH ₂ cycl.	O-CH ₃	C=N	C arom.

Remarque: la comparaison des spectres RMN ^{13}C et RMN ^1H correspondant à la fraction D₃₋₂ et la fraction A confirme la présence de traces de la fraction A dans la fraction D₃₋₂.

Tableau 31 : Caractéristiques spectrales en IR de la fraction D₃₋₂.

IR (4000-600 cm^{-1})						
$\nu(\text{cm}^{-1})$	3066,6	2955,55 1362,76	2888,88 1444,36	1603,35	1508,87- 1565,71	1275,52 1110,41
Attributions	Sel amine	CH_3	CH_2	C=C arom.	Système aromatique substitué	C-O-C

III-2-3-Analyse des saponosides

Nous avons pu séparer quatre composés purs de saponosides par chromatographie sur colonne, ces produits isolés ont été soumis à des analyses spectroscopiques IR et RMN ^1H , mais nous avons trouvé un problème de solubilité de ces composés pour les analyser en RMN ^{13}C , ce qui nous a empêché de proposer leur structure.

Les tableaux ci-dessous résume quelques bandes caractéristiques des analyses IR et RMN ^1H des fractions S₁, S₄ et S₅.

* Fraction S₁ :

RMN du proton-200MHz					
δ_{CDCl_3} (ppm)	1-1,3	1,3-2,1	3,45-5,5	4,1-4,35	7,20
multiplicité	s	s large	s large	dd	m
Attributions	CH_3	CH_2 cyclique	OH	$\text{CH}=\text{CH}$ cyclique	H arom

IR (4000-600 cm^{-1})				
$\nu(\text{cm}^{-1})$ nujol	2917,76	2856,51	1464,92	1376,81
Attributions	CH_3	CH_2	CH_3	CH_2

* Fraction S₄:

RMN du proton-200MHz

δCDOLs (ppm)	0,6-0,9	0,9-1,3	1,3-2,1	3-4,1	6,1-7,1
multiplicité	m	s	S large	s	m
Attributions	CH ₃	CH ₃	CH ₂ cyclique	OH	H arom

IR (4000-600 cm⁻¹)

ν(cm ⁻¹)	3416,97	2937,26	2848,70	1605,52 - 1498,61	1450,69	1360,13	1067,28- 1229,49
Attributions	OH	CH ₃	CH ₂	C=C cyclique	CH ₃	CH ₂	C-O-C Aliphatique

* Fraction S₅ :

RMN du proton-200MHz

δCDOLs (ppm)	0,4 - 0,7	1,45-3	3,4-4	4,1-4,35	7,5--8,1
multiplicité	m	s large	S	dd	m
Attributions	CH ₃	CH ₂ cyclique	OH	CH=CH cyclique	H arom

IR (4000-600 cm⁻¹)

ν(cm ⁻¹)	3368	2946,29	2833,94	1449,86	1444,46	1027,39
Attributions	OH	CH ₃	CH ₂	CH ₃	CH ₂	C-O-C Aliphatique

III-3-Résultats et interprétations

Pour l'ester méthylique d'acide gras, la combinaison des résultats des spectres infra-rouge et RMN¹H nous a permis de déduire les informations suivantes :

Notre produit contient 33 protons plus la bande caractéristique des esters située vers 1732,91 cm⁻¹ avec la disparition de la bande OH de l'acide ce qui implique que l'estérification est complète. Le spectre RMN ¹H montre aussi un signal des protons méthyliques de l'ester à 3,65 ppm. Le spectre RMN ¹³C montre que l'ester contient quarante trois carbones qui ne sont pas en conformité avec le nombre de protons. Ce problème nous a empêché d'estimer une structure développée de cet ester.

Pour la fraction A d'alcaloïdes, la combinaison des résultats des méthodes spectroscopiques, nous a aidé à estimer une structure du chlorure de berbérine ayant la formule brute C₂₀H₁₈O₄NCl car les valeurs expérimentales des spectres RMN.¹H sont très proches avec celles des valeurs théoriques. En outre, l'intégration du spectre nous a donnée une valeur de 18 protons. D'autre part la RMN¹³C signale la présence de 20 carbones. L'analyse par IR montre la présence de la bande caractéristique du sel d'amine située vers 3057,97cm⁻¹.

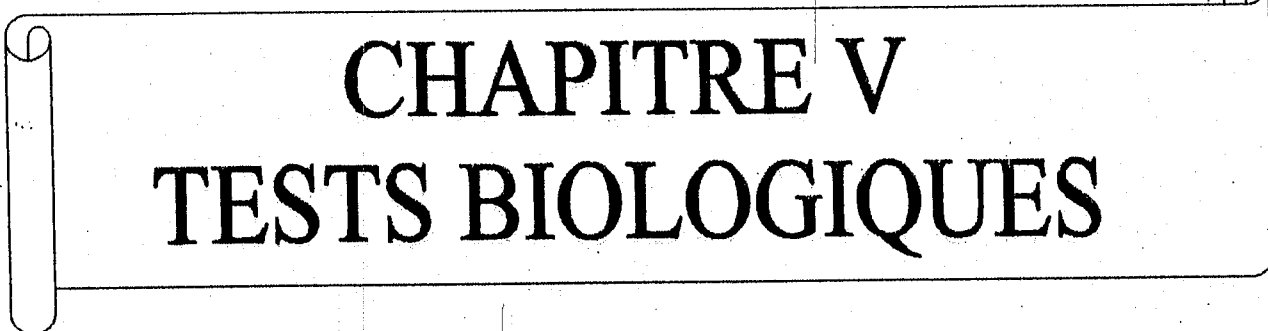
La combinaison des résultats des spectres IR, RMN.¹H et RMN.¹³C pour la fraction D₃₋₂, nous permettras certainement de proposer une structure de cet alcaloïde, ainsi que pour les saponosides isolés.

III-4-Conclusion

En conclusion, l'étape de dégraissage nous a permis d'isoler un acide gras, dont nous n'avons pas pu déterminer la formule brute à cause de l'analyse par RMN ^{13}C qui nous a donné un nombre important de carbones qui n'est pas en concordance avec le nombre de protons. Donc, il faut confirmer sa pureté par CPG afin d'aboutir à sa formule exacte.

Les différentes méthodes spectroscopiques d'analyse nous ont permis aussi d'identifier un alcaloïde isolé et purifié par chromatographie sur colonne qui est la berbérine ayant pour formule brute $\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{NO}_4$.

Afin de pouvoir exploiter une éventuelle activité thérapeutique de notre plante, l'extrait aqueux du *Berberis vulgaris* L. et l'extrait des saponosides ont été soumis à des tests biologiques. L'identification de la substance responsable d'une éventuelle activité se fera après soumission des extraits des différentes familles à des tests similaires à ceux appliqués à l'extrait aqueux.



CHAPITRE V
TESTS BIOLOGIQUES

Résultats des tests biologiques

I- Détermination de la dose létale

I-1- Pour l'extrait brut du *Berberis vulgaris*

Cette opération a été effectuée sur 36 souris répartis en 9 lots de même sexe composé chacun de 4 souris, parmi eux 8 lots ont été soumis à des injections intrapéritonéales de l'extrait aqueux brut du *Berberis vulgaris* à des doses différentes (la dose injectée est de 1ml pour une souris de 40 g). Tandis que le 9^{ème} a été gardé comme témoin soumis à une injection intrapéritonéale d'eau physiologique (NaCl à 9%). Les résultats obtenus sont représentés ci-dessous :

Tableau 32 : Résultats de la dose létale chez les souris traitées par l'extrait brut aqueux du *Berberis vulgaris* L.

Nombre de lots	Le poids moyen (g)	Dose (g/kg)	Taux de Mortalité (%)
1	25,75 ± 1,83	4,167	100
2	28,37 ± 1,52	2,083	100
3	27,25 ± 1,28	1,042	100
4	31,50 ± 2,52	0,694	100
5	22,50 ± 2,38	0,639	100
6	24,00 ± 1,25	0,632	75
7	21,25 ± 1,59	0,625	50
8	26,50 ± 1,20	0,595	0
9	25,00 ± 1,57	NaCl 9%	0

D'après ces résultats, la DL₁₀₀ de l'extrait brut a été estimée à une concentration de 25,55 g/l soit 0,639 g/kg. La DL₅₀ a été estimée aussi à une concentration de 25 g/l soit 0,625 g /kg. Il est à noter que la dose injectée pendant toute notre expérimentation a été diluée au 1/10 soit 62,5 mg/kg pour éviter tout risque de toxicité.

I- 2- Pour l'extrait des saponosides de *Berberis vulgaris*

La détermination de la dose létale des saponosides a été effectuée sur 28 souris réparties en 7 lots, 6 lots ont été soumis à des injections intrapéritonéales de l'extrait des saponosides du *Berberis vulgaris* à des doses différentes. Tandis que le 7^{ème} a été gardé comme témoin soumis à une injection intrapéritoniale d'eau physiologique (NaCl à 9%). Les résultats sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau 32 : Résultats de la dose létale chez les souris traitées par l'extrait des saponosides.

Nombre de lots	Le poids moyen (g)	Dose (g/kg)	Taux de Mortalité (%)
1	25 ± 1,25	0,25	100
2	30 ± 2,15	0,225	100
3	32 ± 2,32	0,2	75
4	33 ± 2,52	0,175	50
5	29 ± 1,52	0,15	25
6	27 ± 1,38	0,137	0
7	27 ± 1,29	NaCl 9%	0

D'après ces résultats, on a estimé que la DL₁₀₀ est de 9 g/l soit 0,225 g/kg tandis que la DL₅₀ a été constatée à 7 g/l soit 0,175 g/kg . Pour éviter tout risque de toxicité la dose qu'on a injectée dans toute notre expérience a été diluée au 1/7 soit une dose de 25 mg/kg .

II- Evolution de la glycémie et le poids

II-1-Poids

Les témoins normaux montrent une augmentation régulière du poids durant l'expérimentation, par contre on note une diminution peu significative du poids corporel observée chez les normaux traités par l'extrait brut aqueux.

Les rats diabétiques traités par l'extrait brut montrent une légère augmentation de poids corporel aqueux par rapport au lot des rats témoins diabétiques traité par le sérum physiologique.

Chez les rats normaux et diabétiques traités par les saponosides, aucune variation significative par rapport à leurs témoins est observée durant toute l'expérimentation. Les résultats sont regroupés dans les figures suivantes :

NT : Normaux témoins

DT : Diabétiques témoins

NTE : Normaux traités par l'extrait aqueux brut de *Berberis vulgaris*

DTE : Diabétiques traités par l'extrait aqueux brut de *Berberis vulgaris*.

NTS : Normaux traités par l'extrait des saponosides

DTS : Diabétiques traités par l'extrait des saponosides

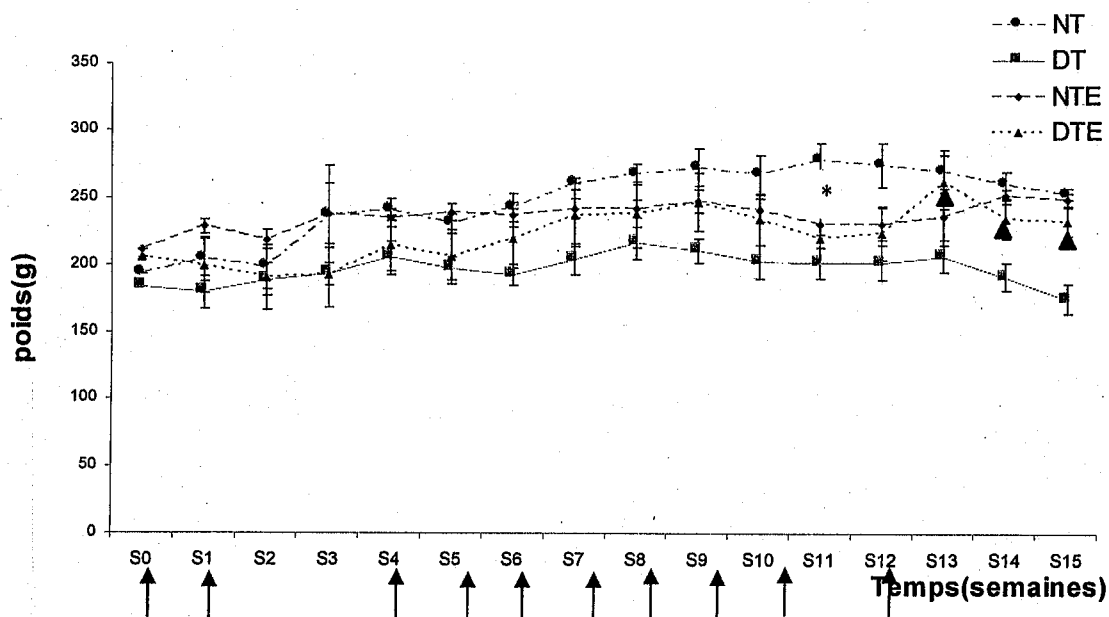


Figure 1 : Evolution du poids chez les rats traités par l'extrait brut aqueux de *Berberis vulgaris*

* : Signification des normaux traités par l'extrait brut aqueux / au normaux témoins

▲ : Signification des diabétiques traités par l'extrait brut aqueux/ au diabétiques témoins

→ : Injection de l'extrait brut aqueux

→ : Injection de STZ

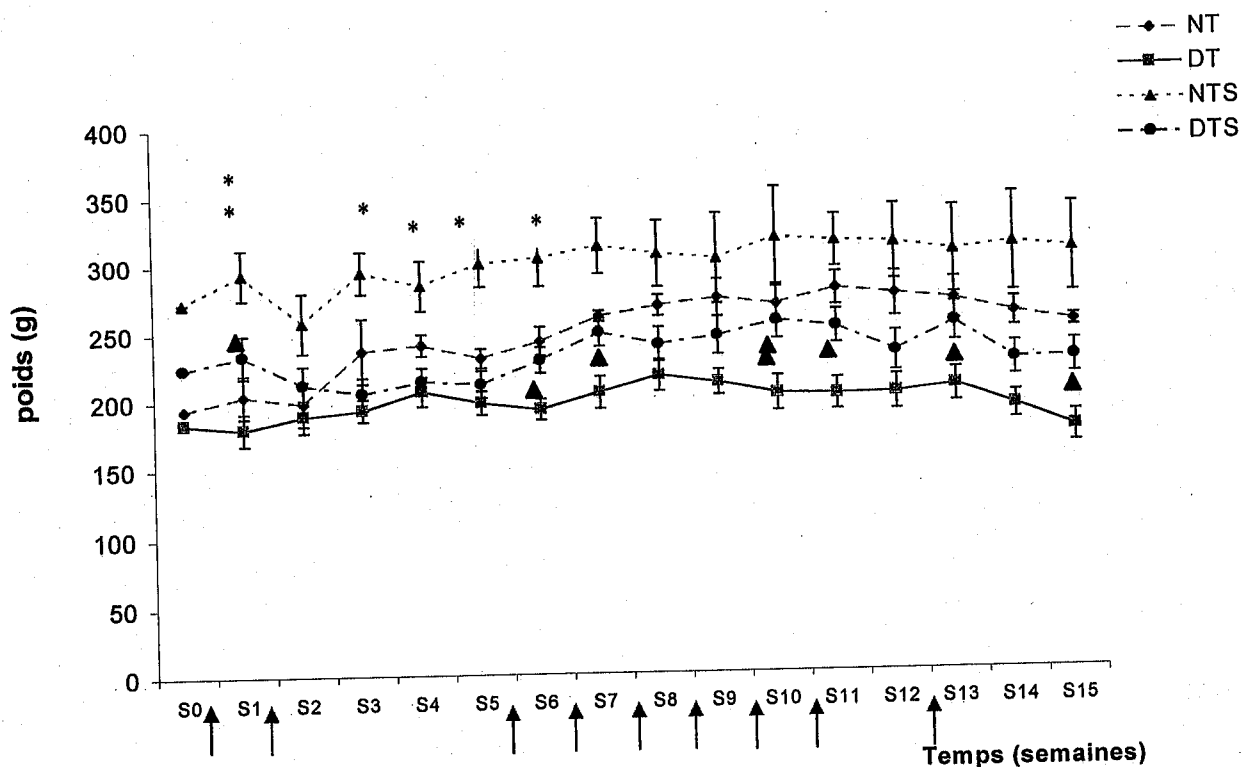


Figure 2 : Evolution du poids chez les rats traités par l'extrait des saponosides de *Berberis vulgaris*.

- * : Signification des normaux traités par les saponosides / au normaux témoins
- ▲ : Signification des diabétiques traités par les saponosides/ au diabétiques témoins
- : Injection de l'extrait des saponosides
- : Injection de STZ.

II-2- Glycémie

Après la détermination de la dose létale de l'extrait brut et l'extrait des saponosides. Nous avons testé l'extrait aqueux brut et l'extrait des saponosides sur les rats normaux et diabétiques suivis pendant 15 semaines.

II-2- 1- Extrait brut

La figure 3 représente les variations de la glycémie chez les rats traités par l'extrait brut aqueux, on remarque que chez les rats normaux témoins (sérum physiologique) la glycémie varie entre 0.71g/l à 1.21g/l. Par contre, chez les rats normaux traités par l'extrait brut aqueux (injection chaque semaine) une diminution hautement significative de ce paramètre est observée de l'ordre de 0.80g/l pendant la première semaine à 0.54g/l,

II-2-2- Extrait des saponosides

Chez les rats normaux, l'extrait des saponosides provoque une légère diminution de la glycémie pendant les premières semaines qui suivent l'injection, puis elle atteint des valeurs normales vers la fin de l'expérimentation.

Les résultats des rats diabétiques traités par les saponosides montrent une diminution significative des valeurs de la glycémie par rapport aux témoins diabétiques. Après la 1^{ère} injection des saponosides le taux de la glycémie qui était au départ 2.70g/l diminue significativement pour atteindre des valeurs normales de 0,90g/l 3 semaines après l'injection, à la 4^{ème} semaine on observe une hyperglycémie. On note, l'injection de l'extrait des saponosides provoque une hypoglycémie et l'arrêt de cette injection conduit à une hyperglycémie chez les rats diabétiques.

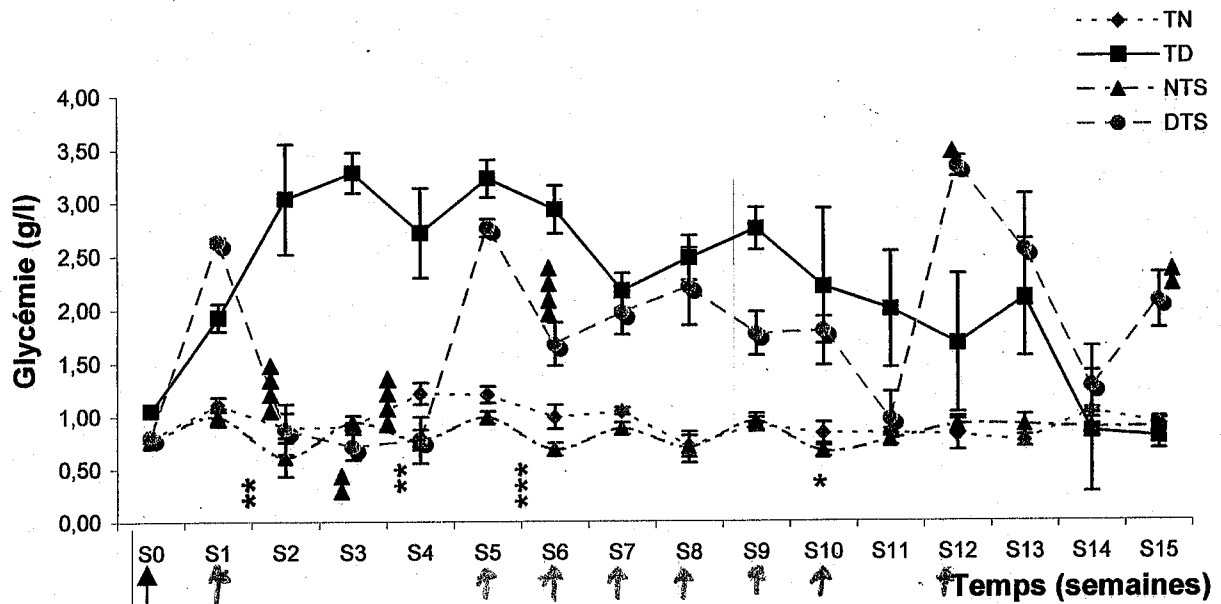


Figure 4 : Evolution de la glycémie chez les rats traités par l'extrait des saponosides de *Berberis vulgaris*

* : Signification des normaux traités par les saponosides / au témoins normaux

▲ : Signification des diabétiques traités par l'extrait des saponosides/ au témoins diabétiques.

↗ : Injection de l'extrait des saponosides

→ : Injection de STZ

II-2-3- Comparaison de l'effet des saponosides et de l'extrait brut aqueux de *Berberis vulgaris* L.

La comparaison nous révèle un effet hypoglycémiant chez les rats diabétiques injectés par l'extrait des saponosides et l'extrait brut aqueux cet effet apparaît rapidement dans le cas des saponosides (effet à court terme) par contre l'extrait brut aqueux assure un effet plus au moins long (effet à long terme).

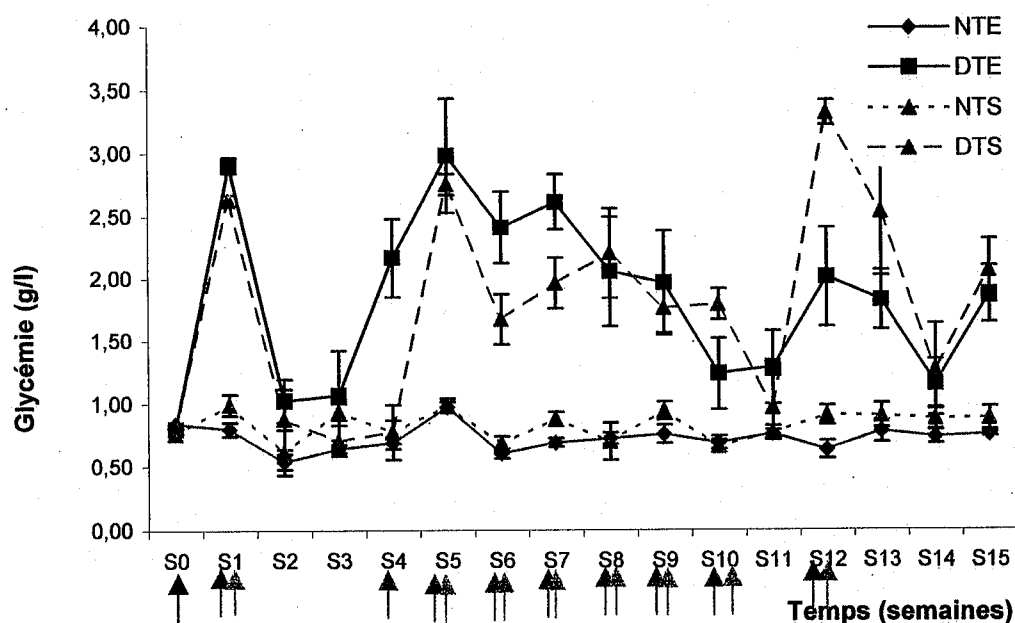


Figure 5 : Comparaison entre l'évolution de la glycémie chez les rats traités par l'extrait brut aqueux et les traités par l'extrait des saponosides de *Berberis vulgaris*.

- Injection de l'extrait des saponosides.
- Injection de l'extrait brut aqueux.
- Injection de la STZ

L'analyse des résultats d'évolution de la glycémie chez les rats normaux témoins et les rats normaux traités par l'extrait brut et l'extrait des saponosides montre que les saponosides ont un effet hypoglycémiant important en comparaison avec les rats traités par l'extrait brut après

chaque injection durant 11 semaines. Ce résultat est tiré après le suivi de la glycémie chez les rats normaux témoins. Donc nous pouvons dire que nos deux extraits ont un effet sur le métabolisme du glucose dans le sang car ils favorisent la diminution de son taux. On remarque aussi que l'arrêt d'injection favorise l'augmentation de la glycémie ce qui explique son effet immédiat.

Pour les rats diabétiques traités par l'extrait des saponosides, on note une semaine après l'injection une chute importante de la glycémie en comparaison avec les rats diabétiques traités par l'extrait brut. On observe aussi que l'extrait des saponosides ont un effet hypoglycémiant maintenu pendant 3 semaines ce qui n'est pas le cas chez les rats diabétiques traités par l'extrait brut aqueux.

A la lumière de ces résultats on peut conclure que :

- * l'extrait brut aqueux a effet hypoglycémiant et anti-hyperglycémiant
- * l'extrait des saponosides a effet anti-hyperglycémiant.

D'après les figures des variations des poids, on note aucune variation significative du poids des rats traités par l'extrait brut et l'extrait des saponosides.

III- Conclusion

L'effet hypo- et anti-hyperglycémiant du *Berberis Vulgaris* rapporté par plusieurs patients a été confirmé par les tests biologiques sur les rats ayant le diabète induit par la streptozotocine.

Cette étude a démontré un effet intéressant des saponosides ce qui nous suggères de penser que le ou les principes antidiabétiques sont probablement présents dans cette fraction.

Afin de cibler le mécanisme d'action des extraits de *Berberis vulgaris*, trois hypothèses sont émises :

- 1- Le *Berberis vulgaris* peut jouer un rôle insulinosécrétoire direct sur les cellules β pancréatiques.
- 2- Le *Berberis Vulgaris* augmente l'utilisation périphérique du glucose.
- 3- Le *Berberis Vulgaris* peut jouer un rôle insuline - like, et mimer certains effets de l'insuline .



CONCLUSION GENERALE

CONCLUSION GENERALE

Le diabète reste jusqu'à ce jour une affection très compliquée dont le traitement est basé sur l'administration de l'insuline et les comprimés hypoglycémiants. Vu les résultats recueillis au cours de l'enquête ethnopharmacologique effectuée dans la Wilaya de Tlemcen, nous avons remarqué qu'une grande tranche de population utilise les plantes médicinales pour se traiter de cette maladie. Parmi les plantes les plus utilisées citons le *Berberis Vulgaris* L.

Nous avons adopté une méthode scientifique afin de valoriser l'utilisation de cette plante. Notre travail a comporté la réalisation de trois objectifs :

- * le premier objectif qui concerne les tests phytochimiques réalisés sur les écorces des racines du *Berberis vulgaris* L. a montré que ces dernières sont riches en saponosides, alcaloïdes et faiblement riches en tannins.
- * le deuxième objectif, nous a permis de montrer d'une part, que l'extraction des saponosides donne un rendement considérable. Leur purification par chromatographie sur colonne et les analyses spectrales, nous permettront de proposer la ou les structures dont l'élaboration est en cours de réalisation et seront communiqués dans un futur travail. D'autre part, l'extraction des alcaloïdes, la séparation par chromatographie sur colonne et les analyses spectrales nous ont permis de proposer la structure du composé majoritaire, à savoir la Berberine de formule brute $C_{20}H_{18}O_4N$, qui est un alcaloïde très cité dans la littérature et dont l'activité biologique est très remarquable.
- * le troisième objectif que nous nous sommes assigné est réservé à l'étude de l'activité biologique de l'extrait brut des écorces et l'extrait des

.....

saponosides afin de déterminer leurs effets thérapeutiques vis à vis du diabète. Effectivement, ces résultats montrent que :

- L'injection de 62,5mg/kg de l'extrait brut aqueux de *Berberis vulgaris* provoque une diminution de la glycémie que ce soit chez les normaux ou les diabétiques traités, cet effet est nettement observé chez les diabétiques traités par l'extrait brut après la première injection qui a duré 2 semaines.

- A une concentration de 25mg/kg de l'extrait des saponosides de *Berberis vulgaris* nous avons enregistré une diminution hautement significative de la glycémie chez les rats diabétiques traités, cet effet est nettement observé après la première injection et persiste pendant 3 semaines.

Nous pouvons conclure d'après ces résultats, que les deux extraits étudiés en particulier l'extrait des saponosides ont une remarquable activité hypoglycémiant.

En définitive, ce travail s'il fixe des résultats certains, ouvre des perspectives et des pistes de recherche, tant au niveau de la connaissance scientifique, qu'à celui d'une possibilité de valorisation de la matière végétale dans le cadre de recherche systématique de plantes à activité thérapeutique qui occupent une place de choix dans nos travaux de recherche.

En perspective de ce travail, nous nous sommes fixé comme objectifs les points suivants :

- * tester in vivo l'extrait des alcaloïdes ;
- * faire la séparation et l'élucidation de ou des agents responsables de l'activité hypoglycémiant et leur synthèse éventuelle ;
- * quant aux tanins isolés en faibles quantités, nous proposons de vérifier leur activité en tant qu'agents hypotensifs.



REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

-
- 1- Encyclopédie des plantes médicinales : Identification, préparation, soins. Ed. Larousse, 1997.
 - 2- Perroti C. et Caraffa N., Se soigner par les plantes, Ed. Berti, 1999, Vol. VII, p146.
 - 3- Organisation Mondiale de la Santé (OMS), 1999.
 - 4- Khalifa S., Le diabète sucré, Ed. OPU, 1999, p3.
 - 5- Report of the Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care*, 1997, 20(7), 1183-1197.
 - 6- Alberti KG., Zimmet P., Diagnosis and classification of diabetes mellitus provisional report of a WHO consultation. *Diabetic Medicine*, 1998; 15, 539-553.
 - 7- Dandavino André-H, (en collaboration avec l'Association des médecins de langue française du Canada). Guide familial des maladies. Ed. Rogers Media, Montréal, 2001.
 - 8- Sherpereel PH., Diabétique en période péri-opératoire. *Encycl. Med. Chir. Ed. Scientifique et médicale SAS Paris, Endocrinologie-Nutrition 10366 G50*, 2000.
 - 9- Hugentober D., Diabète sucré, Ed. française société Suisse des pharmaciens. 2001, XV : science et officine, cahier N°2.
 - 10- Institut National de santé Publique : Enquête Nationale de Santé (ENS), 1990 du Relevé épidémiologique mensuel 10, INSP, 1994.
 - 11- Hyppönen E., Kenward MG., Virtanen SM., et al. Infant feeding, early weight gain, and risk of type 1 diabetes. *Diabetes Care*, 1999, 22, 1961-1965.
 - 12- Argumentaire, Traitements médicamenteux du diabète type 2 (DNID), Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé, 1999.
 - 13- Hermans M.P, Diabète de type 2 et adaptation thérapeutique, *Louvain Med.*, 1998, 118, S2-S8.
 - 14- Peter-Rieschet B. et al., Découverte d'un diabète sucré, primary care 2002, 2, 284-290.
 - 15- Simon Y. Mills, ESCOP Research Committee and European Phytotherapy Research Group. *The European Phytojournal*, 2002, Issue 2, 7.
 - 16- Vanier P. L'herboristerie retrouve ses lettres de noblesse, *Guide Ressources*, 1995, 10 (10), 44-50.
 - 17- Organisation Mondiale de la Santé (OMS), 1997.
 - 18- A Brief History of Herbal Medicine. *The Village Herbalist*. 2002.

- 19- Bonneval P. L'herboristerie, *manuel pratique de la santé par les plantes*. Désiris, 1999.
- 20- Laberge D. et coll. Guide Santé de votre armoire aux herbes, Herbothèque, 1995.
- 21- Masereel B. Nouveaux principes actifs entrant dans la composition de spécialités pharmaceutiques commercialisées en 2001, *journal de pharmacie de Belgique*, 2002, 1, 57.
- 22- Doucet J., Chassagne P., Trivalle C. et Al. Drug-drug interactions related to hospital admissions in older adults ; a prospective study of 1.000 patients *J. Am. Geriatr. Soc.*, 1996, 44, 944-948.
- 23- Fugh-Berman A. Herb-drug interactions. *Lancet* 2000, 8(335), 134-138.
- 24- Williamson EM. Synergy and other interactions in phytomedicines. *Phytomedicine* 2001, 8(5), 401-409.
- 25- Maurice N., De la phytothérapie d'antan à la phytothérapie moléculaire du XXI^e siècle, publication info santé sur les produits naturels, 2002, 22, (403), 51.
- 26- Callej A., Svarez J.M., Les méthodes pharmacologiques d'évaluation des propriétés antidiabétiques de substances naturelles. Acte du premier colloque européen d'ethnopharmacologie, Metz, 1990, 22-25.
- 27- Thorne R.F., In phytochemistry et angiospern phylogeny, 1981, p233.
- 28- Robin J. et Norman R., Economic and medicinal plant research, 1993, 50, 434.
- 29- Benmehdi H., Valorisation de certaines plantes médicinales à activité hypoglycémiantes comme la Coloquinte, mémoire de magister (université de Tlemcen), 2000.
- 30- Blaurock B. et Eleonore B.B., *The No-Drugs Guide to Better Health*, Reward Book, 1984, 112.
- 31- Jellin JM, Gregory P, Batz F, Hitchens K, et al. Natural Medicines Comprehensive Database. Therapeutic Research. Stockton, CA. *Fenugreek.*, 2001.
- 32- Newall CA., Anderson LA. et Philpson JD., *Herbal Medicine: A Guide for Healthcare Professionals*. London, UK: The Pharmaceutical Press, 1996.
- 33- Blumenthal M., et al. *Monographs: Therapeutic Guide to Herbal Medicines*. Trans. S. Klein. Boston, MA: American Botanical Council, Ed. The Complete

- German Commission E, 1998, 130.
- 34- Sotaniemi EA, Haapakoski E et Rautio A, Ginseng therapy in non-insulin dependent diabetic patients, *Diabetes Care*, 1995,18(10), 1373-1375.
- 35- Shanmugasundaram ER., Rajeswari G., Baskaran K, et al., Use of *Gymnema sylvestre* leaf extract in the control of blood glucose in insulin-dependent diabetes mellitus. *J Ethnopharmacol*, 1990, 30, 281-94.
- 36- Baskaran K., Kizar-Ahamath B., Shanmugasundaram MR.et Shanmugasundaram ER., Antidiabetic effect of leaf extract from *Gymnema sylvestre* in non-insulin-dependent diabetes mellitus patients. *J.Ethnopharmacol.*,1990,30,295-300.
- 37- Scharrer A et Ober M., Anthocyanoside in der Behandlung von Retinopathien. *Klin Monatsblatt Augenheilk*, 1981,178, 386-9.
- 38- HealthNotes Online. *The Natural Pharmacy. Health concerns: Diabetes.*, 2002.
- 39- Capsaicin study group. Treatment of painful diabetic neuropathy with topical capsaicin. A multicenter, double-blind, vehicle-controlled study. The capsaicin study group. *Arch Intern Med*, 1991,151,2225-2229.
- 40- Capsaicin study group, Effect of treatment with capsaicin on daily activities of patients with painful diabetic neuropathy. The capsaicin study group.*DiabetesCare*,1992,15,159-65.
- 41- Biesbroeck R., Bril V., Hollander P., Kabadi U., Schwartz S., Singh SP., Ward WK. et Bernstein JE., A double-blind comparison of topical capsaicin and oral amitriptyline in painful diabetic neuropathy, 1995,12(2),111-120.
- 42- Jellin JM., Gregory P., Batz F., Hitchens K., et al., *Natural Medicines Comprehensive Database, Therapeutic Research.* Stockton, CA. *Xanthan gum.*,2001.
- 43- Osilesi O. et al. Use of xanthan gum in dietary management of diabetes mellitus. *Am J Clin Nutr*, 1985,42(4), 597-603.
- 44- Evans JL., Goldfine ID., Alpha-lipoic acid: a multifunctional antioxidant that improves insulin sensitivity in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Technol Ther*, 2000, 2(3), 401-413.
- 45- Jamal GA. et Carmichael H., The effect of gamma-linolenic acid on human diabetic peripheral neuropathy: a double-blind placebo-controlled trial. *Diabet*

- Med*, 1990, 7(4), 319-323.
- 46-** Keen H., Payan J., Allawi J., Walker J., Jamal GA., Weir AI. et al. Treatment of diabetic neuropathy with gamma-linolenic acid. The gamma-Linolenic Acid Multicenter Trial Group. *Diabetes Care*, 1993,16 (1), 8-15.
- 47-** Horrobin DF., Essential fatty acids in the management of impaired nerve function in diabetes, *Diabetes* 1997, 46 (2), S90-S93.
- 48-** Jellin JM., Gregory P., Batz F., Hitchens K. et al., Natural Medicines Comprehensive Database, Therapeutic Research. Stockton, CA. Chromium. 2001.
- 49-** Valk HW., Magnesium in diabetes mellitus. *Neth J Med*, 1999, 54(4), 139-146.
- 50-** Lima M., Cruz T., Pousada JC. et al., The effect of magnesium supplementation in increasing doses on the control of type 2 diabetes. *Diabetes Care*, 1998, 21(5), 682-686.
- 51-** Paolisso G., Sgambato S., Pizza G., Passariello N., Varricchio M. et D'Onofrio F., Improved insulin response and action by chronic magnesium administration in aged NIDDM subjects, *Diabetes Care*, 1989, 12(4), 265-269.
- 52-** Visalli N., Cavallo MG., Signore A. et al., A multi-centre randomized trial of two different doses of nicotinamide in patients with recent-onset type 1 diabetes (the IMDIAB VI). *Diabetes Metab Res Rev*, 1999, 15,181-185.
- 53-** Polo V., Saibene A. et Pontiroli AE., Nicotinamide improves insulin secretion and metabolic control in lean type 2 diabetic patients with secondary failure to sulphonylureas. *Acta Diabetol*, 1998,35,61-64.
- 54-** Bursell SE., Clermont AC., Aiello LP. et al., High-dose vitamin E supplementation normalizes retinal blood flow and creatinine clearance in patients with type 1 diabetes, *Diabetes Care*, 1999, 22(8),1245-1251.
- 55-** Pozzilli P., Visalli N., Cavallo MG. et al., Vitamin E and nicotinamide have similar effects in maintaining residual beta cell function in recent onset insulin-dependent diabetes. *Eur J Endocrinol*, 1997,137, 234-239.
- 56-** Amin Riyad M. et coll., Effect of fenugreek and lupine seeds on the development of experimental diabetes in rats , *Planta Medica*, 1988, 54, 286-290.

- 57- Raghuram T.C. et coll., Effect of fenugreek seeds on intravenous glucose disposition in non-insulin dependent diabetic patients, *Phytotherapy research*, 1994, 8, 83-86.
- 58- Al Waili N.S.D., Treatment of diabetes mellitus by *Artemisia herba-alba* extract : Preliminary study. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 1986, 13, 569-573.
- 59- Alkhazraji S.M. et coll., Hypoglycaemic effect of *Artemisia herba-alba*:
I. Effect of different parts and influence of the solvent on Hypoglycaemic activity, *Journal of Ethnopharmacology*, 1993, 40, 163-166.
- 60- Ettaib A. et coll., Variations des taux plasmatiques du glucose et des lipides chez des rats Meriones Shawi diabétiques traités à la nigelle. Acte du IVème Congrès National d'Endocrinologie Comparée, Marrackech 15-17 Décembre 1994, 82.
- 61- Elfellah M.S. et coll., Antihyperglycaemic effect of an extract of *Myrtus communis* in streptozotocin-induced diabetes in mice, *Journal of Ethnopharmacology*, 1984, 11, 275-281.
- 62- Paris M. et coll., Abrégés de matière médicale, *pharmacognosie*, Ed. Masson, Tome 1, 1981.
- 63- van gansen P. et Alexandre H., *Biologie générale*, 4ème Ed. Masson, Paris, 1997, 1240-1714.
- 64- Fouché J.G., Marquet A. et Hambukers A., Les plantes médicinales, de la plante au médicament, Observatoire du Monde des plantes, Exposition du 19-09-2000.
- 65- Etournaud A., Sciences alimentaires . Chimie des denrées alimentaires . Laboratoire Contonal, 1999.
- 66- Bruneton J., Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales . TEC et DOC, 3ème Ed. Lavoisier, 1999.
- 67- Fengel D. et Wegener G., *Wood chemistry, ultrastructure, reactions*, Walter de Gruyter, Berlin, 1984, 613 .
- 68- HASLAM E., Complexation and oxidative transformation of polyphenols. In : Ed. A. Scalbert , Polyphenols 94. Palma de Mallorca (Spain), les colloques de l'INRA May 23-27-1995, (69), 45-55.
- 69- Serafini M. et all., *journal of nutrition*, 2000, 11, 585-590.

- 70- Okuda T., Polyphenolic phenomena, Ed. A. Scalbert, INRA, Paris, 1993, 221-235.
- 71- Barton N., Adapted from Comprehensive Natural Products Chemistry, Ed. Cohn Elsevier: Amsterdam, 1999, 1, 716.
- 72- Chandra B.G., Phytochemistry, 1988, 27(10), 3225.
- 73- Jian S., Flavonoid Inhibition of Sodium-dependent Vitamin C Transporter 1(SVCT1) and Glucose Transporter Isoform 2 (GLUT2), Intestinal Transporters for Vitamin C and Glucose, *the Journal of Biological Chemistry*, 2002, 277 (18), 15252-15260.
- 74- Bertram JS., The molecular biology of cancer. *Molec Aspects Med* 2001, 21, 167- 223.
- 75- Sato M., Maulik N. et Das D.K., Cardioprotection with Alcohol: Role of Both Alcohol and Polyphenolic Antioxidants In : Alcohol and wine in health and disease. Palo Alto, CA, April 26-29-2001. *Annals of the New York Academy of Sciences*, Das D.K. & Ursini F. (Dir.) ; New York Academy of Sciences, 2002, 957, 122-135.
- 76- Robin J.M. et Norman R.F., *Economic and Medicinal Plant Research*, 1988, 6, 151.
- 77- Haslam E., *Plant Polyphenols: Vegetables Tannins Revisited*, Cambridge University Press, Cambridge, 1989, 1-13.
- 78- Glombitza K. et Gerstberger G., *Phytochemistry*, 1985, 24, 543-551.
- 79- Porter L. J., Tannins in *Methods in Plant Biochemistry (plant phenolics)*, Ed. P.M. Dey and J. B. Harborne, Academic Press, London, 1989, 1, 389-419.
- 80- Chalendre M.C., *Elément de botanique, Cours de première année de Pharmacie*, 1999-2000, UFR de Pharmacie et Ingénierie de la santé- ANGERS.
- 81- Pinkas M., Trotin F. et Bézanger -Beauquesne, *Produits et problèmes pharmaceutiques*, 1992, 187.
- 82- Mahato S.B., Nandy A.K. et Roy G., Triterpenoids , *Phytochemistry*, 1992, 32, 2199.
- 83- Baudoux D., *L'aromathérapie - Se soigner par les huiles essentielles*, Atlantica Douce Alternative, 2001, 223 .
- 84- Melin S., *Empire d'essences végétales, Congrès International des Huiles Essentielles*, Paris, 1999, 1-8.

- 85- Cheftel H., Introduction à la biochimie et la technologie des aliments, Paris, 1977, 1.
- 86- Ross M. S. et Brain K. R., An Introduction To Phytopharmacy, Pitman Medical, London, 1977; chap.1, 3- 6.
- 87- Wyler, H., Introduction au laboratoire de chimie organique, Université de Lausanne, 1991.
- 88- Stead A. H., Gill R., Wright, T., Gibbs J. P. et Moffat, A. C., Standardised Thin-layer Chromatographic Systems for the Identification of Drugs and Poisons, Analyst, 1982, 107, 1106 - 1168.
- 89- Tsutomu F. et Hisashi K., Phytochemistry, 1971, 10, 1607.
- 90- Bonnier G., La grande flore, Ed. Belin, 1990, Tome 3, 33.
- 91- Duke JA., CRC Handbook of Medicinal Herbs. Boca Raton, FL: CRC Press, 1985, 78.
- 92- Gruenwald J., Brendler T., Jaenicke C. et al., PDR for Herbal Medicines. Montvale, NJ: Medical Economics, 1998, 688-90.
- 93- Chan E., Displacement of bilirubin from albumin by berberine. Biol Neonate, 1993, 63, 201-208.
- 94- Blumenthal M., Busse WR., Goldberg A. et al., The Complete Commission E Monographs: Therapeutic Guide to Herbal Medicines. Boston, MA: Integrative Medicine Communications, 1998, 309-10.
- 95- Quezel P. et Santa S., Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, 1963, Tome 2, 1170.
- 96- FNAA: Ed. Flora of North America Association. Flora of North America, Oxford University Press, Oxford, New York, 2000, 22.
- 97- USDA, NRCS., The PLANTS Database, Version 3.1. National Plant Data Center, Baton Rouge, LA 70874-4490, USA. 2001.
- 98- Duke James A., Handbook of biologically active phytochemicals and their activities. Boca Raton, FL. CRC Press, 1992.
- 99- Medicinal and Poisonous Plants of the Tropics. Leeuwenberg, A.J.M., Ed. Pudoc, Wageningen, 1987.
- 100- Simon M. et Kerry B., Phytotherapy. Churchill Livingstone, Edinburgh. 2000.

- 101- Challem J., Berkson B., et Smith M., Syndrome X - The complete nutritional program to prevent and reverse insulin resistance. John Wiley & Sons, New York, 2000, 272, 24-95.
- 102- Huang K. C., The Pharmacology of Chinese Herbs. CRC Press, Boca Raton, FL, 1993, 388 .
- 103- Collins D.J., Culvenor C.J., Lamberton J.A., Loder J.W. et Price J.R., Plants for Medicines, CSIRO, East Melbourne, Australia, 1990, 303 .
- 104- Williamson E. M. et Evans F. J., Potter's New Cyclopaedia of Botanical Drugs and Preparations, Ed. Revised Saffron Walden, the C. W. Daniel Co., Ltd., Essex UK, 1988, reprint 1989, 362 .
- 105- Pizzorno J.E. et Murray M.T., A Textbook of Natural Medicine. John Bastyr College Publications, Seattle, Washington , 1985.
- 106- Davies S., et Stewart A., Nutritional Medicine. Avon Books, New York, 1990, 509.
- 107- Simon P.W. et al., Horticultural Crops as a Source of Provitamin A Carotenes. HortScience, 1990, 25(12), 1495.
- 108- Jeffery B. H. et Baxter H., Phytochemical Dictionary. A Handbook of Bioactive Compounds from Plants. Ed. Taylor & Frost, London, 1983, 791.
- 109- Werbach M., Healing with Food. Harper Collins, New York, 1993, 443.
- 110- Amin AH., Subbaiah TV. et Abbasi KM., Berberine sulfate: Antimicrobial activity, bioassay and mode of action. *Can J Microbiol*, 1969, 15, 1067-1076.
- 111- Subbaiah TV. et Amin AH., Effect of berberine sulphate on *Entamoeba histolytica*. *Nature*, 1967, 215, 527-528.
- 112- Sun D., Courtney HS. et Beachey EH., Berberine sulfate blocks adherence of *Streptococcus pyogenes* to epithelial cells, fibronectin, and hexadecane. *Antimicrob Agents Chemother*, 1988, 32, 1370-1374.
- 113- Rabbani GH., Butler T., Knight J. et al., Randomized controlled trial of berberine sulfate therapy for diarrhea due to enterotoxigenic *Escherichia coli* and *Vibrio cholerae*. *J Infect Dis*, 1987, 155, 979-984.
- 114- Kumazawa Y., Itagaki A., Fukumoto M. et al., Activation of peritoneal macrophages by berberine-type alkaloids in terms of induction of cytostatic activity. *Int J Immunopharmacol*, 1984, 6, 587-592.

-
- 115-** Wong CWO., Seow WK., O'Callaghan JW. et Thong YH., Comparative effects of tetrandrine and berbamine on subcutaneous air pouch inflammation induced by interleukin-1, tumour necrosis factor and platelet-activating factor. *Agents Actions*, 1992, 36, 112-118.
- 116-** Ju HS., Li XJ, Zhao BL., et al., Scavenging effect of berbamine on active oxygen radicals in phorbol ester-stimulated human polymorphonuclear leukocytes. *Biochem Pharmacol*, 1990, 39, 1673-1678.
- 117-** Duke James A., Handbook of phytochemical constituents of GRAS herbs and other economic plants. Boca Raton, FL. CRC Press, 1992.
- 118-** Young Wook J. et al., NMR Studies on Antitumor Drug Candidates, Berberine and Berberrubine, *Bull. Korean Chem. Soc.* 2002, 23 (3), 391.
- 119-** Rafael S. et al., Isoquinoline alkaloides from *Berberis vulgaris*, *phytochemistry*, 1998, 49 (8), 2547.
- 120-** Pawelczyk E. et al., Chromatographic testing of Berberine extracted from Barberry grown in Poland , *Chem. Anal.*, 1959.



GLOSSAIRE

INDEX DES DEFINITIONS

- ♣ **Polyphagie** : Augmentation de la prise de nourriture
- ♣ **Polydipsie** : Augmentation de la prise d'eau
- ♣ **Polyurie** : Augmentation de le quantité d'urine émise
- ♣ **Une drogue** : tout matériel végétal utilisé en thérapeutique et n'ayant encore subi aucune préparation pharmaceutique ; ce peut être la plante entière ou une partie de plante (feuille, racine, fleur, fruit et graine.)
- ♣ **Le principe actif d'une drogue végétale** : un produit pur chimiquement bien défini et doué d'une activité pharmacologique déterminée.
- ♣ **La décoction** : une solution obtenue en faisant bouillir plus ou moins longtemps (5 à 15 minutes) une ou plusieurs plantes dans un récipient couvert et remplis au départ d'eau froide.
- ♣ **Un extrait** : un médicament résultant de l'évaporation jusqu'à consistance fluide (extrait fluide), molle (extrait mou) ou sèche (extrait sec) d'une solution obtenue en traitant une plante par un liquide volatil, comme l'éther, l'alcool ou l'eau.
- ♣ **Une infusion** : le liquide obtenu en versant, hors du feu, une certaine quantité d'eau bouillante sur des plantes ou des parties de plante. Après 15 minutes environ les principes actifs diffusent dans l'eau.
- ♣ **Une macération** : une préparation obtenue en laissant des plantes ou des parties de plantes en contact avec de l'eau froide, du vin, du vinaigre, de l'alcool ou de l'huile pendant plusieurs heures ou plusieurs semaines selon la plante.
- ♣ **Une poudre** : une préparation obtenue par pulvérisation dans un mortier des plantes ou de parties de plantes desséchées.
- ♣ **Une teinture** : le liquide obtenu par la dissolution des principes actifs de plantes sèches dans de l'eau, de l'alcool ou de l'éther.
- ♣ **Une tisane** : le nom familier donné soit à l'infusion, soit à la décoction soit encore à la macération.

♣ Les sirops sont des préparations obtenues par dissolution de 3/5 de sucre dans 2/5 d'eau à laquelle on incorpore des produits médicaux variables.

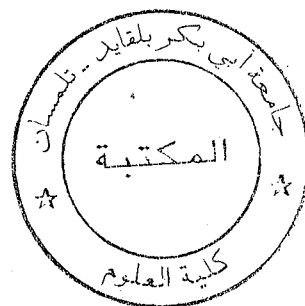
INDEX DES PROPRIÉTÉS

- ♣ **ANALGÉSIQUE** (ou antalgique) : qui atténue ou fait disparaître la douleur
- ♣ **ANTIRHUMATISMAL** : qui combat les rhumatismes
- ♣ **ANTISEPTIQUE** : empêche l'infection
- ♣ **ANTISPASMODIQUE** : qui combat les spasmes, les convulsions
- ♣ **APÉRITIF** : qui stimule l'appétit
- ♣ **APHRODISIAQUE** : qui excite le désir sexuel
- ♣ **ASTRINGENT** : qui resserre les tissus
- ♣ **BACTÉRICIDE** : qui détruit les bactéries
- ♣ **BECHIQUE** : qui calme la toux
- ♣ **CARDIOTONIQUE** : qui fortifie le cœur
- ♣ **CARMINATIF** : qui chasse les gaz intestinaux
- ♣ **CHOLAGOGUE** : qui favorise l'évacuation de la bile
- ♣ **CHOLÉRITIQUE** : qui augmente la sécrétion biliaire
- ♣ **DÉPURATIF** : qui purifie le sang
- ♣ **DIGESTIF** : qui facilite la digestion
- ♣ **DIURÉTIQUE** : qui accroît l'émission urinaire
- ♣ **EMMÉNAGOGUE** : qui fait venir les règles
- ♣ **EXPECTORANT** : qui dégage les voies respiratoires
- ♣ **FÉBRIFUGE** : qui fait tomber la fièvre
- ♣ **FLUIDIFIANT** : qui rend plus fluide
- ♣ **GALACTAGOGUE** : qui favorise la sécrétion lactée
- ♣ **HYPERTENSEUR** : qui élève la tension artérielle
- ♣ **HYPOTENSEUR** : qui abaisse la tension artérielle
- ♣ **HYPNOTIQUE** : qui provoque le sommeil
- ♣ **LAXATIF** : qui fait aller à la selle
- ♣ **NARCOTIQUE** : qui favorise le sommeil, qui engourdit les sens

GLOSSAIRE

- * **PECTORAL** : qui stimule les voies respiratoires
- * **PURGATIF** : laxatif puissant
- * **RÉSOLUTIF** : qui combat les inflammations
- * **SÉDATIF** : qui calme
- * **SOPORIFIQUE** : qui provoque le sommeil
- * **STIMULANT** : qui favorise ou renforce une fonction organique
- * **STOMACHIQUE** : qui active la digestion
- * **SUDORIFIQUE** : qui fait transpirer
- * **TONIQUE** : qui augmente le tonus
- * **VERMIFUGE** : qui combat les vers intestinaux
- * **VULNÉRAIRE** : qui active la cicatrisation des plaies

ANNEXE



1. Le réactif de Dragendorff:

Solution A.: 2 g de subnitrate de bismuth, 25 ml d'acide acétique glacial et 100 ml d'eau.

Solution B.: 40 g de iodure de potassium et 100 ml d'eau

Le réactif est préparé en mélangeant 10 ml des solutions A. et B. à 20 ml d'acide acétique glacial et 100 ml d'eau.

2. Le réactif iodoplatinate:

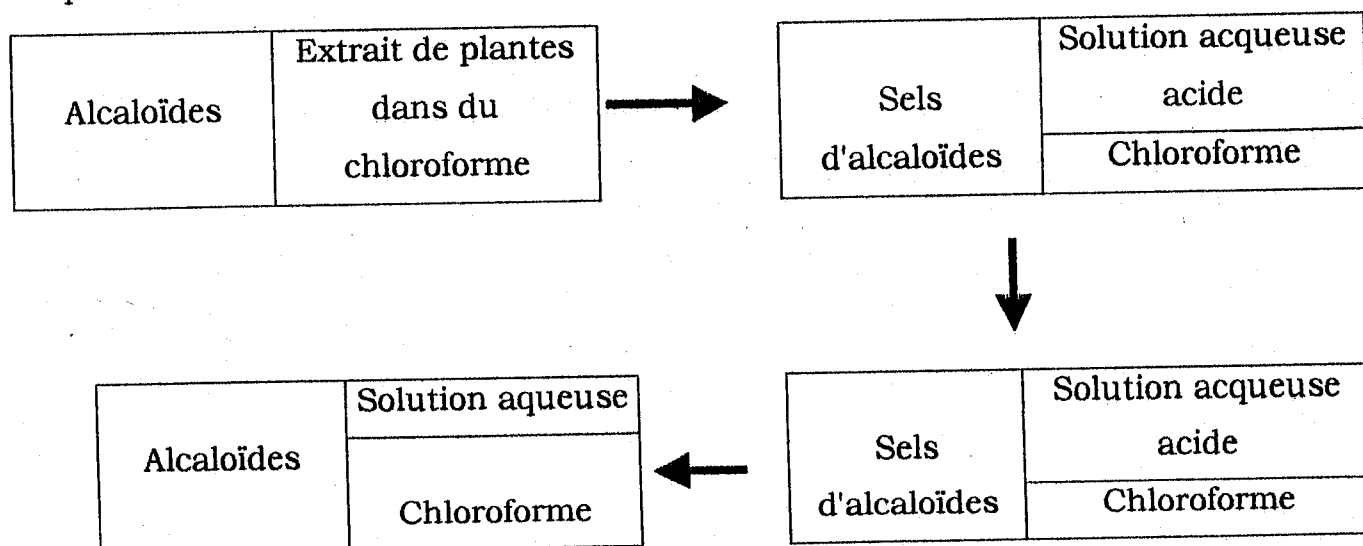
5 ml de solution (5% m / V) de chlorure de platine (V), 5 g de iodure de potassium, 5 ml d'acide hydrochlorique concentré et 100 ml d'eau.

3. Le réactif de Marquis:

2 ml de solution (36% m / m) de formaldéhyde et 100 ml d'acide sulfurique concentré.

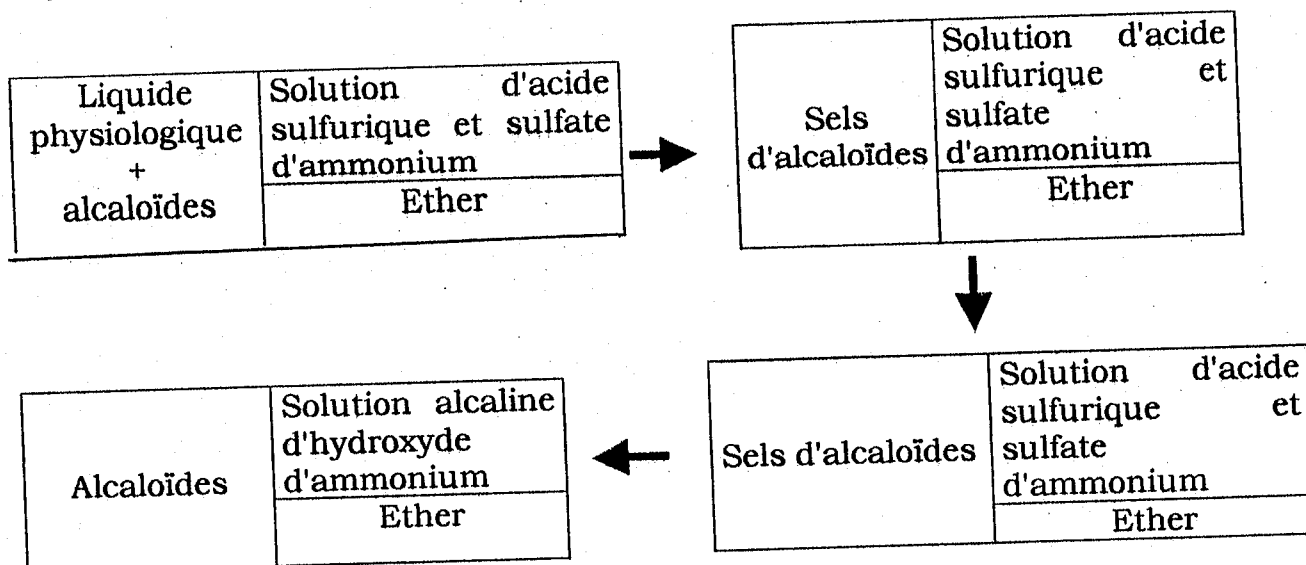
4. Extraction des alcaloïdes

L'extraction et l'isolation des alcaloïdes à partir de matériel végétal peuvent être obtenues par une triple extraction liquide-liquide



ANNEXE

Dans les liquides physiologiques comme le sang, le plasma ou l'urine, les alcaloïdes peuvent être extraits et isolés par une triple extraction liquide-liquide



A partir de l'extrait, une purification des alcaloïdes peut être obtenue par l'intermédiaire de colonnes d'adsorption d'oxyde d'alumine ou de gel de silice ou par l'intermédiaire de résines échangeuses d'ions.

Lors du processus d'extraction et de l'isolation d'alcaloïdes à partir de matériel biologique, il existe un risque de formation de dérivés ou d'autres altérations de la structure moléculaire de ces substances. Une isomérisation, racémisation ou hydrolyse des alcaloïdes peut se produire si un milieu fortement alcalin est utilisé pour la libération des bases libres. La formation de dérivés peut aussi intervenir avec l'utilisation de solvants halogénés tel le chloroforme, utilisé comme phase organique lors de l'extraction.

Traitement statistique :

Les valeurs obtenues sont exprimées sous forme de moyenne \pm l'erreur standard ($X \pm ES$).

La moyenne : $X = \sum X/N$ N : nombre de cas étudiés

$S^2 = (\sum(X^2) - (\sum X)^2/N) \times 1/(N-1)$. (variance)

$S=(S^2)^{1/2}$ (écart type)

$ES = S / (N)^{1/2}$ (erreur standard)

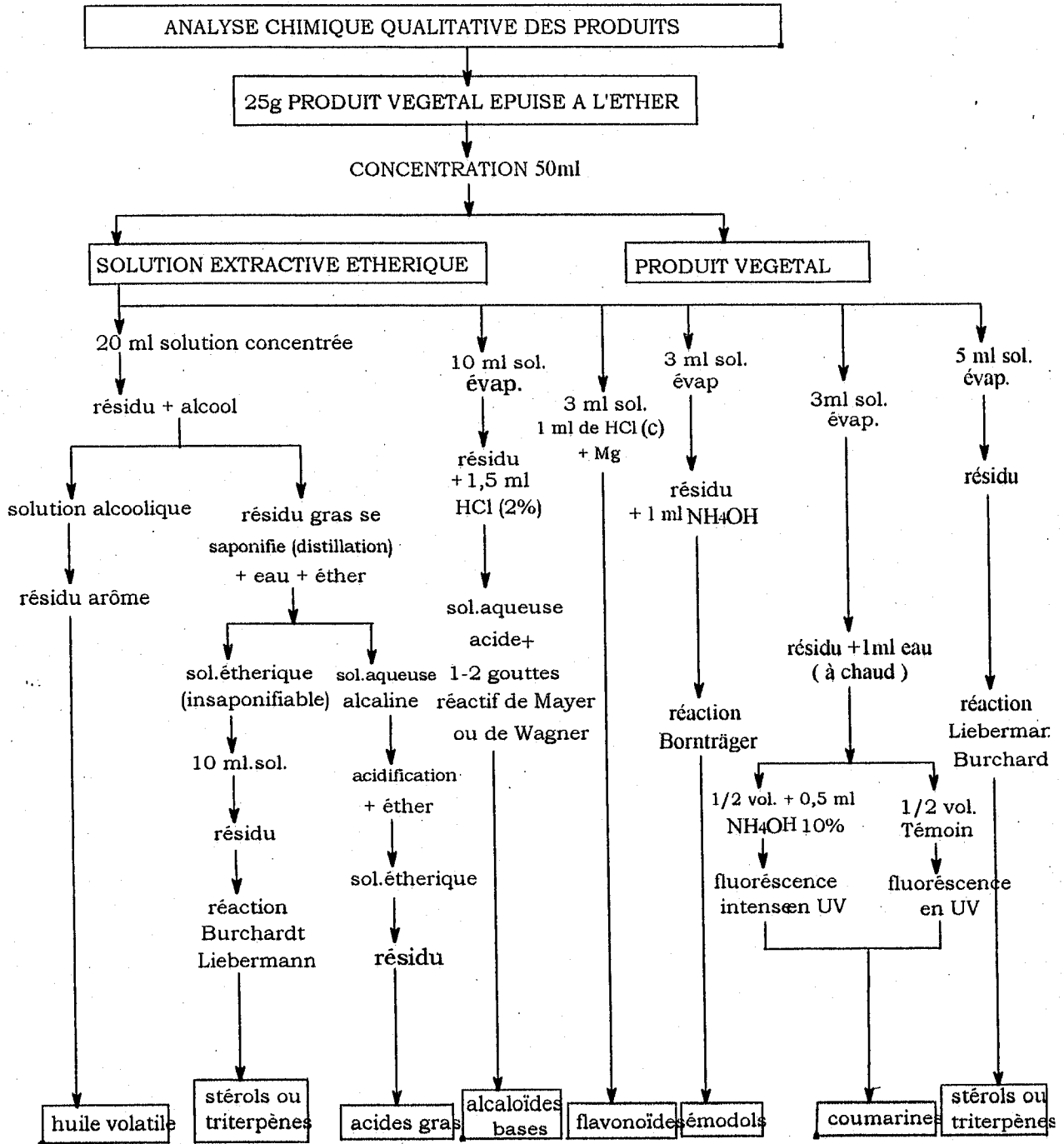
La comparaison des moyennes est effectuée par le test (t) de student de formule :

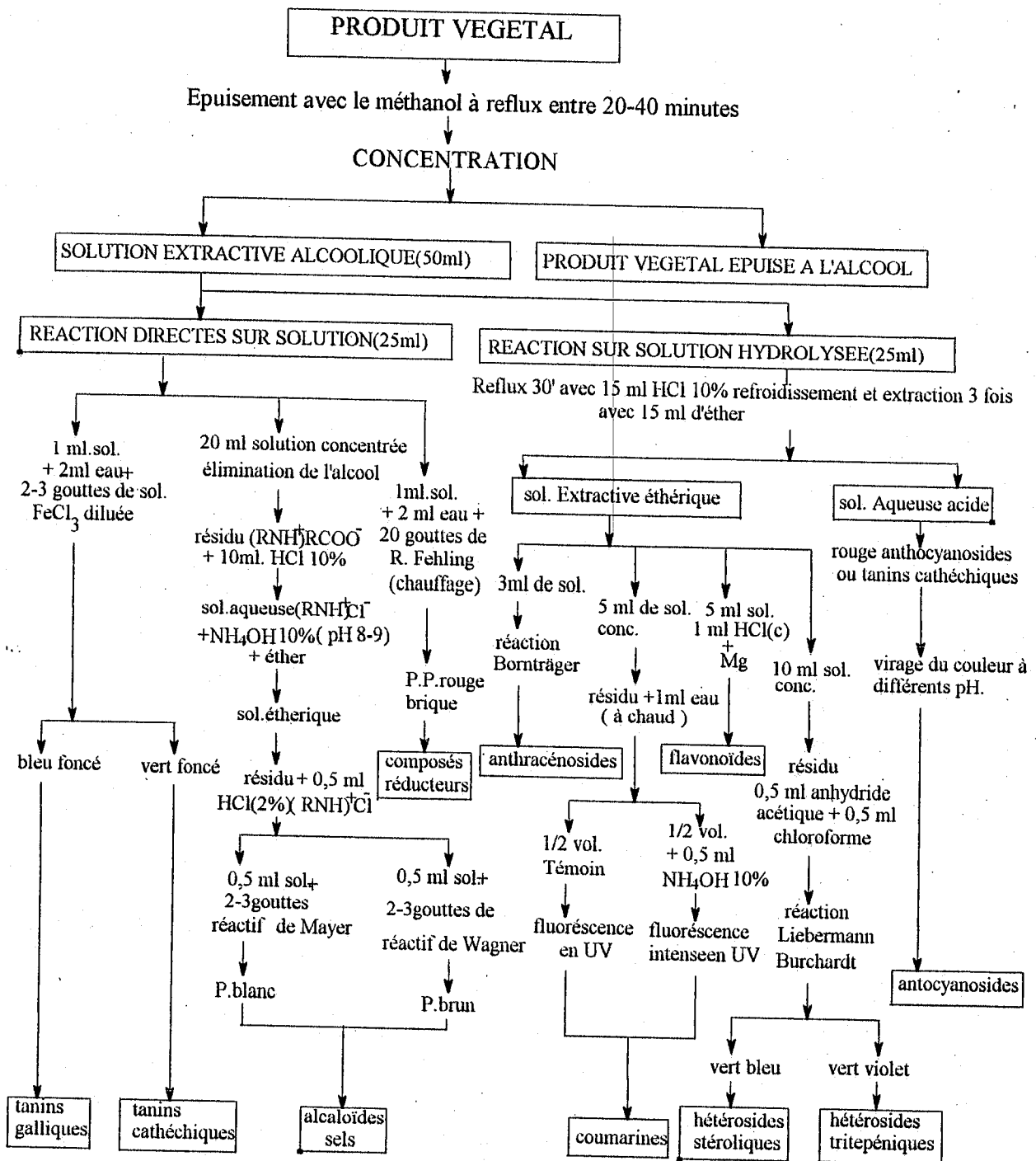
$$t = X_2 - X_1 / S (1/N_1 + N_2)$$

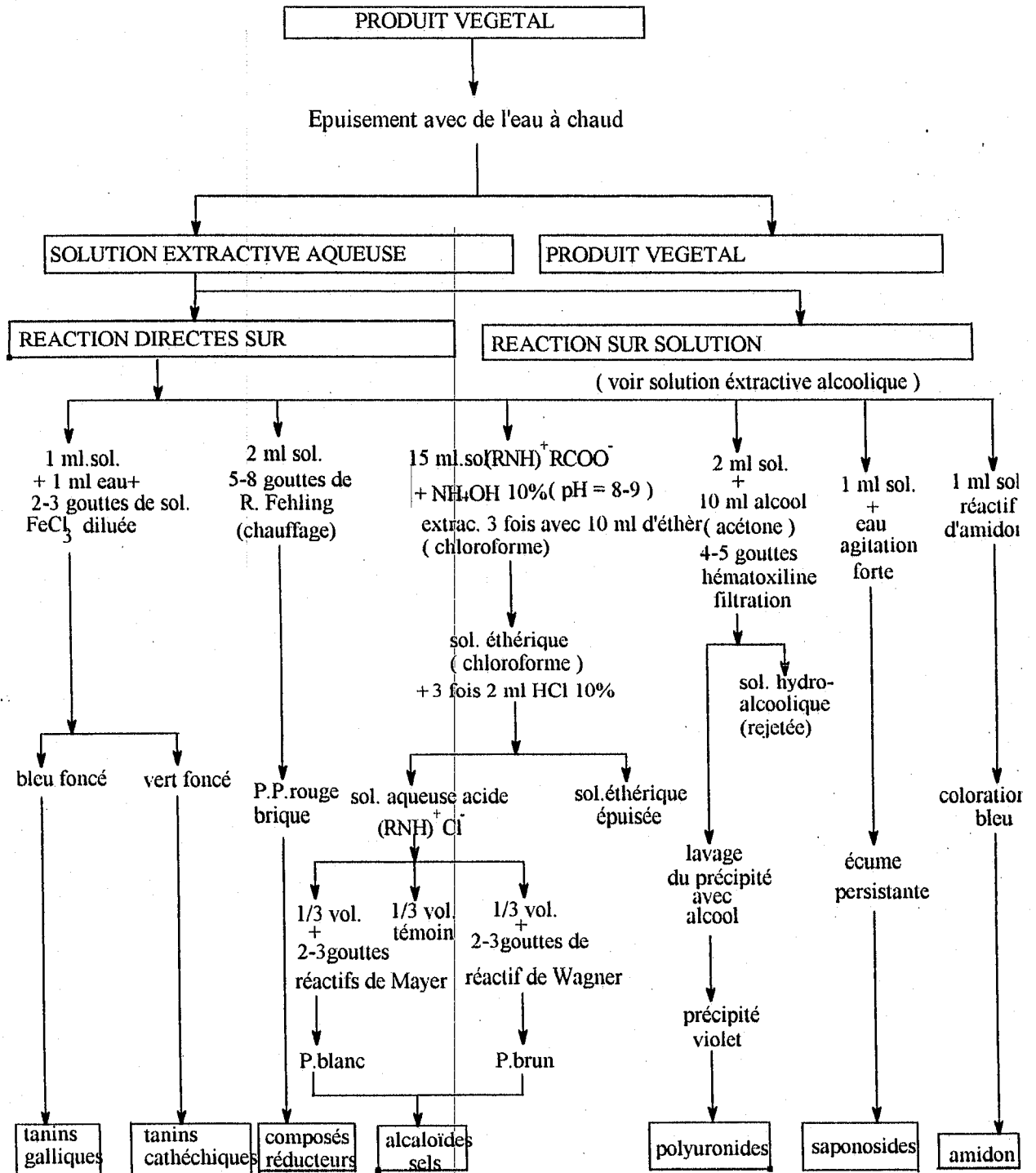
X_1 et X_2 : moyennes à comparer.

S : variance.

N_1 et N_2 : nombres des échantillons.







ANNEXE

	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	S13	S14	S15
R1	207	213	226	233	240	245	246	250	249	250	252	253	256	250	256
R2	156	146			202	230	271	296	304	293	308	320			
R3	189	149			214	247	281	297	303	294	318	286	294	256	218
R4	229	230	238	239	240	238	250	240	249	244	247	268	256	262	268
R5	236	252	244	249	254	250	251	252	255	254	264	240	270	267	265
Moy.	203,4	198	236	240,33	230	242	259,8	267	272	267	277,8	273,4	269	258,75	251,75
E.	32,35	48,14	9,17	8,08	21,31	8,03	15,32	27,31	28,86	24,45	32,91	31,19	17,93	7,37	23,07
V.	16,17	24,07	8,03	7,08	10,65	4,02	7,66	13,66	14,43	12,23	16,46	15,59	10,36	4,26	13,3355746

Tableau 34: valeurs individuelles du poids de lot 4 (normaux témoins) (grammes)

	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	S13	S14	S15
R6	201,00	203,00	216,00	223,00	210,00	215,00	228,00	238,00	241,00	231,00	231,00	227,00	224,00	213	203
R7	152,00	172,00	181,00	189,00	179,00	175,00	184,00	216,00	197,00	188,00	186,00	189,00	197,00	180	163
R8	180	197	175	200	200	175	191	203	193	191	184	209	216	200	185
R9	185	183	199	212	200,00	203	212	206	209	196	201	180	187	170	147
Moy.	179,50	188,75	192,75	206,00	197,25	192,00	203,75	215,75	210,00	201,50	200,50	201,25	206,00	190,75	174,5
E	20,40	13,96	18,55	14,72	13,05	20,23	20,07	15,84	21,76	19,94	21,70	21,01	16,99	19,38	24,57
V	11,79	8,07	10,72	8,51	7,54	11,69	11,60	9,16	12,58	11,53	12,54	12,15	9,82	11,20	14,20

Tableau 35: valeurs individuelles du poids des rats du lot 1 (diabétiques témoins) (grammes)

	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	S13	S14	S15
R12	250	240,0	258	246	266,00	249	255,00	262,00	264,00	257,00	252	258	263	261	260
R13	222	200	229	229	227	240	238	238	244	240	237	240	241	242	235
R15	233	22	229	226	235	233	244	238	240	233	227	242	242	239	239
R16	230	220	241	242	248	234	249	246	250	243	233	246	252	255	250
R17	201	195	217	214	208	210	212	206	215	211	178,00	136			
Moy.	228,3	218,5	237	234,17	238,5	236,67	241,33	241	246,5	240,17	225,40	224,40	234,33	249,25	246
E	17,85	87,58	15,50	12,88	21,83	14,45	16,65	20,40	17,91	16,86	28,06	49,91	10,28	10,47	10,23
V	8,01	39,27	6,95	5,77	9,79	6,48	7,47	9,15	8,03	7,56	12,58	22,38	5,14	5,23	5,11

Tableau 36: valeurs individuelles du poids des rats du lot 5 (normaux traités par l'extrait brut) (grammes)

R : rat ; S: semaine; E: ecart type ; V: variance.

	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	S13	S14	S15
R19	196	188	189	214	202	214	237	241	258	233	224	224	292	216	213
R20	243	232	235	256	252	261	275	267	263	263	256	258	271	258	254
R21		201	204	215	209	231	244	248	251	240	226	232	239	235	235
R22	213	207	201	226	219	238	261	255	269	250	227	235	243	223	224
R23	145	123	130	160	147	152	166	174	190	180	161	165			
Moy.	199,25	190,2	191,8	214,2	205,8	219,2	236,6	237	246,2	233,2	218,80	222,80	261,25	233	231,5
E	41,06	40,83	38,49	34,73	38,05	41,18	42,16	36,50	32,10	31,81	34,90	34,69	24,96	18,42	17,48
V	23,73	23,60	22,25	20,08	21,99	23,80	24,37	21,10	18,56	18,39	20,17	20,05	14,43	10,65	10,11

Tableau 37: valeurs individuelles du poids des rats du lot 2 (diabétiques traités par l'extrait brut) (grammes)

	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	S13	S14	S15
R30	224	204	205	220	210	234	258	246	253	243	220	245	247	222	225
R31	273	244	230	240	239	253	282	272	272	264	233	256	255	247	246
R32	229	210	200	206	203	224	236	227	228	222	299	206	214	214	216
R33	187	170	167	177	180	190	205	187	200	294	277	190	293	186	190
R34	221	204	200	208	202	220	236	232	237	232	218	221	235	215	213
R35	264	237	226	228	231	247	271	268	277	274	254	271	270	264	263
DTS	233	211,5	204,7	213,2	210,8	228	248	238,7	244,5	254,8	250,2	231,5	252,3	224,7	225,5
E	31,36	26,62	22,62	21,78	21,40	22,57	28,01	31,23	28,96	27,29	32,74	31,07	27,46	27,41	25,82
V	14,06	11,94	10,15	9,77	9,60	10,12	12,56	14,00	12,99	12,24	14,68	13,93	12,32	12,29	11,58

Tableau 38: valeurs individuelles du poids des rats du lot 3 (diabétiques traités par l'extrait des saponosides) (grammes)

	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	S13	S14	S15
R25	263	252	270	283	275	283	286	282	297	293	290	298	294	290	290
R26	326,0	304,0	330,0	340,0	338,0	333,0	348,0	345,0	352,0	338,0	338	337	328	330,0	320
R27	244	235	257	264	252	250	254	207	190						
R28	350	226	337	248	350	354	376	383	380	268	366	371	374	377	370
R29	283	270	276	285	285	297	295	310	287	266	259	241	225	244	243
Moy.	293,2	257,4	294	284	300	303,4	311,8	305,4	301,2	316,25	313,25	311,75	305,25	310,25	305,75
E	43,99	31,01	36,79	34,76	42,12	41,06	49,30	66,79	73,10	33,50	47,88	55,81	62,74	56,70	53,28
V	21,99	15,51	18,39	17,38	21,06	20,53	24,65	33,39	36,55	19,36	27,68	32,26	36,27	32,77	30,80

Tableau 39: valeurs individuelles du poids des rats du lot 6 (normaux traités par les saponosides) (grammes)

ANNEXE

	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	S13	S14	S15
R19	3,1	2,13	2,18	2,7	2,95	2,18	2,35	3,06	2,39	0,62	0,98	1,41	2,15	1,15	1,87
R20	2,5	0,78	0,92	1,53	2,12	2,25	1,47	0,94	1,04	1,11	0,67	1,64	1,36	1	1,22
R21		0,91	0,75	1,1	3,51	2,25	2,25	1,48	2,1	0,93	1,42	2,23	1,82	0,97	0,72
R22	3,15	1,11	0,84	2,15	3,51	3,19	3,39	2,41	1,87	2,16	2,61	2,58	1,97	1,81	1,05
R23	2,88	0,19	0,65	3,36	2,82	2,18	3,61	2,38	2,42	1,35	0,75	2,19			
Moy.	2,91	1,02	1,07	2,17	2,98	2,41	2,61	2,05	1,96	1,23	1,29	2,01	1,83	1,15	1,87
E	0,30	0,71	0,63	0,90	0,58	0,44	0,88	0,84	0,56	0,58	0,80	0,48	0,34	0,39	0,48
V	0,17	0,35	0,31	0,45	0,29	0,22	0,44	0,42	0,28	0,29	0,40	0,24	0,20	0,23	0,28

Tableau 43: valeurs individuelles de la glycémie des rats du lot 2 (diabétiques traités par l'extrait brut) (g/l).

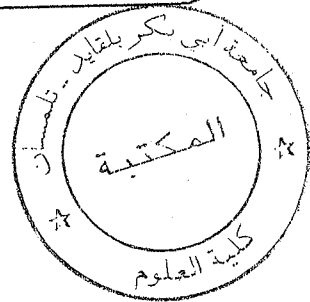
	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	S13	S14	S15
R25	1,62	0,56	0,75	0,63	0,86	0,64	0,66	0,54	0,91	0,69	0,79	1,12	1,1	0,9	0,86
R26	0,76	0,63	0,69	0,89	1,06	0,74	0,58	0,81	0,86	0,76	0,94	0,72	0,88	0,72	0,78
R27	0,86	0,56	0,61	0,83	1,15	0,84	0,76	0,58	0,85						
R28	0,97	0,49	0,96	0,81	0,9	0,64	1,17	0,7	1	0,53	0,7	0,86	0,89	1,09	0,94
R29	0,75	0,83	1,68	0,91	0,95	0,55	1,22	0,87	1,09	0,66	0,64	0,92	0,74	0,8	0,94
NTS	0,99	0,61	0,94	0,77	0,98	0,68	0,88	0,70	0,94	0,66	0,77	0,91	0,90	0,88	0,88
E	0,36	0,13	0,43	0,11	0,12	0,11	0,30	0,14	0,10	0,10	0,13	0,17	0,15	0,16	0,08
V	0,18	0,07	0,22	0,06	0,06	0,06	0,15	0,07	0,05	0,06	0,08	0,10	0,09	0,09	0,04

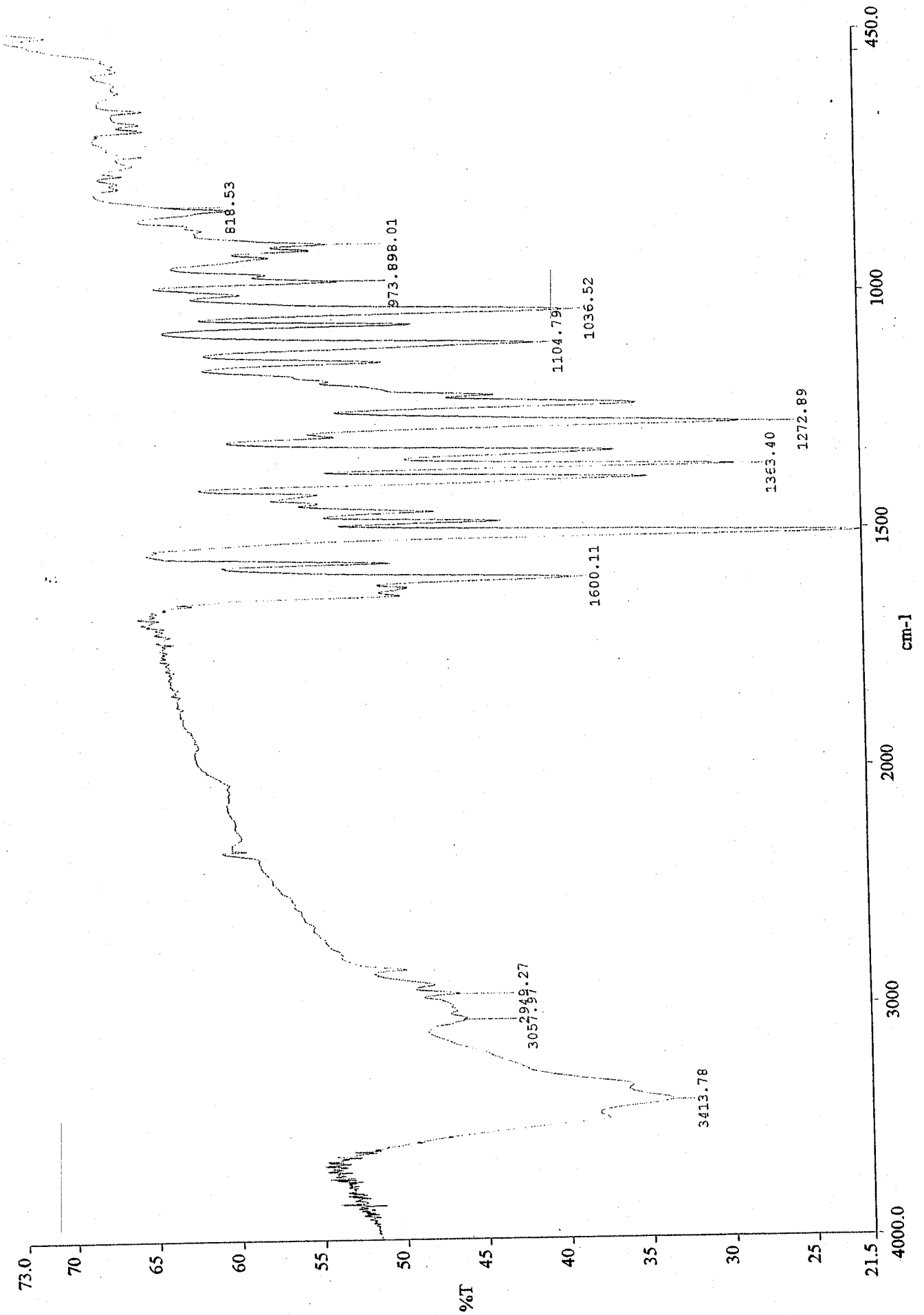
Tableau 44: valeurs individuelles de la glycémie des rats du lot 6 (normaux traités par les saponosides) (g/l).

	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	S13	S14	S15
R30	2,93	0,71	0,54	0,64	2,59	1,75	2,71	2,17	1,78	2,32	1,18	4,50	3,44	1,36	1,95
R31	2,93	0,74	0,7	0,6	2,85	1,19	1,97	2,57	2,23	2,04	1,15	4,03	3,07	1,64	2,44
R32	1,59	1,41	0,71	1,05	3,13	2,51	2,99	1,91	1,72	2,16	1,16	3,39	2,18	2,17	2,64
R33	2,95	0,86	1,09	0,62	2,68	1,42	1,97	2,91	1,46	2,06	0,82	4,16	2,1	0,88	2,09
R34	2,83	0,71	0,72	0,87	3,27	1,65	1,13	1,74	1,52	1	0,76	1,58	1,29	0,94	2,55
R35	2,56	0,83	0,49	0,88	2,01	1,51	1	1,92	1,87	1,17	0,73	2,27	3,15	0,61	0,68
Moy	2,63	0,88	0,71	0,78	2,76	1,67	1,96	2,20	1,76	1,79	0,97	3,32	2,54	1,27	2,06
E	0,53	0,27	0,21	0,18	0,45	0,45	0,80	0,45	0,28	0,56	0,22	1,16	0,82	0,57	0,73
V	0,24	0,12	0,09	0,08	0,20	0,20	0,36	0,20	0,12	0,25	0,10	0,52	0,37	0,26	0,33

Tableau 45: valeurs individuelles de la glycémie des rats du lot 3 (diabétiques traités par les saponosides) (g/l).

SPECTRES
FRACTION A





aur3.sp - al A soluble

4.5.9, 5.02

TB4

Current Data Parameters
 NAME May12-2003
 EXPNO 481
 PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters

Date_ 20030513
 Time 7.01
 INSTRUM spect
 PROBED 5 mm QNP 1H
 PULPROG zg30
 TD 32768
 SOLVENT MeOH
 NS 16
 DS 2
 SWH 4139.073 Hz
 FIDRES 0.126314 Hz
 AQ 3.9584243 sec
 RG 5792.6
 LW 120.800 usec
 DE 9.00 usec
 TE 300.0 K
 D1 1.00000000 sec

===== CHANNEL f1 =====

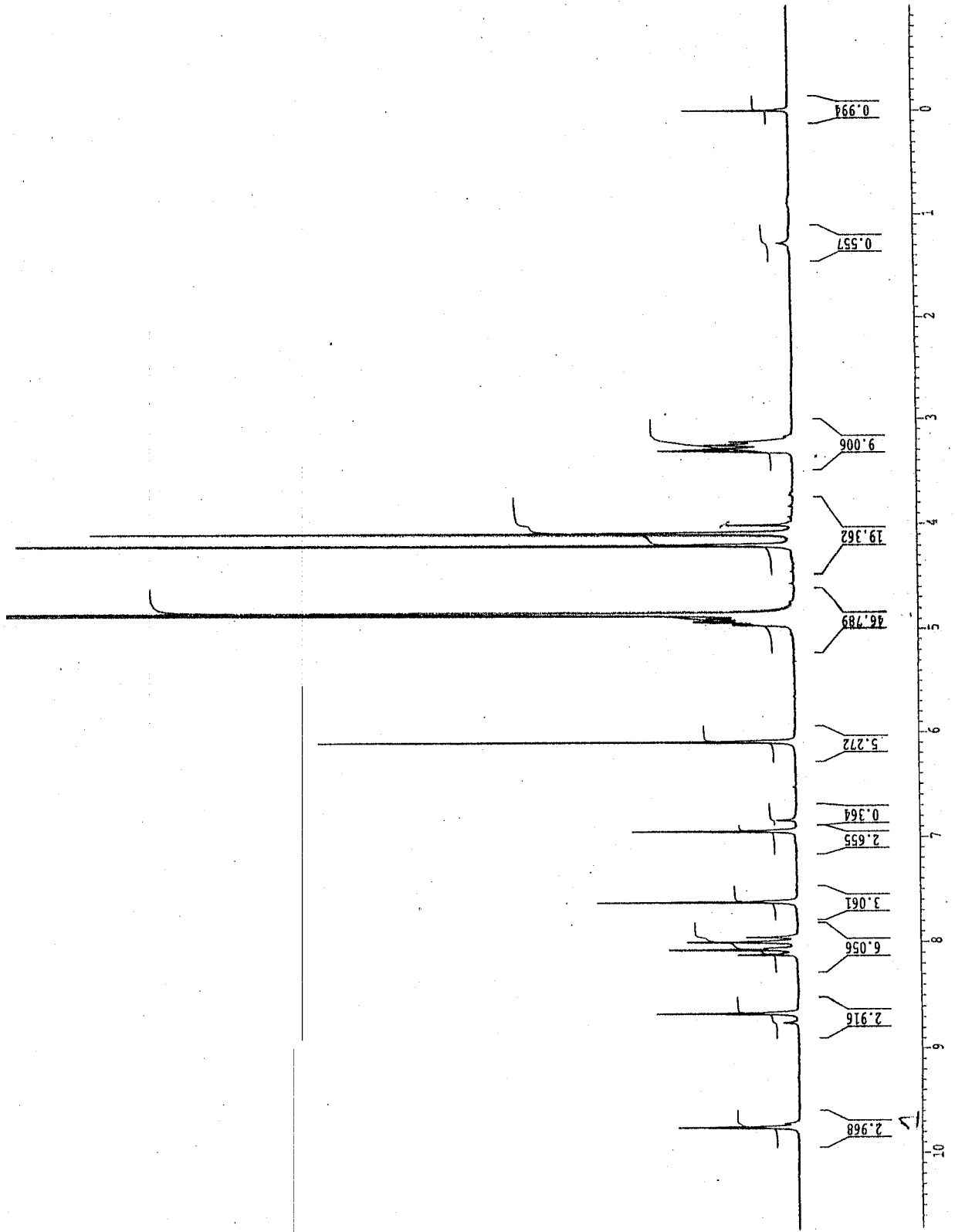
NUC1 1H
 P1 9.50 usec
 PL1 -6.00 dB
 SF01 200.1312359 MHz

F2 - Processing parameters

SI 32768
 SF 200.1300081 MHz
 WDW EM
 SSB 0
 LB 0.30 Hz
 GB 0
 PC 1.00

1D NMR plot parameters

CK 30.00 cm
 FIP 11.000 ppm
 FI 2201.43 Hz
 FZP -1.000 ppm
 FZ -200.13 Hz
 PPMCM 0.40000 ppm/cm
 HZCM 80.05200 Hz/cm



TB4

Current Data Parameters
 NAME May12-2003
 EXENO 480
 PROCNO 1

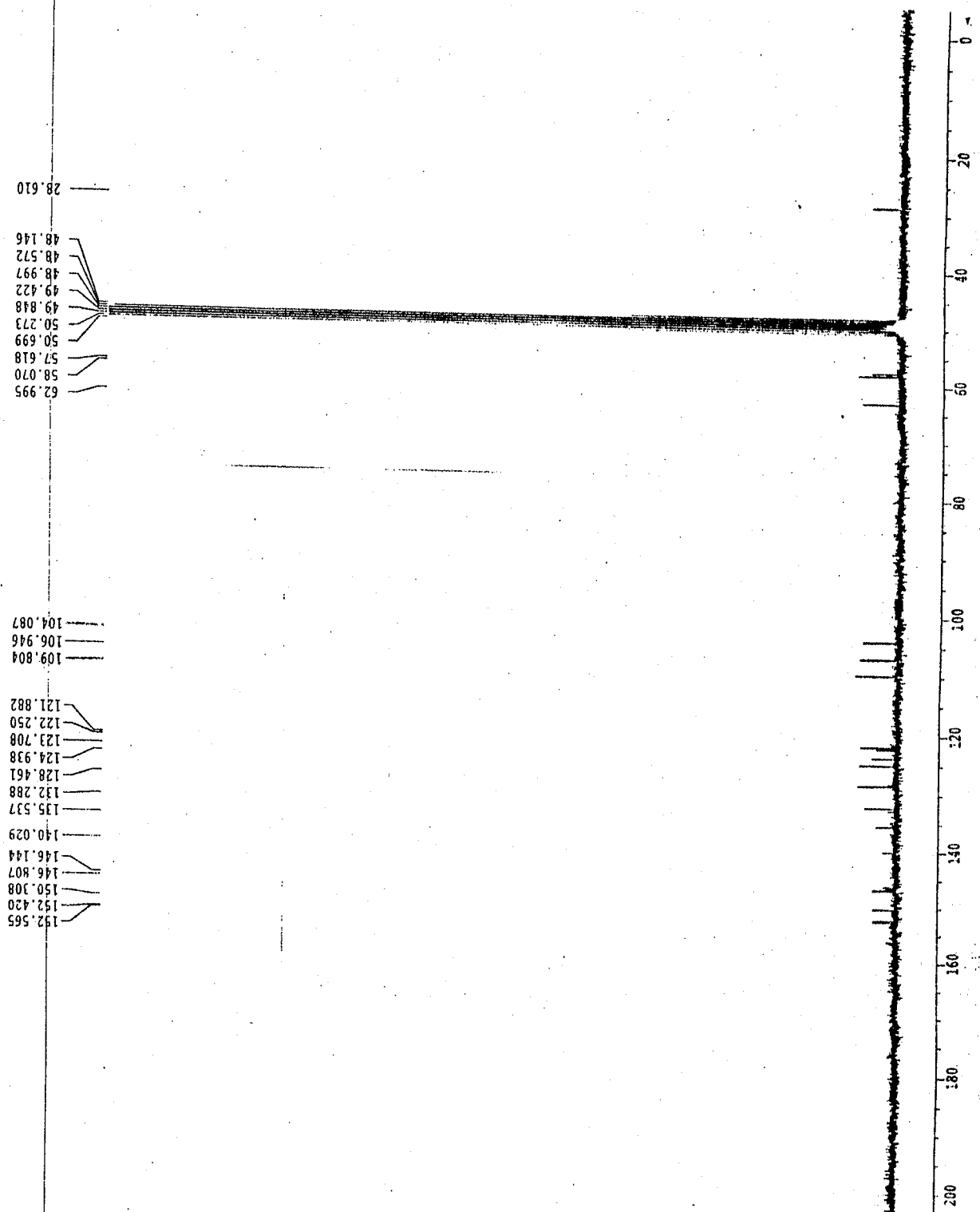
F2 - Acquisition Parameters
 Date_ 20030513
 Time 6.58
 INSTRM spect
 PROBE 5 mm QNP 1H
 PULPROG zgpg30
 TD 65536
 SOLVENT MeOH
 NS 1536
 DS 4
 SWH 22562.814 Hz
 FIDRES 0.191693 Hz
 AQ 2.6083827 sec
 RG 11585.2
 DW 39.800 usec
 DE 9.00 usec
 TE 300.0 K
 D1 2.0000000 sec
 D11 0.0300000 sec
 D12 0.0002000 sec

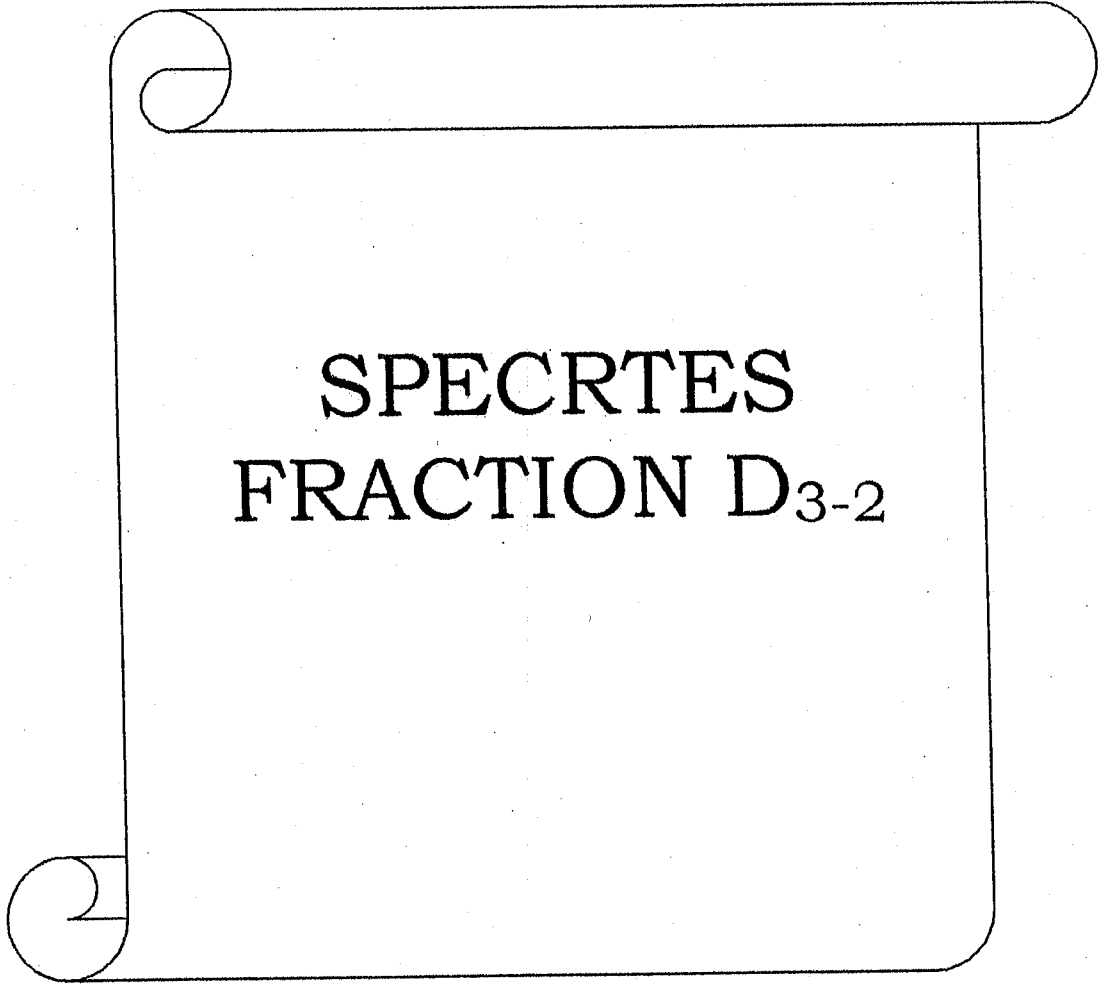
==== CHANNEL f1 =====
 NUCL1 13C
 P1 6.00 usec
 PL1 -6.00 dB
 SF01 50.3282440 MHz

==== CHANNEL f2 =====
 CPDPRG2 waitz16
 NUCL2 1H
 PCPD2 100.00 usec
 PZ2 -6.00 dB
 PL2 17.00 dB
 PL3 20.00 dB
 SF02 500.1308005 MHz

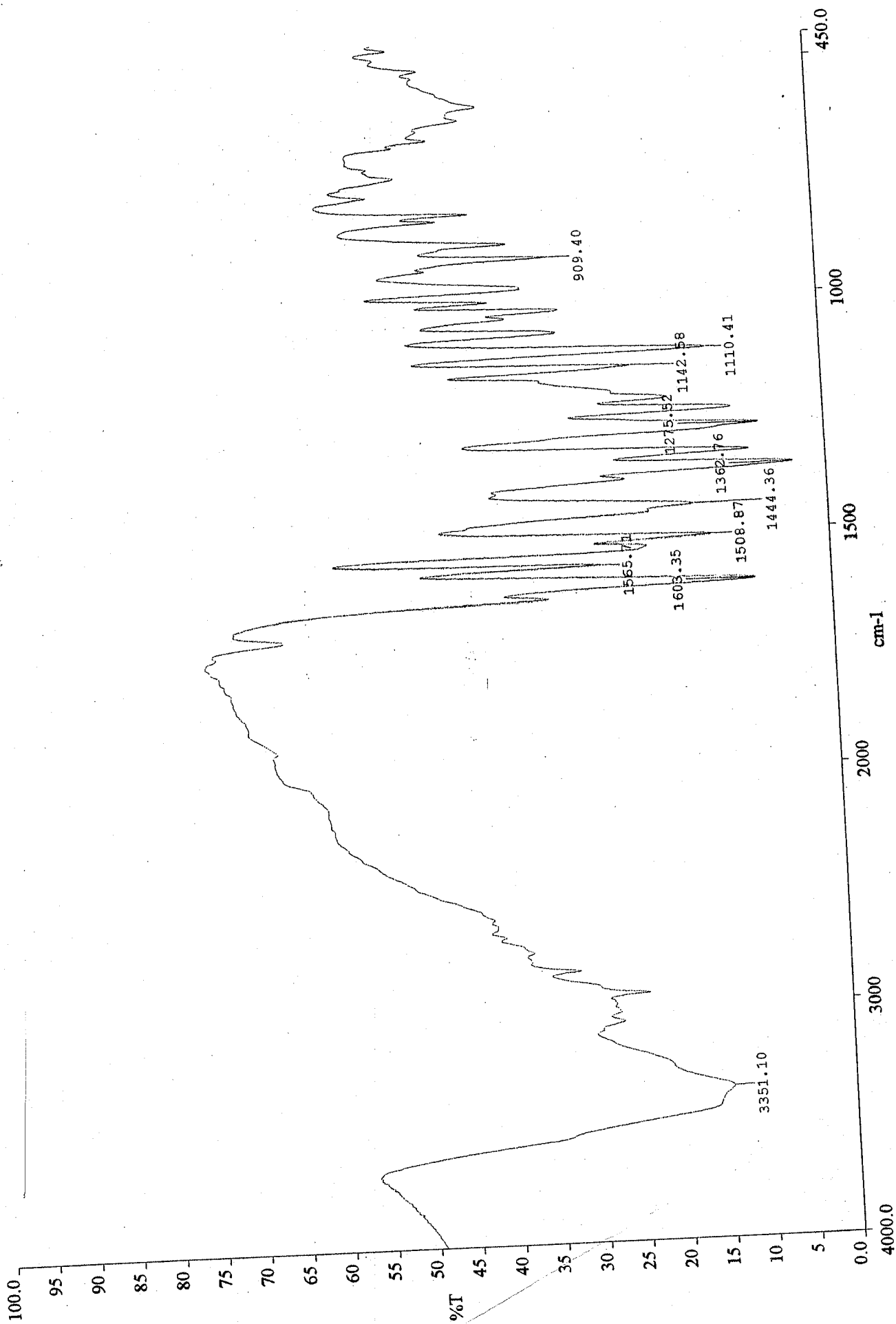
F2 - Processing parameters
 SI 32768
 SF 50.3226375 MHz
 XN 2K
 SSB 0
 LB 1.00 Hz
 GB 0
 FC 1.40

ID NMR plot parameters
 CX 30.00 cm
 FIP 215.000 ppm
 FI 10819.37 Hz
 FZF -5.000 ppm
 FZ -251.61 Hz
 PPMAX 7.33333 ppm/cm
 HZCX 369.03265 Hz/cm

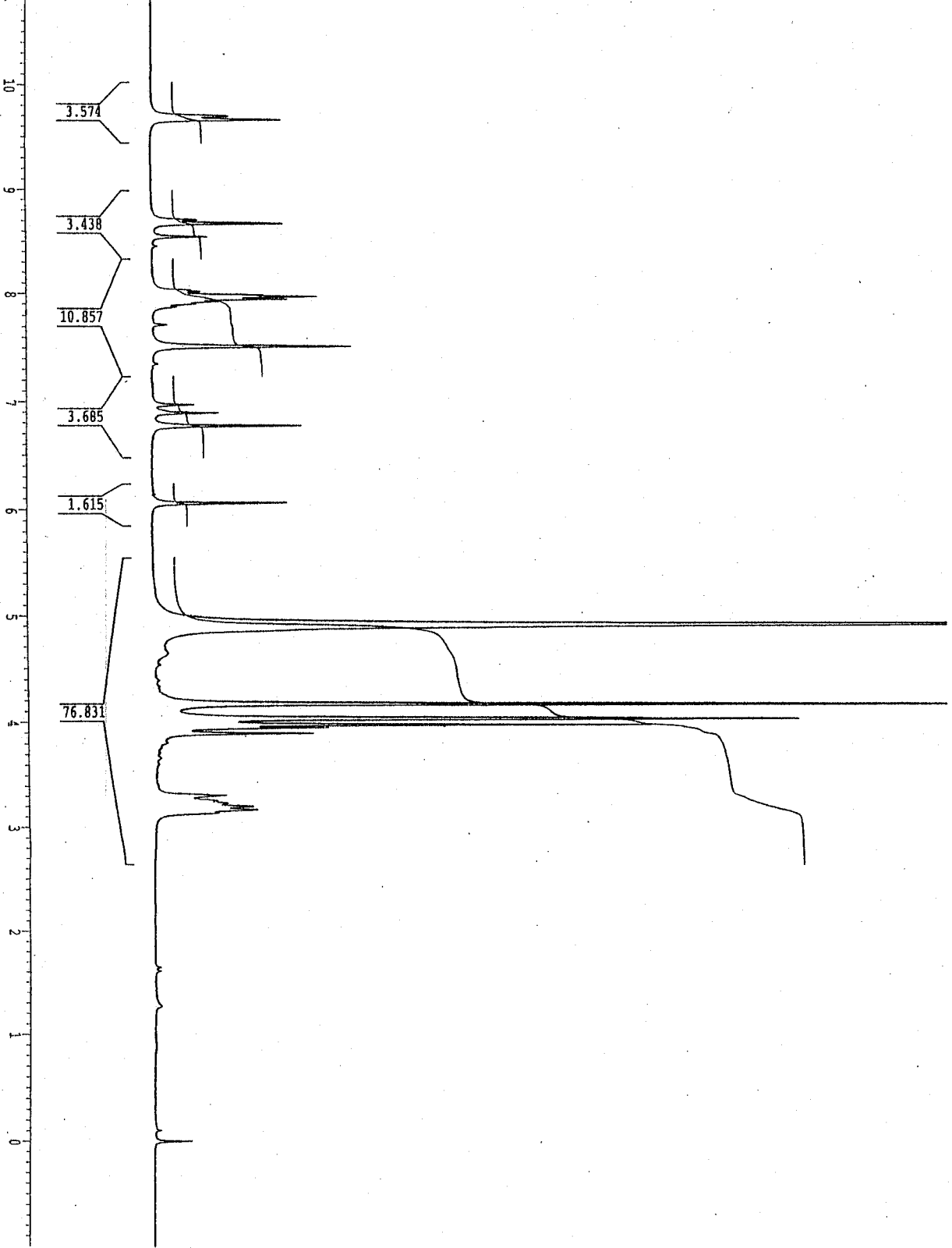




**SPECTRES
FRACTION D₃₋₂**



ALCALOIDE



Current Data Parameters
 NAME Apr30-2003
 EXPNO 430
 PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters
 Date_ 20030430
 Time 18:27
 INSTRUM spect
 PROBD 5 mm QNP 1H
 PULPROG zg30
 TD 32768
 SOLVENT MeOH
 NS 32
 DS 2
 SMH 4139.073 Hz
 FIDRES 0.126314 Hz
 AQ 3.9584243 sec
 RG 2298.8
 LW 120.800 usec
 DE 9.00 usec
 TE 300.0 K
 D1 1.00000000 sec

==== CHANNEL f1 =====
 NUCL 1H
 P1 9.50 usec
 PL1 -6.00 dB
 SFO1 200.1312359 MHz

F2 - Processing parameters
 SI 32768
 SF 200.1300079 MHz
 WDN EM
 SSB 0
 LB 0.30 Hz
 GB 0
 PC 1.00

1D NMR plot parameters
 CX 30.00 cm
 FLF 11.000 ppm
 F1 2201.43 Hz
 F2P -1.000 ppm
 F2 -200.13 Hz
 EPKCM 0.40000 ppm/cm
 HZCM 80.05200 Hz/cm

200
180
160
140
120
100
80
60
40
20
0



- 152.451
- 152.318
- 152.082
- 152.008
- 150.181
- 149.908
- 146.420
- 145.780
- 140.359
- 139.779
- 135.583
- 132.179
- 130.477
- 130.289
- 128.178
- 124.943
- 124.846
- 123.403
- 121.267
- 119.674
- 116.268
- 110.312
- 109.788
- 106.854
- 104.074

- 62.969
- 57.969
- 57.753
- 57.449
- 57.069
- 50.720
- 50.295
- 49.869
- 49.443
- 49.017
- 48.592
- 48.167

- 28.567
- 28.021

Current Data Parameters
 NAME Apr30-2003
 EXMNO 431
 PROCNO 1

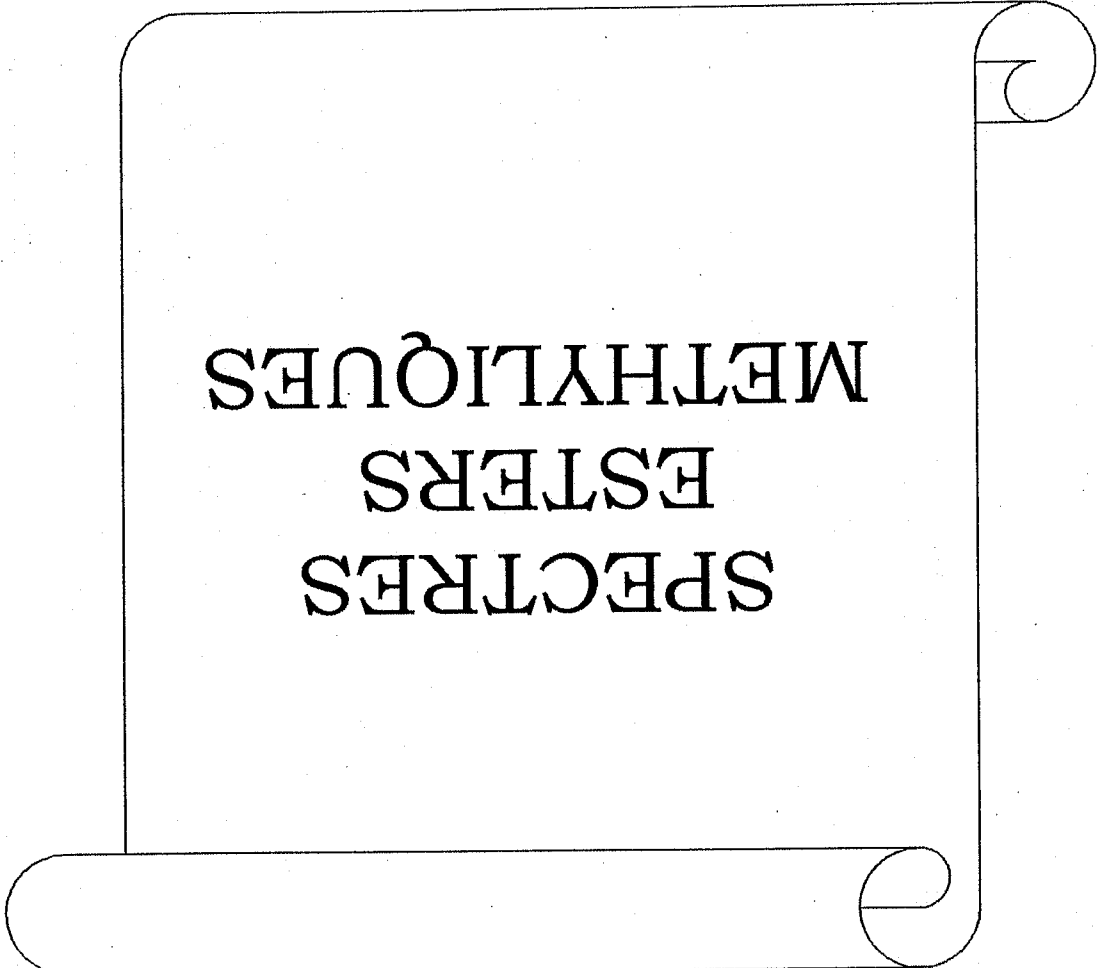
F2 - Acquisition Parameters
 Date_ 20030430
 Time 18.43
 INSTRUM Spect
 PROBRD 5 mm QNP 1H
 PULPROG zgpg30
 TD 65536
 SOLVENT MeOH
 NS 1024
 DS 4
 SWH 12562.814 Hz
 FIDRES 0.191693 Hz
 AQ 2.6083827 sec
 RG 8192
 DW 39.800 usec
 DE 9.00 usec
 TE 300.0 K
 D1 2.00000000 sec
 D11 0.03000000 sec
 D12 0.00002000 sec

==== CHANNEL F1 =====
 NUCL1 13C
 P1 6.00 usec
 PL1 -6.00 dB
 SFO1 50.3282440 MHz

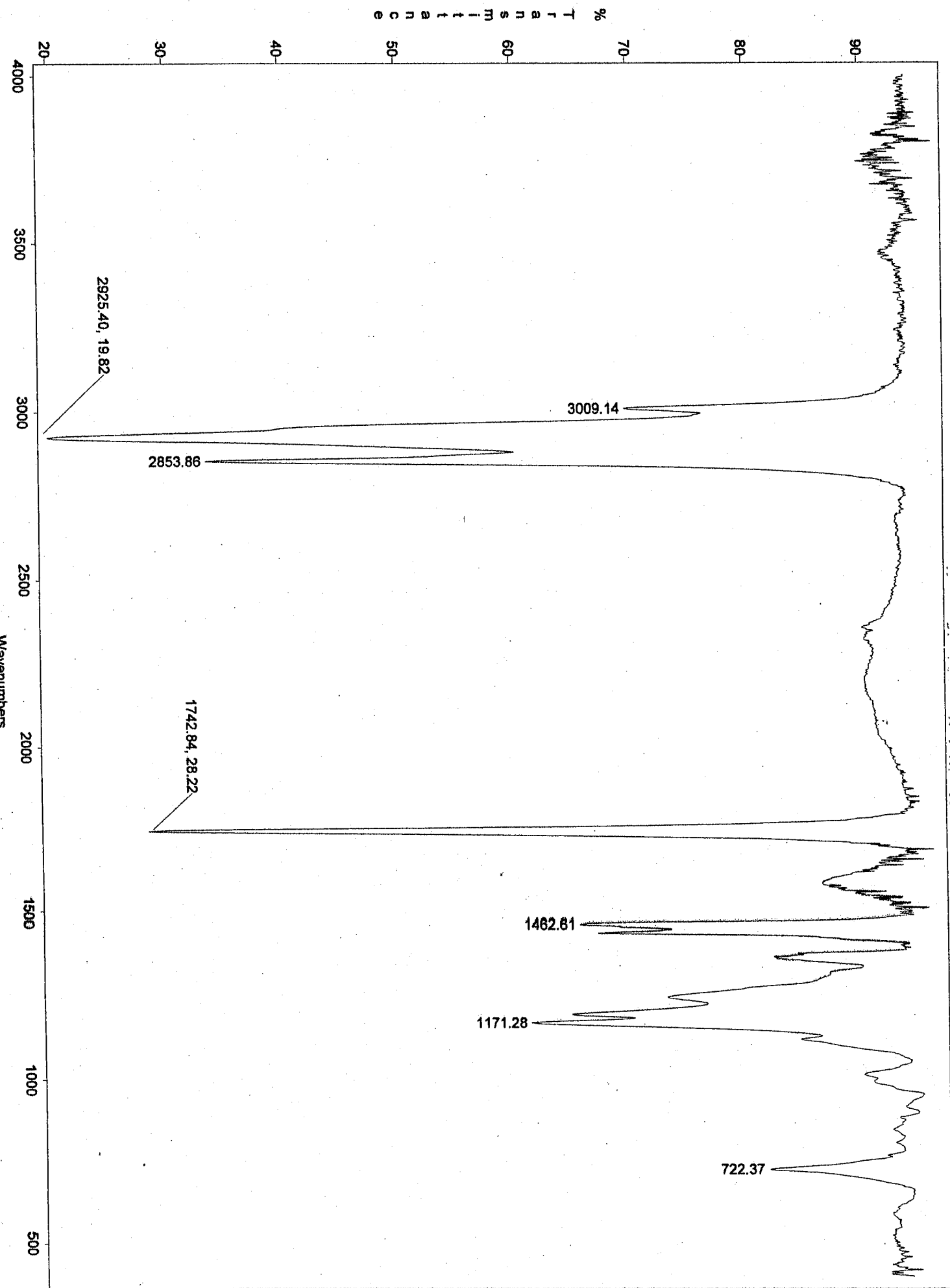
==== CHANNEL F2 =====
 CPDPRG2 waltz16
 NUCL2 1H
 PCPD2 100.00 usec
 PL2 -6.00 dB
 PL12 17.00 dB
 PL13 20.00 dB
 SFO2 200.1308005 MHz

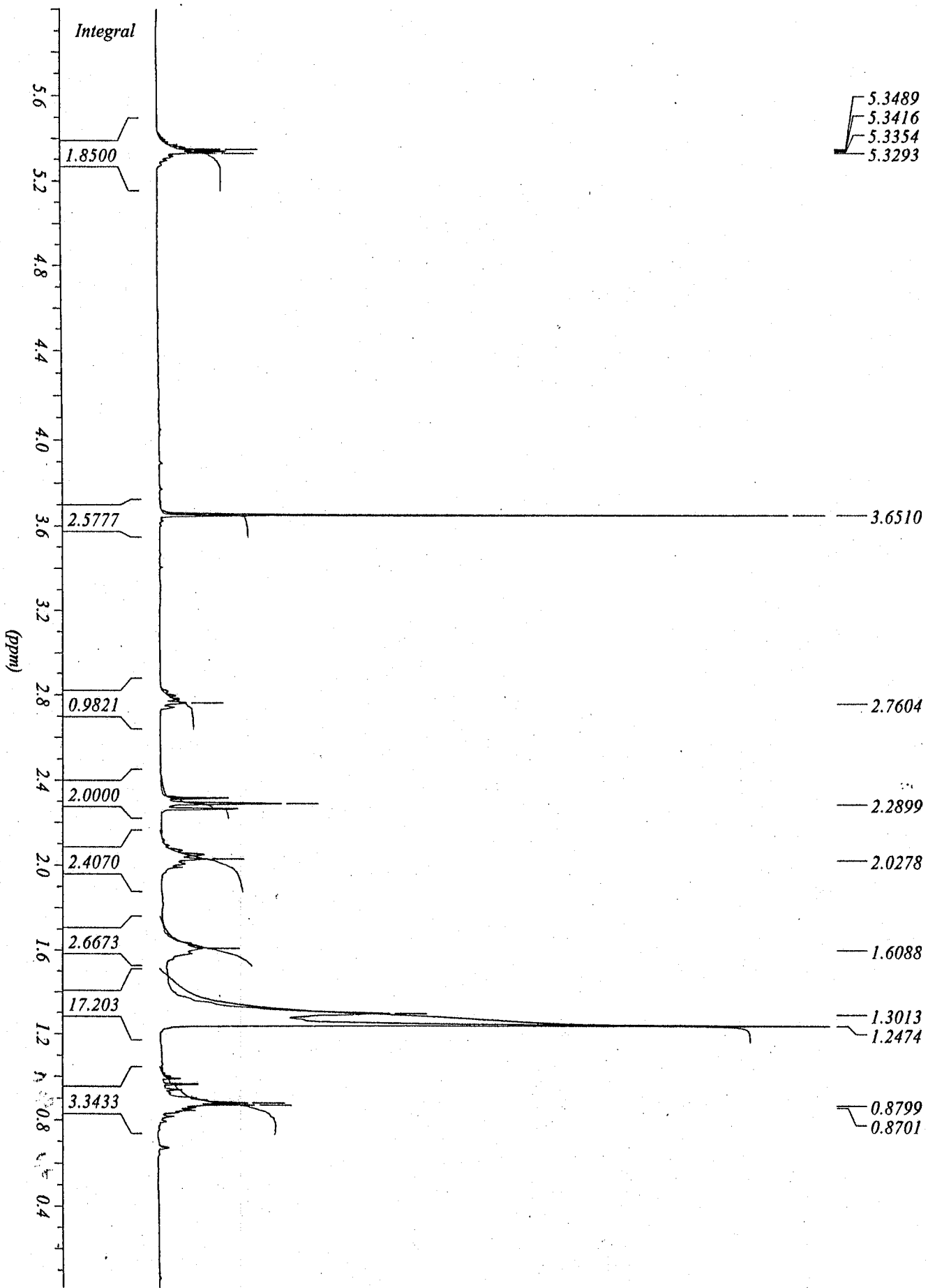
F2 - Processing parameters
 SI 32768
 SF 50.3226375 MHz
 WDW EM
 SSB 0
 LB 1.00 Hz
 GB 0
 PC 1.40

ID NMR plot parameters
 CX 30.00 cm
 FIP 215.000 ppm
 F1 10819.37 Hz
 F2P -5.000 ppm
 F2 -251.61 Hz
 PPMCM 7.33333 ppm/cm
 HZCM 369.03265 Hz/cm



SPECTRES
ESTERS
METHYLIQUES





*** Current Data Parameters

NAME	:	023121
EXPNO	:	21
PROCNO	:	1

*** Acquisition Parameters

NS	:	16
O1	:	6000.00
O2	:	10.00
SW_H	:	6024.090
TD	:	32768

*** Processing Parameters

LB	:	0.10
SF	:	300.1333640
SI	:	1638

*** ID NMR Plot Parameters

Start	:	6.00
Stop	:	0.00
YScale	:	99.80
SR	:	3364.00

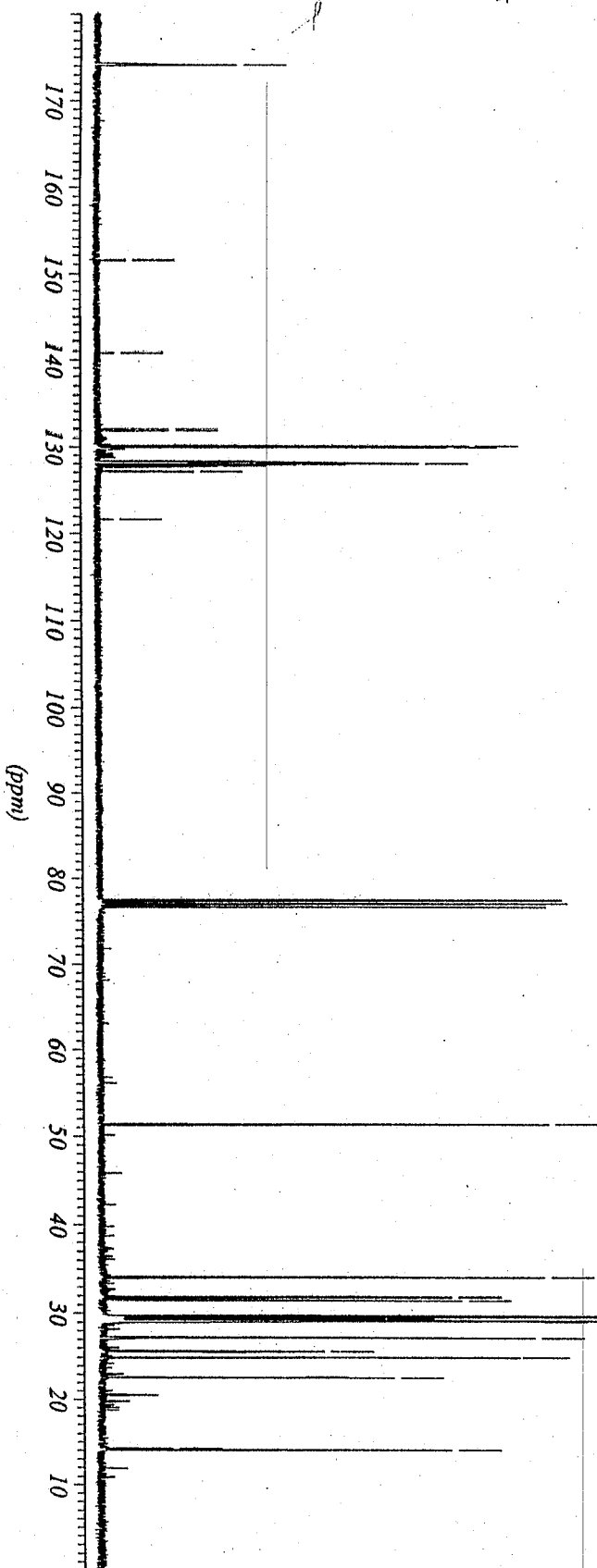
*** Aspect 3000 Parameters

CPULSE	:	0.000
NS	:	16
SFREQ	:	300.1333640
DAITEN	:	-6
RGAIN_AC	:	4
DDATE	:	1974/Nov/0
ATIME	:	03:45:40
SR	:	3364.00

174.2065

- 151.5091
- 140.7782
- 131.8820
- 130.1896
- 130.1372
- 129.9725
- 128.2351
- 128.2052
- 128.0180
- 127.8757
- 127.7035
- 127.0894
- 121.6004

- 51.3366
- 34.0683
- 34.0458
- 31.8892
- 31.4923
- 29.6576
- 29.6277
- 29.6127
- 29.5528
- 29.5228
- 29.4105
- 29.3206
- 29.3057
- 29.2832
- 29.2158
- 29.1110
- 29.0810
- 29.0511
- 27.1640
- 27.1490
- 25.5914
- 25.4941
- 24.9249
- 24.9025
- 22.6410
- 22.5286
- 14.2015
- 14.0443
- 13.9993



*** Current Data Parameters ***

NAME : O2311F
 EXPNO : 212
 PROCNO : 1

*** Acquisition Parameters ***

NS : 3000
 O1 : 6900.00 Hz
 O2 : 4700.00 Hz
 SW_H : 18518.519 Hz
 TD : 65536

*** Processing Parameters ***

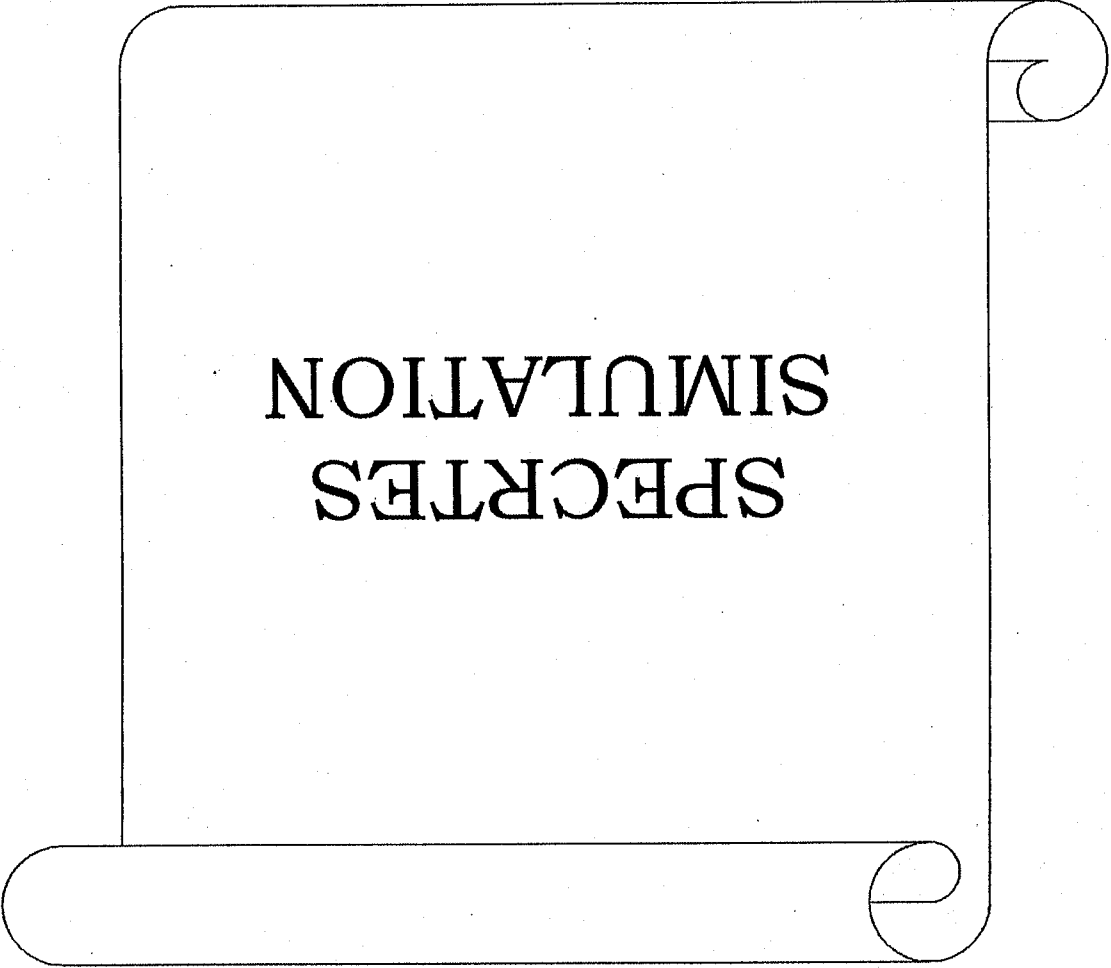
LB : 0.10 Hz
 SF : 75.4685950 MHz
 SI : 32768

*** ID NMR Plot Parameters ***

Start : 180.00 ppm
 Stop : 0.00 ppm
 YScale : 164.04 %
 SR : -1405.00 Hz

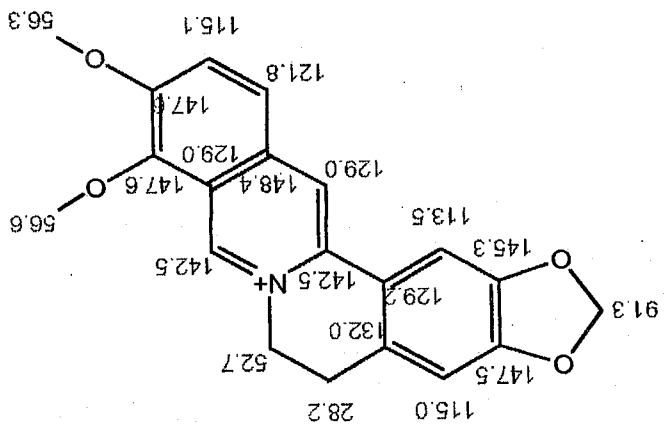
*** Aspect 3000 Parameters ***

CPULSE : 0.000 usec
 NS : 3000
 SFREQ : 75.4685950 MHz
 DATTEN : 22 dB
 RGAIN_AC : 320
 DDATE : 1974/Nov/01
 ATIME : 03:41:33
 SR : -1405.00 Hz

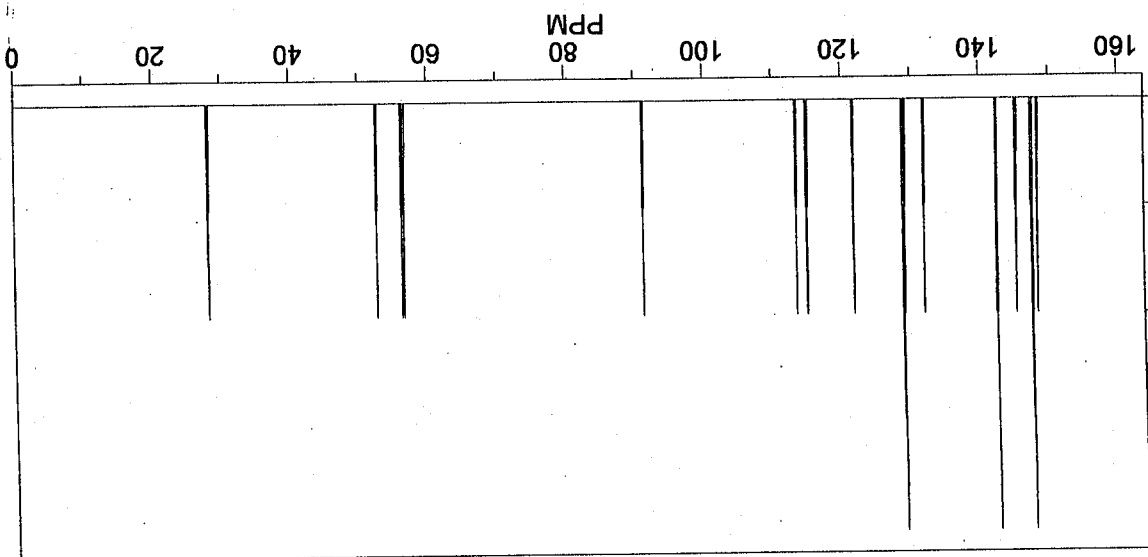


**SPECTRES
SIMULATION**

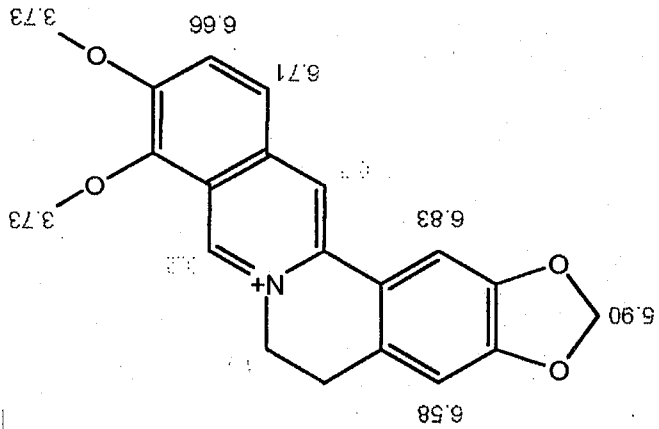
ChemNMR C-13 Estimation



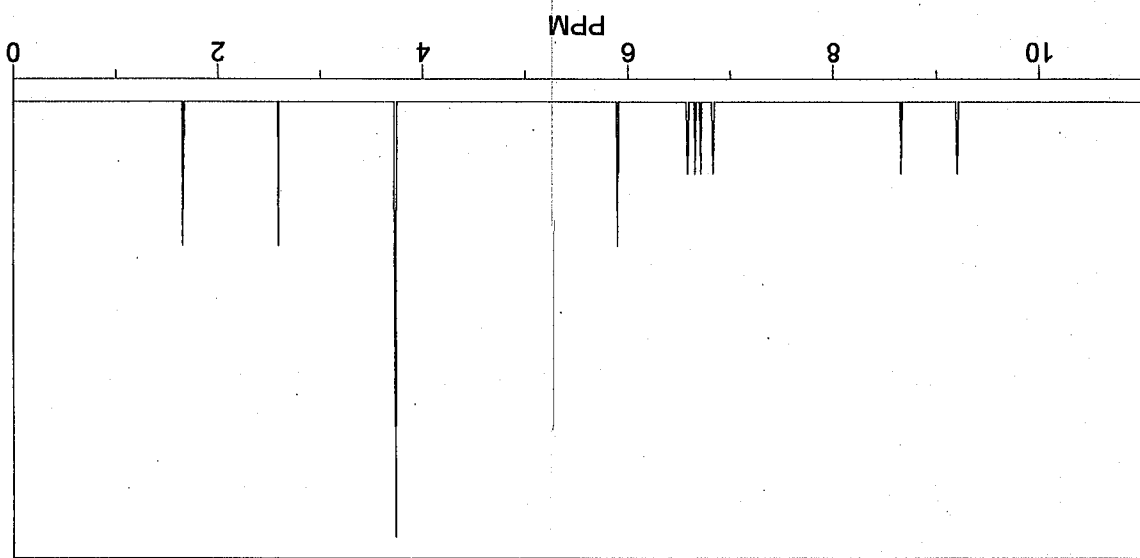
Estimation Quality: blue = good, magenta = medium, red = rough



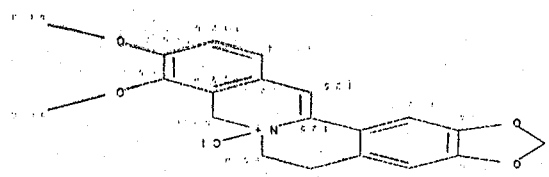
ChemNMR H-1 Estimation



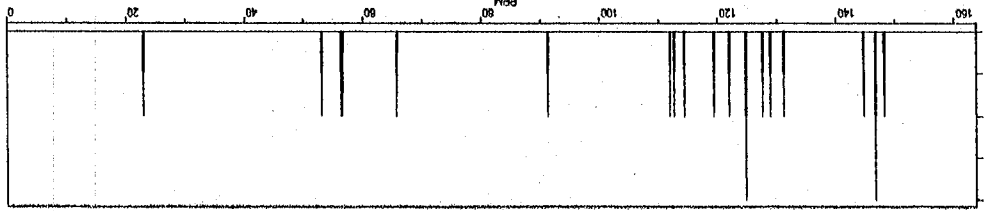
Estimation Quality: blue = good, magenta = medium, red = rough



Chem NMR C-13 Estimation

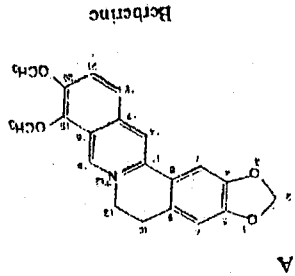
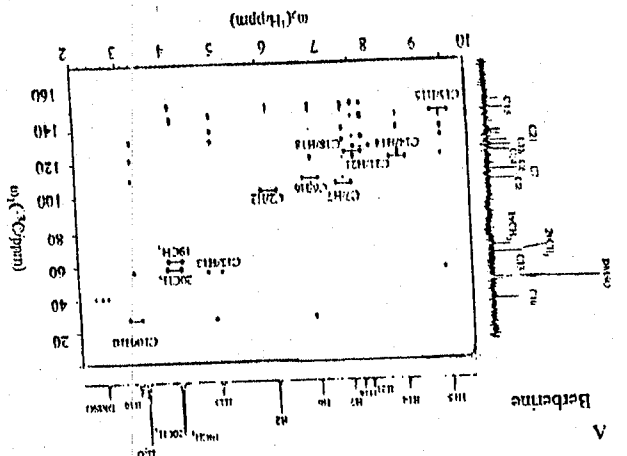


Estimation quality: fine = good, margin = margin, red = rough

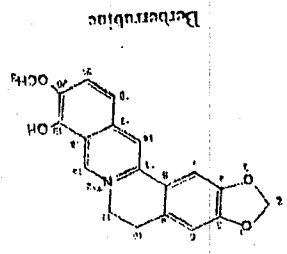
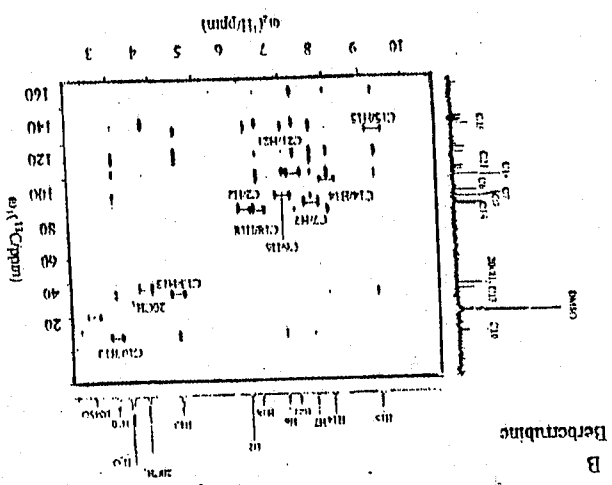


PROTOCOL OF THE C-13 NMR ESTIMATION
 NAME: BHTZ INC.
 COMMENTS: (PPM C-13 TO 2MR)

Node	Shift	Comments
CH	127.7	
CH	127.6	
CH2	125.8	
CH2	123.0	
CH	119.7	
CH	119.4	
CH	112.0	
C	106.7	
C	106.2	
CH3	56.3	
CH3	56.4	



A



B