



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche
Scientifique



Université Aboubekr Belkaïd -Tlemcen-
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, des Sciences de la Terre et de
l'Univers Département de Biologie
LABORATOIRE
Antibiotiques Antifongiques: Physico-chimie, Synthèse et Activité Biologique

THÈSE

En vue de l'obtention du diplôme de

DOCTORAT

En Biologie

Option

Biochimie appliquée

Présentée par

M^{me} Abdallaoui Faiza Née Mouderas

Thème

**Recherche d'activités antioxydante, antimicrobienne et antidiabétique
de deux plantes du Sud-Ouest de l'Algérie: *Traganum nudatum* et
*Ammodaucus leucotrichus***

Soutenue le: 16/11/2020

Devant le jury composé de:


Présidente :	M ^{me} Boucherit Otmani Zahia	P ^r Université de Tlemcen
Directeur de thèse:	M ^r Lahfa Farid Boucif	P ^r Université de Tlemcen
Examineurs :	M ^r Azzi Rachid	P ^r Université de Tlemcen
	M ^{me} Benazzoug Yasmina	P ^r USTHB d'Alger
	M ^r Benmehdi Houcine	P ^r Université de Béchar

Année universitaire: 2019-2020

Dédicaces

Au nom d'ALLAH,

le clément, le tout miséricordieux, le très miséricordieux, Je rends grâce à Allah qui m'a donné le courage, la force, la santé, la patience et la foi afin de réaliser ce travail

Au nom de notre très cher prophète Mohammad 

Je dédie cette thèse, fruit de plusieurs années de labeur à la meilleure mère au monde Hadj Mimoune Fatiha, qui m'a soutenue depuis le tout début de mes travaux et qui a cru en moi et en la réussite de ce projet

Je la remercie pour sa présence, son amour, sa tendresse, pour ses encouragements et ses sacrifices infinis et inestimables....., ce qui m'a permis de mener ce travail à terme et de vivre pleinement cette réussite avec des êtres si chers à mon cœur et en qui je serai éternellement reconnaissante

Je ne pourrai jamais la remercier assez.....

À mon mari qui a cru également en moi et qui n'a pas arrêté de me soutenir

À mon trésor mon fils adorable Mohammed Raid

À mes très chères sœurs et frère Assia, Imene et Karim

À ma belle sœur

À mes neveux Rizlène, Adil et Alaa

À toute ma famille et mes amis

Remerciements

Mes remerciements les plus sincères s'adressent à Monsieur Lahfa Farid Boucif, professeur au département de Biologie, faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, des Sciences de la Terre et de l'Univers, Université Aboubekr Belkaïd Tlemcen, d'avoir accepté la direction de cette thèse et pour l'intérêt qu'il a donné pour accomplir ce travail. Je tiens à exprimer ma profonde reconnaissance et ma gratitude pour sa disponibilité malgré les charges qu'il occupe, sa patience, ses conseils, sa compréhension, ses qualités pédagogiques et scientifiques. Veuillez trouver ici, Monsieur ma reconnaissance et tout mon respect.

Une grande part de ma reconnaissance s'adresse à Madame Boucherit Zahia, Professeur au département de Biologie, faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, des Sciences de la Terre et de l'Univers, Université Aboubekr Belkaïd Tlemcen pour l'honneur qu'elle m'a fait d'être présidente de jury, pour son aide et ses encouragements pendant la réalisation de ce travail.

J'adresse également mes remerciements à Monsieur Azzi Rachid, MCA au département de Biologie, faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, des Sciences de la Terre et de l'Univers, Université Aboubekr Belkaïd Tlemcen, pour l'honneur qu'il m'a fait en acceptant de juger ce travail ainsi que pour son aide, ses encouragements et ses conseils pendant la réalisation de ce travail.

J'exprime mes sincères remerciements à Madame Benazzoug Yasmina, Professeur à l'université USTHB d'Alger, pour l'honneur d'avoir accepté d'examiner et discuter ce travail.

Je tiens à remercier Monsieur Benmehdi Houcine, Professeur à l'Université de Béchar, pour l'honneur qu'il m'a fait d'être examinateur de cette thèse.

J'adresse un remerciement spécial à Mademoiselle Mezouar Dounia, Docteur au département de Biologie, faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, des Sciences de la Terre et de l'Univers, Université Aboubekr Belkaïd Tlemcen pour sa disponibilité, pour ses précieux conseils, pour son aide et son soutien précieux et inestimables.... Qu'elle trouve dans cette thèse le témoignage de ma sincère reconnaissance.

Table des matières

Liste des figures.....	1
Liste des tableaux.....	7
Liste des photos.....	8
Liste des abréviations.....	9
Abstract.....	11
Résumé.....	12
Introduction.....	15
I. Partie bibliographique.....	18
I. Les maladies non transmissibles.....	18
1. Définition.....	18
2. Facteurs de risque.....	18
2.1. Tabagisme.....	19
2.2. Alimentation déséquilibrée.....	19
2.3. Sédentarité.....	19
2.4. Surpoids et obésité.....	19
2.5. Abus de l'alcool.....	19
2.6. Infections associées au cancer.....	20
II. Présentation d'une maladie non transmissible: Le diabète sucré.....	20
1. Epidémiologie.....	20
2. Mortalité liée au diabète.....	21
3. Définition.....	22
4. Symptômes et diagnostic.....	22
5. Classification.....	22
5.1. Diabète de type 1.....	22
5.2. Diabète de type 2.....	23
5.2.1. Pré diabète.....	23
5.2.1.1. L'homéostasie glucidique.....	23
5.2.1.2. L'insulinorésistance.....	24
6. Complications.....	26
6.1. Complications aiguës.....	26
6.1.1. Les accidents hypoglycémiques.....	26

6.1.2. Les complications hyperglycémiques.....	26
6.2. Complications chroniques	26
7. Traitements	27
7.1. Les inhibiteurs des α -glucosidases	28
7.2. Les analogues de l'amyline.....	28
7.3. Les sulfamides hypoglycémiantes ou les sulfonylurées.....	28
7.4. Les glinides.....	29
7.5. Les dérivés du glucagon-like peptide-1 (GLP-1).....	29
7.6. Les inhibiteurs de DPP-4.....	29
7.7. Les glitazones (thiazolidinediones).....	29
7.8. Les biguanides.....	30
7.9. Les inhibiteurs de transporteurs du glucose	30
III. Implication du stress oxydant dans les maladies non transmissibles.....	31
1. Stress oxydant et diabète	31
2. Stress oxydant et diabète de type 1	32
3. Stress oxydant et diabète de type 2	33
4. Stress oxydant et complications du diabète	33
4.1. L'auto-oxydation du glucose.....	33
4.2. La voie des polyols	33
4.3. La voie de la protéine kinase C.....	34
4.4. La voie des hexosamines.....	34
4.5. La glycation non enzymatique des protéines.....	34
IV. Les maladies infectieuses.....	35
L'antibiothérapie: de la découverte à la résistance	36
V. Médecines complémentaires et alternatives	38
1. Recours à la médecine traditionnelle.....	38
2. La phytothérapie.....	38
3. Rôle de la phytothérapie dans la mise au point de médicaments.....	38
4. Métabolites secondaires utilisés comme principes actifs.....	40
4.1. Les composés phénoliques	41
4.2. Les composés azotés.....	42
4.3. Les composés terpéniques.....	44
II. Matériel et méthodes	46
1. Matériel végétal.....	46

1.1. Sélection et présentation des plantes étudiées.....	46
1.1.1. <i>Ammodaucus leucotrichus</i>	46
1.1.1.1. Classification.....	46
1.1.1.2. Description botanique.....	46
1.1.1.3. Noms de la plante.....	47
1.1.1.4. Distribution géographique.....	47
1.1.2. <i>Traganum nudatum</i>	48
1.1.2.1. Classification.....	48
1.1.2.2. Description botanique.....	48
1.1.2.3. Noms de la plante.....	49
1.1.2.4. Distribution géographique.....	49
1.2. Collecte du matériel végétal.....	49
2. Préparation des extraits.....	50
2.1. Préparation des extraits bruts.....	50
2.1.1. Macération.....	50
2.1.2. Infusion.....	50
2.2. Fractionnement des extraits bruts.....	50
3. Calcul des rendements en extraits secs.....	51
4. Screening phytochimique.....	52
4.1. Alcaloïdes.....	52
4.2. Tanins.....	52
4.3. Flavonoïdes.....	52
4.4. Quinones libres.....	52
4.5. Anthraquinones.....	52
4.6. Coumarines.....	52
4.7. Saponosides.....	53
4.8. Terpénoïdes.....	53
4.9. Composés réducteurs.....	53
5. Dosage des polyphénols totaux.....	53
5.1. Principe.....	53
5.2. Mode opératoire.....	53
6. Dosage des flavonoïdes totaux.....	54
6.1. Principe.....	54
6.2. Mode opératoire.....	54

7. Dosage des flavonols.....	54
7.1. Principe.....	54
7.2. Mode opératoire.....	54
8. Recherche de l'activité antioxydante	55
8.1. Test de piégeage du radical libre DPPH.....	55
8.1.1. Principe.....	55
8.1.2. Mode opératoire.....	55
8.2. Test FRAP: Ferric Reducing Antioxydant Power (Pouvoir réducteur du fer).....	56
8.2.1. Principe.....	56
8.2.2. Mode opératoire.....	56
8.3. Capacité antioxydante totale (CAT)	57
8.3.1. Principe.....	57
8.3.2. Mode opératoire	57
9. Recherche de l'activité antimicrobienne.....	57
9.1. Recherche de l'activité antibactérienne.....	57
9.1.1. Méthode de diffusion sur gélose.....	58
9.1.1.1. Principe.....	58
9.1.1.2. Mode opératoire.....	58
9.1.2. Méthode de microdilution en milieu liquide.....	59
9.1.2.1. Principe.....	59
9.1.2.2. Mode opératoire.....	59
9.2. Recherche de l'activité antifongique.....	60
9.2.1. Technique de diffusion sur gélose.....	60
10. Recherche de l'activité antidiabétique	60
10.1. Recherche de l'activité antidiabétique in vivo.....	60
10.1.1. Animaux d'expérimentation.....	60
10.1.2. Induction du diabète expérimental.....	61
10.1.3. Recherche de l'effet antihyperglycémiant à court terme.....	61
10.1.4. Recherche de l'effet antihyperglycémiant à long terme.....	61
10.2. Recherche de l'activité antidiabétique in vitro.....	62
10.2.1. Recherche de l'effet des extraits sur l'absorption du glucose par le foie et le tissu adipeux de rats de laboratoire	62
10.2.1.1. Milieux d'incubation KRBA.....	62
10.2.1.2. Recherche de l'effet des extraits sur l'absorption de glucose par les coupes de foie....	63

10.2.1.3. Recherche de l'effet des extraits sur l'absorption de glucose par les adipocytes.....	64
10.2.1.4. Viabilité et numération cellulaire.....	64
10.2.1.5. Dosage de glucose.....	68
a- Principe.....	68
b- Mode opératoire.....	68
11. Recherche de toxicité (Test d'hémolyse)	68
11.1. Préparation de la suspension érythrocytaire.....	68
11.2. Dénombrement cellulaire.....	69
11.3. Mesure de la fuite de l'hémoglobine.....	69
12. Analyse par chromatographie liquide en phase inverse à haute performance RP-HPLC- PDA.....	69
13. Analyses statistiques.....	70
III. Résultats et interprétation.....	71
1. Rendements d'extractions.....	71
<i>Ammodaucus leucotrichus</i>	71
<i>Traganum nudatum</i>	72
2. Screening phytochimique.....	73
<i>Ammodaucus leucotrichus</i>	73
<i>Traganum nudatum</i>	73
3. Teneurs en composés phénoliques.....	74
Courbes d'étalonnage.....	74
<i>Ammodaucus leucotrichus</i>	76
<i>Traganum nudatum</i>	77
4. Activité antioxydante.....	78
4.1. Piégeage du radical libre DPPH.....	78
<i>Ammodaucus leucotrichus</i>	78
<i>Traganum nudatum</i>	82
4.2. Capacité antioxydante totale CAT.....	86
<i>Ammodaucus leucotrichus</i>	86
<i>Traganum nudatum</i>	87
4.3. Pouvoir réducteur de fer (FRAP).....	88
<i>Ammodaucus leucotrichus</i>	88
<i>Traganum nudatum</i>	92
5. Activité antimicrobienne.....	96

5.1. Méthode de diffusion sur gélose.....	96
<i>Ammodaucus leucotrichus</i>	96
<i>Traganum nudatum</i>	96
5.2. Méthode de microdilution en milieu liquide.....	101
<i>Ammodaucus leucotrichus</i>	101
<i>Traganum nudatum</i>	101
6. Effet hémolytique.....	108
Viabilité et dénombrement cellulaire.....	108
<i>Ammodaucus leucotrichus</i>	108
<i>Traganum nudatum</i>	108
7. Activité antidiabétique.....	118
7.1. Activité antidiabétique in vivo.....	118
<i>Ammodaucus leucotrichus</i>	118
Effet de l'extrait brut hydrométhanolique.....	118
Effet de la fraction acétate d'éthyle.....	119
<i>Traganum nudatum</i>	122
Effet de l'extrait brut hydrométhanolique.....	122
Effet de la fraction acétate d'éthyle.....	123
7.2. Activité antidiabétique in vitro: Effet sur l'absorption du glucose.....	126
7.2.1. Viabilité et dénombrement cellulaire.....	126
7.2.2. Effet sur l'absorption du glucose par le foie.....	126
a- Absorption basale de glucose par les coupes de foie.....	126
b- Effet de l'insuline sur l'absorption du glucose par les coupes de foie.....	127
c- Effet de l'extrait brut hydrométhanolique et de sa fraction acétate d'éthyle d' <i>A. leucotrichus</i> sur l'absorption de glucose par les coupes de foie.....	129
d- Effet de l'extrait brut hydrométhanolique et de sa fraction acétate d'éthyle de <i>T. nudatum</i> sur l'absorption de glucose par les coupes de foie.....	132
7.2.2. Effet sur l'absorption du glucose par les adipocytes.....	136
a- Absorption basale de glucose par les adipocytes.....	136
b- Effet de l'insuline sur l'absorption du glucose par les adipocytes.....	137
c- Effet de l'extrait brut hydrométhanolique et de sa fraction acétate d'éthyle d' <i>A. leucotrichus</i> sur l'absorption de glucose par les adipocytes.....	139

d- Effet de l'extrait brut hydrométhanolique et de sa fraction acétate d'éthyle de <i>T. nudatum</i> sur l'absorption de glucose par les adipocytes	142
8. Identification des composés phénoliques par RP - HPLC PDA.....	146
<i>Ammodaucus leucotrichus</i>	146
<i>Traganum nudatum</i>	148
IV. Discussion.....	150
V. Conclusion et perspectives.....	162
VI. Références bibliographiques.....	164

Liste des figures

Figure 1: Estimation du nombre total d'adultes (20 à 79 ans) vivant avec le diabète en 2019.....	21
Figure 2: Classification du diabète sucré selon l'OMS.....	23
Figure 3: La résistance à l'insuline dans le diabète de type 2.....	25
Figure 4: Antidiabétiques et site d'action.....	28
Figure 5: Le déséquilibre de la balance pro-oxydants/antioxydants.....	31
Figure 6: Relation entre hyperglycémie et stress oxydant.....	32
Figure 7: Classification des métabolites secondaires.....	41
Figure 8: Structure chimique du noyau phénol.....	43
Figure 9: Structure chimique de l'acide gallique (a) et d'un tanin condensé (proanthocyanidine) (b).....	43
Figure 10: Squelette de base des flavonoïdes.....	43
Figure 11: Structure chimique d'un alcaloïde.....	44
Figure 12: Structure d'isoprène.....	44
Figure 13: Etapes de la préparation des extraits bruts et leurs fractions.....	51
Figure 14: Etapes de la recherche de l'effet des extraits sur l'absorption du glucose par les adipocytes isolés de rats Wistar.....	66
Figure 15: Etapes de la recherche de l'effet des extraits sur l'absorption du glucose par les coupes de foie isolées de rats Wistar.....	67
Figure 16: Rendements en extraits secs d' <i>A. leucotrichus</i>	71
Figure 17: Rendements en extraits secs de <i>T. nudatum</i>	72
Figure 18: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols.....	74
Figure 19: Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des flavonoïdes.....	75
Figure 20: Courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonoles.....	75
Figure 21: Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de l'extrait brut hydrométhanolique d' <i>A. leucotrichus</i> préparé par macération.....	78
Figure 22: Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de la fraction acétate d'éthyle de l'extrait brut hydrométhanolique d' <i>A. leucotrichus</i> préparé par macération.....	79
Figure 23: Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de la fraction n-butanol de l'extrait brut hydrométhanolique d' <i>A. leucotrichus</i> préparé par macération.....	79
Figure 24: Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de l'extrait brut hydrométhanolique d' <i>A. leucotrichus</i> préparé par infusion.....	80
Figure 25: Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de la fraction acétate d'éthyle de l'extrait brut hydrométhanolique d' <i>A. leucotrichus</i> préparé par infusion.....	80
Figure 26: Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de la fraction n-butanol de l'extrait brut hydrométhanolique d' <i>A. leucotrichus</i> préparé par infusion.....	81
Figure 27: Concentrations inhibitrices CI_{50} des extraits d' <i>A. leucotrichus</i>	81
Figure 28: Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de l'extrait brut hydrométhanolique de <i>T. nudatum</i> préparé par macération.....	82
Figure 29: Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de la fraction acétate d'éthyle de l'extrait brut hydrométhanolique de <i>T. nudatum</i> préparé par macération.....	83

Figure 30: Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de la fraction n-butanol de l'extrait brut hydrométhanolique de <i>T. nudatum</i> préparé par macération.....	83
Figure 31: Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de l'extrait brut hydrométhanolique de <i>T. nudatum</i> préparé par infusion.....	84
Figure 32: Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de la fraction acétate d'éthyle de l'extrait brut hydrométhanolique de <i>T. nudatum</i> préparé par infusion.....	84
Figure 33: Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de la fraction n-butanol de l'extrait brut hydrométhanolique de <i>T. nudatum</i> préparé par infusion.....	85
Figure 34: Concentrations inhibitrices CI_{50} des extraits de <i>T. nudatum</i>	85
Figure 35: Capacité antioxydante totale des extraits d' <i>A. leucotrichus</i>	86
Figure 36: Capacité antioxydante totale des extraits de <i>T. nudatum</i>	87
Figure 37: Pouvoir réducteur de fer en fonction des différentes concentrations de l'extrait brut hydrométhanolique d' <i>A. leucotrichus</i> préparé par macération.....	88
Figure 38: Pouvoir réducteur de fer en fonction des différentes concentrations de la fraction acétate d'éthyle de l'extrait brut hydrométhanolique d' <i>A. leucotrichus</i> préparé par macération.....	89
Figure 39: Pouvoir réducteur de fer en fonction des différentes concentrations de la fraction n-butanol de l'extrait brut hydrométhanolique d' <i>A. leucotrichus</i> préparé par macération.....	89
Figure 40: Pouvoir réducteur de fer en fonction des différentes concentrations de l'extrait brut hydrométhanolique d' <i>A. leucotrichus</i> préparé par infusion.....	90
Figure 41: Pouvoir réducteur de fer en fonction des différentes concentrations de la fraction acétate d'éthyle de l'extrait brut hydrométhanolique d' <i>A. leucotrichus</i> préparé par infusion.....	90
Figure 42: Pouvoir réducteur de fer en fonction des différentes concentrations de la fraction n-butanol de l'extrait brut hydrométhanolique d' <i>A. leucotrichus</i> préparé par infusion.....	91
Figure 43: Concentrations efficaces CE_{50} des extraits d' <i>A. leucotrichus</i>	91
Figure 44: Pouvoir réducteur de fer en fonction des différentes concentrations de l'extrait brut hydrométhanolique de <i>T. nudatum</i> préparé par macération.....	92
Figure 45: Pouvoir réducteur de fer en fonction des différentes concentrations de la fraction acétate d'éthyle de l'extrait brut hydrométhanolique de <i>T. nudatum</i> préparé par macération.....	93
Figure 46: Pouvoir réducteur de fer en fonction des différentes concentrations de la fraction n-butanol de l'extrait brut hydrométhanolique de <i>T. nudatum</i> préparé par macération.....	93
Figure 47: Pouvoir réducteur de fer en fonction des différentes concentrations de l'extrait brut hydrométhanolique de <i>T. nudatum</i> préparé par infusion.....	94
Figure 48: Pouvoir réducteur de fer en fonction des différentes concentrations de la fraction acétate d'éthyle de l'extrait brut hydrométhanolique de <i>T. nudatum</i> préparé par infusion.....	94
Figure 49: Pouvoir réducteur de fer en fonction des différentes concentrations de la fraction n-butanol de l'extrait brut hydrométhanolique de <i>T. nudatum</i> préparé par infusion.....	95
Figure 50: Concentrations efficaces CE_{50} des extraits de <i>T. nudatum</i>	95
Figure 51: Evolution des taux d'hémolyse de l'extrait brut hydrométhanolique d' <i>A. leucotrichus</i> préparé par macération à différentes concentrations durant 60 minutes.....	109
Figure 52: Evolution des taux d'hémolyse de la fraction acétate d'éthyle de l'extrait brut hydrométhanolique d' <i>A. leucotrichus</i> préparé par macération à différentes concentrations durant 60 minutes.....	109

Figure 53: Evolution des taux d'hémolyse de la fraction n-butanol de l'extrait brut hydrométhanolique d' <i>A. leucotrichus</i> préparé par macération à différentes concentrations durant 60 minutes.....	110
Figure 54: Comparaison des taux d'hémolyse de l'extrait brut hydrométhanolique préparé par macération d' <i>A. leucotrichus</i> et de ses fractions à la concentration de 1mg/ml durant 60 minutes.....	110
Figure 55: Evolution des taux d'hémolyse de l'extrait brut hydrométhanolique d' <i>A. leucotrichus</i> préparé par infusion à différentes concentrations durant 60 minutes.....	111
Figure 56: Evolution des taux d'hémolyse de la fraction acétate d'éthyle de l'extrait brut hydrométhanolique d' <i>A. leucotrichus</i> préparé par infusion à différentes concentrations durant 60 minutes.....	111
Figure 57: Evolution des taux d'hémolyse de la fraction n-butanol de l'extrait brut hydrométhanolique d' <i>A. leucotrichus</i> préparé par infusion à différentes concentrations durant 60 minutes.....	112
Figure 58: Comparaison des taux d'hémolyse de l'extrait brut hydrométhanolique préparé par infusion d' <i>A. leucotrichus</i> et de ses fractions à la concentration de 1mg/ml durant 60 minutes.....	112
Figure 59: Comparaison des taux d'hémolyse de l'extrait brut d' <i>A. leucotrichus</i> préparé par infusion et ses fractions par rapport à l'extrait brut préparé par macération et ses fractions à la concentration 1mg/ml à 60 minutes.....	113
Figure 60: Evolution des taux d'hémolyse de l'extrait brut hydrométhanolique de <i>T. nudatum</i> préparé par macération à différentes concentrations durant 60 minutes.....	113
Figure 61: Evolution des taux d'hémolyse de la fraction acétate d'éthyle de l'extrait brut hydrométhanolique de <i>T. nudatum</i> préparé par macération à différentes concentrations durant 60 minutes.....	114
Figure 62: Evolution des taux d'hémolyse de la fraction n-butanol de l'extrait brut hydrométhanolique de <i>T. nudatum</i> préparé par macération à différentes concentrations durant 60 minutes.....	114
Figure 63: Comparaison des taux d'hémolyse de l'extrait brut hydrométhanolique préparé par macération de <i>T. nudatum</i> et de ses fractions à la concentration de 1mg/ml durant 60 minutes.....	115
Figure 64: Evolution des taux d'hémolyse de l'extrait brut hydrométhanolique de <i>T. nudatum</i> préparé par infusion à différentes concentrations durant 60 minutes.....	115
Figure 65: Evolution des taux d'hémolyse de la fraction acétate d'éthyle de l'extrait brut hydrométhanolique de <i>T. nudatum</i> préparé par infusion à différentes concentrations durant 60 minutes.....	116
Figure 66: Evolution des taux d'hémolyse de la fraction n-butanol de l'extrait brut hydrométhanolique de <i>T. nudatum</i> préparé par infusion à différentes concentrations durant 60 minutes.....	116
Figure 67: Comparaison des taux d'hémolyse de l'extrait brut hydrométhanolique préparé par infusion de <i>T. nudatum</i> et de ses fractions à la concentration de 1mg/ml durant 60 minutes.....	117
Figure 68: Comparaison des taux d'hémolyse de l'extrait brut de <i>T. nudatum</i> préparé par infusion et ses fractions par rapport à l'extrait brut préparé par macération et ses fractions à la concentration 1mg/ml à 60 minutes.....	117
Figure 69: Effet de l'extrait brut hydrométhanolique d' <i>A. leucotrichus</i> sur la glycémie chez les rats injectés pendant 4 heures.....	118
Figure 70: Effet de l'extrait brut hydrométhanolique d' <i>A. leucotrichus</i> sur la glycémie chez les rats injectés pendant 4 semaines.....	119

Figure 71: Effet de la fraction acétate d'éthyle de l'extrait brut hydrométhanolique d' <i>A. leucotrichus</i> sur la glycémie chez les rats injectés pendant 4 heures.....	120
Figure 72: Effet de la fraction acétate d'éthyle de l'extrait brut hydrométhanolique d' <i>A. leucotrichus</i> sur la glycémie chez les rats injectés pendant 4 semaines.....	120
Figure 73: Comparaison de l'effet de l'extrait brut hydrométhanolique d' <i>A. leucotrichus</i> et de sa fraction acétate d'éthyle sur la glycémie chez les rats diabétiques injectés pendant 4 heures.....	121
Figure 74: Comparaison de l'effet de l'extrait brut hydrométhanolique d' <i>A. leucotrichus</i> et de sa fraction acétate d'éthyle sur la glycémie chez les rats diabétiques injectés pendant 4 semaines.....	121
Figure 75: Effet de l'extrait brut hydrométhanolique de <i>T. nudatum</i> sur la glycémie chez les rats injectés pendant 4 heures.....	122
Figure 76: Effet de l'extrait brut hydrométhanolique de <i>T. nudatum</i> sur la glycémie chez les rats injectés pendant 4 semaines.....	123
Figure 77: Effet de la fraction acétate d'éthyle de l'extrait brut hydrométhanolique de <i>T. nudatum</i> sur la glycémie chez les rats injectés pendant 4 heures.....	124
Figure 78: Effet de la fraction acétate d'éthyle de l'extrait brut hydrométhanolique de <i>T. nudatum</i> sur la glycémie chez les rats injectés pendant 4 semaines.....	124
Figure 79: Comparaison de l'effet de l'extrait brut hydrométhanolique de <i>T. nudatum</i> et de sa fraction acétate d'éthyle sur la glycémie chez les rats diabétiques injectés pendant 4 heures.....	125
Figure 80: Comparaison de l'effet de l'extrait brut hydrométhanolique de <i>T. nudatum</i> et de sa fraction acétate d'éthyle sur la glycémie chez les rats diabétiques injectés pendant 4 semaines.....	125
Figure 81: Taux de glucose absorbé par les coupes de foie pendant 90 minutes dans le milieu d'incubation contenant 5 mM de glucose.....	126
Figure 82: Taux de glucose absorbé par les coupes de foie pendant 90 minutes dans le milieu d'incubation contenant 16 mM de glucose.....	127
Figure 83: Taux de glucose absorbé par les coupes de foie en présence de l'insuline à différentes concentrations dans le milieu d'incubation contenant 5 mM de glucose.....	128
Figure 84: Taux de glucose absorbé par les coupes de foie en présence de l'insuline à différentes concentrations dans le milieu d'incubation contenant 16 mM de glucose.....	128
Figure 85: Taux de glucose absorbé par les coupes de foie en présence de l'extrait brut hydrométhanolique d' <i>A. leucotrichus</i> à différentes concentrations dans le milieu d'incubation contenant 5 mM de glucose.....	129
Figure 86: Taux de glucose absorbé par les coupes de foie en présence de l'extrait brut hydrométhanolique d' <i>A. leucotrichus</i> à différentes concentrations dans le milieu d'incubation contenant 16 mM de glucose.....	130
Figure 87: Taux de glucose absorbé par les coupes de foie en présence de la fraction acétate d'éthyle de l'extrait brut hydrométhanolique d' <i>A. leucotrichus</i> à différentes concentrations dans le milieu d'incubation contenant 5 mM de glucose.....	130
Figure 88: Taux de glucose absorbé par les coupes de foie en présence de la fraction acétate d'éthyle de l'extrait brut hydrométhanolique d' <i>A. leucotrichus</i> à différentes concentrations dans le milieu d'incubation contenant 16 mM de glucose.....	131
Figure 89: Comparaison de l'effet de l'extrait brut hydrométhanolique d' <i>A. leucotrichus</i> et de sa fraction acétate d'éthyle à la concentration 500µg/ml par rapport à l'insuline à 100 µU/ml sur l'absorption de glucose par les coupes de foie dans le milieu d'incubation contenant 5 mM de glucose.....	131

Figure 90: Comparaison de l'effet de l'extrait brut hydrométhanolique d' <i>A. leucotrichus</i> et de sa fraction acétate d'éthyle à la concentration 500 µg/ml par rapport à l'insuline à 100 µU/ml sur l'absorption de glucose par les coupes de foie dans le milieu d'incubation contenant 16 mM de glucose.....	132
Figure 91: Taux de glucose absorbé par les coupes de foie en présence de l'extrait brut hydrométhanolique de <i>T. nudatum</i> à différentes concentrations dans le milieu d'incubation contenant 5 mM de glucose.....	133
Figure 92: Taux de glucose absorbé par les coupes de foie en présence de l'extrait brut hydrométhanolique de <i>T. nudatum</i> à différentes concentrations dans le milieu d'incubation contenant 16 mM de glucose.....	133
Figure 93: Taux de glucose absorbé par les coupes de foie en présence de la fraction acétate d'éthyle de l'extrait brut hydrométhanolique de <i>T. nudatum</i> à différentes concentrations dans le milieu d'incubation contenant 5 mM de glucose.....	134
Figure 94: Taux de glucose absorbé par les coupes de foie en présence de la fraction acétate d'éthyle de l'extrait brut hydrométhanolique de <i>T. nudatum</i> à différentes concentrations dans le milieu d'incubation contenant 16 mM de glucose.....	134
Figure 95: Comparaison de l'effet de l'extrait brut hydrométhanolique de <i>T. nudatum</i> et de sa fraction acétate d'éthyle à la concentration 500µg/ml par rapport à l'insuline à 100 µU/ml sur l'absorption de glucose par les coupes de foie dans le milieu d'incubation contenant 5 mM de glucose.....	135
Figure 96: Comparaison de l'effet de l'extrait brut hydrométhanolique de <i>T. nudatum</i> et de sa fraction acétate d'éthyle à la concentration 500µg/ml par rapport à l'insuline à 100 µU/ml sur l'absorption de glucose par les coupes de foie dans le milieu d'incubation contenant 16 mM de glucose.....	135
Figure 97: Taux de glucose absorbé par les adipocytes pendant 90 minutes dans le milieu d'incubation contenant 5 mM de glucose.....	136
Figure 98: Taux de glucose absorbé par les adipocytes pendant 90 minutes dans le milieu d'incubation contenant 16 mM de glucose.....	137
Figure 99: Taux de glucose absorbé par les adipocytes en présence de l'insuline à différentes concentrations dans le milieu d'incubation contenant 5 mM de glucose.....	138
Figure 100: Taux de glucose absorbé par les adipocytes en présence de l'insuline à différentes concentrations dans le milieu d'incubation contenant 16 mM de glucose.....	138
Figure 101: Taux de glucose absorbé par les adipocytes en présence de l'extrait brut hydrométhanolique d' <i>A. leucotrichus</i> à différentes concentrations dans le milieu d'incubation contenant 5 mM de glucose.....	139
Figure 102: Taux de glucose absorbé par les adipocytes en présence de l'extrait brut hydrométhanolique d' <i>A. leucotrichus</i> à différentes concentrations dans le milieu d'incubation contenant 16 mM de glucose.....	140
Figure 103: Taux de glucose absorbé par les adipocytes en présence de la fraction acétate d'éthyle de l'extrait brut hydrométhanolique d' <i>A. leucotrichus</i> à différentes concentrations dans le milieu d'incubation contenant 5 mM de glucose.....	140
Figure 104: Taux de glucose absorbé par les adipocytes en présence de la fraction acétate d'éthyle de l'extrait brut hydrométhanolique d' <i>A. leucotrichus</i> à différentes concentrations dans le milieu d'incubation contenant 16 mM de glucose.....	141
Figure 105: Comparaison de l'effet de l'extrait brut hydrométhanolique d' <i>A. leucotrichus</i> et de sa fraction acétate d'éthyle à la concentration 500µg/ml par rapport à l'insuline à 100 µU/ml sur l'absorption de glucose par les adipocytes dans le milieu d'incubation contenant 5 mM de glucose.....	141

Figure 106: Comparaison de l'effet de l'extrait brut hydrométhanolique d' <i>A. leucotrichus</i> et de sa fraction acétate d'éthyle à la concentration 500 µg/ml par rapport à l'insuline à 100 µU/ml sur l'absorption de glucose par les adipocytes dans le milieu d'incubation contenant 16 mM de glucose.....	142
Figure 107: Taux de glucose absorbé par les adipocytes en présence de l'extrait brut hydrométhanolique de <i>T. nudatum</i> à différentes concentrations dans le milieu d'incubation contenant 5 mM de glucose.....	143
Figure 108: Taux de glucose absorbé par les adipocytes en présence de l'extrait brut hydrométhanolique de <i>T. nudatum</i> à différentes concentrations dans le milieu d'incubation contenant 16 mM de glucose.....	143
Figure 109: Taux de glucose absorbé par les adipocytes en présence de la fraction acétate d'éthyle de l'extrait brut hydrométhanolique de <i>T. nudatum</i> à différentes concentrations dans le milieu d'incubation contenant 5 mM de glucose.....	144
Figure 110: Taux de glucose absorbé par les adipocytes en présence de la fraction acétate d'éthyle de l'extrait brut hydrométhanolique de <i>T. nudatum</i> à différentes concentrations dans le milieu d'incubation contenant 16 mM de glucose.....	144
Figure 111: Comparaison de l'effet de l'extrait brut hydrométhanolique de <i>T. nudatum</i> et de sa fraction acétate d'éthyle à la concentration 500µg/ml par rapport à l'insuline à 100 µU/ml sur l'absorption de glucose par les adipocytes dans le milieu d'incubation contenant 5 mM de glucose.....	145
Figure 112: Comparaison de l'effet de l'extrait brut hydrométhanolique de <i>T. nudatum</i> et de sa fraction acétate d'éthyle à la concentration 500µg/ml par rapport à l'insuline à 100 µU/ml sur l'absorption de glucose par les adipocytes dans le milieu d'incubation contenant 16 mM de glucose.....	145
Figure 113: Chromatogramme de la fraction acétate d'éthyle de l'extrait brut hydrométhanolique d' <i>A. leucotrichus</i> préparé par macération enregistré à 280 nm.....	146
Figure 114: Chromatogramme de la fraction n-butanol de l'extrait brut hydrométhanolique d' <i>A. leucotrichus</i> préparé par macération enregistré à 280 nm.....	147
Figure 115: Chromatogramme de la fraction acétate d'éthyle de l'extrait brut hydrométhanolique d' <i>A. leucotrichus</i> préparé par infusion enregistré à 280 nm.....	147
Figure 116: Chromatogramme de la fraction acétate d'éthyle de l'extrait brut hydrométhanolique de <i>T. nudatum</i> préparé par macération enregistré à 280 nm.....	148
Figure 117: Chromatogramme de la fraction n-butanol de l'extrait brut hydrométhanolique de <i>T. nudatum</i> préparé par macération enregistré à 280 nm.....	149
Figure 118: Chromatogramme de la fraction acétate d'éthyle de l'extrait brut hydrométhanolique de <i>T. nudatum</i> préparé par infusion enregistré à 280 nm.....	149

Liste des tableaux

Tableau 1: Souches utilisées pour la recherche de l'activité antibactérienne.....	58
Tableau 2: Répartition des lots, extraits et doses testés pour la recherche de l'activité antidiabétique.....	62
Tableau 3: Composition du KRB.....	63
Tableau 4: Concentrations d'insuline et des extraits testés pour la recherche de l'effet sur l'absorption du glucose par les coupes de foie et les adipocytes isolés de rats Wistar.....	65
Tableau 5: Dosage enzymatique du glucose.....	68
Tableau 6: Screening phytochimique des extraits d' <i>A. leucotrichus</i>	73
Tableau 7: Screening phytochimique des extraits de <i>T. nudatum</i>	74
Tableau 8: Teneurs en polyphénols, en flavonoïdes et en flavonols totaux des extraits d' <i>A.leucotrichus</i>	76
Tableau 9: Teneurs en polyphénols, en flavonoïdes et en flavonols totaux des extraits de <i>T.nudatum</i>	77
Tableau 10: Diamètres des zones d'inhibition de l'extrait brut hydrométhanolique d' <i>A.leucotrichus</i> préparé par macération et de ses fractions acétate d'éthyle et n-butanol vis-à-vis des souches microbiennes.....	97
Tableau 11: Diamètres des zones d'inhibition de l'extrait brut hydrométhanolique d' <i>A.leucotrichus</i> préparé par infusion et de ses fractions acétate d'éthyle et n-butanol vis-à-vis des souches microbiennes.....	98
Tableau 12: Diamètres des zones d'inhibition de l'extrait brut hydrométhanolique de <i>T. nudatum</i> préparé par macération et de ses fractions acétate d'éthyle et n-butanol vis-à-vis des souches microbiennes.....	99
Tableau 13: Diamètres des zones d'inhibition de l'extrait brut hydrométhanolique de <i>T. nudatum</i> préparé par infusion et de ses fractions acétate d'éthyle et n-butanol vis-à-vis des souches microbiennes.....	100
Tableau 14: Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI) de l'extrait brut hydrométhanolique d' <i>A. leucotrichus</i> préparé par macération et de ses fractions acétate d'éthyle et n-butanol (mg/ml).....	102
Tableau 15: Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI) de l'extrait brut hydrométhanolique d' <i>A. leucotrichus</i> préparé par infusion et de ses fractions acétate d'éthyle et n-butanol (mg/ml).....	103
Tableau 16: Comparaison des CMI de l'extrait brut préparé par infusion d' <i>A. leucotrichus</i> et de ses fractions par rapport à l'extrait brut préparé par macération et ses fractions	104
Tableau 17: Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI) de l'extrait brut hydrométhanolique de <i>T. nudatum</i> préparé par macération et de ses fractions acétate d'éthyle et n-butanol (mg/ml).....	105
Tableau 18: Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI) de l'extrait brut hydrométhanolique de <i>T. nudatum</i> préparé par infusion et de ses fractions acétate d'éthyle et n-butanol (mg/ml).....	106
Tableau 19: Comparaison des CMI de l'extrait brut préparé par infusion de <i>T. nudatum</i> et de ses fractions par rapport à l'extrait brut préparé par macération et ses fractions.....	107

Liste des photos

Photo 1: <i>Ammodaucus leucotrichus</i>	47
Photo 2: Parties aériennes d' <i>Ammodaucus leucotrichus</i> séchées.....	47
Photo 3: Parties aériennes d' <i>Ammodaucus leucotrichus</i> broyées.....	47
Photo 4: <i>Traganum nudatum</i>	48
Photo 5: Parties aériennes de <i>Traganum nudatum</i> séchées.....	49
Photo 6: Parties aériennes de <i>Traganum nudatum</i> broyées.....	49

Liste des abréviations

ADA	Association Américaine du Diabète
ADP	Adénosine di phosphate
AGE	Advanced glycation end products
AGIs	Inhibiteurs des α -glucosidases
APG	Angiosperms Phylogeny group
ATCC	American Type Culture Collection
ATP	Adénosine tri phosphate
BHA	Hydroxy Anisole Butylé
BHT	Butyl Hydroxy Toluène
BSA	Albumine bovine sérique
CAT	Capacité antioxydante totale
CE ₅₀	Concentration efficace
CI ₅₀	Concentration inhibitrice
CMI	Concentration minimale inhibitrice
DAG	Diacylglycerol
DID	Diabète insulino-dépendant
DMSO	Diméthylsulfoxyde
DNID	Diabète non insulino-dépendant
DPP-4	Dipeptidyl peptidase-4
DPPH	2,2-Diphényl-1-picrylhydrazyl
EDTA	Acide Éthylène diamine tetra acétique
ERO	Espèces réactives oxygénées
ESM	Erreur standard à la moyenne
FID	Fédération Internationale de diabète
FRAP	Ferric reducing antioxidant power
GLP-1	Glucagon-like peptide-1
GLUT	Glucose Transportor
GOD	Glucose-oxydase
GPx	Glutathion peroxydase
GSH	Glutathion
Hb1AC	Hémoglobine glyquée
HDL	High density lipoprotein
HLA	Human Leukocyte Antigen
HPLC	High performance liquid chromatography
IMC	Indice de masse corporelle
IP	Collection Nationale de Cultures de Microorganismes, Institut Pasteur
IR	Insulin receptor
IRS1	Insulin receptor substrat1

KRB Krebs Ringer Bicarbonaté
KRBA Krebs Ringer Bicarbonaté Albuminé
LDL Low density lipoprotein
MCA Médecine complémentaire et alternative
MDA Malondialdéhyde
MNT Maladie non transmissible
MODY Maturity Onset Diabetes of the Young
O-Glc Nac O-acétyl glucosamine
OGT O- acétyl glucosamine transférase
OMS organisation mondiale de la santé
PBS Phosphate Buffered Saline
PI3-kinase Phosphatidyl inositol kinase
PKC protéine kinase C
POD peroxydase
PPAR γ Peroxisome Proliferator Activated Receptor
RAGE Receptor for advanced glycation end products
ROS Reactive oxygen species
RP-HPLC-PDA Reversed Phase High Performance Liquid Chromatography
Photo Diode Arrayor
SGLT Sodium glucose co-transportor
SOD Superoxyde dismutase
UDP-Glc Nac uridine diphosphate N acétyl glucosamine
UFC Colonies Forming Units
UV Lumière ultra-violette
VIH Virus immunodéficiencie humaine

Abstract

Ammodaucus leucotrichus Cosson & Durieu and *Traganum nudatum* Delile are widely used in traditional pharmacopoeia in Algeria to treat many diseases including diabetes mellitus. The aim of this work is to conduct a phytochemical study and a search for antioxidant, antimicrobial and antidiabetic activities of the hydromethanolic crude extracts and their ethyl acetate and n-butanol fractions of each plant. The phytochemical screening revealed the presence of flavonoids, tannins, alkaloids, quinones, saponins and terpenoids in the extracts of both plants. The highest contents of polyphenols and flavonoids were attributed to the ethyl acetate fraction of the crude hydromethanolic extract prepared by infusion FAC_I of *T. nudatum* of (415.32 ± 0.3) mg GAE / g and (92.58 ± 1.8) mg CATE / g respectively, while the ethyl acetate fraction of the crude hydromethanolic extract prepared by maceration FAC_M of the same plant was found to be the richest in flavonols of (302.88 ± 0.92) mg QE / g. *A. leucotrichus* has shown low contents of polyphenols, flavonoids and flavonols. The evaluation of the antioxidant activity was carried out by three techniques: DPPH, TAC and FRAP assays. For the DPPH assay, FAC_M of *T. nudatum* presented the lowest IC_{50} of (20 ± 0.11) μ g / ml, the n-butanol fraction of the hydromethanolic crude extract prepared by maceration $Fn -B_M$ of the same plant showed the highest total antioxidant capacity of (200.21 ± 0.2) mg AAE / g, the best reducing activity was exhibited by FAC_M of *A. leucotrichus* with an EC_{50} of (24 ± 1.1) μ g / ml. The evaluation of the antimicrobial activity was carried out on reference microorganisms by two techniques: the diffusion and dilution methods. For the first technique, the extracts of *T. nudatum* demonstrated inhibition diameters between 7 and 14 mm, the most interesting activity was noted in the ethyl acetate fractions FAC_M and FAC_I , the most sensitive strains were *B.cereus*, *B.subtilis*, *L.monocytogenes*, *P.mirabilis* and *S.uareus* with the highest inhibition diameters and the lowest MICs. The extracts of *A. leucotrichus* showed zones of inhibition which do not exceed 10 mm of diameter, the strongest activities were evident in FAC_M and FAC_I notably against *B.cereus*, *B.subtilis*, *A. baumannii*, *L.monocytogenes*, *M.luteus* and *S.aureus*. Generally, Gram-positive bacteria were the most sensitive to the extracts of both species. However, the extracts of both species did not show any antifungal activity. The identification of phenolic compounds by HPLC of ethyl acetate and n-butanol fractions revealed the presence of sinapic, syringic, ferulic and p-coumaric acids, naringenin, catechin and vanillin in *T. nudatum* and sinapic acid, ferulic acid, p-coumaric acid, quercetin, naringenin and vanillin in *A. leucotrichus*. The results of the antidiabetic activity in vivo revealed a highly significant antihyperglycaemic effect by the crude hydromethanolic extract prepared by maceration EB_M of *T. nudatum* and its fraction FAC_M of 25.66 % and 59, 39 % at the second and the third week of treatment respectively. A highly significant reduction in blood glucose level was also exhibited by EB_M of *A. leucotrichus* of 14.92%, this reduction was not significant for FAC_M of 27.48% after four weeks of treatment. In vitro antidiabetic analysis revealed a highly significant liver glucose uptake stimulation of 47.6% and 48% for EB_M and FAC_M of *A. leucotrichus* and 42% and 44% for EB_M and FAC_M of *T. nudatum* after 90 minutes of incubation, a very significant increase in adipose tissue glucose uptake was induced by EB_M and FAC_M of *A. leucotrichus* of 21% and 23% respectively. The increase in adipose tissue glucose uptake was very significant of 20.6% and significant of 23.3% for EB_M and FAC_M of *T. nudatum* respectively at 60 minutes of incubation. At the concentration of 0.2 mg / ml, very low hemolysis levels were recorded in the extracts of both species which did not reach 5%. Beyond this concentration, FAC_M and $Fn -B_M$ of *T. nudatum* and FAC_M of *A. leucotrichus* showed a high toxicity. These preliminary results indicate that *Traganum nudatum* Delile and *Ammodaucus leucotrichus* Cosson & Durieu represent a new source of bioactive molecules with multiple interests that imply detailed chemical, biological and toxicological studies in order to use in the pharmaceutical, food, nutraceutical or cosmetic industries.

Key words: *Traganum nudatum*, *Ammodaucus leucotrichus*, phytochemical study, antioxidant activity, antibacterial activity, antidiabetic activity, HPLC, haemolytic activity

Résumé

Ammodaucus leucotrichus et *Traganum nudatum* sont largement utilisées en pharmacopée traditionnelle en Algérie pour traiter de nombreuses maladies dont le diabète sucré. Ce travail porte sur une étude phytochimique et une recherche d'activités biologiques des extraits bruts hydrométhanoliques et leurs fractions acétate d'éthyle et n-butanol de chaque plante. Les analyses phytochimiques ont révélé la présence des flavonoïdes, des tannins, des alcaloïdes, des quinones, des saponines et des terpénoïdes dans les extraits des deux plantes et que les teneurs les plus élevées en polyphénols, en flavonoïdes et en flavonols sont attribuées aux fractions acétate d'éthyle de *T.nudatum* de l'ordre de (415,32± 0,3) mg EAG/g, (92,58±1,8) mg ECAT/g et de (302,88±0,92) mg EQ/g. Pour le test DPPH c'est la fraction FAC_M de *T.nudatum* qui a présenté la plus faible CI₅₀ de (20±0,11µg/ml), la fraction n-butanol de l'extrait brut hydrométhanolique préparé par macération Fn-B_M de la même plante a montré la capacité antioxydante totale la plus importante de (200,21 ± 0,2) mg EAA/g, la meilleure activité réductrice de fer a été accordée à la fraction FAC_M d'*A.leucotrichus* avec une CE₅₀ de (24 ± 1,1 µg/ml). L'évaluation de l'activité antimicrobienne a été procédée sur un panel de microorganismes de référence, les extraits de *T.nudatum* ont démontré des zones d'inhibition comprises entre 7 et 14 mm, l'activité la plus intéressante a été notée dans les fractions acétate d'éthyle, les souches les plus sensibles sont *B.cereus*, *B.subtilis*, *L.monocytogenes*, *P.mirabilis* et *S.uareus* avec les diamètres d'inhibition les plus élevés et les CMI les plus faibles. Les extraits d'*A.leucotrichus* ont démontré des zones d'inhibition qui ne dépassent pas 10 mm de diamètre, les plus fortes activités ont été évidentes dans les fractions FAC_M et FAC_I notamment sur *B.cereus*, *B.subtilis*, *A.baumannii*, *L.monocytogenes* et *M.luteus*, *S.aureus*. Globalement, les bactéries à Gram positif ont été les plus sensibles aux extraits des deux espèces. Cependant, ces derniers n'ont manifesté aucune activité antifongique. L'identification des composés phénoliques par HPLC des fractions acétate d'éthyle et n-butanol a révélé la présence des acides sinapique, syringique, férulique et p-coumarique, de la naringénine, la catéchine et la vanilline dans *T. nudatum* et de l'acide sinapique, l'acide férulique, l'acide p-coumarique, la quercétine, la naringénine et la vanilline dans *A.leucotrichus*. Les résultats de l'activité antidiabétique in vivo ont décelé un effet antihyperglycémiant hautement significatif par l'extrait brut hydrométhanolique préparé par macération EB_M de *T.nudatum* ainsi que sa fraction FAC_M de l'ordre de 25,66 % à la deuxième semaine et de 59,39% à la troisième semaine de traitement respectivement. Une réduction hautement significative de glycémie a été également exhibée par EB_M d'*A. leucotrichus* de l'ordre de 14,92 % et de 27,48% par FAC_M après quatre semaines de traitement. L'analyse antidiabétique in vitro a révélé une stimulation hautement significative de l'absorption de glucose par le foie de l'ordre de 47.6% pour EB_M et de 48% pour FAC_M d'*A.leucotrichus* et de 42 % pour EB_M et 44% pour FAC_M de *T. nudatum* après 90 minutes d'incubation, de même une augmentation très significative de la prise de glucose par le tissu adipeux a été induite par EB_M et FAC_M d'*A.leucotrichus* avec des taux respectifs de 21% et de 23%, très significative de 20,6 % et significative de 23,3% pour EB_M et FAC_M de *T. nudatum* respectivement à 60 minutes d'incubation. À la concentration de 0,2 mg/ml, des taux d'hémolyse négligeables ont été enregistrés dans les extraits des deux espèces qui n'atteignent pas 5%. Au delà de cette concentration, FAC_M et Fn-B_M des deux plantes ont manifesté une toxicité élevée. Ces résultats préliminaires indiquent que *Traganum nudatum* Delile et *Ammodaucus leucotrichus* Cosson & Durieu représentent une nouvelle source de molécules bioactives à intérêts multiples qui méritent des études chimiques, biologiques et toxicologiques approfondies en vue de leur utilisation dans les différents secteurs industriels pharmaceutique, alimentaire, nutraceutique ou cosmétique.

Mots clés: *Traganum nudatum*, *Ammodaucus leucotrichus*, étude phytochimique, antioxydante, antibactérienne, antidiabétique, HPLC, effet hémolytique

الملخص

تستخدم *Traganum nudatum* Delile و *Ammodaucus leucotrichus* Cosson & Durieu في الطب التقليدي في الجزائر لعلاج العديد من الأمراض بما في ذلك داء السكري. يتناول هذا العمل الدراسة الكيميائية والبحث عن الأنشطة البيولوجية المضادة للأكسدة، المضادة للميكروبات والمضادة لداء السكري للمستخلصات الخام الهيدروميثانوليكية وأجزاء أسيتات إيثل و بوتانول لكل نبات. كشف الفحص الكيميائي النباتي عن وجود مركبات الفلافونويدات، العفصيات، القلويدات، الكينونات، السابونينات والتربينويدات في مستخلصات كلا النباتين. أظهرت التحاليل الكمية أن أعلى مستويات البوليفينول والفلافونويدات الكلية تنسب إلى جزء أسيتات الإيثل للمستخلص الهيدروميثانوليكي الخام الذي أعد عن طريق الغليان FAC_I لـ *T. nudatum* بنسبة (0.3 ± 415.32) ملغ مكافئ/AG / غرام و (58.92 ± 1.8) ملغ مكافئ/CAT / غرام على التوالي ، في حين وجد أن جزء أسيتات الإيثل للمستخلص الخام الهيدروميثانوليكي الذي أعد عن طريق النقع FAC_M من نفس النبات هو الأكثر غني بالفلافونولات بمستوى (0.92 ± 302.88) ملغ مكافئ/Q / غرام. يحتوي نبات *A. leucotrichus* على مستويات منخفضة نسبياً من البوليفينولات والفلافونويدات والفلافونولات. تم تقييم النشاط المضاد للأكسدة من خلال ثلاث تقنيات: إرجاع الجذر الحر DPPH، القدرة الكلية المضادة للأكسدة TAC ونشاط إرجاع الحديد FRAP. بالنسبة لإرجاع الجذر الحر DPPH ، فإن جزء FAC_M من *T. nudatum* هو الذي قدم أدنى IC_{50} المقدر بـ (20 ± 0.11) ميكروغرام / مل) ، جزء بوتانول من المستخلص الخام الهيدروميثانوليكي الذي أعد عن طريق النقع $F-nB_M$ لنفس النبات أظهر أعلى قدرة كلية مضادة للأكسدة بنسبة (200.21 ± 0.2) ملغ مكافئ/AA / غرام ، و أفضل نشاط لإرجاع الحديد وجد بـ FAC_M من *A. leucotrichus* مع EC_{50} (24 ± 1.1) ميكروغرام / مل). تم تقييم النشاط المضاد للميكروبات بواسطة تقنيتين: طريقة تثبيط نمو الميكروبات في وسط صلب و سائل لتحديد التراكم الدنيا المثبطة. بالنسبة للتقنية الأولى، أظهرت مستخلصات *T. nudatum* مناطق تثبيط ما بين 7 و 14 ملم ، وقد لوحظ النشاط الأكثر إثارة للاهتمام في أجزاء أسيتات الإيثل FAC_I و FAC_M ، السلالات الأكثر حساسية هي *B.cereus* ، *B.subtilis* ، *L.monocytogenes* ، *P.mirabilis* و *S.uareus* . أظهرت مستخلصات *A. leucotrichus* مناطق تثبيط لا يتجاوز قطرها 10 مم ، وكانت أقوى الأنشطة واضحة في أجزاء أسيتات الإيثل FAC_I و FAC_M ، خاصة على *B.cereus* ، *B.subtilis* ، *A. baumannii* ، *M.luteus* ، *L.monocytogenes* ، *S.aureus* . بشكل عام، تعتبر البكتيريا إيجابية الجرام هي الأكثر حساسية لمستخلصات كلا النباتين. ومع ذلك ، لم يظهر كلا النباتين أي نشاط مضاد للفطريات. كشف تحديد المركبات الفينولية بتقنية HPLC في أجزاء أسيتات الإيثل و بوتانول عن وجود أحماض سينابيك، سيرنجيك، فيروليك، وبي كوماريك و نارينجينين، كاتشين وفانيلين في *T. nudatum* وحمض سينابيك ، حمض الفيروليك ، حمض بي كوماريك ، كيرسيتين ، نارينجين وفانيلين في *A. leucotrichus* . كشفت نتائج النشاط المضاد لمرض السكر عن وجود تأثير مهم للغاية لتخفيض نسبة السكر في الدم للمستخلص الخام الهيدروميثانوليكي الذي أعد عن طريق النقع EB_M من *T. nudatum* وجزء FAC_M بتقدير 25.66% في الأسبوع الثاني 39.59% في *leucotrichus* بتقدير 14.92% و 27.48% من قبل FAC_M بعد أربعة أسابيع من العلاج. أظهرت التحاليل المضادة لمرض السكر في المختبر تحفيز كبير لامتصاص الجلوكوز من طرف الكبد بنسبة 47.6% لـ EB_M و 48% لـ FAC_M من *A. leucotrichus* و 42% لـ EB_M و 44% بالنسبة لـ FAC_M من *T. nudatum* بعد 90 دقيقة، كما لوحظت زيادة كبيرة جداً في امتصاص الجلوكوز للأنسجة الدهنية بواسطة EB_M و FAC_M من *A. leucotrichus* بنسبة 21% و 23% على التوالي ، 20.6% و 23.3% لـ EB_M و FAC_M من *T. nudatum* على التوالي بعد 60 دقيقة. بتركيز 0.2 ملغ / مل ، تم تسجيل مستويات سمية ضئيلة في مستخلصات كلا النوعين والتي لم تصل إلى 5%. بينما أظهرت تراكيز أعلى لـ FAC_M و F_n-B_M من *T. nudatum* و FAC_M من *A. leucotrichus* سمية عالية. تشير هذه النتائج الأولية إلى أن *Traganum nudatum* و *Ammodaucus leucotrichus* يمثلان مصدرًا جديدًا للجزيئات النشطة بيولوجيًا متعددة النشاطات التي تستوجب دراسات كيميائية وبيولوجية وسمية معمقة لاستخدامها في مختلف القطاعات الصناعية الصيدلانية، الغذائية أو مستحضرات التجميل.

الكلمات المفتاحية: *Traganum nudatum* ، *Ammodaucus leucotrichus* ، دراسة كيميائية نباتية ، نشاط مضاد الأكسدة ، نشاط مضاد للجراثيم ، نشاط مضاد لمرض السكر ، HPLC ، سمية

Introduction

Les maladies non transmissibles ou maladies chroniques notamment les maladies cardiovasculaires, les cancers, les affections respiratoires chroniques et le diabète sucré constituent des urgences sanitaires mondiales du 21^{ème} siècle qui connaissent l'évolution la plus rapide. Elles constituent un lourd fardeau économique et social pour les pays. En effet, le traitement de ces maladies chroniques peut être long et donc extrêmement coûteux. Les dépenses des systèmes de soins de santé liées aux maladies non transmissibles sont élevées et il est prévu qu'elles augmenteront encore. Ces pathologies sont la première cause de mortalité au niveau mondial et elles gagnent du terrain dans le monde entier. Elles sont responsables de 41 millions de décès chaque année et représentent environ 71% de tous les décès dans le monde (OMS, 2019).

Le diabète sucré est l'une des maladies non transmissibles les plus répandues dans le monde. Il a atteint des proportions alarmantes: près d'un demi-milliard de personnes dans le monde vivent avec le diabète (FID, 2019). En l'absence de mesures suffisantes pour faire face à la pandémie, la fédération internationale de diabète prévoit que 578 millions de personnes (10,2 % de la population) vivront avec le diabète d'ici à 2030 et 700 millions (10,9 %) d'ici à 2045. Les personnes vivant avec le diabète sont à risque de développer un certain nombre de complications graves et potentiellement mortelles. Elles nécessitent donc davantage de soins médicaux. Si le diabète et ses complications ne sont pas correctement pris en charge, ils peuvent entraîner de fréquentes hospitalisations et des décès prématurés. À l'échelle mondiale, le diabète figure parmi les 10 principales causes de décès (FID, 2019). La FID estime que plus de quatre millions de personnes âgées de 20 à 79 ans mourront de causes liées au diabète en 2019.

Devant cette situation, l'OMS alerte et a lancé un appel à adopter des stratégies mondiales de lutte contre l'épidémie des maladies non transmissibles et pour la réduction des charges de morbidité qui leurs sont liées par la prévention et la réduction des principaux facteurs de risque des maladies non transmissibles, la détection précoce, l'amélioration des soins de santé et le traitement rapide. Toutefois, dans de nombreuses situations, il n'y a pas de soins adaptés pour les personnes atteintes et l'accès aux technologies et aux médicaments essentiels est limité, en particulier dans les pays à revenu faible ou intermédiaire. En Afrique subsaharienne, le problème financier est en effet l'obstacle majeur à une prise en charge adéquate et permanente de ces pathologies, il existe dans à peu près tous les pays de cette région où l'approvisionnement en traitements est souvent aléatoire et irrégulier (OMS, 2019).

Selon l'OMS, environ 80% de la population mondiale dans les pays en développement, pour des raisons socio-économiques et culturelles, dépendent essentiellement des plantes médicinales pour se soigner et traiter des maladies aussi bien bénignes (rhume, maux d'estomac...) que graves (cancer, paludisme, diabète...) (Eddouks et al., 2016). L'OMS a encouragé l'exploration des plantes médicinales de la pharmacopée traditionnelle par des études ethnobotaniques et des recherches pharmacologiques pour améliorer des médicaments à base des plantes médicinales afin de promouvoir leurs utilisations optimales dans les systèmes de prestation des soins de santé (Gbekley et al., 2017).

À l'instar de plusieurs pays en développement, l'Algérie est confrontée à l'émergence de maladies chroniques dont le diabète, dont le traitement et le suivi entraînent des charges financières et économiques importantes. La prévalence du diabète dans notre pays est de plus de 10 % (FID, 2019), la Fédération nationale des diabétiques en Algérie déclare 5 millions d'algériens diabétiques en 2020.

En Algérie, l'utilisation des plantes pour traiter les maladies chroniques fait partie d'une tradition ancienne. Plusieurs auteurs ont mis l'accent sur cette pratique et les études menées dans différentes régions ont montré que l'usage des plantes pour traiter ces maladies chroniques est très répandu. En effet, un nombre important d'espèces végétales est utilisé comme remède dont la majorité n'est pas exploitée scientifiquement (Miara et al., 2019).

Dans le cadre de la valorisation de la flore locale utilisée en médecine traditionnelle et dans le but de la recherche de nouvelles biomolécules actives, facilement accessibles, moins onéreuses, présentant moins d'effets secondaires que la pharmacopée actuelle, le travail que nous avons entrepris porte sur la caractérisation phytochimique, la recherche et l'évaluation de la toxicité et des activités biologiques des extraits de deux plantes médicinales du Sud-Ouest de l'Algérie: *Ammodaucus leucotrichus* Cosson & Durieu et *Traganum nudatum* Delile.

L'étude phytochimique a porté sur:

- Un screening phytochimique
- Des dosages des polyphénols totaux, des flavonoïdes totaux et des flavonols
- Une chromatographie liquide à haute performance

L'étude de la toxicité a été réalisée par la recherche et l'évaluation de l'effet hémolytique

La recherche et l'évaluation de l'activité antioxydante a été réalisée par:

- Le test de piégeage du radical libre DPPH
- Le test du pouvoir réducteur de fer
- Le test de la capacité antioxydante totale

La recherche et l'évaluation de l'activité antibactérienne a été réalisée par:

- La méthode des disques
- La méthode de microdilution en milieu liquide

La recherche et l'évaluation de l'activité antifongique a été réalisée par:

- La méthode des disques

La recherche et l'évaluation de l'activité antidiabétique in vivo a été réalisée par:

- La recherche de l'effet antihyperglycémiant à court terme pendant 4 heures
- La recherche de l'effet antihyperglycémiant à long terme pendant 4 semaines

La recherche et l'évaluation de l'activité antidiabétique in vitro a été réalisée par:

- La recherche de l'effet sur l'absorption du glucose par le foie
- La recherche de l'effet sur l'absorption du glucose par le tissu adipeux

Partie bibliographique

Les maladies non transmissibles constituent actuellement une menace majeure de santé publique. Elles sont responsables de 41 millions de décès chaque année et représentent environ 71% de tous les décès dans le monde (OMS, 2019). Plus de 32 millions (85%) de ces décès surviennent dans des pays à revenu faible ou intermédiaire. L'OMS prévoit que le nombre annuel des décès dus à ces maladies continuera d'augmenter partout dans le monde, la plus forte augmentation étant attendue dans le continent africain au cours de la prochaine décennie. D'ici 2030, les maladies non transmissibles seront une cause de décès plus courante que les maladies transmissibles dans cette région. En effet, les pays africains font face à un double fardeau que constituent les maladies non transmissibles et les maladies transmissibles. Ces dernières représentent les principales causes de mortalité et de morbidité en Afrique comme le VIH/sida, le paludisme, la tuberculose,... Elles touchent chaque année des millions de personnes et font des millions de morts. D'un autre côté, la résistance aux antimicrobiens qui se développe rapidement a renforcé la menace que constituent les maladies infectieuses (OMS, 2016).

I. Les maladies non transmissibles

1. Définition

Les maladies non transmissibles ou maladies chroniques, selon la définition accordée par l'OMS, ne se transmettent pas d'une personne à une autre. C'est des pathologies qui peuvent être graves et qui peuvent engendrer une morbidité et une mortalité élevées. En effet, certaines constituent les principales causes de décès dans le monde devant toutes les autres causes réunies, elles ont atteint des proportions épidémiques voire pandémiques touchant principalement les populations à revenu faible ou intermédiaire. L'épidémie des maladies non transmissibles prélève un énorme tribut en souffrances humaines et elle affecte gravement le développement humain sur les plans économique et social (OMS, 2019).

2. Facteurs de risque

Ces pathologies sont dues à des facteurs de risque comportementaux, omniprésents dans la transition démographique et économique, l'allongement de l'espérance de vie, l'urbanisation anarchique et rapide et les modes de vie au 21^{ème} siècle: le tabagisme, la mauvaise alimentation, la sédentarité, le surpoids et l'obésité et l'usage nocif de l'alcool (OMS, 2019). Ces facteurs de risque comportementaux, joints à d'autres causes métaboliques/physiologiques favorisent l'épidémie mondiale des maladies non transmissibles.

2.1. Tabagisme

Le tabac a été décrit comme le principal facteur de risque des maladies non transmissibles. Il provoque le décès prématuré de plus de cinq millions de personnes par an à travers le monde via le tabagisme actif ou passif. En 2020, ce nombre atteindra les 7,5 millions, soit 10% de l'ensemble des décès. L'OMS estime que le tabagisme est responsable de 71% des cancers du poumon, de 42% des affections respiratoires chroniques et de près de 10% des maladies cardiovasculaires (Janah et al., 2014).

2.2. Alimentation déséquilibrée

La plupart des populations consomment de plus en plus d'aliments hypercaloriques, riches en graisses saturées et beaucoup plus de sel que ne le recommande l'OMS pour la prévention des maladies, une forte consommation de sel est un déterminant important de l'hypertension et du risque cardiovasculaire, une forte consommation de graisses saturées est en relation étroite avec les cardiopathies. Une consommation suffisante de fruits et de légumes réduit le risque de maladies cardiovasculaires, de cancer de l'estomac et de cancer colorectal (Demir et al., 2017; Kent et al., 2017; Lo Vasco et al., 2017).

2.3. Sédentarité

Quelque 3,2 millions de décès sont dus chaque année au manque d'activité physique. La sédentarité accroît de 20% à 30% le risque de mortalité, toutes causes confondues. Une activité physique régulière réduit le risque de maladies cardiovasculaires, d'hypertension, de diabète, de cancer du sein et du côlon et de dépression. La sédentarité est plus répandue dans les pays à revenu élevé mais des niveaux très élevés sont désormais observés dans des pays à revenu intermédiaire, en particulier chez les femmes (OMS, 2019).

2.4. Surpoids et obésité

Au moins 2,8 millions de personnes meurent chaque année des suites d'un surpoids ou d'une obésité. Le risque de cardiopathie, d'accident vasculaire cérébral ou de diabète augmente proportionnellement à l'indice de masse corporelle (IMC). L'augmentation de l'IMC accroît également le risque de certains cancers. Le surpoids et l'obésité progressent, en 2014, l'OMS a estimé qu'un adulte sur trois était en surpoids et plus d'un sur dix était obèse (OMS, 2019).

2.5. Abus de l'alcool

Quelques 2,3 millions de personnes meurent chaque année des suites d'une consommation importante d'alcool, ce qui représente environ 3,8% de l'ensemble des décès dans le monde.

2.6. Infections associées au cancer

Au moins 2 millions de cas de cancer par an, soit 18% de la charge mondiale de morbidité cancéreuse, sont imputables à quelques infections chroniques spécifiques, leur proportion étant sensiblement plus importante dans les pays à faible revenu. Les principaux agents infectieux sont le papillomavirus humain, le virus de l'hépatite B et C et *Helicobacter pylori*.

II. Présentation d'une maladie non transmissible: Le diabète sucré

1. Épidémiologie

D'après les estimations de la fédération internationale de diabète en 2019, 463 millions d'adultes âgés de 20 à 79 ans (9,3 % de tous les adultes dans cette tranche d'âge) vivent avec le diabète dans le monde (Figure 1), ce nombre devrait atteindre 578 millions en 2030 et 700 millions en 2045. Les deux tiers des personnes diabétiques vivent en milieu urbain et 79,4 % d'entre eux vivent dans des pays à faible revenu et ceux à revenu intermédiaire.

Dans la région du Moyen-Orient et de l'Afrique du nord en 2019, 54,8 millions d'adultes âgés de 20 à 79 sont diabétiques, soit 12,8% de la population régionale de ce groupe d'âge. Ce chiffre comprend 24,5 millions d'adultes présentant un diabète non diagnostiqué. Cette région possède le taux de prévalence du diabète ajusté en fonction de l'âge le plus élevé (12,2 %) de toutes les régions de la fédération internationale de diabète. Il est estimé que le nombre de personnes vivant avec le diabète dans la région augmentera de 38,8 % d'ici à 2030 et de 96,5 % d'ici à 2045, la seconde plus forte augmentation de toutes les régions de la fédération internationale de diabète. 55,3 % de tous les diabétiques vivent en milieu urbain et la majorité (87,2 %) vivent dans des pays à revenu faible ou intermédiaire. Les pays qui comptent le plus grand nombre d'adultes âgés de 20 à 79 ans vivant avec le diabète sont le Pakistan (19,4 millions), l'Égypte (8,9 millions) et l'Iran (République Islamique) (5,4 millions).

L'Algérie (33 100), le Maroc (30 200) et l'Arabie saoudite (27 800) sont les pays de la région qui enregistrent le plus grand nombre d'enfants et d'adolescents (0 à 19 ans) vivant avec le diabète de type 1 en 2019. Ce sont également les pays qui présentent le plus grand nombre de nouveaux cas de diabète de type 1 chez les enfants et les adolescents: Algérie (4 200 par an), Arabie saoudite (3 700) et Maroc (3 600) (FID, 2019).

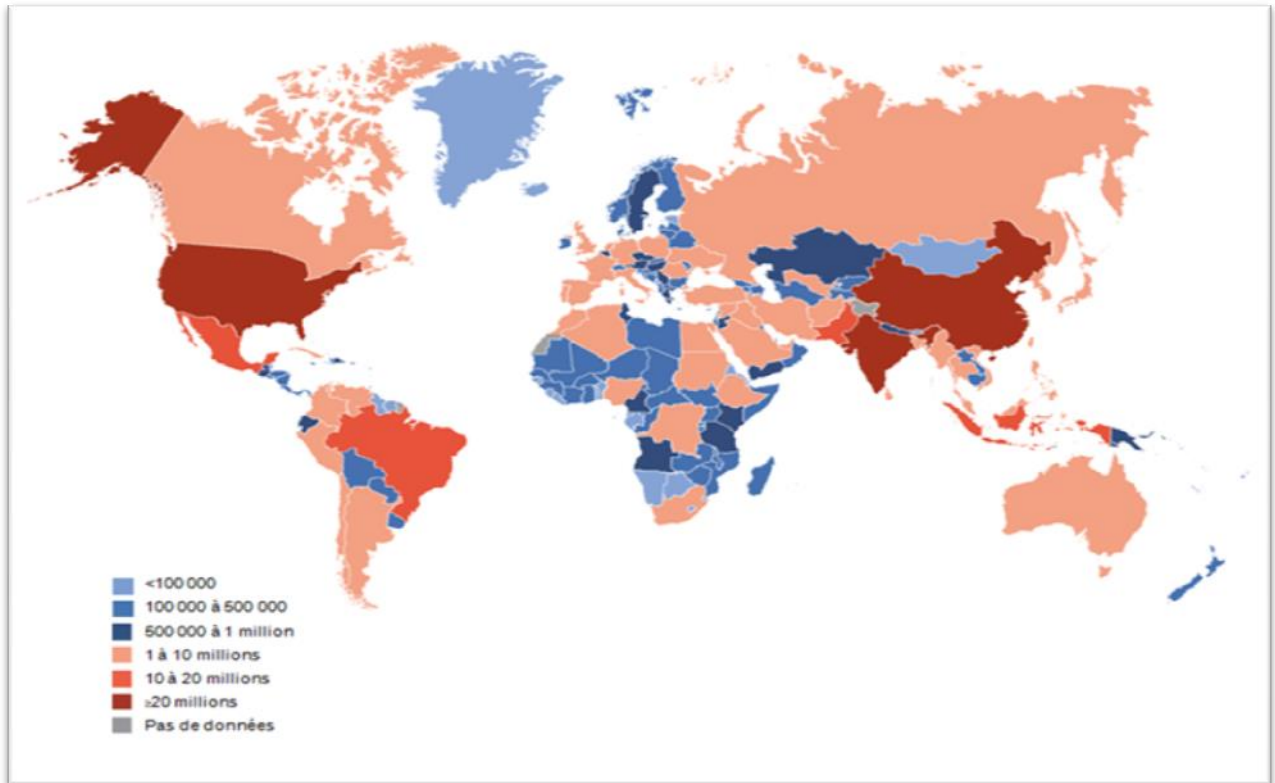


Figure 1: Estimation du nombre total d’adultes (20 à 79 ans) vivant avec le diabète en 2019 (FID, 2019).

2. Mortalité liée au diabète

La FID estime qu’environ 4,2 millions d’adultes âgés de 20 à 79 ans sont morts en 2019 des suites d’un diabète et de ses complications. C’est l’équivalent d’un décès toutes les huit secondes. D’après les estimations, le diabète est lié à 11,3 % des décès dans le monde, toutes causes confondues dans cette tranche d’âge. Près de la moitié (46,2 %) des décès liés au diabète dans la tranche d’âge 20 à 79 ans concernent les moins de 60 ans, autrement dit la population active. À l’échelle mondiale, on compte davantage de décès liés au diabète chez les femmes (2,3 millions) que chez les hommes (1,9 million).

Dans la région du Moyen-Orient et de l’Afrique du nord, le diabète et ses complications sont responsables d’environ 418.900 décès chez les personnes âgées de 20 à 79 ans en 2019 (16,2% de la mortalité toutes causes confondues), le pourcentage le plus élevé (22,4 %) étant enregistré dans la tranche d’âge 30 à 39 ans. Environ 53,3 % de tous les décès dus au diabète dans cette région sont survenus chez des personnes de moins de 60 ans, ce qui en fait la deuxième région la plus touchée par le diabète chez les moins de 60 ans. La plupart des décès imputables au diabète sont survenus dans les pays à revenu intermédiaire, soit 86,7 % de tous les décès liés au diabète dans la région. La mortalité due au diabète est plus élevée chez les

femmes que chez les hommes, 248 300 et 170 600 décès respectivement selon les estimations. Cela peut s'expliquer par le fait que le nombre de femmes vivant avec le diabète est légèrement plus élevé que celui des hommes (27,6 millions et 27,1 millions, respectivement).

3. Définition

C'est un groupe hétérogène de maladies métaboliques dont la caractéristique principale est une hyperglycémie chronique résultante d'une déficience de sécrétion d'insuline ou d'anomalie de l'action de l'insuline sur les tissus cibles ou de ces deux anomalies associées. Accompagnée d'une perturbation des métabolismes glucidique, lipidique et protéique, cette maladie évolue de façon insidieuse et reste longtemps asymptomatique et elle résulte de l'interaction entre des facteurs héréditaires et environnementaux (OMS, 2016; Stojkovic et al., 2019).

4. Symptômes et diagnostic

Différents symptômes sont observés chez les personnes atteintes de cette maladie dont les plus communs sont: polyurie, polydipsie, amaigrissement, polyphagie, fatigue, troubles visuels, engourdissement des mains/pieds. Le diabète est diagnostiqué lorsque la glycémie à jeun est supérieure à 7 mmol/l, soit 1,26 g/l à deux reprises ou lorsque la glycémie 2 heures après une charge de 75 g de glucose est supérieure à 2 g/l (11,1 mmol/l) à deux reprises associée aux symptômes de diabète. Le comité d'experts ADA recommande aussi l'utilisation du test de l'hémoglobine glyquée ($HbA_{1C} \geq 6.5 \%$) comme critère pour le diagnostic du diabète sucré (ADA, 2016).

5. Classification

La nouvelle classification par l'Association Américaine du Diabète (ADA) en 1997 regroupe les diabètes sucrés selon l'étiologie en diabète de type 1, diabète de type 2 plutôt que diabète insulino-dépendant "DID" et diabète non insulino-dépendant "DNID", le diabète gestationnel et autres types spécifiques de diabète (ADA, 2014) (Figure 2).

5.1. Diabète de type 1

C'est une maladie auto-immune qui désigne toute hyperglycémie déclenchée par la destruction auto-immune des cellules bêta des îlots de Langerhans pancréatiques aboutissant à une carence absolue ou relative en insuline « insulino-pénie ». Il représente 10% environ de tous les diabètes et se déclare généralement à l'enfance. Cette forme est fortement associée aux gènes DQA et DQB du système HLA (Human Leucocyte Antigen) et influencée par les gènes DRB (Drouin et al., 1999; Marsaudon, 2011).

5.2. Diabète de type 2

Le diabète de type 2 est caractérisé par des anomalies des effets de l'insuline sur ses tissus cibles « insulino-résistance ». Il résulte de la combinaison de plusieurs gènes de susceptibilité dont l'expression dépend de facteurs environnementaux déclenchant. Il représente 90% des diabètes rencontrés dans le monde. Il survient le plus souvent chez l'adulte (Kaku, 2010; Marsaudon, 2011; OMS, 2016).

Il existe d'autres types de diabètes comme le diabète gestationnel, les diabètes secondaires à diverses endocrinopathies et autres types rares comme le diabète MODY (MODY: Maturity Onset Diabetes of the Young) qui est un diabète de type 2 survenant chez l'enfant du à un dysfonctionnement d'origine génétique des cellules β , diabète mitochondrial,... (Maugendre et al., 2007; Marsaudon, 2011; FID, 2015).

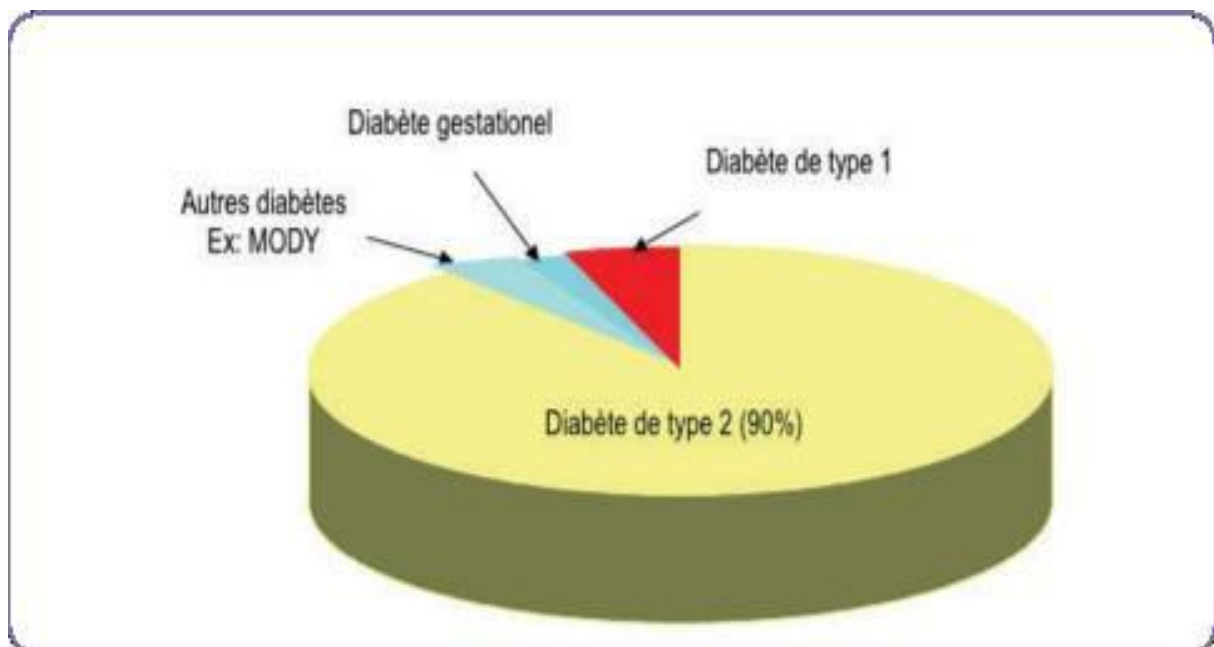


Figure 2: Classification du diabète sucré selon l'OMS (OMS, 2016)

5.2.1. Pré diabète

5.2.1.1. Homéostasie glucidique

Le glucose est un important métabolite énergétique. Pour certains organes ou cellules tels que le cerveau ou les érythrocytes, il constitue la seule source d'énergie. Son apport est indispensable pour le métabolisme. Il fonctionne comme un système de stockage de l'énergie chimique: il est en effet catabolisé en eau et en dioxyde de carbone avec libération de l'énergie sous forme d'ATP, de chaleur ou de toute autre forme d'énergie (Vothardt et Schore, 2004). Si le glucose est apporté à l'organisme par voie exogène, à partir des glucides alimentaires, il

provient également d'une source endogène par glycogénolyse et néoglucogenèse à partir des substrats non glucidiques tels que le lactate, le glycérol et les acides aminés glucoformateurs (Marshall et Bangert, 2005).

Le glucose circule librement dans le sang. Chez les individus sains, la glycémie ou le taux de glucose dans le sang, est régulée de manière stricte de telle sorte qu'elle soit maintenue aux alentours de 1g/L (5 mM) grâce à des mécanismes de régulation afin de garantir un apport énergétique constant aux différents tissus. Le déclenchement des mécanismes de régulation implique une détection préalable des concentrations de glucose. Les systèmes de sensibilité à ce métabolite existent à plusieurs endroits stratégiques de l'organisme (Burcelin et Pénicaud, 2003; Taveau, 2014). Le système de régulation de l'homéostasie glucidique est atteint lorsque les apports de glucose dans la circulation sanguine sont exactement compensés par le captage du glucose sanguin par les tissus utilisateurs de ce substrat (Szablewski, 2011). Lorsque la glycémie est supérieure à 1,1 g/L (hyperglycémie) suite à un repas, une hormone hypoglycémiante, l'insuline, stimule la captation et le stockage du glucose sous forme de glycogène, au niveau hépatique ou musculaire notamment et de triglycérides, au niveau du tissu adipeux (Burcelin et Pénicaud, 2003). À l'inverse, lorsque la glycémie est trop basse (inférieure à 0,8 g/L ou hypoglycémie), souvent après un effort physique, une hormone hyperglycémiante, le glucagon, permet de libérer du glucose dans la circulation sanguine. Ces deux hormones de la régulation de la glycémie sont synthétisées par le pancréas au niveau des îlots de Langerhans (Annicotte, 2004; Dion, 2016).

5.2.1.2. L'insulinorésistance

Le diabète de type 2 est une maladie très hétérogène à l'origine de laquelle différents mécanismes physiopathologiques sont impliqués, il débute par un déclin progressif de l'action de l'insuline (une résistance à l'action de l'insuline ou insulinorésistance) puis par une détérioration irréversible du fonctionnement des cellules β et donc de la sécrétion de l'insuline (insulinodéficiences) (Weyer et al., 1999; Pratley et Weyer, 2001). Il est maintenant admis que l'insulinorésistance a une composante génétique mais qu'elle peut être acquise par des facteurs environnementaux. En effet, chez 80% des diabétiques, on retrouve un phénotype particulier appelé l'intolérance au glucose ou syndrome métabolique. Ce syndrome métabolique caractérisé par une insulinorésistance n'est pas une maladie en soi mais constitue une pathologie importante prédisposant au diabète et aux maladies cardiovasculaires. Il n'est pas synonyme de diabète mais constitue un facteur de risque majeur. Il représente réellement l'empreinte du diabète de type 2 auquel il conduira lorsqu'une insulinodéficiences s'associera à

l'insulinorésistance (Furtado de Souza et al., 2012). Pour parler de syndrome métabolique le patient présente au moins trois des cinq facteurs suivants: un taux de HDL cholestérol inférieur à 0,40g/L chez l'homme et 0,50 g/L chez la femme, des triglycérides supérieurs à 1,5g/L, une glycémie à jeun supérieure à 1,1g/L, une tension artérielle supérieure à 130-85mmHg, un tour de taille supérieur à 102 cm chez l'homme et 88 cm chez la femme. La résistance à l'insuline est fréquemment liée à l'obésité ou aux acides gras libres circulants (Virally et al., 2007). En effet la majorité des diabétiques ont une surcharge pondérale. Il est clairement établi qu'une augmentation de la quantité de lipides dans les tissus périphériques non adipocytaires serait responsable du phénomène d'insulinorésistance en induisant une accumulation de molécules de signalisation intracellulaire qui interfèrent avec la voie de signalisation insulinique.

Bien que la lipotoxicité soit souvent corrélée avec une augmentation des triglycérides intracellulaires, il est maintenant bien établi que ce sont des métabolites dérivés des acides gras qui sont les facteurs majeurs dans le développement de la résistance à l'insuline induite par un excès lipidique (Summers, 2006). Au début, lorsque le fonctionnement du pancréas est normal, la résistance à l'insuline est compensée par un hyperinsulinisme, ce qui permet de préserver la tolérance au glucose et de maintenir la glycémie dans les limites de la normale. Mais cette situation est limitée dans le temps. À terme, la production d'insuline s'épuise de par une glycémie de plus en plus difficilement équilibrée et par l'entrée en apoptose des cellules, c'est l'insulino-déficience. L'intolérance au glucose intervient quand la résistance à l'insuline augmente ou que la réponse compensatoire de la sécrétion diminue ou bien quand les deux phénomènes se produisent simultanément (Avignon et al, 1999). L'intolérance au glucose est une affection intermédiaire qui précède le plus souvent l'installation du diabète de type 2. Les personnes qui sont atteintes sont exposées à un risque élevé d'évolution vers un diabète de type 2 (Figure 3) (Bloch et Bashan, 2005).

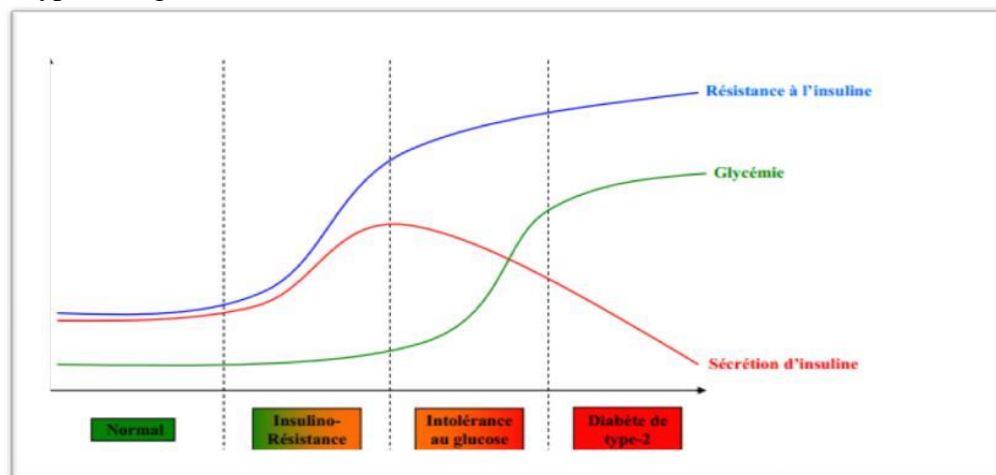


Figure 3: La résistance à l'insuline dans le diabète de type 2 (Romain, 2010).

6. Complications

L'hyperglycémie chronique est associée à terme avec des complications organiques macro et microangiopathiques touchant particulièrement les yeux, les nerfs, les reins, le cœur et les vaisseaux contribuant à la morbidité et à la mortalité des patients diabétiques. En effet, le diabète est une cause majeure de cécité, d'insuffisance rénale, d'accidents cardiaques et cérébraux et d'amputation des membres inférieurs (OMS, 2016). Ces complications peuvent être aiguës ou chroniques (FID, 2019).

6.1. Complications aiguës

Les complications métaboliques aiguës du diabète sont présentées par des accidents hypoglycémiques ou hyperglycémiques.

6.1.1. Les accidents hypoglycémiques

L'hypoglycémie est le plus souvent la conséquence d'erreurs thérapeutiques (surdosage) ou d'un défaut de surveillance (Grimaldi et al., 2009).

6.1.2. Les complications hyperglycémiques

Les complications aiguës les plus répandues sont présentées par l'acidocétose, l'hyperglycémie hyperosmolaire et l'acidose lactique. L'acidocétose diabétique est due à une carence en insuline et d'activation des hormones de contre régulation augmentant la lipolyse. Il y a alors production de grandes quantités de glycérol et d'acides gras libres. Ces derniers sont oxydés dans les mitochondries hépatiques aboutissant à la formation de corps cétoniques. L'hyperglycémie hyperosmolaire anciennement coma hyperosmolaire est définie par une hyperglycémie très élevée et une déshydratation importante. L'acidose lactique est due à une accumulation d'acide lactique par augmentation de sa production ou diminution de son utilisation (Marsaudon, 2011; Monnier, 2014).

6.2. Complications chroniques

Les complications chroniques sont macroangiopathiques ou microangiopathiques. Les microangiopathies touchent les petits vaisseaux sanguins, elles se manifestent au niveau de l'œil (la rétinopathie) (touche 60% des diabétiques de type 2), au niveau des reins (la néphropathie) et des nerfs (la neuropathie) avec des fréquences de 20% et 50% respectivement. Par opposition à la microangiopathie, la macroangiopathie touche les grosses artères destinées à irriguer le cœur, les jambes et le cerveau. L'atteinte des artères coronaires et des artères cérébrales conduisent à des accidents cardiovasculaires et cérébraux, représentant la cause majeure de la mortalité chez les diabétiques de type 1 et type 2 (Kaul et al., 2012; Monnier, 2014).

7. Traitements

Les objectifs du traitement du diabète sucré consistent à maintenir la glycémie autour de sa valeur normale et de prévenir ainsi les complications métaboliques aiguës et chroniques. La thérapeutique du diabète de type 1 repose sur l'insulinothérapie, seul moyen de combler la carence insulinique associée à un régime alimentaire approprié et une activité physique régulière (Wherrett et al., 2013 ; Durand et Le Jeune, 2014). La transplantation d'îlots pancréatiques est une alternative thérapeutique à l'insulinothérapie dans le traitement du diabète de type 1. Cette approche thérapeutique a montré sa faisabilité et son efficacité avec l'obtention de près de 100% d'insulino-indépendance immédiatement après greffe, l'utilisation des cellules souches constitue également une approche prometteuse (Kessler et Moreau, 2010).

Dans le cas du diabète de type 2, les mesures hygiéno-diététiques constituent les premiers volets du traitement par l'instauration d'un régime alimentaire équilibré modérément hypocalorique, riche en fibres alimentaires et en graisses insaturées en particulier (les $\omega 6$ et $\omega 3$) (Pillon, 2014), ainsi qu'une activité physique régulière. En fait, la diététique constitue un élément essentiel du traitement du diabète de type 2 et la composition du régime diététique préconisée dans le diabète est conseillée pour l'ensemble de la population et non seulement les diabétiques (ADA, 2016). La pratique d'une activité physique régulière permet de diminuer le risque de devenir diabétique des sujets intolérants au glucose ou des apparentés de diabétiques, elle améliore l'insulinosensibilité et l'utilisation périphérique du glucose.

En cas d'inefficacité des mesures hygiéno-diététiques, un recours aux médicaments antidiabétiques oraux est envisagé. Mais même quand les médicaments deviennent nécessaires pour maintenir l'équilibre glycémique, l'activité physique et la lutte contre la sédentarité doivent toujours y être associées. Ces médicaments agissent par différents mécanismes d'actions: l'augmentation de la sensibilité périphérique à l'insuline, la diminution de l'absorption de glucose ou l'augmentation de la sécrétion de l'insuline. L'arsenal des antidiabétiques oraux comprend les sulfamides, les biguanides, les inhibiteurs des α -glucosidases, les glinides, les analogues du glucagon-like peptide-1 (GLP-1), les inhibiteurs du cotransporteur de la dipeptidyl-peptidase-4 (DPP-4) et les inhibiteurs de transporteurs sodium-glucose de type 2 (SGLT-2) (Figure 4) (Davies, 2018).

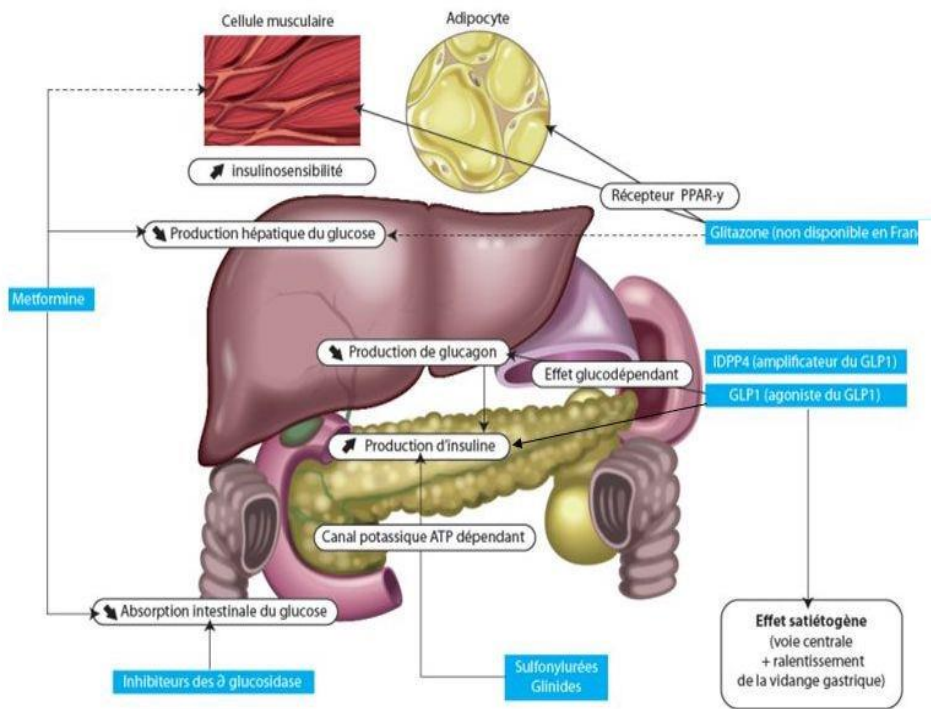


Figure 4: Antidiabétiques et site d'action (Monnier, 2014)

7.1. Les inhibiteurs des α -glucosidases

Les inhibiteurs des α -glucosidases (AGIs) inhibent spécifiquement l' α amylase et les α glucosidases localisées dans l'épithélium de l'intestin grêle proximal dont la fonction est d'hydrolyser les glucides alimentaires pour leur permettre de passer dans le sang sous forme de monosaccharides. Ils retardent l'absorption intestinale du glucose atténuant ainsi les pics postprandiaux de la glycémie. L'acarbose, le miglitol et le voglibose sont les représentants des AGIs (Marsaudon, 2011; ADA, 2016).

7.2. Les analogues de l'amyline

L'amyline humaine est un peptide glucorégulateur de 37 acides aminés co-sécrétés par les cellules β avec l'insuline (Edelman et al., 2006). Le pramlintide est un analogue synthétique de l'amyline humaine qui restaure les effets naturels de l'amyline sur le métabolisme du glucose en retardant la vidange gastrique, en diminuant la concentration plasmatique de glucagon et en augmentant la satiété, atténuant ainsi les pics postprandiaux de la glycémie (Herrmann et al., 2016).

7.3. Les sulfamides hypoglycémiantes ou les sulfonyles

Ils sont les premiers antidiabétiques oraux disponibles, ils agissent en se fixant sur des récepteurs présents à la surface des cellules β des îlots de Langerhans entraînant la libération des granules d'insuline par exocytose. Cette classe compte de nombreux représentants: glipizide, glicépiride, glibenclamide, gliclazide (Halimi et al., 2008; Andreelli et al., 2011; Faure, 2011).

7.4. Les glinides

Les glinides ont un mode d'action similaire à celui des sulfamides, mais leur durée d'action est brève. Ils stimulent une libération rapide mais de courte durée d'insuline par les cellules β du pancréas qui dure une ou deux heures. Lorsqu'ils sont pris aux repas, ces agents atténuent les pics de la glycémie plasmatique postprandiale et diminuent le risque d'hypoglycémie pendant la fin de la phase postprandiale parce que moins d'insuline est sécrétée plusieurs heures après le repas. Deux agents sont disponibles sur le marché: le natéglinide et le répaglinide (Novonorm®) (Nakashima, 2015).

7.5. Les dérivés du glucagon-like peptide-1 (GLP-1)

Le GLP-1 est une hormone incrétine sécrétée par l'intestin stimulant la sécrétion d'insuline lorsque la glycémie est élevée (glycémie postprandiale), elle augmente la néogenèse des cellules β , inhibe l'apoptose des cellules β , inhibe la sécrétion du glucagon, ralentit la vidange gastrique et induit la satiété. Cette hormone a une demi-vie extrêmement courte en raison d'une dégradation rapide par la DPP-4.

Chez les personnes atteintes de diabète de type 2, la sécrétion de GLP-1 est diminuée. Cependant des analogues synthétiques du GLP1 ont été développés avec des effets pharmacologiques similaires mais d'une période d'action plus longue et une résistance à la dégradation par la DPP-4. Exenatide et Liraglutide sont les deux GLP-1 disponibles sur le marché (Renner et al., 2016).

7.6. Les inhibiteurs de DPP-4

Les inhibiteurs DPP-4 agissent en inhibant l'enzyme DPP-4 (dipeptidyl peptidase-4) qui dégrade le GLP-1, étendant ainsi la forme active de l'hormone. Sitagliptine et Saxagliptine sont les deux représentants des inhibiteurs disponibles sur le marché (Doucet et al., 2011).

7.7. Les thiazolidinediones ou glitazones

Ces médicaments agissent en stimulant les récepteurs nucléaires PPAR γ (Peroxisome Proliferator Activated Receptor). Ils induisent un stockage plus efficace des acides gras libres dans le tissu adipeux ce qui entraîne une diminution de la néoglucogénèse hépatique, une augmentation de l'action de l'insuline au niveau des muscles, du foie et du tissu adipeux (avec un accroissement conséquent de la captation périphérique de glucose) et une amélioration de la fonction des cellules β pancréatiques (Yang et al., 2002). Les thiazolidinediones accroissent aussi la sensibilité d'insuline dans le muscle squelettique, en facilitant l'activité du transporteur de glucose GLUT4 et en accroissant la synthèse de glycogène musculaire et l'oxydation de glucose (Fonseca et al, 2000; Ducobu, 2003; Yki-Jarvinen, 2004).

7.8. Les biguanides

La metformine est le seul représentant de la classe des biguanides, elle agit essentiellement sur le foie en diminuant la production hépatique du glucose en inhibant la néoglucogenèse. Cet effet sur le foie se traduit par une baisse de la glycémie à jeun, mais la metformine exerce aussi un effet sur le muscle en augmentant la captation musculaire du glucose, ce qui conduit à une diminution des glycémies postprandiales (Viollet et al., 2012).

7.9. Les inhibiteurs de transporteurs du glucose

La phlorizine inhibe les transporteurs SGLT1 et SGLT2, son aglycone, la phlorétine est un inhibiteur des récepteurs GLUT et notamment les récepteurs GLUT2. Les transporteurs GLUT2 sont insérés de façon permanente dans les membranes basolatérales des entérocytes, et de façon transitoire au cours d'un repas dans la membrane apicale améliorant ainsi la capacité d'absorption intestinale des sucres.

Les antidiabétiques oraux sont utilisés dans un premier temps en monothérapie. En cas d'échec de la monothérapie, des associations médicamenteuses (bithérapie voire trithérapie) sont réalisées (Villiot-Danger, 2011).

Par ailleurs, l'efficacité de ces médicaments diminue dans le temps, rendant l'insulinothérapie nécessaire pour mieux contrôler les facteurs de risque chez les patients longuement atteints de cette pathologie (Eliasson et al., 2007). L'insulinothérapie devient également nécessaire en cas de contre-indication des antidiabétiques oraux (insuffisance rénale, hépatique...) (Bosquet et Hartemann-Heurtier, 2004).

III. Implication du stress oxydant dans les maladies non transmissibles

Le stress oxydant résulte de la surproduction des espèces réactives oxygénées ERO au delà des capacités antioxydantes des systèmes biologiques (Figure 5). Différents travaux ont démontré que les dommages induits par les radicaux libres dans le stress oxydant contribuent à la pathogenèse et à la pathophysiologie de nombreuses maladies chroniques non transmissibles telles que les maladies neurodégénératives (Parkinson, Alzheimer, maladie d'Huntington et sclérose latérale amyotrophique), les maladies cardiovasculaires et inflammatoires, la cataracte, le diabète sucré et les cancers. En effet, Il a été reporté que le stress oxydatif est corrélé avec plus de 100 maladies comme facteur déclenchant ou acteur dans leur physiopathologie ou associé à des complications de l'évolution (Halliwell et al., 1992 ; Gutteridge, 1993; Toda, 2011; López-Alarcóna et Denicola, 2013; Maulik et al., 2013).

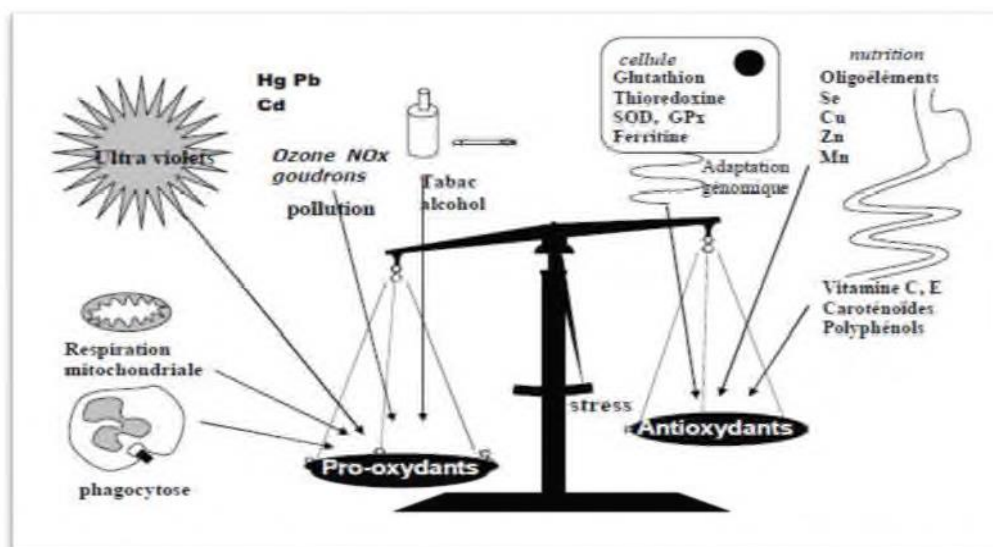


Figure 5: Le déséquilibre de la balance pro-oxydants/antioxydants (Delattre et al., 2007).

1. Stress oxydant et diabète

Il est maintenant évident que le stress oxydant augmente dans le diabète, qu'il s'agisse du type 1 ou du type 2 et que se soit dans le cas du diabète expérimental ou chez les patients diabétiques. En effet, l'hyperglycémie chronique induit un stress oxydant par la production prolongée et excessive des espèces réactives oxygénées (ERO), ce qui favorise le développement de la maladie en perturbant l'insulinosécrétion et favorisant l'insulinorésistance et les complications aiguës ou chroniques (Figure 6) (Evans, 2003; Robertson, 2004; Guillet, 2010).

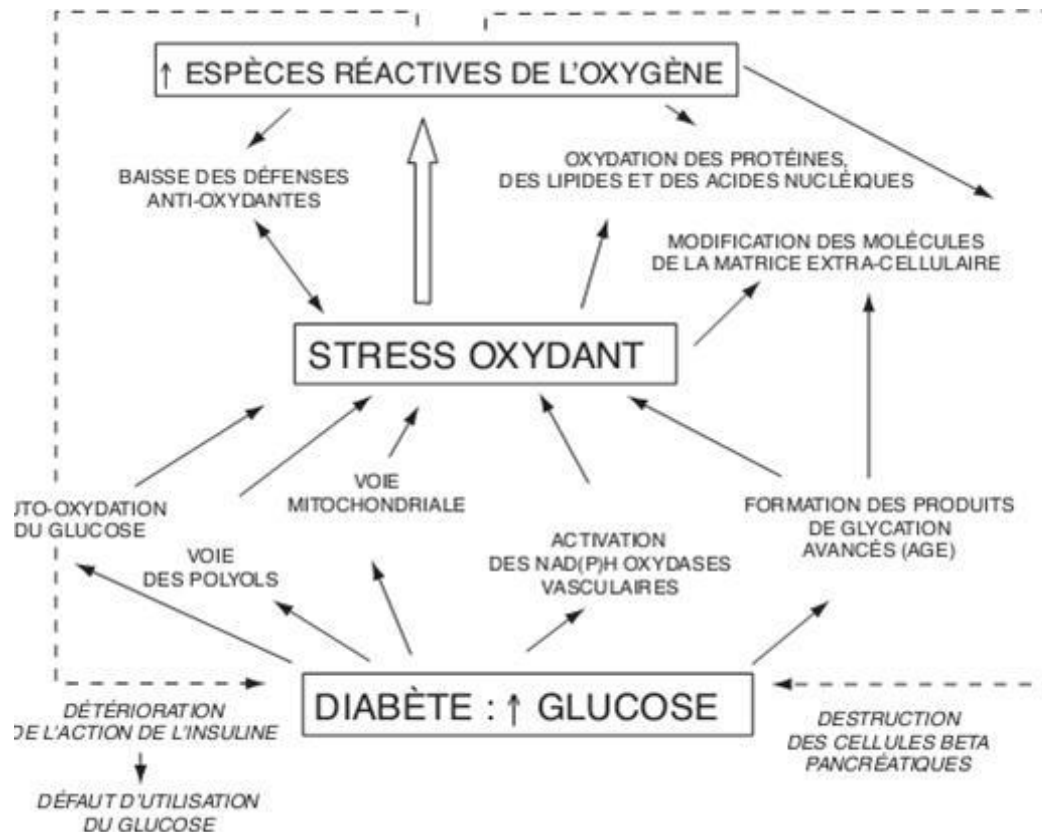


Figure 6: Relation entre hyperglycémie et stress oxydant (Bonfont-Rousselot, 2004).

2. Stress oxydant et diabète de type 1

Dans le diabète de type 1, plusieurs travaux ont pu montrer que le stress oxydant conduit à la destruction insulaire du pancréas, soit par nécrose ou apoptose de la cellule bêta (Bonfont-Rousselot, 2002; Ramkumar et al., 2013). Les effets délétères de l'hyperglycémie chronique (glucotoxicité) trouvent leur impact au niveau mitochondrial (Brownlee, 2001) par la surproduction du radical superoxyde dans plusieurs tissus comprenant le pancréas, qui active l'accroissement ultérieur des ERO intracellulaires. Par conséquent, les ERO semblent être les agents causaux de la pathogénie du diabète par l'endommagement des cellules β à l'origine d'une inhibition de la sécrétion d'insuline (Giacco et Brownlee, 2010; Halliwell, 2012). D'autre part, les ERO agissent comme second messenger des interleukines, ce qui explique la destruction de la cellule bêta dans le diabète type 1 auto-immune (Cunningham et Green 1994). En plus, il a été montré que les ERO inhibent la sécrétion d'insuline en interférant avec les enzymes de la glycolyse aboutissant à la diminution de la production d'ATP et par conséquent la diminution du ratio ATP/ADP intracytosolique, Ces ERO sont également capables de provoquer une hyperpolarisation membranaire mitochondriale en activant les canaux K^+ ATP, un processus qui maintient la fermeture des canaux calciques voltage-dépendants et altère la sécrétion d'insuline.

3. Stress oxydant et diabète de type 2

Dans le diabète de type 2, l'activation de la glycolyse mitochondriale liée à l'hyperglycémie chronique est responsable d'un stress oxydant par l'activation de nombreuses voies. Ce stress inhibe à la fois la sécrétion d'insuline et la transduction de son signal, conduisant à l'insulinorésistance (Barquissau et al., 2011). Des études ont démontré que les ERO inhibent l'autophosphorylation du récepteur de l'insuline IR et son substrat IRS1 (Insulin receptor substrat1), ainsi que celle de la PI3-kinase conduisant à une plus faible translocation du transporteur de glucose GLUT4. En effet, il a été montré que le stress oxydant inhibe la captation et le transport du glucose dans le muscle et le tissu adipeux via GLUT 4, il a été montré également que le taux de GLUT-4 est réduit suite à une modification de la transcription des transporteurs du glucose (Maddux et al., 2001; Evans et al., 2005; Houstis et al., 2006; Avogaro et al., 2008).

4. Stress oxydant et complications du diabète

Différentes études ont pu montrer que les effets du stress oxydant jouent un rôle important dans la genèse des complications micro et macrovasculaires du diabète, plusieurs mécanismes ont été évoqués mettant en jeu l'auto-oxydation du glucose, la voie des polyols, la voie de protéine kinase C, la glycation des protéines et la formation de produits de glycation avancée (AGE) (Giugliano et Ceriello, 1996; Defraigne, 2005; Vincent et Taylor, 2006).

4.1. L'auto-oxydation du glucose

En présence du fer, le glucose s'oxyde, libérant des anions superoxyde ($O_2^{\bullet-}$). L'anion superoxyde peut se dismuter en peroxyde d'hydrogène qui en présence de métaux de transition il produit des radicaux hydroxyles (OH^{\bullet}) très réactifs, il s'ensuit une augmentation de la peroxydation lipidique. Ce mécanisme pourrait expliquer le fait que le diabète est souvent associé à des complications cardiovasculaires (Hunt et al., 1988; Devaraj et al., 2001).

4.2. La voie des polyols

Dans les conditions physiologiques, le glucose est activé en glucose-6-phosphate par l'hexokinase puis est métabolisé soit dans la voie de la glycolyse, soit dans la voie des pentoses phosphates. Dans des conditions d'hyperglycémie chronique, l'hexokinase est alors saturée et le glucose en excès est métabolisé par la voie des polyols, le glucose est transformé en sorbitol puis en fructose, respectivement sous l'action de l'aldose réductase (qui n'est active qu'à de fortes concentrations de glucose et dont le cofacteur est le NADPH) et du sorbitol déshydrogénase. Cette voie conduit à une diminution des taux cellulaires de NADPH,

coenzyme nécessaire à l'activité de la glutathion réductase pour la régénération du glutathion réduit GSH à partir du glutathion oxydé. L'augmentation de la concentration en sorbitol et fructose conduit à un œdème osmotique au niveau oculaire, ce qui explique que la voie des polyols joue un rôle clé dans la cataracte induite par le diabète. L'accumulation du fructose est à l'origine de produits avancés de glycation. L'activation de la voie des polyols entraîne donc une diminution des défenses antioxydantes et une augmentation du stress oxydant dans de nombreux tissus et contribuer ainsi à la pathogenèse des complications diabétiques (Lee, 1999; Bonnefont-Rousselot, 2004; Raccach, 2004; Brownlee, 2005; Haleng, 2007; Régis, 2011).

4.3. La voie de la protéine kinase C

L'hyperglycémie intracellulaire entraîne une augmentation de glycéraldéhyde-3-phosphate via la glycolyse. Le glycéraldéhyde-3-phosphate est un précurseur du diacylglycerol DAG, activateur de la protéine kinase C (PKC). L'activation de la PKC entraîne l'augmentation de la production d'espèces réactives de l'oxygène par l'augmentation de l'activité NADPH oxydase. L'activation de la PKC pourrait aussi être impliquée dans l'insulinorésistance entraînant une phosphorylation des résidus sérine/thréonine des IRS qui conduit à l'inactivation des récepteurs hormonaux inhibant ainsi la transmission du signal insulinique et la capture cellulaire du glucose qui en découle (Haleng et al., 2007; Lazo et Fernández, 2013; Shao, 2014).

4.4. La voie des hexosamines

En conditions d'hyperglycémie, une partie du fructose-6-phosphate issue de la glycolyse est détournée de cette voie et est convertie en glucosamine-6-phosphate par la glutamine fructose-6-phosphate amino-transférase dont l'expression est augmentée. Celui-ci est ensuite converti en uridine diphosphate N acétyl glucosamine. L'UDP-GlcNac est le substrat de l'enzyme O-GlcNac transférase (OGT) qui catalyse la formation de protéines O-GlcNac. L'activation de cette voie entraîne une augmentation de la génération des ERO et contribuer à l'installation d'un stress oxydant. De plus, l'accumulation des protéines modifiées par l'O-GlcNac glycosylation joue un rôle dans les complications et l'apparition de maladies associées au diabète (Du et al., 2000).

4.5. La glycation des protéines

La glycation des protéines ou réaction de Maillard est un mécanisme pathologique, intervenant dans des conditions d'hyperglycémie chronique, donnant naissance à des protéines glyquées. L'étape initiale de cette réaction correspond à la formation non enzymatique d'une

liaison covalente entre le groupement carbonyle d'un sucre réducteur (glucose, galactose, fructose) et le groupement amine libre d'un acide aminé d'une protéine. Elle conduit à la formation d'une base de Schiff instable. Cette réaction est suivie de réarrangements intramoléculaires qui vont donner lieu à la formation de produits intermédiaires de glycation d'Amadori. La déshydratation et/ou la condensation de ces composés donnent alors naissance aux produits finaux de glycation AGE (advanced glycation end products) (Meerwaldt et al., 2005; Selvaraj, 2006; Hartog, 2007; Guillet, 2010).

Les AGE peuvent être formés également à partir de la voie des polyols et l'auto-oxydation du glucose (Boulanger, 2002). Ces AGE sont fortement mutagènes et ne peuvent pas être détruits. Leur accumulation dans la cellule, conduit à des altérations structurales et fonctionnelles des protéines intracellulaires, mais aussi des protéines de la matrice extracellulaire, ce qui confère à ces dernières un rôle néfaste sur la physiologie cellulaire (Vidot et al., 2014; Wautier et al., 2014). Les AGE sont capables aussi de produire des ERO par interaction avec des récepteurs cellulaires spécifiques (RAGE) et induire un stress oxydant. De nombreux arguments cliniques et expérimentaux plaident en faveur d'un rôle important du système AGE/RAGE dans la physiopathologie des complications micro ou macrovasculaires du diabète (Bonfont-Rousselot., 2004; Vatie, 2010; Teshima, 2014).

IV. Les maladies infectieuses

Les maladies transmissibles y compris les maladies sexuellement transmissibles et l'hépatite virale, la tuberculose, le paludisme et d'autres maladies à transmission vectorielle, les maladies négligées tropicales et zoonotiques et les maladies à prévention vaccinale sont encore une menace majeure de santé publique dans le monde. La malaria et VIH/SIDA tuent énormément de personnes, les populations des pays pauvres étant les plus touchées. La résistance aux antimicrobiens qui se développe rapidement a conduit à renforcer la menace que constituent les maladies infectieuses. Même si les médicaments anti-tuberculiniques existent et si l'on sait traiter la tuberculose et la tuberculose pharmaco-résistante, des millions de gens meurent de la tuberculose chaque année, les nombreux voyages d'un continent à l'autre accélèrent la propagation mondiale de graves infections. Même les changements climatiques impactent l'incidence des maladies transmissibles. Pour le monde en développement, les maladies infectieuses fréquentes ainsi que les maladies transmissibles nouvellement ré-émergentes constituent une crise aggravant la pauvreté et la mauvaise santé. Elles présentent également des défis importants pour les pays développés car elles constituent un fardeau inutile pour les systèmes sanitaires et sociaux et l'économie (OMS, 2016).

L'antibiothérapie: de la découverte à la résistance

La découverte de l'antibiothérapie et son développement à partir des années 1940 ont permis de diminuer de façon importante la mortalité liée aux maladies infectieuses. Les antibiotiques constituent une des plus importantes classes thérapeutiques et ont révolutionné la médecine humaine. Découverte par Fleming, la pénicilline le premier antibiotique découvert a été massivement utilisée et a permis de sauver des millions de vie. Par la suite (de 1940 à 1960), le rythme des recherches s'accélère et la liste des antibiotiques n'a cessé de s'allonger. En 1944, la streptomycine, le premier antibiotique ayant un effet sur le bacille de Koch a été découverte rendant ainsi possible le traitement de la tuberculose (Rosset, 2003; Abastado, 2006), de nombreuses autres molécules antibiotiques ont été découvertes, conduisant à l'essor de cette classe thérapeutique, permettant de traiter nombre d'infections jusqu'à lors considérées comme mortelles. Ainsi l'introduction des antibiotiques en thérapeutique a fait progresser l'espérance de vie de l'homme de plus de dix années (Mc Dermott et Rogers, 1982). C'est l'ère des antibiotiques et la plus part des antibiotiques utilisés actuellement proviennent de cette époque. Après les années 1970, la recherche sur les antibiotiques se ralentit fortement, l'arsenal thérapeutique de l'époque permettant de traiter efficacement la plupart des infections bactériennes a laissé croire que le combat contre ces dernières était gagné. Suite à la réduction de la recherche en antibiothérapie, la mise sur le marché de nouvelles molécules antimicrobiennes s'est appauvrie progressivement (Bush, 2004; Andremont et Tibon-Cornillot, 2007). Les bactéries étant ainsi exposées par l'antibiothérapie aux mêmes molécules sur une longue période ne peuvent que s'adapter et acquérir des mécanismes de résistance (Lewis, 2013). En fait, la résistance bactérienne aux antibiotiques est un problème apparu dès le début de l'utilisation clinique des antibiotiques. Fleming observait déjà des souches bactériennes résistantes et lançait un avertissement face à une utilisation excessive de la pénicilline dès 1945 (Trémolières et al., 2006). Par la suite, de nombreuses études ont montré que des consommations importantes et un mésusage de ces molécules sont les principales causes de l'émergence et de la diffusion de résistances (Goossens et al., 2005). Au cours de ces dernières années, la fréquence et l'ampleur des infections causées par des bactéries de plus en plus résistantes, voire résistantes à tous les antibiotiques, ont augmenté autant en milieu hospitalier qu'en milieu communautaire, pour chaque classe d'antibiotiques existe au moins un mécanisme de résistance. Un constat alarmant qui doit alerter les autorités sanitaires et le grand public (Alanis, 2005).

Aujourd'hui, la résistance bactérienne aux antibiotiques croissante associée à l'amenuisement de l'arsenal thérapeutique constitue un enjeu majeur de santé publique mondiale. L'ère post-antibiotique du 21^{ème} siècle est prévue par l'OMS. Malgré sa mobilisation, le nombre de victimes (mortalité, morbidité) ne cesse d'augmenter, avec des prévisions de plus en plus pessimistes. L'OMS prévoit qu'en 2050, les maladies infectieuses résistantes aux antibiotiques seront la première cause de décès par maladie. Il serait question de plus de 10 millions de morts par an dans le monde (OMS, 2014).

Dès lors, en plus des mesures de surveillance des résistances bactériennes et des politiques sur la réglementation du bon usage des antibiotiques, le renouvellement de l'arsenal des molécules anti-infectieuses est devenu une priorité pour faire face à ce fléau universel émergent.

V. Médecines complémentaires et alternatives

Médecines complémentaires et alternatives MCA, traditionnelles, non conventionnelles, naturelles, douces, ou parallèles... sont les différentes appellations qui se rapportent aux pratiques, méthodes, savoirs et croyances en matière de santé qui impliquent l'usage à des fins médicales de plantes, de parties d'animaux et de minéraux, de thérapies spirituelles, de techniques et d'exercices manuels pour soigner, diagnostiquer et prévenir les maladies physiques et mentales ou préserver la santé. Ces médecines sont très anciennes et existent dans quasiment tous les pays du monde. Certaines d'entre elles sont des pratiques séculaires voir millénaires, comme la phytothérapie, la médecine traditionnelle chinoise "l'acupuncture" ou "l'ayurveda" en Inde. L'homéopathie a été définie il y a plus de 200 ans, l'ostéopathie développée dès 1874. D'autres sont de développement plus récent, comme la mésothérapie ou la kinésiologie (années 1970-80) (Ernst, 2004; Din et al., 2011; Brinkhaus et al., 2013; OMS, 2019). Ces médecines font l'objet d'une reconnaissance progressive et sont de plus en plus appréciées et utilisées.

1. Recours à la médecine traditionnelle

L'OMS estime que le recours aux médecines traditionnelles reste très largement répandu dans les pays en développement et est en hausse dans les pays développés. Dans les pays en développement, probablement pour des raisons culturelles mais aussi en rapport avec la difficulté d'accès à la médecine conventionnelle, la médecine traditionnelle reste centrale puisque 80% des personnes y font appel (Dibong et al., 2011 a, c ; Mpondo et Dibong, 2012). Elle constitue soit le mode principal de prestation de soins de santé, soit un complément à ce dernier. Pour d'autres raisons, dans les pays développés, où l'accès aux soins est possible pour

l'ensemble de la population, on observe un engouement croissant pour des pratiques non conventionnelles. En effet, les patients mais aussi les professionnels de santé utilisent ces pratiques. Il ressort de plusieurs études que les patients atteints de certaines affections chroniques recourent plus fréquemment aux MCA. La grande majorité des personnes les considèrent davantage comme un complément que comme une alternative. Dans l'union Européenne, 70% des personnes ont eu recours au moins une fois dans leur vie à une pratique non conventionnelle (Astin, 1998; White, 2000; De Smet, 2005).

Il existe un nombre considérable de pratiques de MCA. L'OMS recense plus de 4000 disciplines et distingue les méthodes fondées sur des produits naturels (phytothérapie, aromathérapie,...), les techniques axées sur la manipulation (ostéopathie, chiropraxie,...), les thérapies du corps et de l'esprit (hypnothérapie, méditation, sophrologie,...) ou encore les approches complètes reposant sur des bases théoriques qui leur sont propres (acupuncture, homéopathie,...).

2. La phytothérapie

La phytothérapie serait la plus ancienne des médecines traditionnelles. Il s'agit de l'utilisation thérapeutique de substances végétales (herbes, feuilles, fleurs, racines, graines) ou « traitement par les plantes ». Elle est basée sur l'observation empirique de l'action pharmacologique des plantes médicinales. Depuis la plus haute antiquité, les grandes civilisations Chinoise, Egyptienne, Babylonienne, Grecque, Romaine, Arabe,... ont eu recours aux plantes pour leurs propriétés thérapeutiques, mais sans savoir à quoi étaient dus leurs effets bénéfiques. C'est alors jusqu'au XVIII^{ème} siècle, avec les progrès de la chimie et suite à l'expérimentation scientifique que l'homme a découvert que les vertus thérapeutiques des plantes sont attribuées à leur composition chimique, peu à peu il a introduit la notion de principe actif et il a réussi à extraire et à isoler les principes actifs de certaines plantes ce qui a permis la mise au point de médicaments essentiels.

3. Rôle de la phytothérapie dans la mise au point de médicaments

Guidées par les usages empiriques des plantes, les études ethnopharmacologiques ont apporté à l'humanité plus de 60% de ses médicaments obtenus par extraction, hémi synthèse ou synthèse totale, 74% des composés chimiques purs extraits de plantes utilisées en médecine à travers le monde ont la même utilisation que les plantes à partir desquelles sont dérivés (Gurib-Fakim, 2006; Fleurentin, 2012). Ces médicaments qui viennent des plantes sont présents dans tous les domaines de la médecine. L'un des médicaments les plus consommés au monde l'aspirine® dérive de l'acide salicylique un principe actif isolé de l'écorce de Saule

Salix alba au milieu du XIX^{ème} siècle. Le saule blanc était déjà recommandé par le médecin grec Hippocrate pour soulager les douleurs et les fièvres. D'autres grands antalgiques, la morphine extraite du Pavot à opium *Papaver somniferum* constitue avec ses dérivés jusqu'à aujourd'hui, les médicaments de référence contre la douleur, 28 ans plus tard de la découverte de la morphine, les chercheurs identifient dans cette même plante la codéine, aux vertus antalgiques, antitussives et analgésiques (Quetin-Leclerc, 2002; Liu et Wang, 2008; Mpondo et al., 2012).

Des toniques et stimulants cardiaques comme la digitaline, extraite de la digitale *Digitalis lanata*, est utilisée comme médicament majeur de l'insuffisance cardiaque et la quinidine extraite du quinquina *Cinchona officinalis*. De cette même plante, provient la quinine, médicament antipaludique. Encore, l'artémisinine est extraite d'une plante toxique poussant en Chine, l'Armoise annuelle, *Artemisia annua* (Kindermans et al., 2007; Ajibesin et al., 2008).

En cancérologie, plus de 50 % de molécules cytotoxiques mises sur le marché sont originaires de plantes, même si bien souvent, elles sont produites ensuite par synthèse ou hémisynthèse:

podophylline extraite de *Podophyllum peltatum* (à l'origine de l'étoposide et du téniposide), camptothécine extraite de *Camptotheca cuminata* (à l'origine de lirinotécan), vincristine, vinblastine et vinorelbine extraites de la pervenche de Madagascar *Vinca rosea* (ou *Cataranthus roseus*), ellipticine isolé d'*Ochrosia elliptica* et de *Rauwolfia sandwicensis* et le taxol, extrait de l'if, *Taxus baccata* et *Taxus brevifolia* (à l'origine du Taxol® et du Taxotère®), utilisé pour traiter notamment les cancers du sein et des ovaires, mais également certains cancers du poumon ou de la prostate (Wall et Wani, 1996; Anton, 2005; Frisvold et Day-Rubenstein, 2008; Itokawa et al., 2008).

Un relaxant musculaire la D-tubocurarine est issu de la liane tropicale *Chondrodendron tomentosum*, la réserpine est un agent hypotenseur extrait de *Rauwolfia* spp, la diosgénine extraite de *Dwsoerea mllosa* est à l'origine des médicaments contraceptifs, la metformine est un agent antidiabétique isolé de *Galega officinalis* (Gurib-Fakim, 2006).

Plusieurs autres médicaments importants sont issus de médecines traditionnelles d'origine végétale ou de recherches chimiques sur des molécules d'origine végétale: des purgatifs, des cholagogues, des anti-diarrhéiques, des psychotropes, des diurétiques, des dépuratifs et autres.

L'approche zoopharmacologique qui étudie les comportements d'automédication d'autres espèces animales tels que les chimpanzés a permis également la découverte de nombreux médicaments comme la vernodaline, un principe actif aux propriétés anthelminthiques isolé à partir des tiges de l'arbuste *Vernonia amygdalina* (Balunas et Kinghorn, 2005).

Les plantes médicinales continuent à servir de sources inépuisables de substances actives d'une grande diversité de structure chimique et un très large éventail d'activités biologiques qui peuvent être à l'origine de nouveaux médicaments pour de nombreuses maladies (Rios, 2011; Zenasni, 2014). En effet, dans plusieurs laboratoires à travers le monde, les travaux sur les plantes médicinales représentent un domaine de recherche de grande importance et les substances qui leurs sont issues ont des intérêts multiples mis à profit dans la biotechnologie tant dans l'industrie pharmaceutique qu'alimentaire, agroalimentaire et cosmétique.

4. Métabolites secondaires utilisés comme principes actifs

Les composés bioactifs des végétaux provoquant des effets pharmacologiques ou toxicologiques chez les êtres humains et les animaux sont généralement des métabolites secondaires (Azmir et al., 2013). À côté de la synthèse des métabolites primaires qui leur sont vitales (acides nucléiques, acides aminés, oses, lipides). Les plantes synthétisent également des petites molécules organiques variées appelées métabolites secondaires (flavonoïdes, saponines, résines, gommes etc.) qui leur permettent de contrôler leur environnement, de survivre en assurant un rôle défensif contre les prédateurs (herbivores, insectes, micro-organismes) ou contre les rayonnements UV nocifs ou encore de se reproduire en attirant des insectes pollinisateurs (Junio et al., 2011; Kardong et al., 2013).

Ces métabolites secondaires sont extrêmement nombreux et présentent une diversité structurale spectaculaire. Le nombre total de produits naturels des plantes a été estimé à plus de 500000, plus de 100 000 substances sont identifiées actuellement (Bindseil et al, 2001 ; Zhang et Demain, 2005; Epifano et al., 2007; Kinghorn et al., 2009).

Les métabolites secondaires sont reconnus par leurs activités biologiques nombreuses qui comprennent des activités antibactériennes, anticancéreuses, antifongiques, analgésiques, anti-inflammatoires, diurétiques, gastro-intestinales, antioxydantes (Akroum, 2011; Kardong et al., 2013; Dower *et al.*, 2015; Tanabe *et al.*, 2017; Pan et al., 2018b) dont la plupart sont employés en médecine moderne. Ces produits, à structures chimiques souvent complexes, sont très dispersés et très différents selon les espèces. En fonction de leurs structures chimiques et leur voie de biosynthèse, nous distinguons trois classes: les composés phénoliques, les composés azotés et les composés terpéniques (Ramawat et Merillon, 2008) (Figure 7).

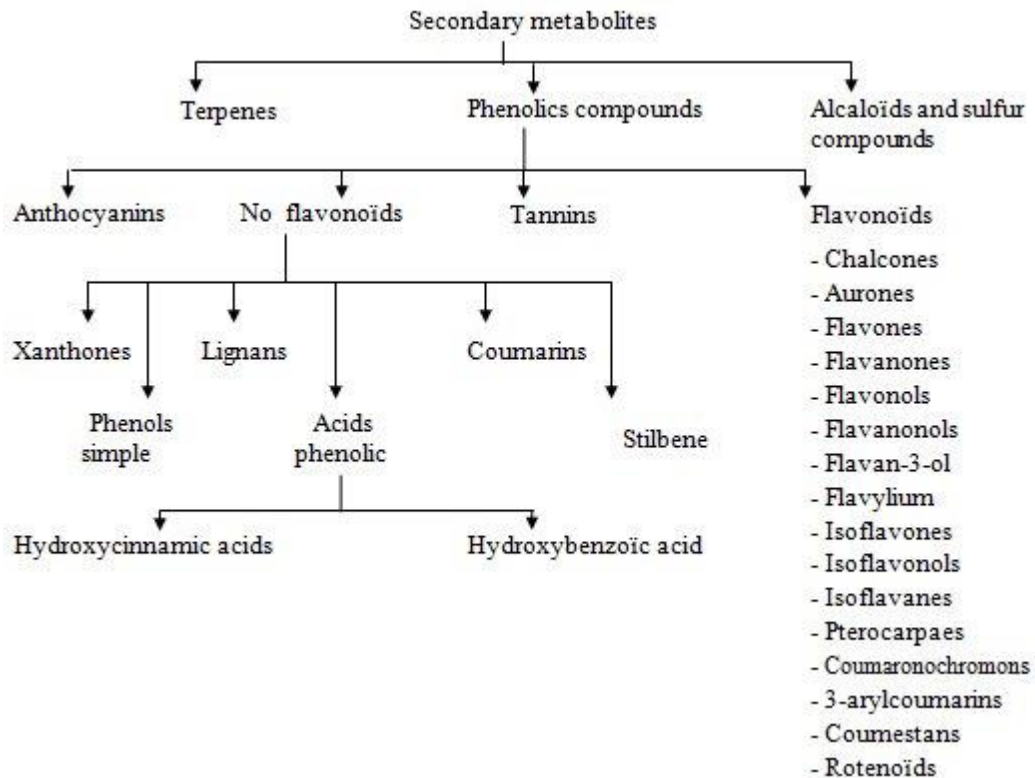


Figure 7: Classification des métabolites secondaires (Jamwal, 2018).

4.1. Les composés phénoliques

Les composés phénoliques ou les polyphénols sont abondants dans les plantes. D'après les recherches scientifiques, il existerait dans le monde végétal plusieurs milliers de molécules présentant une structure polyphénolique et plusieurs centaines dans les plantes comestibles. Par définition, les composés phénoliques ou les polyphénols regroupent toutes les molécules composées de plusieurs groupes phénoliques. Un phénol est formé d'un cycle benzénique, composé aromatique formé de six atomes de carbone auquel est lié au moins un groupe hydroxyle, libre ou engagé dans une autre fonction (éther, ester, hétéroside) (Figure 8). Ces composés sont issus du métabolisme secondaire par deux voies de synthèse fondamentales la voie de shikimate (métabolisme de l'acide shikimique) ou/et la voie de l'acétate (métabolisme de l'acide acétique) (Hennebelle et al., 2004; Manach et al., 2004; Sun et al., 2011).

Ils peuvent se présenter sous la forme de monomères comme le pyrogallol, le catéchol, ou l'acide gallique (Figure 9) ou sous forme de polymères complexes dont la masse moléculaire peut atteindre 9000 comme les tannins (Figure 9). Selon leurs structures, les composés phénoliques peuvent être classés en plusieurs catégories: anthocyanes, coumarines, lignanes, flavonoïdes, tannins, quinones, acides phénols, xanthonés et autres phloroglucinols (Alvarez-Suarez et al., 2013; Zanotti et al., 2015; Blade et al., 2016).

Les flavonoïdes constituent le groupe le plus représentatif des composés phénoliques avec plus de 6000 composés, ils sont quasiment universels chez les plantes vasculaires. Ils constituent des pigments responsables des colorations jaune, orange et rouge de différents organes végétaux (fleurs, fruits et parfois les feuilles) (Havsteen, 2002; Erlund, 2004; Santhakumar et al., 2018). Ils ont une origine biosynthétique commune et par conséquent, possèdent tous un même squelette de base à quinze atomes de carbones (squelette C₆-C₃-C₆), constitué de deux unités aromatiques, deux cycles en C₆ (A) et (B) reliés par une chaîne en C₃ (Figure 10) formant ainsi l'hétérocycle oxygéné (C) (Erdman et al., 2007; Bruneton, 2008). En fonction de leurs structures, les flavonoïdes peuvent être divisés en différentes sous classes dont les anthocyanidines, les flavonoles, les isoflavonoles, les flavones, les isoflavones, les flavanes, les isoflavanes, les flavanols, les isoflavanols, les flavanones, les isoflavanones, les dihydroflavanols. Dans cette famille, l'hespéridine, la diosmine et la naringine sont les principes actifs de plusieurs médicaments veinotoniques ou phlébotoniques pouvant améliorer la circulation sanguine (Bravo, 1998; Del Rio et al., 2013; Alvarez-Suarez et al., 2017).

4.2. Les composés azotés

Les composés azotés sont représentés par les alcaloïdes comptant plusieurs milliers de molécules, environ 12 000. Les alcaloïdes sont des composés complexes ayant des masses moléculaires très variables de 100 à 900 Da, ils sont doués de propriétés pharmacologiques remarquables, toxiques ou thérapeutiques diverses. En général, ils ont pour précurseurs des acides aminés, cependant, il existe un grand nombre des alcaloïdes dérivés d'autres composés comme la pyrrolidine (Mann et al., 1994; Bhat et al., 2005; Bruneton, 2008, 2009) (Figure 11).

Les alcaloïdes ont été les premiers principes actifs isolés à partir de végétaux durant les premières années du 19^{ème} siècle. En raison de leurs puissantes activités pharmacologiques, la plupart des alcaloïdes purs, extraits des plantes ou leurs dérivés de synthèse, comptent parmi les médicaments de base dans le monde entier. Ils sont utilisés en tant qu'antalgiques majeurs (morphine), antipaludéens (quinine), des antidépresseurs (morphine, scopolamine), des stimulants (strychnine, caféine), des curarisants, des anesthésiques locaux, des antitumoraux (vinblastine et vincristine déjà citées plus haut), etc (Bruneton, 1999; Schauenberg et Paris, 2006; Ziegler et Facchini, 2008).

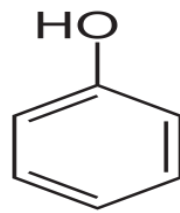


Figure 8: Structure chimique du noyau phénol (Stokey, 1970).

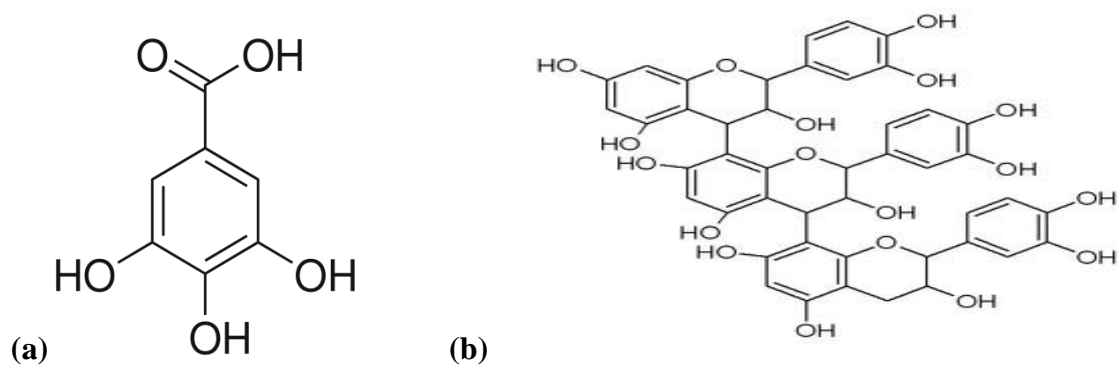


Figure 9: Structure chimique de l'acide gallique (a) et d'un tanin condensé (proanthocyanidine) (b) (Sikora, 1990).

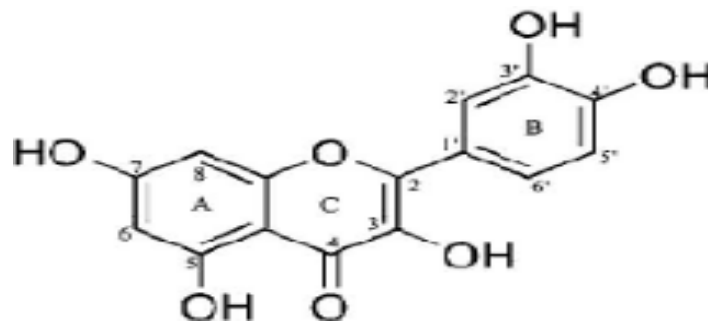


Figure 10: Squelette de base des flavonoïdes (Korkina, 1997).

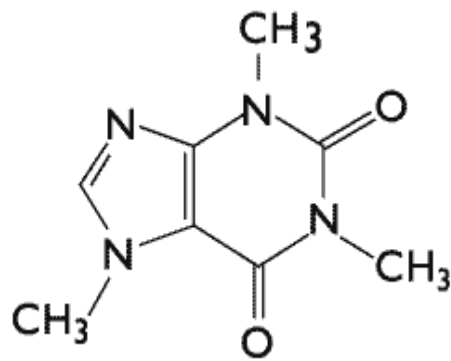


Figure 11: Structure chimique d'un alcaloïde (Harborne, 1998)

4.3. Les composés terpéniques

Les composés terpéniques, les terpènes ou les terpénoïdes constituent une classe importante de métabolites secondaires de végétaux avec près de 15000 structures moléculaires connues qui déterminent également l'activité pharmacologique des plantes médicinales. Formés par l'assemblage d'unités d'isoprène (Figure 12). Ils présentent une diversité chimique très importante. Selon le nombre d'unité isoprénique qui les constituent ainsi que les divers modes d'assemblage, les terpénoïdes sont classés en terpènes ou monoterpènes en C₁₀, sesquiterpènes en C₁₅, diterpènes en C₂₀, triterpènes en C₃₀, tétraterpènes, polyterpènes (Guignard et al., 1985 ; Harbone, 1998; Bruneton, 2008).

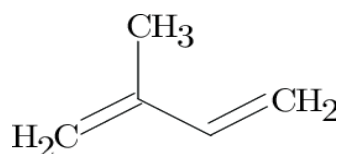


Figure 12: Structure d'isoprène (Bruneton, 2009)

Les stéroïdes sont des dérivés de triterpènes tétracycliques. Certains stéroïdes végétaux possèdent une activité pharmacologique intéressante, notamment les glycosides cardiotoniques de la digitale utilisés dans le traitement de l'insuffisance cardiaque (cités en haut).

Les saponines constituent également une grande sous classe des composés terpéniques, présents chez de nombreux végétaux sous forme d'hétérosides complexes (saponosides) comme ils peuvent se trouver sous forme d'aglycones (génines ou sapogénines) (Estrada et al., 2000; Hopkins, 2003; Sparg et al., 2004; Amzal, 2010). Selon la nature de leur génine, les

saponosides sont classés en deux groupes: les saponosides à génine triterpénique dont les triterpènes jouent le rôle des aglycones et les saponosides à génine stéroïdique dont beaucoup de stérols se produisent sous forme de glycosides. Leur structure chimique est similaire à celle de nombreuses hormones humaines (cortisone...) et de nombreuses plantes qui en contiennent, ont un effet sur l'activité hormonale, à titre d'exemple l'Igname sauvage, *Dwsoerea mllosa* qui contient des saponines stéroïdiques (diosgénine citée en haut), à partir desquels on synthétisait la pilule contraceptive (Iserin, 2001).

Matériel et méthodes

L'expérimentation a été réalisée au laboratoire de recherche : Antibiotiques, Antifongiques: Physico-chimie, Synthèse et Activité Biologique (**LAPSAB**), Département de Biologie, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers, Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen, Algérie.

1. Matériel végétal

1.1. Sélection et présentation des plantes étudiées

Les plantes étudiées sont sélectionnées en fonction de leur fréquence d'emploi dans la pharmacopée traditionnelle locale selon plusieurs enquêtes ethnobotaniques réalisées dans des études auprès des tradithérapeutes, des herboristes et des personnes se traitant avec les plantes médicinales d'une part et le fait qu'elles ont été peu étudiées d'autre part. Les plantes sélectionnées sont *Traganum nudatum* Delile et *Ammodaucus leucotrichus* Cosson & Durieu.

1.1.1. *Ammodaucus leucotrichus*

1.1.1.1. Classification Quézel et Santa (1963), Dupont et Guignard (2007)

Règne: végétal

Embranchement: Magnoliophyta

Sous-embranchement: Magnoliophytina

Classe: Rosopsida

Sous-classe: Cornidae

Ordre: Araliales

Sous-ordre: Aralianae

Famille: Apiaceae

Genre: *Ammodaucus*

Espèce: *leucotrichus*

1.1.1.2. Description botanique

Ammodaucus leucotrichus est une plante annuelle glabre à tiges dressées, rameuses et finement striées, les feuilles sont très divisées à lanières étroites un peu charnues avec des ombelles à 2-4 rayons, involucre à bractées très divisées. Les fleurs sont blanches toutes égales. Les méricarpes sont allongés 6-9 x 4-5mm à côtes secondaires couvertes de longs poils soyeux très denses, crépus, jaunes roux à la base puis blancs et longs de 8-10 mm (Photo 1). Cette plante est assez commune dans tout le Sahara (Ozenda, 1958) et est très appréciée et ramassée ce qui tend à la raréfier.



Photo 1: *Ammodaucus leucotrichus*



Photo 2: Parties aériennes d'*Ammodaucus leucotrichus* séchées



Photo 3: Parties aériennes d'*Ammodaucus leucotrichus* broyées

1.1.1.3. Noms de la plante

Noms Français: Cumin velu, cumin de Sahara

Nom Anglais: Hairy cumin

Nom Arabe vernaculaire: El Kamoun essofi, Nessoufa, Msowfa, Moudrayga

Nom Berbère: Akâman

1.1.1.4. Distribution géographique

Ammodaucus leucotrichus est une plante endémique du Sahara et Sub-Sahara de l'Afrique du nord (Algérie, Maroc, Tunisie, Libye, elle s'étend jusqu'à l'Égypte et l'Afrique tropicale). Elle est assez commune dans les secteurs du Sahara septentrional et occidental et rare dans le secteur du Sahara central, elle pousse également dans l'archipel Macaronésien (Hammiche et Mayza, 2006; Velasco-Negueruela et al., 2006).

1.1.2. *Traganum nudatum*

1.1.2.1. Classification Quezel et Santa (1963):

Règne: Végétal

Embranchement: spermaphytes

Sous embranchement: angiospermes

Classe: Dicotylédones

Sous classe: Apétales

Série: Apétales unisexuées

Ordre: Centrospermales

Famille: Chénopodiacees

Genre: *Traganum*

Espèce *nudatum*

1.1.2.2. Description botanique

C'est un arbrisseau vivace de hauteur de 30-60 cm, très rameux à rameaux divariqués, gris-blanchâtres, pubérulents papilleux puis glabres. Les feuilles sont alternes glauques, charnues-coriaces de (2)3-8x1,5-2mm, élargies à la base et aigues-mucronulées à l'apex portant de nombreux poils blancs laineux. Les fleurs sont hermaphrodites à 2 bractéoles, le périanthe est de 3-4mm cylindro-conique à 5 pièces scarieuses et obtuses, soudées à la base en tube court laineux avec 5 étamines exsertes. L'ovaire est subglobuleux à 2 stigmates. La graine est horizontale et subglobuleuse de couleur brune-jaunâtre, lisse et mate d'un diamètre de 1 mm. La floraison se produit durant le printemps. La photo 4 illustre la plante *Traganum nudatum*.



Photo 4: *Traganum nudatum*



Photo 5: Parties aériennes de *Traganum nudatum* séchées



Photo 6: Parties aériennes de *Traganum nudatum* broyées

1.1.2.3. Noms de la plante

Noms Français: Traganum dénudé

Nom Arabe vernaculaire: Damrane

1.1.2.4. Distribution géographique

Traganum nudatum est une plante endémique de l'Afrique du nord (Mauritanie, Maroc, Algérie, Tunisie, Egypte) et de l'Asie occidentale, elle pousse dans les régions halophiles, steppes argileuses, sables et lits d'oueds salés arides désertiques, les sebkhas du littoral et de l'intérieur (Quezel et Santa, 1963).

1.2. Collecte du matériel végétal

Les plantes sont récoltées à maturité dans leurs habitats naturels : Ain Sefra, Wilaya de Naâma durant le mois de Novembre 2015 concernant la plante *Traganum nudatum* et en Mars 2016 à Taghit Wilaya de Bechar-Algérie concernant la plante *Ammodaucus leuchotricus*. L'identification botanique a été faite par une enseignante, chercheur à l'Université de Chlef, Algérie. Au laboratoire, les parties aériennes des deux plantes sont mises à sécher à l'ombre (Photo 2, 5) et à température ambiante pendant plusieurs semaines, ensuite elles sont broyées finement, les poudres végétales ainsi récupérées sont stockées soigneusement dans un endroit bien aéré à température ambiante et à l'abri de la lumière (Photo 3, 6).

2. Préparation des extraits

2.1. Préparation des extraits bruts

Les extraits bruts sont préparés par deux techniques: macération et infusion en utilisant un mélange de solvants méthanol/eau 80/20 v/v.

2.1.1. Macération

10g de poudre végétale sont macérés dans 100 ml de solution aqueuse de méthanol à 80/20 v/v à température ambiante pendant 72 h sous agitation continue.

2.1.2. Infusion

Pour l'infusion un volume de 100 ml de solution aqueuse de méthanol à 80/20 v/v frémissante est versé sur 10 g de poudre végétale, le mélange est laissé infuser pendant 3 heures à température ambiante.

Les mélanges sont filtrés puis évaporés à l'aide d'un évaporateur rotatif sous pression réduite à une température 60° C (Harborne et al., 1998) pour éliminer le méthanol puis les phases aqueuses sont versées dans des boîtes de pétri et déposées dans une étuve afin d'obtenir des extraits secs après 24 heures.

2.2. Fractionnement des extraits bruts

Les solvants employés pour le partage liquide-liquide sont l'acétate d'éthyle et le n-butanol. Les résidus secs obtenus par évaporation des filtrats hydrométhanoliques sont partagés entre 10ml d'acétate d'éthyle et le même volume d'eau distillée dans une ampoule à décanter. Après agitation et décantation des deux phases, la phase organique d'acétate d'éthyle est récupérée et la phase aqueuse est à nouveau partagée avec 10 ml d'acétate d'éthyle. La phase d'acétate d'éthyle est récupérée, additionnée à la précédente et séchée par un rotavapeur sous pression réduite à 60°C. Cette fraction est la phase d'acétate d'éthyle. La phase aqueuse issue de l'extraction avec l'acétate d'éthyle est partagée avec 10 ml du n-butanol. L'opération est répétée plusieurs fois et la phase n-butanol est séchée au rotavapeur à 60 °C. Cette fraction est la phase n-butanol. La figure 13 résume les étapes de fractionnement des extraits bruts. La série d'extractions permet d'obtenir: l'extrait brut hydrométhanolique préparé par macération (EB_M), la fraction d'acétate d'éthyle de l'extrait brut hydrométhanolique préparé par macération (FAC_M), la fraction n-butanol de l'extrait brut hydrométhanolique préparé par macération (Fn-B_M) et l'extrait brut hydrométhanolique préparé par infusion (EB_I), la fraction d'acétate d'éthyle de l'extrait brut hydrométhanolique préparé par infusion (FAC_I), la fraction n-butanol de l'extrait brut hydrométhanolique préparé par infusion (Fn-B_I).

3. Calcul des rendements en extraits secs

Le rendement d'extraction est calculé par la formule:

$$R (\%) = 100 \text{ Mext}/\text{Méch}$$

Où: **R** est le rendement en %; **Mext** est la masse de l'extrait après évaporation du solvant en mg et **Méch** est la masse sèche de l'échantillon végétal en mg.

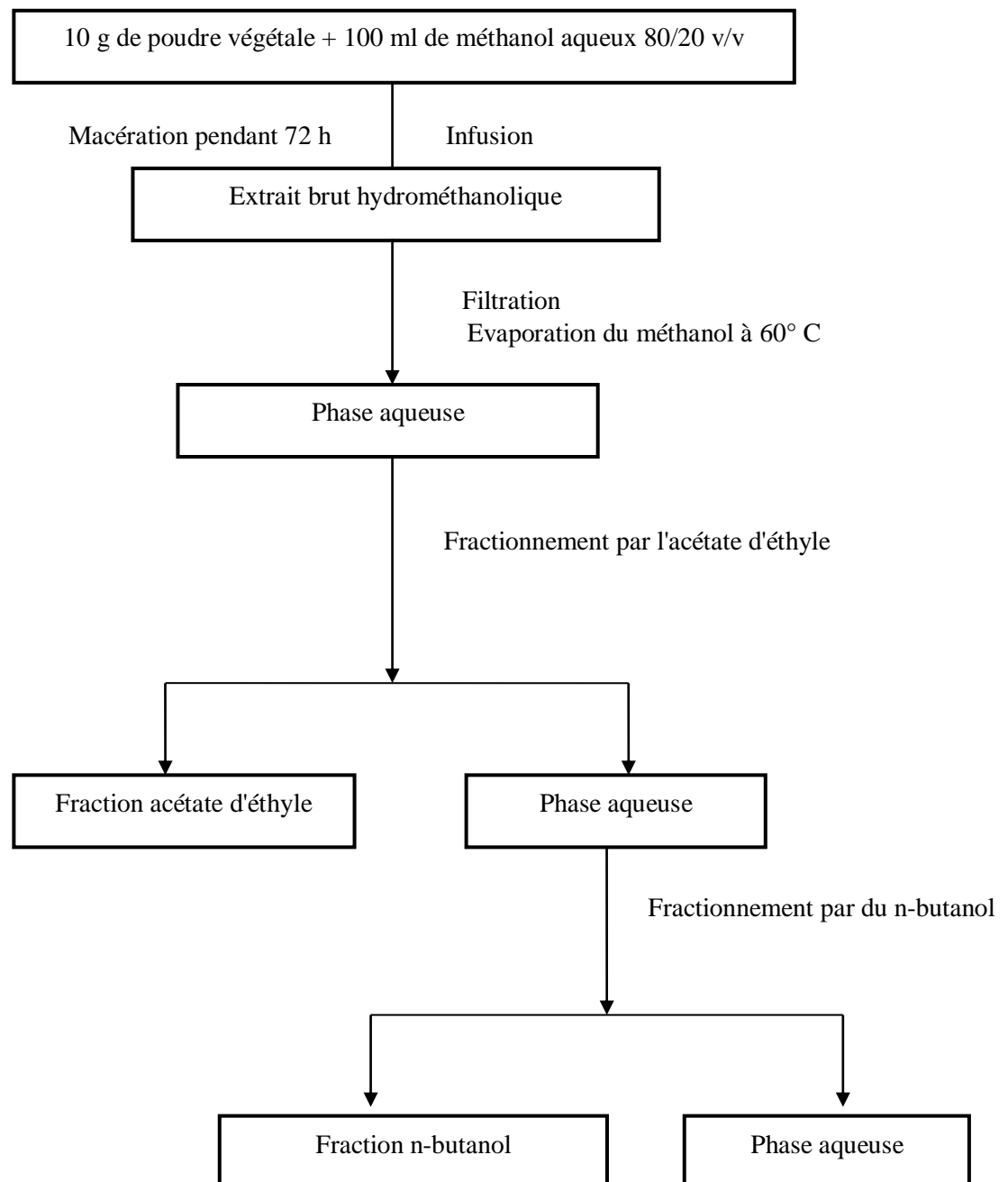


Figure 13: Etapes de la préparation des extraits bruts et leurs fractions

4. Screening phytochimique

Une fois préparés, les extraits sont soumis à des tests pour détecter de façon qualitative les principales familles de métabolites secondaires qui peuvent se trouver dans les échantillons. Les tests de caractérisation sont basés sur des réactions de précipitation et de coloration par l'utilisation d'un réactif approprié pour chaque famille de composés. Les essais phytochimiques sont menés suivant les méthodes phytochimiques usuelles.

4.1. Alcaloïdes

1 ml de l'extrait est divisé en deux volumes égaux. Un volume est traité par 500 µl de réactif de Mayer, l'autre est traité par 500 µl de réactif de Wagner. La formation d'un précipité blanc ou brun respectivement révèle la présence des alcaloïdes (Mojab, 2003).

4.2. Tanins

2 ml d'extrait sont traités par 500 µl de solution aqueuse de FeCl₃ (1%), le mélange est incubé pendant 15 minutes à température ambiante. La présence des tanins est indiquée par une coloration verdâtre (tanins catéchiques) ou bleu-noire (tanins galliques) (Karumi, 2004).

4.3. Flavonoïdes

1 ml d'acide chlorhydrique concentré et quelques copeaux de magnésium est ajouté à 1 ml de l'extrait. Un test positif est révélé par l'apparition d'une coloration rose-orangée (flavones) ou rose-violacée (flavanones) ou rouge (flavonols) (Malec et Pomilio, 2003).

4.4. Quinones libres

500 µl de lessive de soude (NaOH 1%) sont ajoutés à 5 ml de l'extrait à analyser, l'apparition d'une couleur qui vire au jaune, rouge ou violet révèle la présence des quinones libres (Oloyede, 2005).

4.5. Anthraquinones

5 ml de NH₄OH (10%) sont ajoutés à 5 ml de l'extrait. Après agitation, la présence des anthraquinones est indiquée par une coloration violette (Oloyede, 2005).

4.6. Coumarines

2 ml de l'extrait sont partagés en deux parties égales. La première représente un témoin, la deuxième est traitée avec 100 µl de NH₄OH à 10% ensuite une goutte de chaque tube est prélevée puis déposée sur un papier filtre et l'observation se fait sous UV à 366 nm. Une fluorescence intense révèle la présence de coumarines (Bruneton, 1999).

4.7. Saponosides

Dans un tube à essai introduire 10 ml de l'extrait, agiter pendant 15 secondes puis laisser au repos pendant 15 minutes. Une hauteur de mousse persistante supérieure à 1 cm indique la présence de saponosides (N'Guessan et al., 2009).

4.8. Terpénoïdes: Test de Libermann-Burchard

Ajouter 5 ml d'anhydride acétique à 5 ml d'extrait puis ajouter 5 ml d'acide sulfurique concentré. Incuber pendant 15 minutes, les structures stéroïdiennes donnent avec cette réaction une couleur violacée virant au vert (Edeoga et al., 2005).

4.9. Composés réducteurs

Les composés réducteurs sont mis en évidence par le réactif de Fehling : à 1 ml d'extrait sont additionnés 2 ml de liqueur de Fehling. La formation d'un précipité rouge brique après 3 min de chauffage au bain-Marie à 100°C indique une réaction positive.

5. Dosage des polyphénols totaux

5.1. Principe

Les composés phénoliques réagissent avec le réactif Folin-Ciocalteu. En milieu basique, le réactif de Folin-Ciocalteu (mélange d'acide phosphotungstique $H_3PW_{12}O_{40}$ et d'acide phosphomolybdique $H_3PMo_{12}O_{40}$) initialement jaune oxyde les groupements oxydables des composés phénoliques présents dans l'extrait végétal et est réduit en un mélange d'oxydes métalliques bleus de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_{23}) (Payet et al., 2006). Cette coloration est mesurée par lecture de l'absorbance à 765 nm. Elle est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans l'extrait analysé.

5.2. Mode opératoire

Le dosage est réalisé suivant le protocole de Vermerris et Nicholson (2006):

- 2 ml de carbonate de sodium à 2% fraîchement préparés sont ajoutés à 100 µl de l'extrait, agiter par un vortex
- Après 5 minutes, ajouter 100 µl du réactif Folin-Ciocalteu à 1N
- Incuber pendant 30 minutes à température ambiante
- Lecture contre un blanc au spectrophotomètre à 765 nm.

En parallèle, une gamme étalon est réalisée dans les mêmes conditions opératoires en utilisant un composé phénolique standard: l'acide gallique à différentes concentrations croissantes (0,05 – 0,5 mg/ml). Les résultats sont exprimés en milligramme (mg) équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait sec (mg EAG/g).

6. Dosage des flavonoïdes totaux

6.1. Principe

La quantification des flavonoïdes est effectuée par une méthode adaptée par Zhishen et al. (1999) avec le trichlorure d'aluminium et la soude. Les flavonoïdes donnent avec le chlorure d'aluminium des complexes de couleur jaune et la soude forme un complexe de couleur rose qui absorbe dans le visible à 510 nm.

6.2. Mode opératoire

Le dosage des flavonoïdes est réalisé selon le protocole de Miliauskas et al. (2004)

- 500 µl de l'extrait ou de catéchine sont mélangés avec 2 ml d'eau distillée
- Ajouter 150 µl d'une solution de nitrite de sodium (NaNO_2) à 15%
- Après 6 minutes, ajouter 150 µl de chlorure d'aluminium (AlCl_3) à 10%
- Incuber pendant 6 minutes, ensuite ajouter 2 ml d'hydroxyde de sodium (NaOH) à 4% et compléter le volume final à 5 ml
- Agiter et incuber pendant 15 minutes à température ambiante
- Lire l'absorbance à 510 nm contre un blanc

La teneur en flavonoïdes totaux est exprimée par rapport à un composé référence qui est la catéchine à différentes concentrations croissantes (0,05 – 0,5 mg/ml). Les résultats sont exprimés en milligramme (mg) équivalent de catéchine par gramme d'extrait sec (mg ECAT/g).

7. Dosage des flavonols

7.1. Principe

La quantification des flavonols est effectuée par la méthode du trichlorure d'aluminium décrite par Pattanayak et al. (2011) et Kalita et al. (2013).

7.2. Mode opératoire

- Dans un tube à essai, introduire 1 ml d'extrait puis ajouter 1 ml d' AlCl_3 (2%) et 3 ml d'acétate de sodium (5%) et bien mélanger
- Incuber pendant 150 min et lecture à 440 nm contre un blanc

En parallèle, une gamme étalon est réalisée dans les mêmes conditions opératoires en utilisant la quercétine comme standard à différentes concentrations croissantes (0,05 - 0,5 mg/ml). Les résultats sont exprimés en milligramme équivalent de quercétine par gramme d'extrait sec (mg EQ/g).

8. Recherche de l'activité antioxydante

8.1. Test de piégeage du radical libre DPPH·

8.1.1. Principe

Cette méthode est basée sur le principe que le DPPH· accepte un atome d'hydrogène à partir d'une molécule scavenger par exemple un antioxydant résultant une réduction du DPPH· en DPPH₂ (Figure), un changement de la couleur (violette) en jaune avec une diminution concomitante de l'absorbance à 515 nm (Mishra et al., 2012). Le degré de changement de la couleur est proportionnel à la concentration et à la puissance des antioxydants. L'activité antioxydante est mesurée par la diminution de l'absorbance à 515 nm. Une grande diminution de l'absorbance du mélange réactionnel indique une activité significative du composé à l'essai (Pereira et al., 2012).

8.1.2. Mode opératoire

Le test DPPH est effectué selon le protocole de Kumar et al. (2008) réalisé comme suit:

Préparation de la solution du DPPH·

Le DPPH· est solubilisé dans du méthanol absolu (Mishra et al., 2012) pour avoir une concentration de 0,033 mg/ml.

Préparation des solutions d'extrait à tester

Chaque solution subit une série de dilutions pour obtenir une gamme de concentrations allant de (0,1 -10) mg/ml.

Préparation de la gamme d'acide ascorbique

Le contrôle positif est représenté par des solutions d'antioxydant standard: l'acide ascorbique synthétique dont l'absorbance est mesurée dans les mêmes conditions que les échantillons testés.

- 1ml de chaque concentration des extraits ou du standard est ajouté à 5 ml de la solution du DPPH
- Après 30 minutes d'incubation à température ambiante et dans l'obscurité, l'absorbance est lue à une longueur d'onde de 515 nm contre un blanc pour chaque concentration qui contient 1 ml de l'extrait ou du standard et 5 ml de méthanol.
- Le contrôle négatif est représenté par la solution méthanolique du DPPH

L'activité antioxydante est estimée par le pourcentage de réduction du DPPH· (DPPH %) suivant la formule suivante (Sharififar et al., 2009) :

$$\text{DPPH \%} = (A_C - A_E) \times 100 / A_C$$

Où: A_C : Absorbance du contrôle (négatif) à la longueur d'onde 515 nm

A_E : Absorbance de l'échantillon à la longueur d'onde 515 nm

La valeur CI_{50} est définie comme étant la concentration d'antioxydant pour réduire (ou inhiber) 50% de DPPH. Les valeurs CI_{50} sont calculées par la régression logarithmique où l'abscisse est représenté par les différentes concentrations des composés testés et l'ordonné par les pourcentages d'inhibition (I%) (Mensor et al., 2001, Sharififar et al., 2009). Une CI_{50} faible correspond à une activité antioxydante ou antiradicalaire élevée de l'extrait. Le pourcentage de réduction du DPPH est inversement proportionnel à la CI_{50} (Prakash et al., 2007).

8.2. Test FRAP: Ferric Reducing Antioxydant Power (Pouvoir réducteur du fer)

8.2.1. Principe

La technique FRAP est développée pour mesurer la capacité des extraits testés à réduire le fer ferrique (Fe^{3+}) présent dans le complexe ferricyanide $K_3Fe(CN)_6$ en fer ferreux (Fe^{2+}) impliquant le mécanisme de transfert des électrons. Par conséquent, Fe^{2+} peut être évalué en mesurant et en surveillant l'augmentation de la densité de la couleur bleue cyanée dans le milieu réactionnel à 700 nm (Chung et al., 2002). Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés (Hubert, 2006).

8.2.2. Mode opératoire

Le test FRAP est réalisé suivant le protocole décrit par Oyaizu (1986):

- Pour 1 ml de chaque concentration de l'extrait de (0,1 -10) mg/ml, ajouter 2,5 ml d'une solution tampon phosphate 0,2 M (pH 6,6) et 2,5 ml de ferricyanure du potassium ($K_3Fe(CN)_6$ à 1% (m/v)
- Le mélange ainsi obtenu est incubé à 50 °C pendant 20 min puis refroidi à température ambiante
- 2,5 ml de l'acide trichloracétique à 10% (m/v) sont ajoutés au mélange
- Le mélange subit une centrifugation à 3000 t/min pendant 10 min.
- Le surnageant est récupéré, 2,5 ml de ce dernier sont mélangés avec le même volume d'eau distillée et 0,5 ml d'une solution de $FeCl_3$ à 0,1% (m/v)
- L'absorbance est mesurée par spectrophotométrie à 700 nm contre un blanc
- La même procédure est réalisée pour l'acide ascorbique

Les résultats permettent de calculer la concentration efficace (CE_{50}), concentration de l'extrait correspondant à une absorbance égale à 0,5 obtenue par l'interprétation de la courbe de régression linéaire ou logarithmique où l'abscisse est représenté par les différentes concentrations des extraits testés et l'ordonné par les absorbances.

8.3. Capacité antioxydante totale (CAT)

8.3.1. Principe

Cette technique est basée sur la réduction de molybdène Mo(VI) en molybdène Mo(V) en présence de l'extrait pour former un complexe vert de phosphate/ Mo(V) à pH acide.

8.3.2. Mode opératoire

La capacité antioxydante totale (CAT) des extraits est évaluée par la méthode de phosphomolybdène de Prieto et al. (1999):

- 0,3 ml de chaque extrait sont mélangés avec 3 ml de solution du réactif (0,6 M acide sulfurique, 28 mM phosphate de sodium et 4 mM molybdate d'ammonium)
- Les mélanges sont incubés à 95°C pendant 90 min.
- Après refroidissement, l'absorbance des solutions est mesurée à 695 nm contre le blanc qui contient 3 ml de la solution du réactif et 0,3 ml du méthanol

La même procédure est réalisée pour l'acide ascorbique à différentes concentrations croissantes. La capacité antioxydante totale est exprimée en milligramme équivalents d'acide ascorbique par gramme d'extrait sec (mg EAA/ g).

9. Recherche de l'activité antimicrobienne

9.1. Recherche de l'activité antibactérienne

L'activité antibactérienne des différents extraits a été évaluée par une méthode qualitative (méthode de diffusion sur gélose ou méthode des disques) et une autre quantitative (méthode de microdilution en milieu liquide).

Les souches utilisées (Tableau 1) sont des souches de référence de l'American Type Culture Collection (ATCC) provenant du laboratoire de recherche : Antibiotiques, Antifongiques: Physico-chimie, Synthèse et Activité Biologique (LAPSAB), département de Biologie, faculté des sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre et de l'univers, Université de Tlemcen, Algérie.

Tableau 1: Souches utilisées pour la recherche de l'activité antibactérienne

Bactéries à Gram Positif	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923
	<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 49452
	<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 15313
	<i>Micrococcus luteus</i> ATCC 9341
	<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633
	<i>Bacillus cereus</i> ATCC 10876
Bactéries à Gram Négatif	<i>Escherchia coli</i> ATCC 25912
	<i>Acinetobacter baumannii</i> ATCC 19606
	<i>Citrobacter freundii</i> ATCC 8090
	<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 35659
	<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 13311
	<i>Enterobacter cloacae</i> ATCC 13047

9.1.1. Méthode de diffusion sur gélose

Le test de sensibilité est effectué sur milieu gélosé de Mueller Hinton préparé à pH allant de 7,2 à 7,4 selon la méthode de diffusion des disques décrite par le CLSI, M2-A9 (2010).

9.1.1.1. Principe

C'est une technique qualitative pour l'évaluation de l'activité antibactérienne basée sur la mesure de diamètre des zones d'inhibition (halo ou auréole d'inhibition) de la croissance bactérienne formées autour d'un disque imprégné d'une substance active.

9.1.1.2. Mode opératoire

L'inoculum est préparé à partir d'une culture jeune de 18 à 24 heures sur milieu gélosé non sélectif. Quelques colonies d'une culture pure sont suspendues dans de l'eau physiologique stérile. La suspension est ensuite ajustée au standard 0,5 Mc Farland à l'aide d'un spectrophotomètre à 625 nm. La densité optique doit être comprise entre 0,08 et 0,13 qui correspond approximativement à $1-2 \times 10^8$ UFC/ml (Colonies Forming Units).

L'ensemencement de l'inoculum se fait par écouvillonnage sur la gélose par des stries serrées tout en tournant la boîte à 60° à trois reprises. Des disques en papier filtre Wattman N°4 de 6 mm de diamètre sont stérilisés par autoclavage puis imprégnés par 10 µl des extraits à tester solubilisés dans le DMSO pur. Les disques sont placés aseptiquement sur la gélose préalablement inoculée. A partir du disque, l'extrait diffuse dans la gélose. Les disques témoins sont imprégnés par 10 µl de DMSO et la gentamicine (10 µg/disque) est utilisée comme antibiotique de référence. Les boîtes sont incubées à 37°C pendant 18 à 24 heures. Après l'incubation, l'effet des extraits se traduit par l'apparition autour de disque d'une zone circulaire transparente correspondant à l'absence de la croissance bactérienne. Plus le diamètre de cette zone est grand plus la souche est sensible.

9.1.2. Méthode de microdilution en milieu liquide

La méthode de microdilution en milieu liquide est réalisée selon les recommandations de CLSI, M07-A8 (2010). Le milieu de culture recommandé pour cette technique est le bouillon Mueller Hinton à un pH allant de 7,2 à 7,4.

9.1.2.1. Principe

La méthode de microdilution en milieu liquide est réalisée dans le but de déterminer la concentration minimale inhibitrice CMI, qui est la plus faible concentration de l'agent antimicrobien qui inhibe la croissance des microorganismes visible à l'œil après 18 ou 24 h de contact à 37°C.

9.1.2.2. Mode opératoire

Des microplaques stériles à 96 puits sont utilisées dans ce test. Les extraits sont préparés dans le bouillon Mueller Hinton pour obtenir une gamme de concentrations décroissantes allant de 25; 12,5 ; 6,125; 3 mg/ml dans les puits des microplaques (La concentration du DMSO ne dépasse pas 2% dans le premier puits). Le premier puits de la microplaque est utilisé comme contrôle négatif rempli que par le milieu de culture. Tandis que le dernier puits représente le contrôle positif qui ne contient que la suspension bactérienne. 180 µl de chaque concentration de chaque extrait sont déposés dans chaque puits puis 20 µl de l'inoculum sont ajoutés pour avoir une concentration finale de 5.10^4 cellules/ml. Après 24 heures d'incubation à 37°C, la lecture est effectuée à l'œil nu. La CMI est la plus faible concentration de l'extrait testé pour laquelle aucun trouble visuel n'est observé.

9.2. Recherche de l'activité antifongique

Les souches utilisées sont des levures de *Candida albicans* de référence: *Candida albicans* ATCC 10231, *Candida albicans* ATCC 26790 et *Candida albicans* IP 444. L'activité antifongique des différents extraits est évaluée par la technique de diffusion sur gélose.

9.2.1. Technique de diffusion sur gélose

Dans cette méthode, le milieu de culture utilisé est la gélose Mueller Hinton supplémentée de 2 % de glucose et 0,5 µg/ml de bleu de méthylène à un pH de 7,2 à 7,4 ce qui permet de produire des zones d'inhibition visibles.

L'inoculum est préparé par suspension de quelques colonies distinctes d'une culture jeune de 24 h dans de l'eau physiologique stérile. L'inoculum est ajusté au standard 0,5 Mc Farland par un spectrophotomètre à 530 nm soit une densité optique de 0,12 à 0,15 pour avoir $1 \text{ à } 5 \times 10^6$ cellules/ml. Après la préparation de la suspension de levures, la surface de la gélose de Mueller Hinton supplémentée estensemencée par écouvillonnage avec une rotation de la boîte de Pétri de 60° 3 fois pour assurer une bonne distribution de l'inoculum. Des disques stériles en papier filtre (6 mm) sont imprégnés par les extraits à tester (10 µl/ disque) et sont déposés sur la gélose. Après 15 min de l'application des disques, les boîtes sont incubées à $35 \pm 2^\circ\text{C}$ pendant 20 à 24 h (NCCLS, 2004). La lecture des résultats se fait par la mesure des zones d'inhibition (mm).

10. Recherche de l'activité antidiabétique

10.1. Recherche de l'activité antidiabétique *in vivo*

Cette étude repose sur la recherche d'un éventuel effet antidiabétique des extraits chez des rats rendus diabétiques par la streptozotocine à court et à long terme.

10.1.1. Animaux d'expérimentation

Notre étude porte sur des rats de laboratoire de souche Wistar (*Rattus norvegicus*) adultes, âgés de 3 mois ayant un poids entre 200 et 300 g. L'élevage des animaux s'est déroulé au sein de l'animalerie du département de Biologie, Faculté des sciences de la nature et de la vie et sciences de la terre et de l'univers, Université Abou Bekr Belkaïd (Tlemcen). Ces animaux sont maintenus sous conditions favorables : Température entre 25 à 30°C, aération suffisante et sont nourris *ad libitum* par un aliment supplémenté en vitamines sous forme de granulés composés de maïs, tourteaux de soja, issu de meunerie et un complexe minéralo-vitaminiques.

10.1.2. Induction du diabète expérimental

Un diabète expérimental est provoqué chez des rats Wistar âgés de 3 mois avec un poids corporel compris entre 200 et 300 g de sexe male à jeun par unique injection intrapéritonéale de la streptozotocine à 60 mg/kg.p.c préparée juste avant son administration dans un tampon citrate (0,1 M , pH 4,5). L'installation du diabète est vérifiée chez les rats par l'analyse de la glycémie à l'aide d'un glucomètre à bandelettes réactives à partir de l'extrémité caudale et de la glucosurie. Les animaux présentant une glucosurie positive et une glycémie supérieure à 1,6 g/l sont considérés diabétiques et sont retenus pour l'étude.

10.1.3. Recherche de l'effet antihyperglycémiant à court terme

Afin d'évaluer l'effet des extraits à tester sur la glycémie, les rats sont répartis en lots:

Lot 1: Rats normaux témoins RNT

Lot 2: Rats normaux injectés par l'extrait brut hydrométhanolique RNEB de *T. nudatum*

Lot 3: Rats normaux injectés par la fraction acétate d'éthyle RNF de *T. nudatum*

Lot 4: Rats normaux injectés par l'extrait brut hydrométhanolique RNEB d'*A. leucotrichus*

Lot 5: Rats normaux injectés par la fraction acétate d'éthyle RNF d'*A. leucotrichus*

Lot 6: Rats diabétiques témoins RDT

Lot 7: Rats diabétiques injectés par l'extrait brut hydrométhanolique RDEB de *T. nudatum*

Lot 8: Rats diabétiques injectés par la fraction acétate d'éthyle RDF de *T. nudatum*

Lot 9: Rats diabétiques injectés par l'extrait brut hydrométhanolique RDEB d'*A. leucotrichus*

Lot 10: Rats diabétiques injectés par la fraction acétate d'éthyle RDF d'*A. leucotrichus*

Chaque lot comporte 5 rats et la glycémie est mesurée par un glucomètre à partir de l'extrémité de la queue à t_0 (avant l'injection) et à 60, 120 et 240 min (après injection). Les extraits testés sont les extraits bruts hydrométhanoliques et leur fractions acétate d'éthyle des deux plantes étudiées, ils sont solubilisés dans de l'eau physiologique et sont injectés par voie intrapéritonéale à une concentration de 250 mg/Kg.p.c à jeun de 16 h (Tableau 2).

10.1.4. Recherche de l'effet antihyperglycémiant à long terme

Cette étude est une continuité à celle à court terme dont les rats sont injectés chaque semaine par les mêmes doses des mêmes extraits et suivis pendant 4 semaines par mesure de la glycémie après 16 h de jeun chez les mêmes groupes de rats.

Les résultats sont exprimés en glycémie en g/l et les variations de la glycémie sont exprimées en pourcentages et sont calculées comme suit:

$$\text{Variation de la glycémie (\%)} = [(Gt - Gb) / Gb] \times 100$$

Gt: Glycémie à temps, Gb: Glycémie basale (Glycémie à t_0 pour l'étude à court terme et la glycémie de la semaine précédente pour l'étude à long terme).

Tableau 2: Répartition des lots, extraits et doses testés pour la recherche de l'activité antidiabétique

Lots	Nombre de rats	Plante étudiée	Injections	Doses injectées	Temps d'injections			
					t_0	S1	S2	S3
RNT	05	<i>Traganum nudatum</i>	Eau physiologique	0,9%				
RDT	05							
RNEB	05		Extrait brut hydrométhanolique	250 mg/kg p.c				
RDEB	05							
RNF	05		Fraction acétate d'éthyle	250 mg/kg p.c				
RDF	05							
RNEB	05	<i>Ammodaucus leucotrichus</i>	Extrait brut hydrométhanolique	250 mg/kg p.c				
RDEB	05							
RNF	05		Fraction acétate d'éthyle	250 mg/kg p.c				
RDF	05							

RNT rats normaux témoins, RDT rats diabétiques témoins, RDEB rats diabétiques traités par l'extrait brut, RNEB rats normaux traités par l'extrait brut, RNF: rats normaux traités par la fraction acétate d'éthyle, RDF: rats diabétiques traités par la fraction acétate d'éthyle, t_0 : temps₀, S: semaine

10.2. Recherche de l'activité antidiabétique in vitro

10.2.1. Recherche de l'effet des extraits sur l'absorption du glucose par le foie et le tissu adipeux de rats de laboratoire

L'effet des extraits sur l'absorption du glucose par les coupes de foie et les adipocytes isolés de rats Wistar est réalisé selon les protocoles de Lahfa (1985) et Rodbell (1964) modifiés respectivement, l'effet des extraits est comparé par rapport à l'effet de l'insuline. Les extraits testés sont les extraits bruts hydrométhanoliques et leurs fractions acétate d'éthyle des deux plantes étudiées.

10.2.1.1. Milieux d'incubation KRBA

Les coupes de foie et les adipocytes isolés des rats sont incubés dans un milieu KRBA (Krebs-Ringer Bicarbonaté Albuminé) préparé à partir du KRB (Krebs-Ringer Bicarbonaté) et de l'albumine bovine sérique (BSA). Une fois le KRB préparé (Tableau 3) il est conservé à 4°C. Le pH de la solution KRB est ajusté à 7,4 par 10 mM d'Hepes (acide 4-(2

hydroxyéthyle)-1- piparazine-éthane sulfonique) tout juste avant son utilisation. 1 g de BSA (Bovin seric albumin) est ajouté au KRB pour préparer la solution KRBA 1% qui sert au lavage des tissus et 4 g de BSA sont ajoutés pour préparer la solution de KRBA 4% utilisée pour l'incubation des tissus, à partir de cette dernière deux autres solutions de KRBA 4% glucosées sont préparées: KRBA 4% glucosé à 1 g/l (5 mM) et KRBA 4% glucosé à 3 g/l (16 mM).

Tableau 3: Composition du KRB

Constituants	Molarités [mM]	Masses (g)	Volume
NaCl	12	7	1 litre
CaCl ₂	0,13	0,149	
KCl	0,48	0,374	
KH ₂ PO ₄	0,12	0,163	
MgSO ₄	0,12	0,295	
NaHCO ₃	2,4	2,04	

10.2.1.2. Recherche de l'effet des extraits sur l'absorption de glucose par les coupes de foie

Après la mise à jeun de 16 à 18 h, les rats sont sacrifiés par dislocation cervicale et disséqués. Après ouverture de l'abdomen, le foie est rapidement prélevé et déposé dans une boîte de pétri contenant du sérum physiologique (NaCl 9 ‰) pour le nettoyer des vaisseaux et des caillots sanguins puis pesé et découpé en petits morceaux avec un scalpel sous forme de coupes très fines d'environ 1mm d'épaisseur. Les coupes sont lavées 2 à 3 fois avec le KRBA 1% et incubées à 37 C° pendant 90 minutes sous agitation continue en présence de différentes concentrations des extraits et d'insuline en utilisant des plaques de culture cellulaire en polyéthylène à 24 puits de 3,5 ml. Dans chaque puits, une masse de 0,2 g des coupes de foie est déposée, un volume de 1,5 ml de KRBA 4% glucosé à 5 mM ou à 16 mM est ajouté contenant l'extrait à tester à 100, 200 ou 500 µg/ml ou bien l'insuline à 10, 50 ou 100 µU/ml (Tableau 4) (L'insuline utilisée est une solution d'insuline humaine bio synthétique injectable en stylo à 100 U/ml (Novorapid®, Flexenpen®) et une aiguille de 8mm (Novofine). En parallèle, quatre puits témoins sont utilisés constitués de KRBA 4% glucosé à 5 mM ou à 16 mM en absence et en présence des coupes de foie. Après chaque 30 min d'incubation, un volume de 500 µl est prélevé de chaque puits puis centrifugé à 2000 tour/min pendant 5 min

afin de réaliser un dosage de glucose restant dans le milieu d'incubation et par conséquent déduire le taux du glucose absorbé par les coupes de foie (Figure 15).

10.2.1.3. Recherche de l'effet des extraits sur l'absorption de glucose par les adipocytes

Après la mise à jeun de 16 à 18 h, les rats sont sacrifiés de la même manière décrite précédemment et les tissus adipeux épидидymal et surrénal sont immédiatement prélevés, lavés tout d'abord par du NaCl 9 ‰ ensuite par le KRBA 1% puis découpés en petits morceaux. Ces morceaux sont incubés dans du KRBA 4% pendant 45 minutes à 37°C sous agitation contenant la collagénase de type II à raison de 5 mg/ml. Après digestion enzymatique le mélange est filtré, le filtrat est centrifugé à 400 tr/min pendant 5 min et les adipocytes sont récupérés à la surface. En utilisant une boîte de culture cellulaire en polyéthylène, un volume de 500 µl de la suspension adipocytaire est déposé dans chaque puits avec 1,5 ml de KRBA4% glucosé à 5 mM ou à 16 mM en présence des différentes concentrations des extraits à tester ou d'insuline (Tableau 4). Des puits expérimentaux contenant du KRBA 4% glucosé à 5 mM ou à 16 mM en absence et en présence des adipocytes sont utilisés comme témoins (Figure 14). L'incubation est maintenue pendant 90 minutes à 37°C dans une étuve agitatrice. Le reste de la procédure est similaire à celui décrit pour les coupes de foie.

10.2.1.4. Viabilité et numération cellulaire

Dans le but de vérifier l'état des cellules ainsi que le nombre des cellules vivantes par ml de suspension et par g de tissu avant chaque manipulation, une numération cellulaire est réalisée par comptage au microscope optique à l'aide d'une cellule de Thoma. Après lavage par du NaCl 0,9 ‰ puis par le KRBA 1%, 0,2 g de coupes de foie sont écrasées dans un mortier et filtrées par une passoire et la suspension cellulaire est récupérée dans 2 ml de solution (EDTA+ KRBA 1%), puis 50 µl de cette solution sont mélangés avec 50 µl de bleu de trypan à 0,2 ‰, à partir de ce mélange quelques µl sont prélevés et déposés entre lame et lamelle au niveau de la cellule de Thoma. Pour les adipocytes, après digestion enzymatique par la collagénase II, 50 µl de la suspension adipocytaire obtenue sont mélangés avec 50 µl de bleu de trypan et quelques µl de ce mélange sont déposés sur la chambre de comptage.

Le bleu de trypan est utilisé pour colorer les cellules mortes qui se laissent envahir par ce colorant et le nombre de cellules viables est calculé selon la formule suivante:

$$\text{Nombre de cellules / ml / g} = \frac{\text{Nombre total des cellules}}{\text{Nombre de carrés}} \times \text{Facteur de dilution} \times 25 \times 10^4$$

Tableau 4: Concentrations d'insuline et des extraits testés pour la recherche de l'effet sur l'absorption du glucose par les coupes de foie et les adipocytes isolés de rats Wistar

Incubation à 37 °C sous agitation pendant 90 minutes				
	Concentrations	KRBA 4% + 5 mM de glucose (ml)	KRBA 4% + 16 mM de glucose (ml)	Suspension adipocytaire (µl)/ Coupes de foie (g)
Témoins		1,5		
			1,5	
		1,5		500 µl / 0,2 g
			1,5	500 µl / 0,2 g
Insuline	10 µ UI/ml	1,5		500 µl / 0,2 g
			1,5	500 µl / 0,2 g
	50 µ UI/ml	1,5		500 µl / 0,2 g
			1,5	500 µl / 0,2 g
	100 µ UI/ml	1,5		500 µl / 0,2 g
			1,5	500 µl / 0,2 g
Extrait brut hydrométhanolique <i>T. nudatum</i> / <i>A.leucotrichus</i>	100 µg/ml	1,5		500 µl / 0,2 g
			1,5	500 µl / 0,2 g
	200 µg/ml	1,5		500 µl / 0,2 g
			1,5	500 µl / 0,2 g
	500 µg/ml	1,5		500 µl / 0,2 g
			1,5	500 µl / 0,2 g
Fraction acétate d'éthyle <i>T. nudatum</i> / <i>A.leucotrichus</i>	100 µg/ml	1,5		500 µl / 0,2 g
			1,5	500 µl / 0,2 g
	200µg/ml	1,5		500 µl / 0,2 g
			1,5	500 µl / 0,2 g
	500 µg/ml	1,5		500 µl / 0,2 g
			1,5	500 µl / 0,2 g

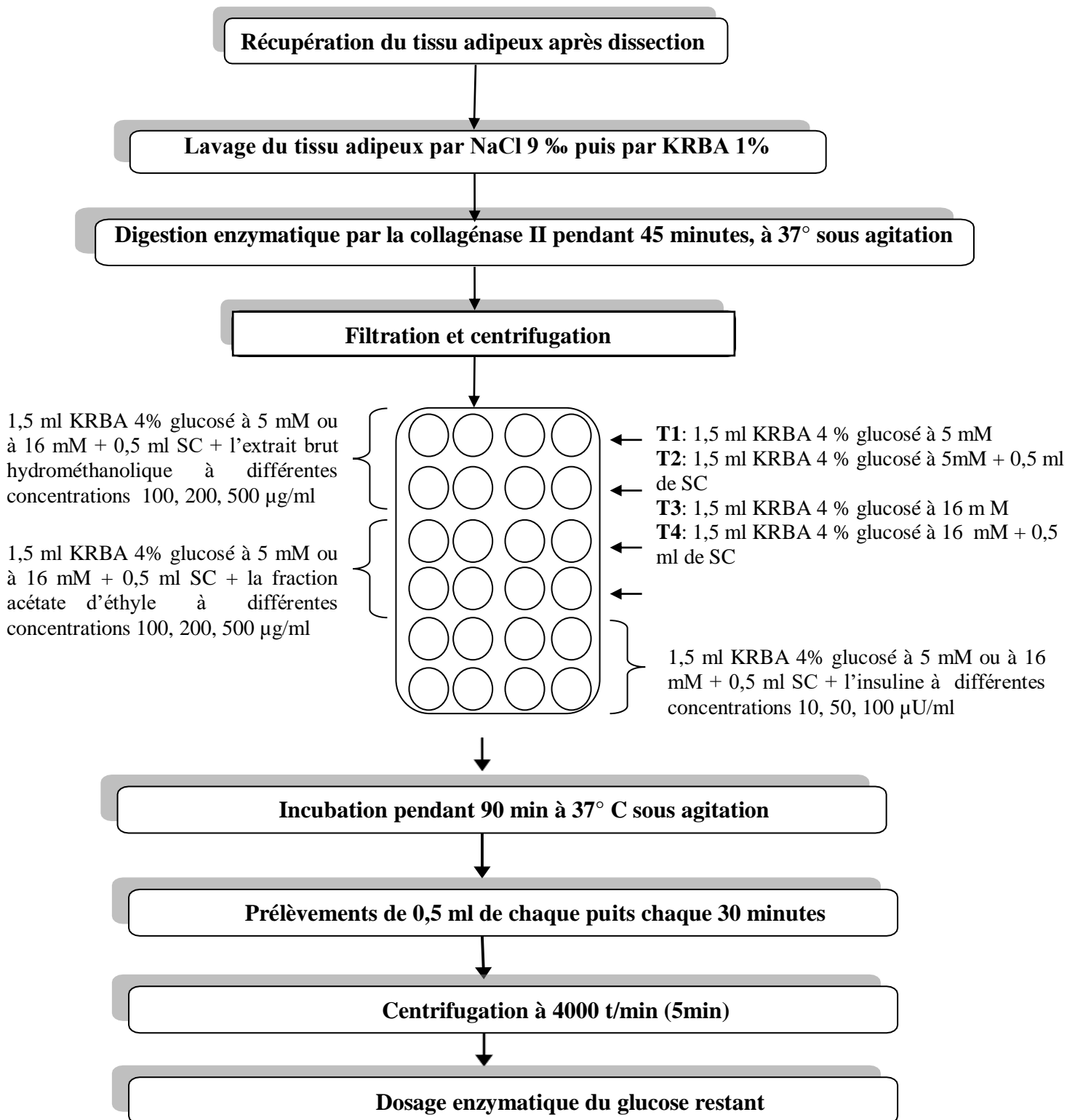


Figure 14: Etapes de la recherche de l'effet des extraits sur l'absorption du glucose par les adipocytes isolés de rats Wistar.

SC suspension cellulaire adipocytaire

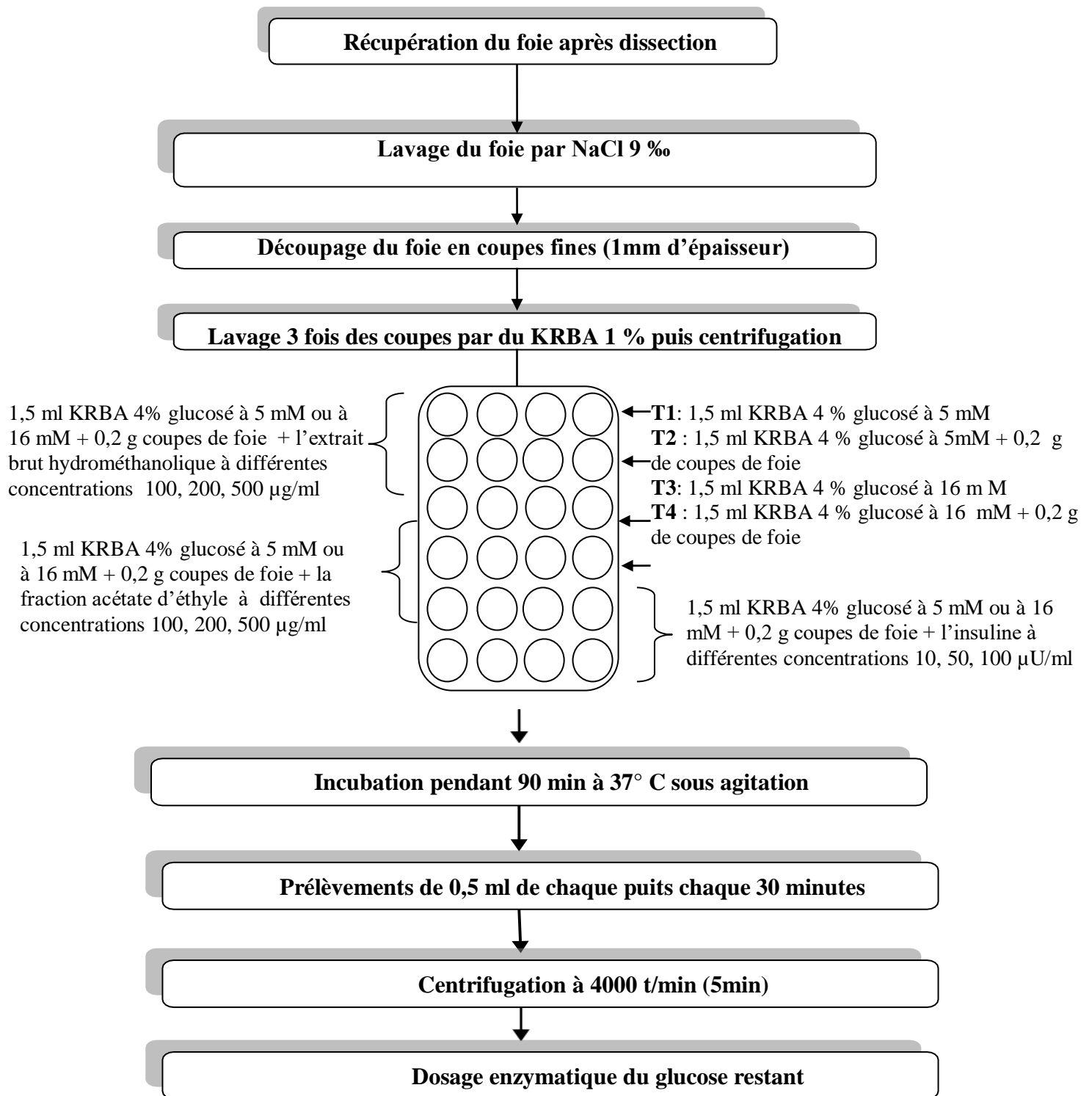


Figure 15: Etapes de la recherche de l'effet des extraits sur l'absorption du glucose par les coupes de foie isolées de rats Wistar.

10.2.1.5. Dosage de glucose

Le dosage de glucose restant dans les milieux d'incubation se fait à l'aide d'un kit de dosage enzymatique suivant la méthode de Trinder (1969).

Principe

Le taux de glucose est déterminé par une méthode colorimétrique enzymatique, le glucose en présence de glucose-oxydase (GOD) est oxydé en acide gluconique et peroxyde d'hydrogène. Ce dernier, en présence de peroxydase (POD) et phénol oxyde un chromogène incolore (4-aminoantipyrine) en couleur rouge à structure quinone-imine. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration de glucose.

Mode opératoire

10 µl des surnageants récupérés sont mélangés avec 1 ml de la solution de travail puis incubés pendant 20 minutes à température ambiante. L'absorbance est ensuite mesurée au spectrophotomètre à 505 nm contre un blanc (Tableau 5).

Tableau 5: Dosage enzymatique du glucose

	Blanc	Etalon	Echantillon
Solution de travail	1 ml	1ml	1ml
		10 µl	10µl

Calcul

$$\text{Concentration glucose restant dans le milieu} = (A_D/A_E)$$

Où, A_D : Absorbance de dosage, A_E : Absorbance de l'étalon. Les teneurs en glucose sont exprimées en g/l.

11. Recherche de toxicité (Test d'hémolyse)

L'effet hémolytique des différents extraits est testé in vitro sur une suspension érythrocytaire du sang humain incubée dans un tampon PBS (Phosphate Buffered Saline) 10 mM à pH 7,4± 0,2 selon la méthode de Guo-Xiang et Zai-Qun (2008).

11.1. Préparation de la suspension érythrocytaire

Du sang fraîchement prélevé d'un donneur sain sur tube hépariné est centrifugé à 4000 tours/minutes à 4°C pendant 5 minutes. Après élimination du surnageant, le culot est lavé deux fois par le tampon PBS 10 mM, pH 7,4 puis 1 ml du culot de la dernière centrifugation est resuspendu dans 19 ml de PBS pour obtenir une suspension érythrocytaire diluée 20 fois.

11.2. Dénombrement cellulaire

Un dénombrement des globules rouges contenus dans la suspension érythrocytaire ainsi préparée est réalisé au microscope optique par une cellule de Thoma, pour ce faire un volume de 10 µl de la suspension érythrocytaire diluée est prélevé et déposé entre lame et lamelle, le nombre de globules rouges est calculé suivant la formule:

$$\text{Nombre de globules rouges} = \frac{\text{Nombre total des érythrocytes}}{\text{Nombre de carrés}} \times \text{Facteur de dilution} \times 25 \times 10^4$$

11.3. Mesure de la fuite de l'hémoglobine

Un volume de 8910 µl la suspension érythrocytaire préparée est incubé avec 90 µl des différentes concentrations des extraits à tester à 37 °C pendant 60 minutes sous agitation continue. Immédiatement après l'addition de l'extrait (ce qui correspond au temps zéro), des prélèvements de 0,5 ml du milieu réactionnel sont réalisés chaque 15 min pour être resuspendus dans 1,5 ml du PBS. Les tubes sont centrifugés à 4000 tours/min pendant 5 min. Le surnageant sert à suivre la fuite de l'hémoglobine par mesure de l'absorbance à une longueur d'onde de 548 nm contre un blanc. Pour le contrôle positif, l'hémolyse totale est obtenue par la mise en suspension des globules rouges avec l'eau distillée, la suspension des globules rouges dans le PBS est utilisée comme contrôle négatif.

Les taux d'hémolyse des différents échantillons sont calculés en pourcentage par rapport à l'hémolyse totale selon la formule suivante:

$$\text{Taux d'hémolyse (\%)} = 100 \times \frac{(A_{548 \text{ nm}} \text{ de l'échantillon} - A_{548 \text{ nm}} \text{ de contrôle négatif})}{A_{548 \text{ nm}} \text{ contrôle positif}}$$

12. Analyse par chromatographie liquide en phase inverse à haute performance RP-HPLC-PDA

Une analyse des extraits est réalisée par chromatographie en phase liquide à haute performance (CLHP) sur un système Perkin Elmer Flexar équipé d'une pompe de distribution de solvant binaire reliée à un détecteur à barrette de diodes (PDA). La séparation des extraits est effectuée sur une colonne Eclipse ODS C18 en phase inverse 150 mm × 4,6 µm Hypersil utilisée en tant que phase stationnaire à température ambiante avec un débit maintenu à 1 ml/min. La phase mobile consiste en acide acétique (2%) (solvant A) et en méthanol ultra-

pure en tant que solvant B. Les composés phénoliques sont élués en utilisant un gradient d'élution: 5 min avec 10% de B, 25 min avec 90% de B puis 15 min de gradient linéaire de 90% à 100% de B et 20 minutes pour l'équilibration. Les chromatogrammes sont enregistrés à une longueur d'onde de 280 nm. L'identification des composés est réalisée en comparant leurs temps de rétention et leurs spectres UV à ceux d'étalons purs. Cette analyse est réalisée au sein du laboratoire de produits naturels (LAPRONA), faculté des sciences de la nature et de la vie, sciences de la terre et de l'univers, département de biologie, Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen.

Chaque technique a été réalisée en triplicate. Les résultats sont présentés par leur moyenne affectée de l'erreur standard à la moyenne (n = 3).

13. Analyses statistiques

Les résultats sont exprimés en moyenne \pm SEM (erreur standard de la moyenne). La comparaison entre les valeurs moyennes des résultats est effectuée à l'aide du test de Student.

La moyenne

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

L'erreur standard de la moyenne SEM

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

Test de Student

Ce test nous donne le degré de signification P où la différence entre deux moyennes est:

Significative : P < 0.05 (*)

Très significative : P < 0.01 (**)

Hautement significative : P < 0.001 (***)

Très hautement significative : P < 0.0001 (****)

Résultats et interprétation

1. Rendements d'extractions

Les rendements d'extractions obtenus par macération pendant 72 heures et par unique infusion pendant 3 heures à température ambiante par les différents solvants à savoir: méthanol/ eau (80/20) (V/V), acétate d'éthyle et n-butanol des deux plantes sont présentés dans les figures.

Ammodaucus leucotrichus

Concernant la plante *A. leucotrichus*, les rendements d'extractions varient de $0,76 \pm 1,3$ à $12 \pm 0,3$ %, nous remarquons que le mode d'extraction n'influence pas les rendements des extraits bruts hydrométhanoliques, en revanche les rendements des fractions acétate d'éthyle et n-butanol de l'extrait brut hydrométhanolique préparé par macération sont meilleurs que ceux des mêmes fractions de l'extrait brut hydrométhanolique préparé par infusion. Il s'avère aussi que les fractions acétate d'éthyle présentent des rendements plus faibles que les fractions n-butanol (Figure 16).

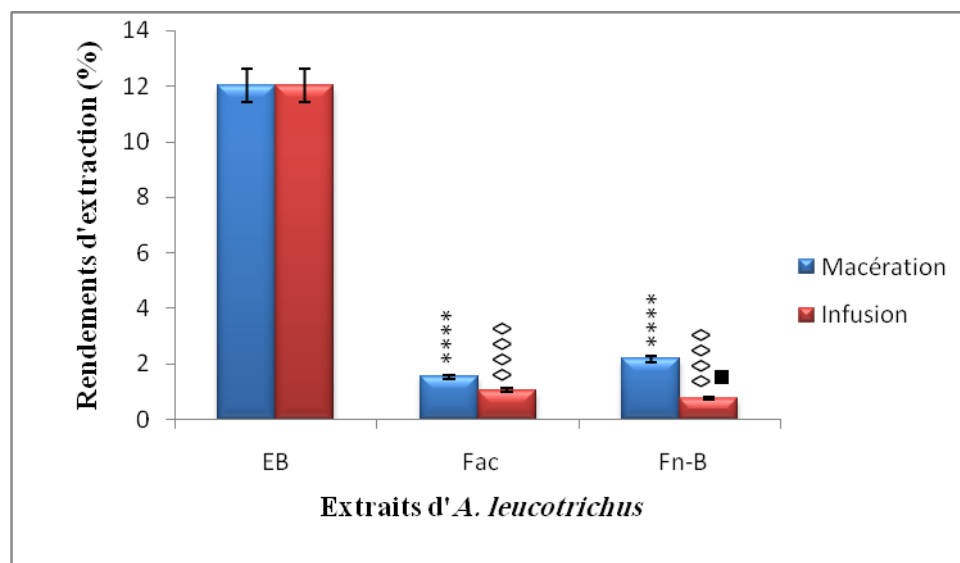


Figure 16: Rendements en extraits secs d'*A. leucotrichus*

EB extrait brut, *FAc* fraction acétate d'éthyle, *Fn-B* fraction n-butanol

- * Comparaison entre l'extrait brut hydrométhanolique d'*A. leucotrichus* préparé par macération et ses fractions acétate d'éthyle et n-butanol
 - ◇ Comparaison entre l'extrait brut hydrométhanolique d'*A. leucotrichus* préparé par infusion et ses fractions acétate d'éthyle et n-butanol
 - Comparaison entre la fraction n-butanol de l'extrait brut hydrométhanolique d'*A. leucotrichus* préparé par macération et la fraction n-butanol de l'extrait brut hydrométhanolique d'*A. leucotrichus* préparé par infusion
- * $p < 0.05$ significative, **** $p < 0.0001$ très hautement significative

Traganum nudatum

Pour la plante *T. nudatum*, les résultats montrent que les rendements d'extractions varient de $0,33 \pm 0,61$ à $19 \pm 0,8$ % et que les extraits obtenus par infusion présentent des rendements significativement plus faibles que ceux des extraits obtenus par macération, nous constatons également que les fractions acétate d'éthyle et n-butanol présentent des rendements plus de dix fois plus faibles que les extraits bruts hydrométhanoliques. D'autre part, les rendements des fractions n-butanol sont plus importants que ceux des fractions acétate d'éthyle (Figure 17).

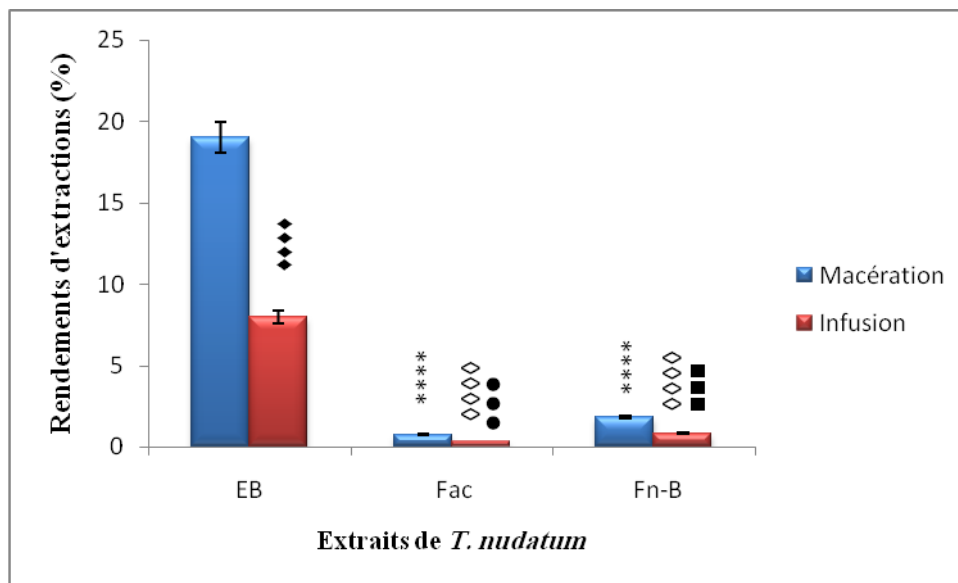


Figure 17: Rendements en extraits secs de *T. nudatum*

EB extrait brut, *Fac* fraction acétate d'éthyle, *Fn-B* Fraction n-butanol

- * Comparaison entre l'extrait brut hydrométhanolique de *T. nudatum* préparé par macération et ses fractions acétate d'éthyle et n-butanol
 - ◇ Comparaison entre l'extrait brut hydrométhanolique de *T. nudatum* préparé par infusion et ses fractions acétate d'éthyle et n-butanol
 - ◆ Comparaison entre l'extrait brut hydrométhanolique de *T. nudatum* préparé par macération et l'extrait brut hydrométhanolique de *T. nudatum* préparé par infusion
 - Comparaison entre la fraction acétate d'éthyle de l'extrait brut hydrométhanolique de *T. nudatum* préparé par macération et la fraction acétate d'éthyle de l'extrait brut hydrométhanolique de *T. nudatum* préparé par infusion
 - Comparaison entre la fraction n-butanol de l'extrait brut hydrométhanolique de *T. nudatum* préparé par macération et la fraction n-butanol de l'extrait brut hydrométhanolique de *T. nudatum* préparé par infusion
- *** p < 0.001 hautement significative, **** p < 0.0001 très hautement significative

2. Screening phytochimique

Les tests phytochimiques montrent que la composition des extraits en métabolites secondaires est variable selon la nature du solvant utilisé et la méthode d'extraction et les résultats sont reportés dans les tableaux.

Ammodaucus leucotrichus

Pour *A. leucotrichus* les flavonoïdes et les alcaloïdes sont présents dans tous les extraits à l'exception des fractions n-butanol, en revanche les saponines ne sont présents que dans ces deux fractions. Les tannins et les quinones sont présents dans l'ensemble des extraits. En outre, une absence totale des anthraquinones, des coumarines et des terpénoïdes est notée (Tableau 6).

Tableau 6: Screening phytochimique des extraits d'*A. leucotrichus*

	<i>EB_M</i>	<i>FAC_M</i>	<i>Fn-B_M</i>	<i>EB_I</i>	<i>FAC_I</i>	<i>Fn-B_I</i>
Flavonoïdes	+	+	-	+	+	-
Alcaloïdes	+	+	-	+	+	-
Tannins	+	+	+	+	+	+
Quinones	+	+	+	+	+	+
Anthraquinones	-	-	-	-	-	-
Terpenoïdes	-	-	-	-	-	-
Coumarines	-	-	-	-	-	-
Saponines	-	-	+	-	-	+

(+) présence, (-) absence, *EB* extrait brut, *FAC* fraction acétate d'éthyle, *Fn-B* fraction n-butanol, *I* infusion, *M* macération

Traganum nudatum

Pour la plante *T. nudatum*, les flavonoïdes sont présents dans l'ensemble des extraits, les alcaloïdes ne sont absents que dans les fractions n-butanol, la présence des saponines est notée. Contrairement aux tests négatifs des anthraquinones, des terpénoïdes et des coumarines, les tests des tannins et des quinones se révèlent positifs dans la totalité des extraits (Tableau 7).

Tableau 7: Screening phytochimique des extraits de *T. nudatum*

	<i>EB_M</i>	<i>FAC_M</i>	<i>Fn-B_M</i>	<i>EB_I</i>	<i>FAC_I</i>	<i>Fn-B_I</i>
Flavonoïdes	+	+	+	+	+	-
Alcaloïdes	+	+	-	-	+	-
Tannins	+	+	+	+	+	+
Quinones	+	+	+	+	+	+
Anthraquinones	-	-	-	-	-	-
Terpénoïdes	-	-	-	-	-	-
Coumarines	-	-	-	-	-	-
Saponines	+	-	+	-	+	+

(+) présence, (-) absence, *EB* extrait brut, *FAC* fraction acétate d'éthyle, *Fn-B* fraction n-butanol, *I* infusion, *M* macération

3. Teneurs en composés phénoliques

Courbes d'étalonnage

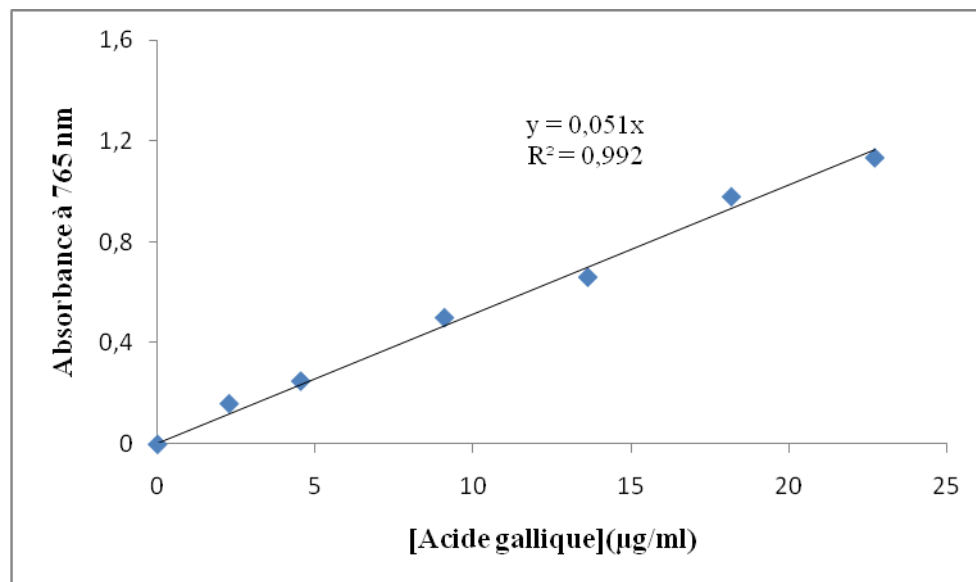


Figure 18: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols

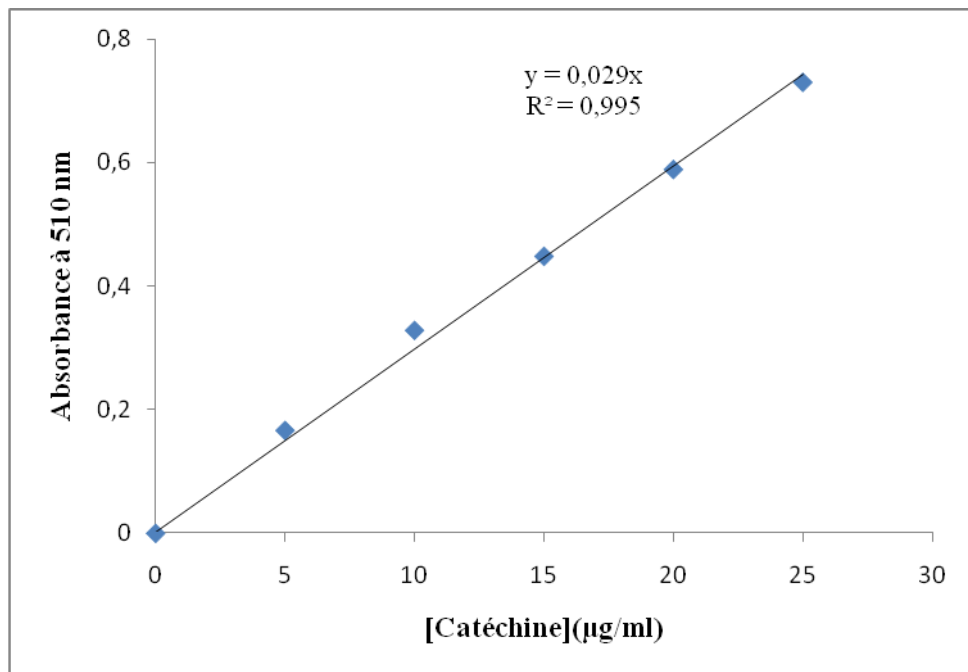


Figure 19: Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des flavonoïdes

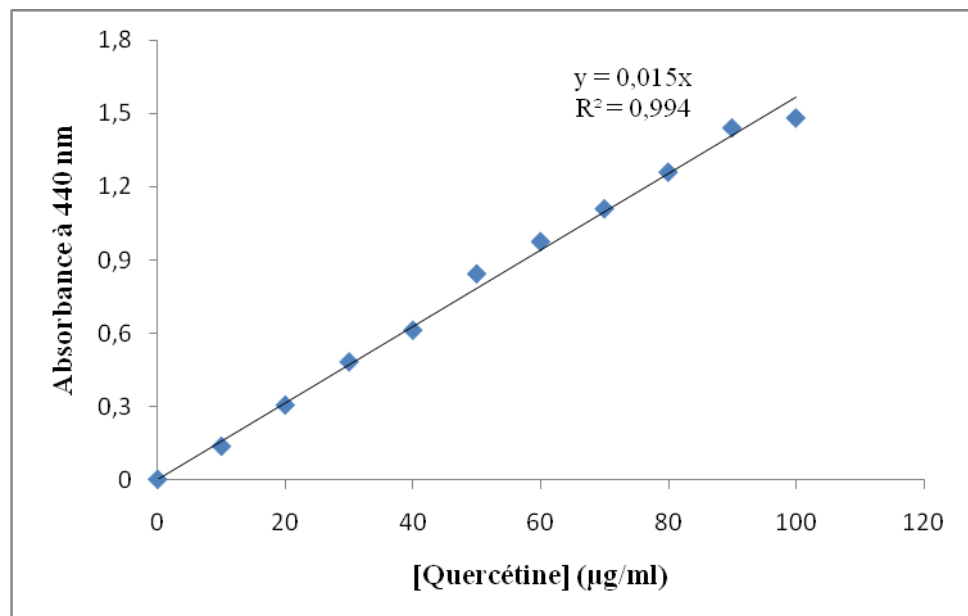


Figure 20: Courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonoles

Ammodaucus leucotrichus

D'après les résultats reportés dans le tableau, il s'avère que les contenus des extraits d'*A.leucotrichus* en polyphénols varient de $39,3 \pm 0,7$ à $51,67 \pm 0,5$ mg EAG/g avec une légère différence entre les extraits bruts hydrométhanoliques et leurs fractions, les taux des flavonoïdes sont faibles dans les extraits bruts hydrométhanoliques préparés par macération EB_M et par infusion EB_I de l'ordre de $18,94 \pm 0,4$ et de $18,62 \pm 1,2$ mg EAG/g respectivement, les fractions acétate d'éthyle et n-butanol se montrent plus riches, la teneur la plus élevée est enregistrée dans la fraction n-butanol de l'extrait brut hydrométhanolique préparé par macération $Fn-B_M$ de l'ordre de $56,02 \pm 1,5$ mg EC/g. Quant aux flavonols, les teneurs sont nettement plus importantes que celles des flavonoïdes et des polyphénols notamment dans les extraits bruts hydrométhanoliques et les fractions acétate d'éthyle. La concentration la plus élevée est notée dans la fraction acétate d'éthyle de l'extrait brut hydrométhanolique préparé par infusion FAC_I de l'ordre de $222,17 \pm 0,8$ mg EQ/g (Tableau 8). Nous constatons également qu'il n'y a pas de différence significative entre les teneurs des extraits préparés par infusion et macération ce qui nous permet d'observer que la température n'a pas d'effet important sur l'extraction des composés phénoliques de cette plante.

Tableau 8: Teneurs en polyphénols, en flavonoïdes et en flavonols totaux des extraits d'*A.leucotrichus*

	Teneurs en polyphénols (mg EAG/g extrait)	Teneurs en flavonoïdes (mg EC/g extrait)	Teneurs en flavonols (mg EQ/g extrait)
<i>EB_M</i>	$45,69 \pm 0,3$	$18,94 \pm 0,4$	$145,47 \pm 0,6$
<i>FAC_M</i>	$51,67 \pm 0,5$	$47,37 \pm 0,8$	$168,25 \pm 0,4$
<i>Fn-B_M</i>	$41,86 \pm 0,9$	$56,02 \pm 1,5$	$56,34 \pm 1,4$
<i>EB_I</i>	$39,3 \pm 0,7$	$18,62 \pm 1,2$	$128,77 \pm 0,5$
<i>FAC_I</i>	$43,57 \pm 0,8$	$50,11 \pm 0,6$	$222,17 \pm 0,8$
<i>Fn-B_I</i>	$44,78 \pm 0,3$	$44,73 \pm 0,7$	$56,25 \pm 0,9$

EB extrait brut, *FAC* fraction acétate d'éthyle, *Fn-B* fraction n-butanol, *I* infusion,
M macération

Traganum nudatum

L'examen des résultats montre que les extraits présentent des taux variables en composés phénoliques (Tableau 9). D'une part, les fractions acétate d'éthyle et n-butanol sont plus riches que les extraits bruts hydrométhanoliques, d'autre part les fractions acétate d'éthyle sont plus riches que les fractions n-butanol. Les teneurs les plus élevées en polyphénols sont enregistrées dans les fractions acétate d'éthyle et n-butanol. En fait, la fraction FAC_I se montre la plus riche avec un taux de $415,32 \pm 0,37$ mg EAG /g alors que les extraits bruts hydrométhanoliques EB_I et EB_M présentent les taux les plus faibles de l'ordre de $24,34 \pm 0,3$ et $30,46 \pm 0,6$ mg EAG/g respectivement. Les teneurs en flavonoïdes totaux sont relativement faibles par rapport aux teneurs en polyphénols et en flavonols. En fait, elles varient de $7,65 \pm 0,4$ à $92,58 \pm 1,8$ mg EC/g, la teneur la plus élevée est enregistrée dans la fraction FAC_I de l'ordre de $92,58 \pm 1,8$ mg EC/g. Les taux des flavonols sont les plus importants, la teneur la plus élevée est enregistrée dans la fraction acétate d'éthyle de l'extrait brut hydrométhanolique préparé par macération FAC_M de l'ordre de $302,88 \pm 0,92$ mg EQ/g.

Tableau 9: Teneurs en polyphénols, en flavonoïdes et en flavonols totaux des extraits de *T.nudatum*

	Teneurs en polyphénols (mg EAG/g extrait)	Teneurs en flavonoïdes (mg EC/g extrait)	Teneurs en flavonols (mg EQ/g extrait)
<i>EB_M</i>	$30,46 \pm 0,6$	$8,37 \pm 0,8$	$197,93 \pm 0,5$
<i>FAC_M</i>	$212,88 \pm 0,8$	$59,24 \pm 0,3$	$302,88 \pm 0,92$
<i>F_n-B_M</i>	$152,53 \pm 1,3$	$32,41 \pm 0,7$	$186 \pm 1,87$
<i>EB_I</i>	$24,34 \pm 0,3$	$7,65 \pm 0,4$	$206,1 \pm 0,6$
<i>FAC_I</i>	$415,32 \pm 0,3$	$92,58 \pm 1,8$	$90,36 \pm 0,3$
<i>F_n-B_I</i>	$226,87 \pm 0,4$	$52,41 \pm 0,5$	$127,39 \pm 0,7$

EB extrait brut, *FAC* fraction acétate d'éthyle, *F_n-B* fraction n-butanol, *I* infusion,
M macération

4. Activité antioxydante

4.1. Piégeage du radical libre DPPH

Ammodaucus leucotrichus

L'ensemble des extraits d'*A. leucotrichus* ont la capacité à réduire le radical libre DPPH et ceci d'une manière dose-dépendante. À une concentration de 300 µg/ml, ils atteignent tous plus de 80 % de réduction (Figures 21, 22, 23, 24, 25, 26). Les extraits bruts hydrométhanoliques se montrent moins efficaces que leurs fractions acétate d'éthyle et n-butanol. L'activité la plus importante est enregistrée à la fois dans la fraction Fn-B_M et dans la fraction FAc_I avec la même valeur CI₅₀ de l'ordre de 30 ± 1,4 et de 30 ± 0,26 µg/ml respectivement. Les valeurs CI₅₀ des différents extraits varient de 30 ± 1,4 à 110 ± 0,4 µg / ml et sont dans l'ordre suivant: Fn-B_M et FAc_I < FAc_M < EB_M et Fn-B_I < EB_I (Figure 27). En général, les extraits préparés par macération possèdent un effet meilleur par rapport à l'infusion, toutefois ils démontrent une activité modérée par rapport au contrôle positif.

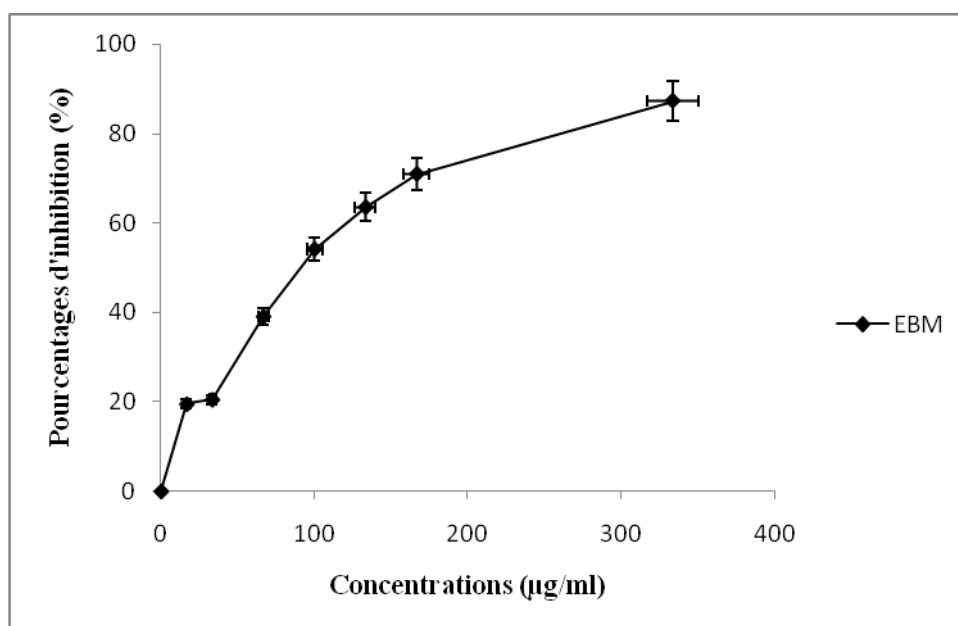


Figure 21: Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de l'extrait brut hydrométhanolique d'*A. leucotrichus* préparé par macération

EB extrait brut, *M* macération

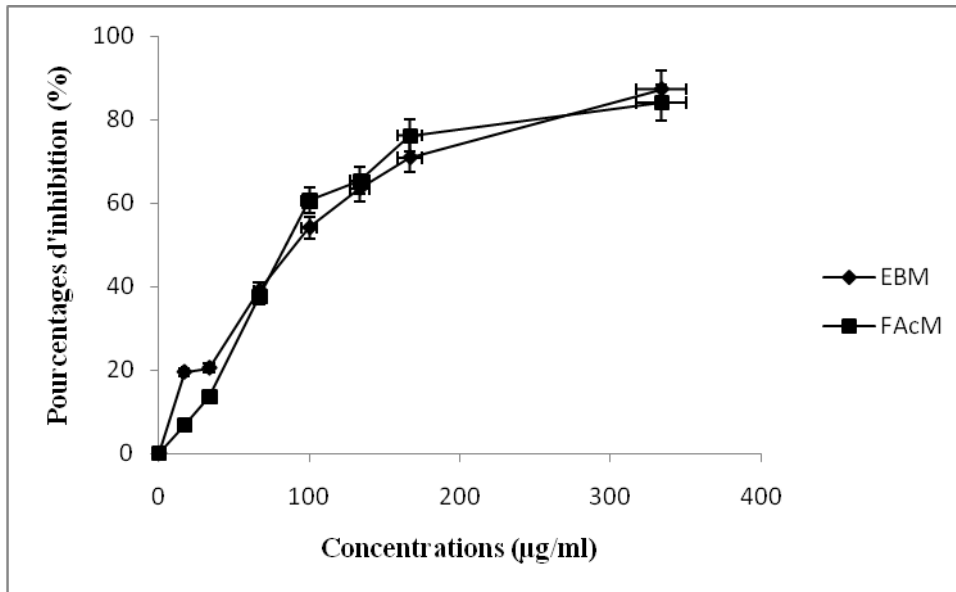


Figure 22: Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de la fraction acétate d'éthyle de l'extrait brut hydrométhanolique d' *A. leucotrichus* préparé par macération
EB extrait brut, *FAc* fraction acétate d'éthyle, *M* macération

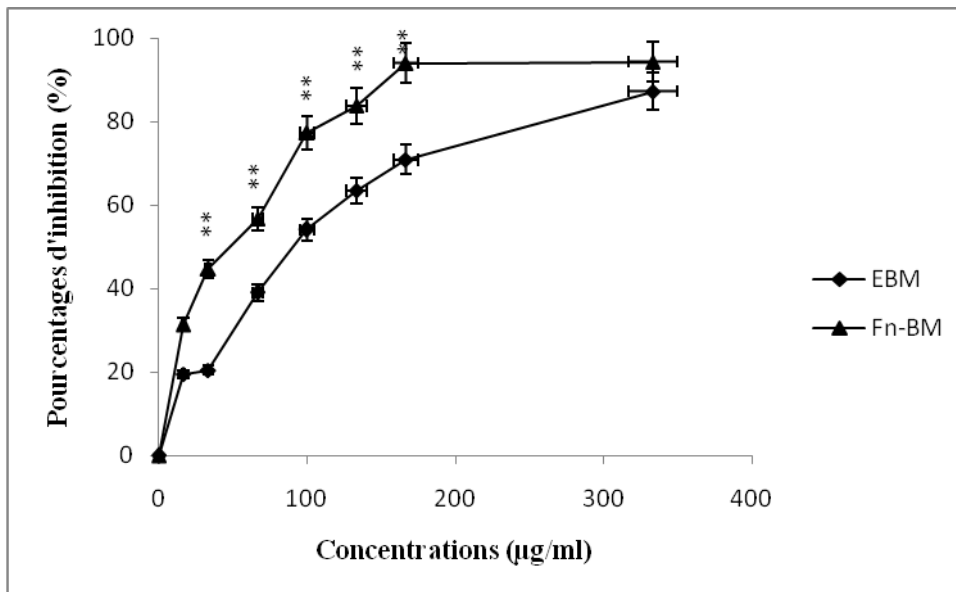


Figure 23: Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de la fraction n-butanol de l'extrait brut hydrométhanolique d' *A. leucotrichus* préparé par macération

EB extrait brut, *Fn-B* fraction n-butanol, *M* macération

* Comparaison entre l'extrait brut hydrométhanolique d' *A. leucotrichus* préparé par macération et sa fraction n-butanol, ** $p < 0.01$ très significative

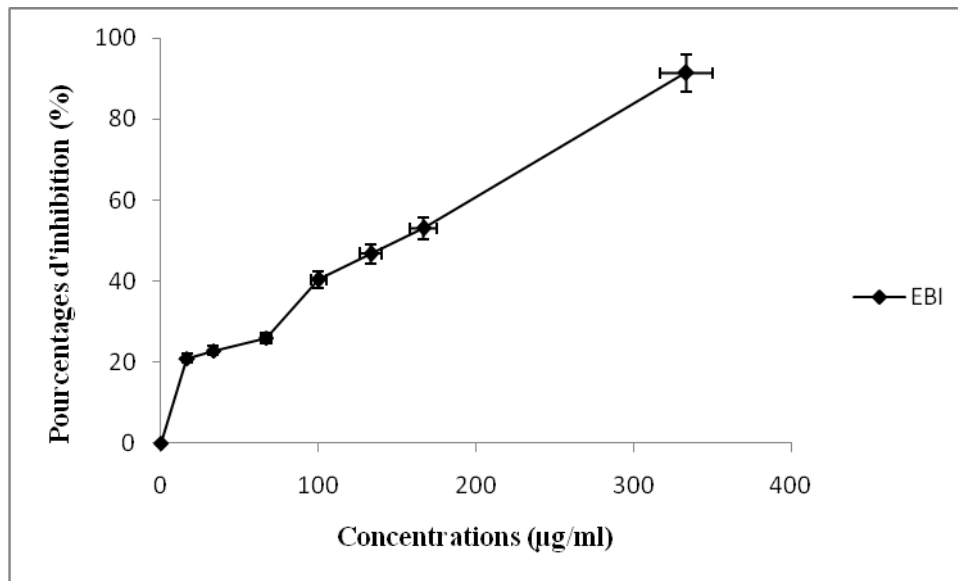


Figure 24: Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de l'extrait brut hydrométhanolique d' *A. leucotrichus* préparé par infusion
EB extrait brut, I infusion

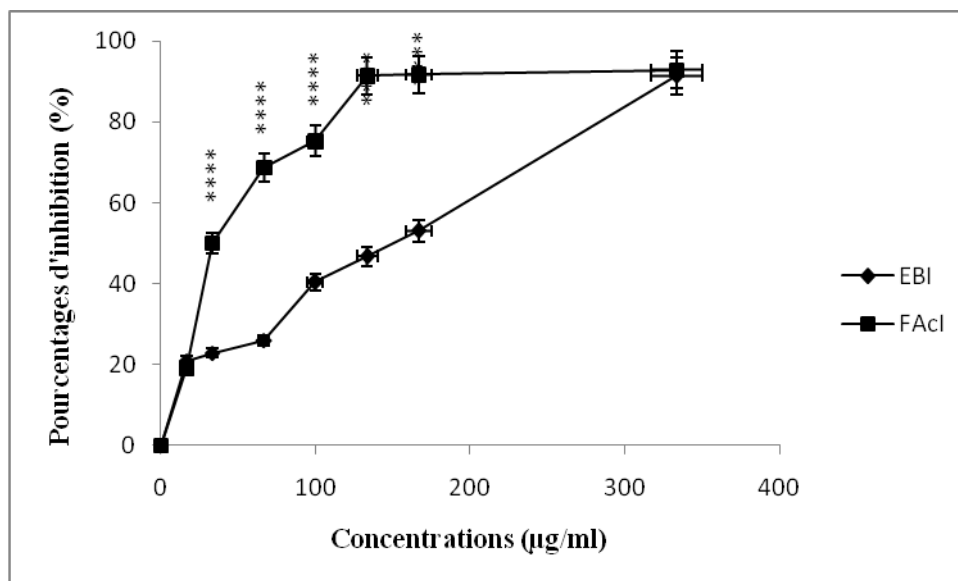


Figure 25: Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de la fraction acétate d'éthyle de l'extrait brut hydrométhanolique d'*A. leucotrichus* préparé par infusion

EB extrait brut, FAc fraction acétate d'éthyle, I infusion

* Comparaison entre l'extrait brut hydrométhanolique d'*A. leucotrichus* préparé par infusion et sa fraction acétate d'éthyle, **** $p < 0.0001$ très hautement significative

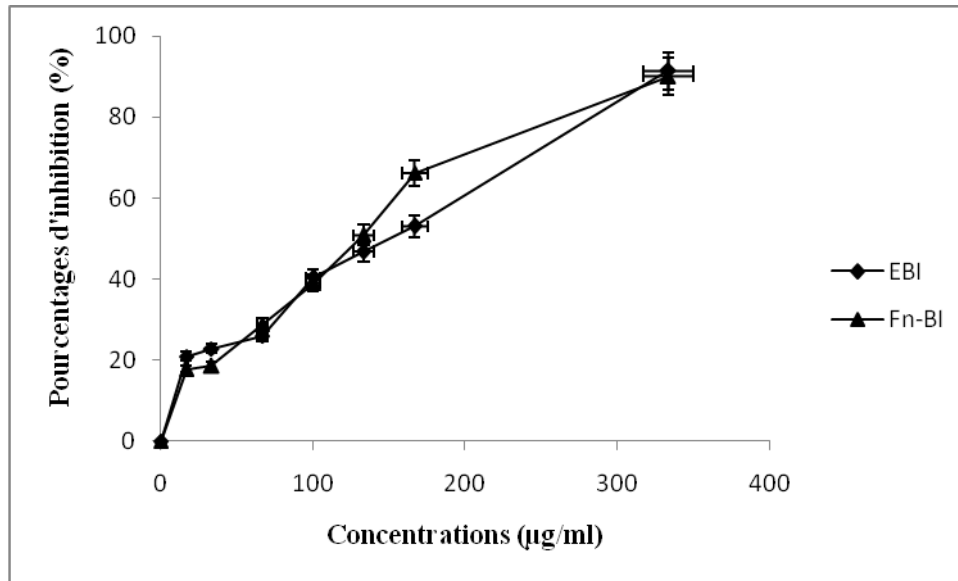


Figure 26: Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de la fraction n-butanol de l'extrait brut hydrométhanolique d'*A. leucotrichus* préparé par infusion

EB extrait brut, Fn-B fraction n-butanol, I infusion

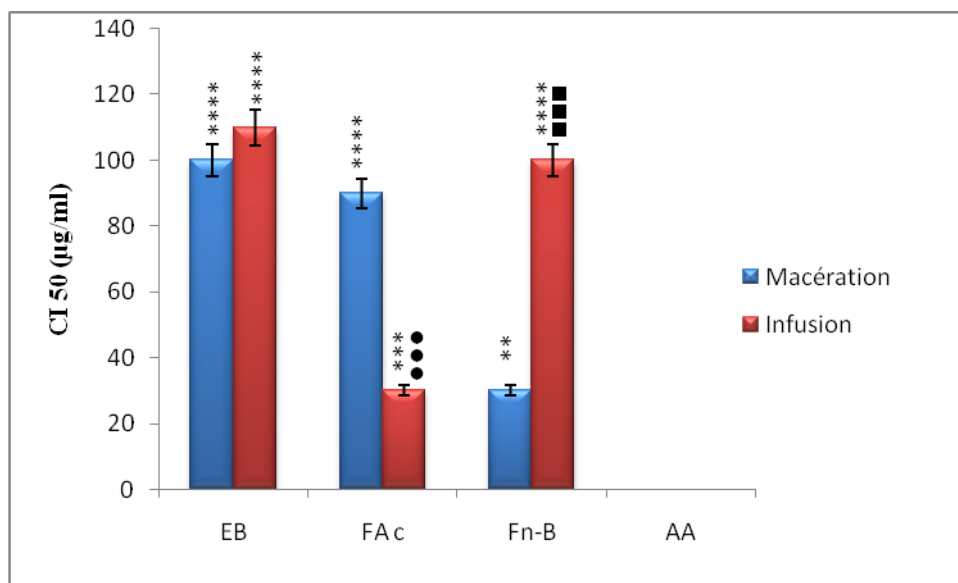


Figure 27: Concentrations inhibitrices CI₅₀ des extraits d'*A. leucotrichus*

EB extrait brut, FAc fraction acétate d'éthyle, Fn-B fraction n-butanol, I infusion, M macération, AA: acide ascorbique

* Comparaison entre les extraits et l'acide ascorbique

• Comparaison entre la fraction acétate d'éthyle de l'extrait brut hydrométhanolique d'*A. leucotrichus* préparé par macération et la fraction acétate d'éthyle de l'extrait brut hydrométhanolique d'*A. leucotrichus* préparé par infusion

■ Comparaison entre la fraction n-butanol de l'extrait brut hydrométhanolique d'*A. leucotrichus* préparé par macération et la fraction n-butanol de l'extrait brut hydrométhanolique d'*A. leucotrichus* préparé par infusion

* p < 0.05 significative, ** p < 0.01 très significative, *** p < 0.001 hautement significative,

**** p < 0.0001 très hautement significative

Traganum nudatum

Nous constatons que tous les extraits de *T. nudatum* sont dotés d'un pouvoir de piégeage du radical libre DPPH avec des pourcentages d'inhibition de plus de 70 % à une concentration de 300 µg/ml, nous constatons également que les pourcentages d'inhibition sont proportionnels aux concentrations des différents extraits (Figures 28, 29, 30, 31, 32, 33) et que c'est les fractions acétate d'éthyle qui possèdent la meilleure activité réductrice du DPPH suivies par les fractions n-butanol puis les extraits bruts hydrométhanoliques, il s'avère aussi que les extraits obtenus par macération exercent un effet significativement meilleur à celui des extraits obtenus par infusion. Les valeurs des CI_{50} varient entre $20 \pm 0,11$ et $120 \pm 0,63$ µg/ml et sont classées comme suit $FAC_M < Fn-B_M < FAC_I < EB_M < Fn-B_I < EB_I$ (Figure 34), la fraction FAC_M présente la valeur CI_{50} la plus faible $20 \pm 0,11$ µg/ml et par conséquent le pouvoir inhibiteur le plus important. Cependant, l'activité de l'ensemble des extraits est plus faible de celle de l'acide ascorbique qui présente une valeur de CI_{50} de $1 \pm 0,14$ µg/ml seulement.

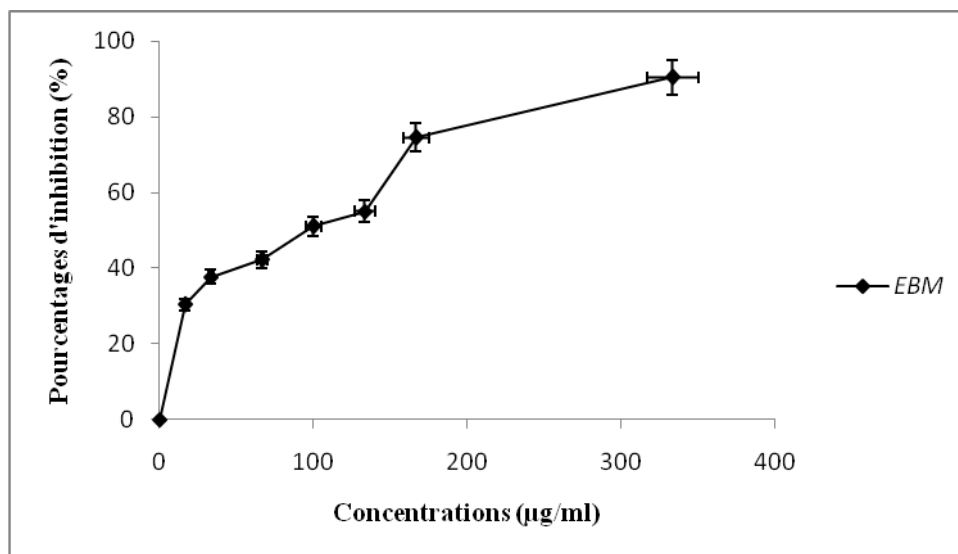


Figure 28: Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de l'extrait brut hydrométhanolique de *T. nudatum* préparé par macération

EB extrait brut, *M* macération

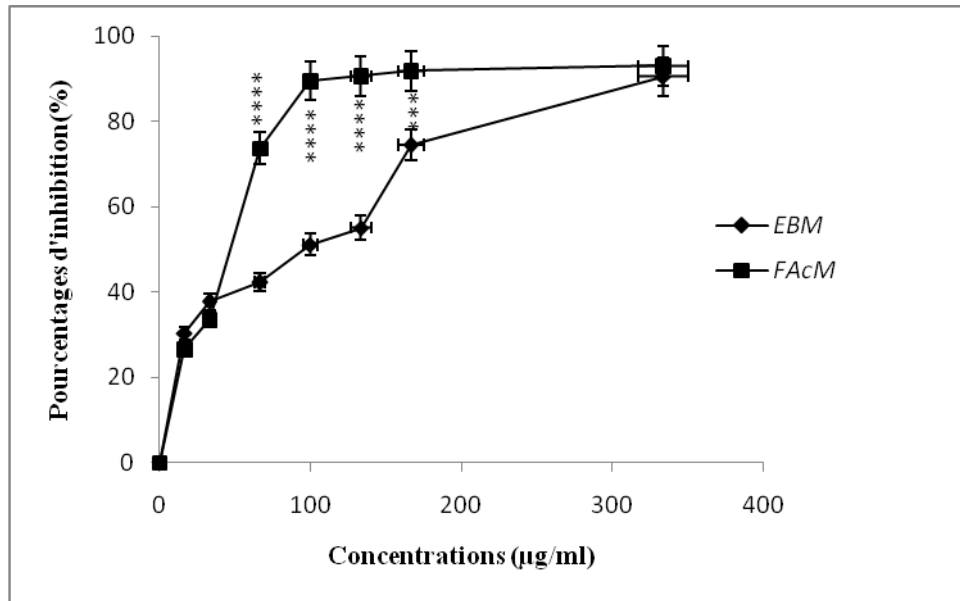


Figure 29: Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de la fraction acétate d'éthyle de l'extrait brut hydrométhanolique de *T. nudatum* préparé par macération

EB extrait brut, *FAc* fraction acétate d'éthyle, *M* macération,

* Comparaison entre l'extrait brut hydrométhanolique de *T. nudatum* préparé par macération et sa fraction acétate d'éthyle, **** $p < 0.0001$ très hautement significative

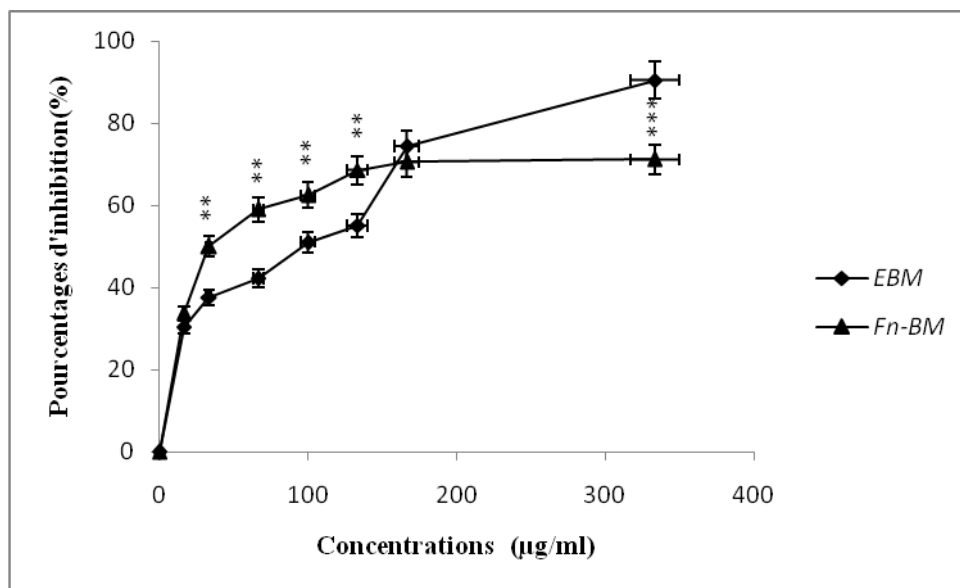


Figure 30: Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de la fraction n-butanol de l'extrait brut hydrométhanolique de *T. nudatum* préparé par macération

EB extrait brut, *Fn-B* fraction n-butanol, *M* macération

* Comparaison entre l'extrait brut hydrométhanolique de *T. nudatum* préparé par macération et sa fraction n-butanol, ** $p < 0.01$ très significative, *** $p < 0.001$ hautement significative

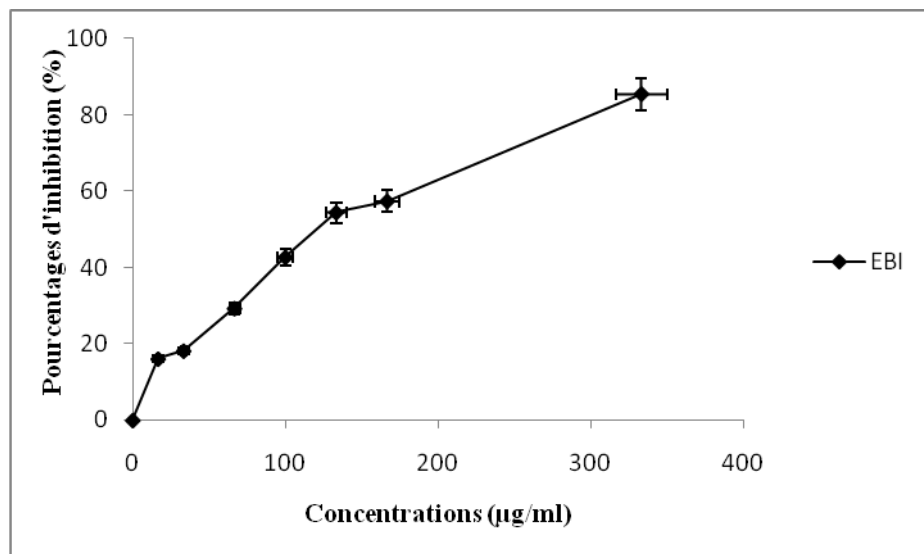


Figure 31: Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de l'extrait brut hydrométhanolique de *T. nudatum* préparé par infusion
EB extrait brut, *I* infusion

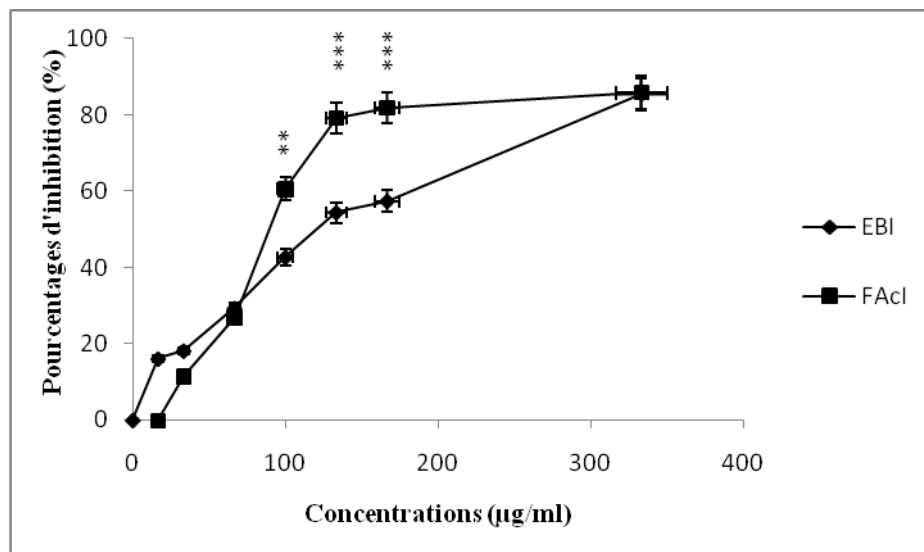


Figure 32: Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de la fraction acétate d'éthyle de l'extrait brut hydrométhanolique de *T. nudatum* préparé par infusion

EB extrait brut, *FAc* fraction acétate d'éthyle, *I* infusion

*Comparaison entre l'extrait brut hydrométhanolique de *T. nudatum* préparé par infusion et sa fraction acétate d'éthyle, ** $p < 0.01$ très significative, *** $p < 0.001$ hautement significative

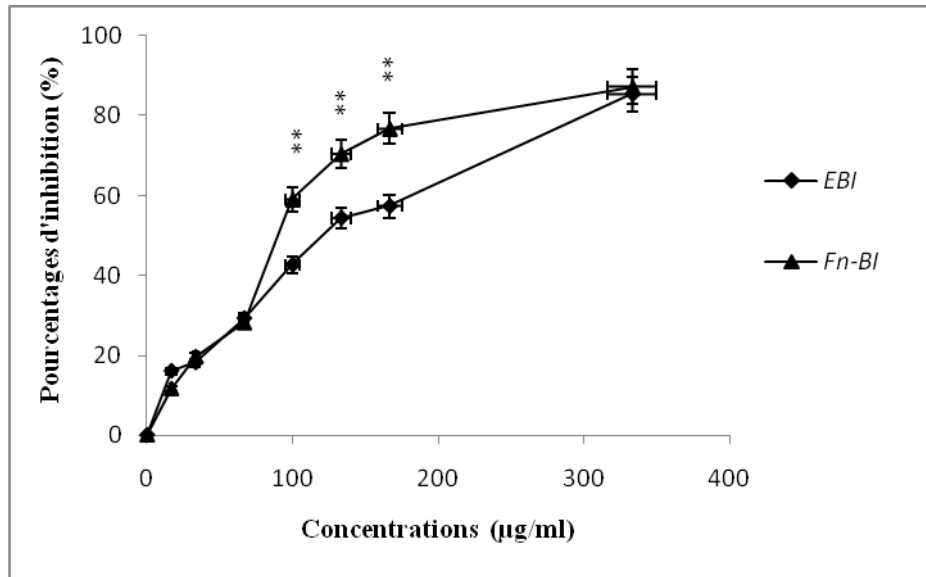


Figure 33: Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de la fraction n-butanol de l'extrait brut hydrométhanolique de *T. nudatum* préparé par infusion

EB extrait brut, *Fn-B* fraction n-butanol, *I* infusion

* Comparaison entre l'extrait brut hydrométhanolique de *T. nudatum* préparé par infusion et sa fraction n-butanol, ** $p < 0.01$ très significative

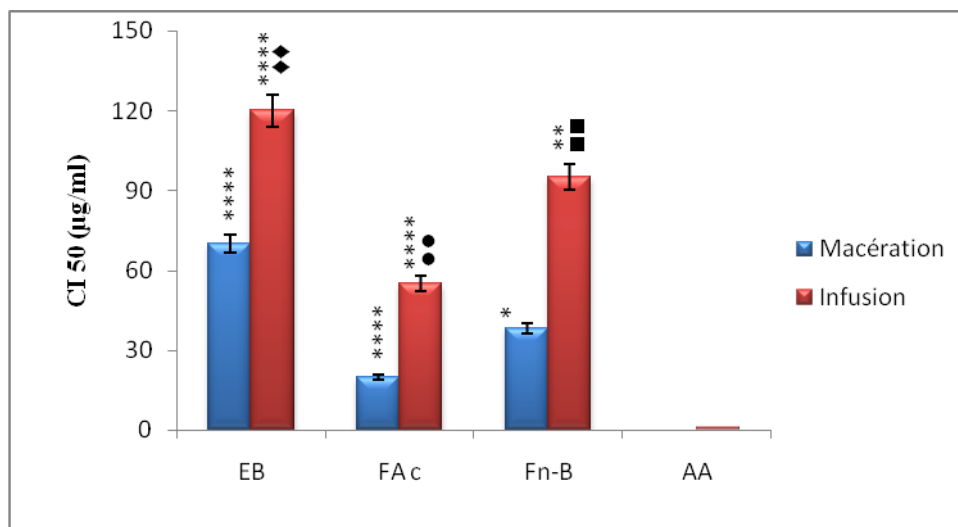


Figure 34: Concentrations inhibitrices CI_{50} des extraits de *T. nudatum*

EB extrait brut, *FAc* fraction acétate d'éthyle, *Fn-B* fraction n-butanol, *I* infusion, *M* macération, *AA* acide ascorbique

*Comparaison entre les extraits et l'acide ascorbique

♦ Comparaison entre l'extrait brut hydrométhanolique de *T. nudatum* préparé par macération et l'extrait brut hydrométhanolique de *T. nudatum* préparé par infusion

• Comparaison entre la fraction acétate d'éthyle de l'extrait brut hydrométhanolique de *T. nudatum* préparé par macération et la fraction acétate d'éthyle de l'extrait brut hydrométhanolique de *T. nudatum* préparé par infusion

■ Comparaison entre la fraction n-butanol de l'extrait brut hydrométhanolique de *T. nudatum* préparé par macération et la fraction n-butanol de l'extrait brut hydrométhanolique de *T. nudatum* préparé par infusion

* $p < 0.05$ significative, ** $p < 0.01$ très significative, **** $p < 0.0001$ très hautement significative

4.2. Capacité antioxydante totale CAT

Ammodaucus leucotrichus

Pour *A. leucotrichus*, les extraits testés présentent une capacité de réduction des ions molybdate comprise entre $20,52 \pm 2,2$ et $134,79 \pm 1,8$ mg EAA/g dans l'ordre suivant: $EB_I < EB_M < Fn-B_M < Fn-B_I < FAc_I < FAc_M$ (Figure 35). Il s'avère que la fraction FAc_M est la plus active avec une capacité antioxydante totale de $134,79 \pm 1,8$ mg EAA/g et que les extraits bruts hydrométhanoliques sont les moins actifs.

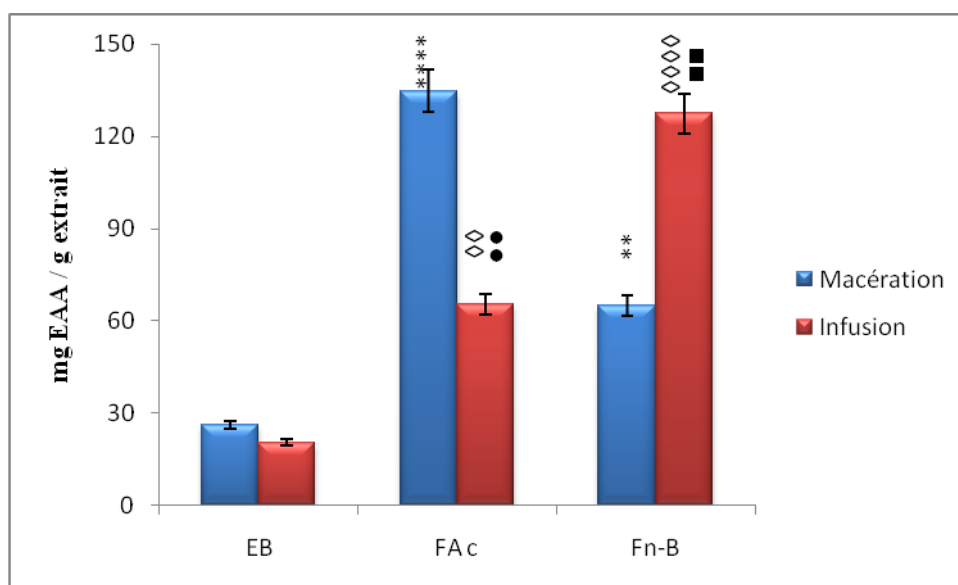


Figure 35: Capacité antioxydante totale des extraits d'*A. leucotrichus*

EB extrait brut, *FAc* fraction acétate d'éthyle, *Fn-B* fraction n-butanol

*Comparaison entre l'extrait brut hydrométhanolique d'*A. leucotrichus* préparé par macération et ses fractions acétate d'éthyle et n-butanol

◇ Comparaison entre l'extrait brut hydrométhanolique d'*A. leucotrichus* préparé par infusion et ses fractions acétate d'éthyle et n-butanol

● Comparaison entre la fraction acétate d'éthyle de l'extrait brut hydrométhanolique d'*A. leucotrichus* préparé par macération et la fraction acétate d'éthyle de l'extrait brut hydrométhanolique d'*A. leucotrichus* préparé par infusion

■ Comparaison entre la fraction n-butanol de l'extrait brut hydrométhanolique d'*A. leucotrichus* préparé par macération et la fraction n-butanol de l'extrait brut hydrométhanolique d'*A. leucotrichus* préparé par infusion
 ** $p < 0.01$ très significative, **** $p < 0.0001$ très hautement significative

Traganum nudatum

Les résultats montrent une variabilité des valeurs comprise entre $52,75 \pm 0,67$ et $200,21 \pm 0,2$ mg EAA /g (Figure 36), le classement de l'activité des différents extraits de *T. nudatum* est le suivant: $EB_M < EB_I < FAc_M < Fn-B_I < FAc_I < Fn-B_M$, nous notons que les fractions acétate d'éthyle et n-butanol sont significativement plus actives par rapport aux extraits bruts hydrométhanoliques et que la fraction $Fn-B_M$ possède la meilleure capacité antioxydante de l'ordre de $200,21 \pm 0,2$ mg EAA/g.

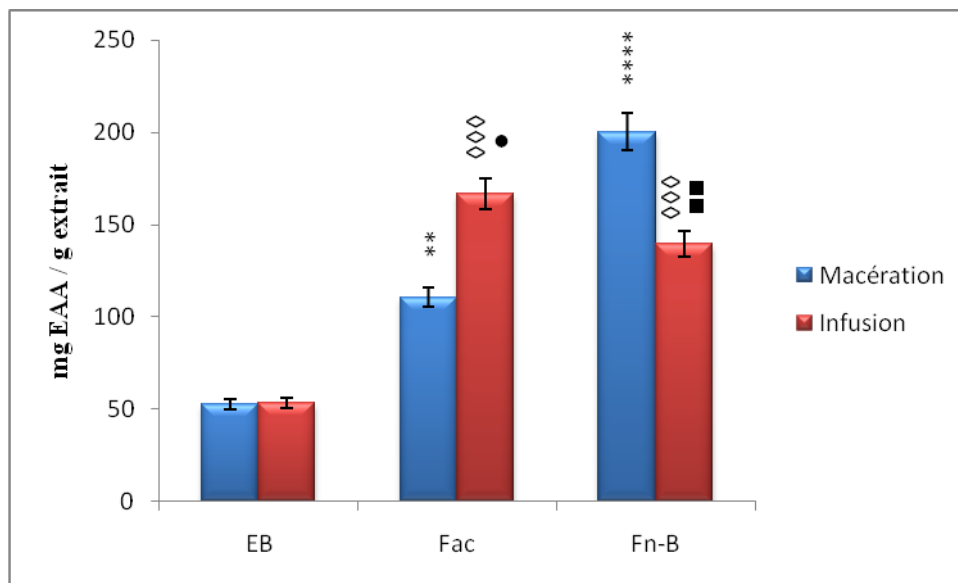


Figure 36: Capacité antioxydante totale des extraits de *T. nudatum*

EB extrait brut, *FAc* fraction acétate d'éthyle, *Fn-B* fraction n-butanol, *I* infusion, *M* macération

*Comparaison entre l'extrait brut hydrométhanolique de *T. nudatum* préparé par macération et ses fractions acétate d'éthyle et n-butanol

◇ Comparaison entre l'extrait brut hydrométhanolique de *T. nudatum* préparé par infusion et ses fractions acétate d'éthyle et n-butanol

• Comparaison entre la fraction acétate d'éthyle de l'extrait brut hydrométhanolique de *T. nudatum* préparé par macération et la fraction acétate d'éthyle de l'extrait brut hydrométhanolique de *T. nudatum* préparé par infusion

▪ Comparaison entre la fraction n-butanol de l'extrait brut hydrométhanolique de *T. nudatum* préparé par macération et la fraction n-butanol de l'extrait brut hydrométhanolique de *T. nudatum* préparé par infusion

* $p < 0.05$ significative, ** $p < 0.01$ très significative, *** $p < 0.001$ hautement significative, **** $p < 0.0001$ très hautement significative

4.3. Pouvoir réducteur de fer (FRAP)

Ammodaucus leucotrichus

Nous remarquons que les extraits préparés par macération donnent des résultats relativement meilleurs que ceux préparés par infusion (Figures 37, 38, 39, 40, 41, 42). Le pouvoir réducteur le plus élevé est évident dans les fractions acétate d'éthyle FAC_M et FAC_I avec des valeurs de CE_{50} de $24 \pm 1,1$ et $30 \pm 1,8 \mu\text{g} / \text{ml}$, respectivement. Les valeurs de CE_{50} des extraits varient de $24 \pm 1,1$ à $80 \pm 0,7 \mu\text{g/ml}$ et sont dans l'ordre suivant: $FAC_M < FAC_I < Fn-B_M < EB_M < Fn-B_I < EB_I$ (Figure 43). Toutefois, les extraits sont significativement moins efficaces que l'acide ascorbique.

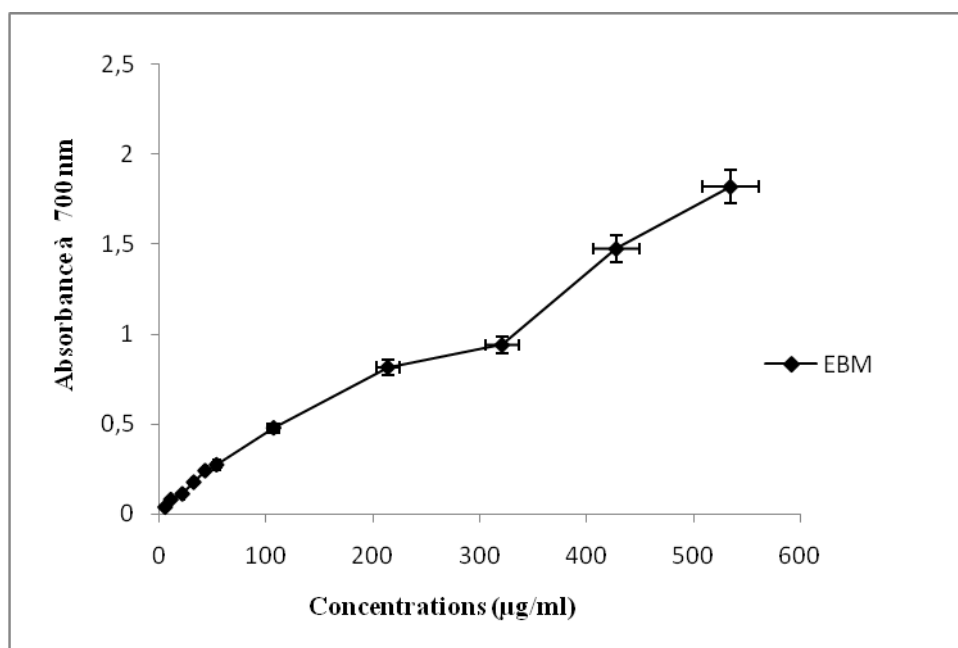


Figure 37: Pouvoir réducteur de fer en fonction des différentes concentrations de l'extrait brut hydrométhanolique d'*A. leucotrichus* préparé par macération

EB extrait brut, *M* macération

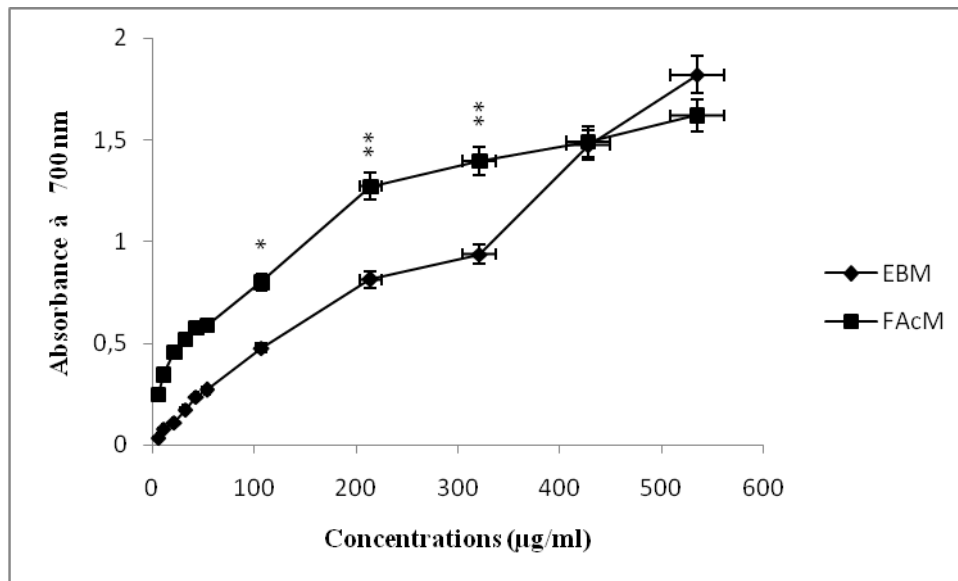


Figure 38: Pouvoir réducteur de fer en fonction des différentes concentrations de la fraction acétate d'éthyle de l'extrait brut hydrométhanolique d'*A. leucotrichus* préparé par macération

EB extrait brut, *FAc* fraction acétate d'éthyle, *M* macération

* Comparaison entre l'extrait brut hydrométhanolique d'*A. leucotrichus* préparé par macération et sa fraction acétate d'éthyle

* $p < 0.05$ significative, ** $p < 0.01$ très significative

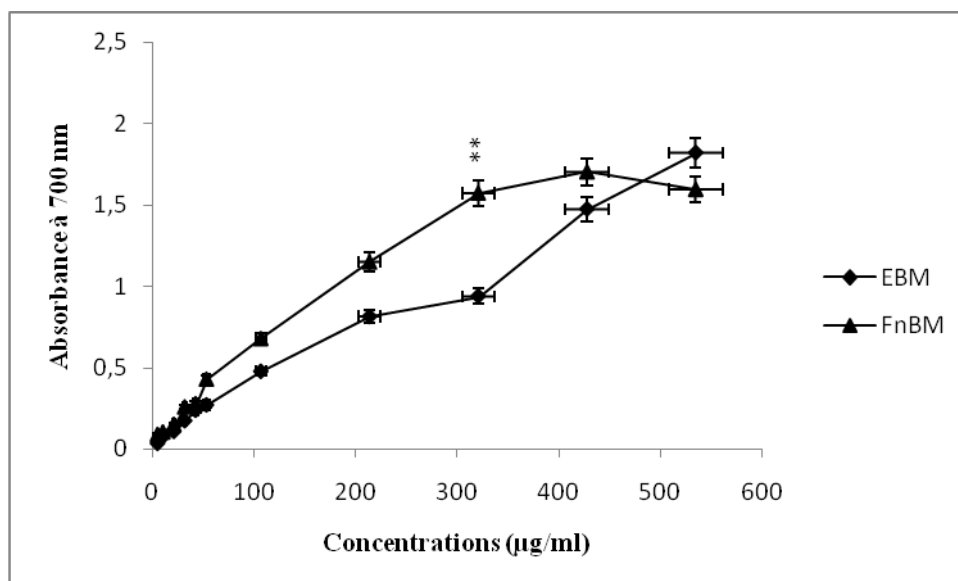


Figure 39: Pouvoir réducteur de fer en fonction des différentes concentrations de la fraction n-butanol de l'extrait brut hydrométhanolique d'*A. leucotrichus* préparé par macération

EB extrait brut, *FnB* fraction n-butanol, *M* macération

* Comparaison entre l'extrait brut hydrométhanolique d'*A. leucotrichus* préparé par macération et sa fraction n-butanol, ** $p < 0.01$ très significative

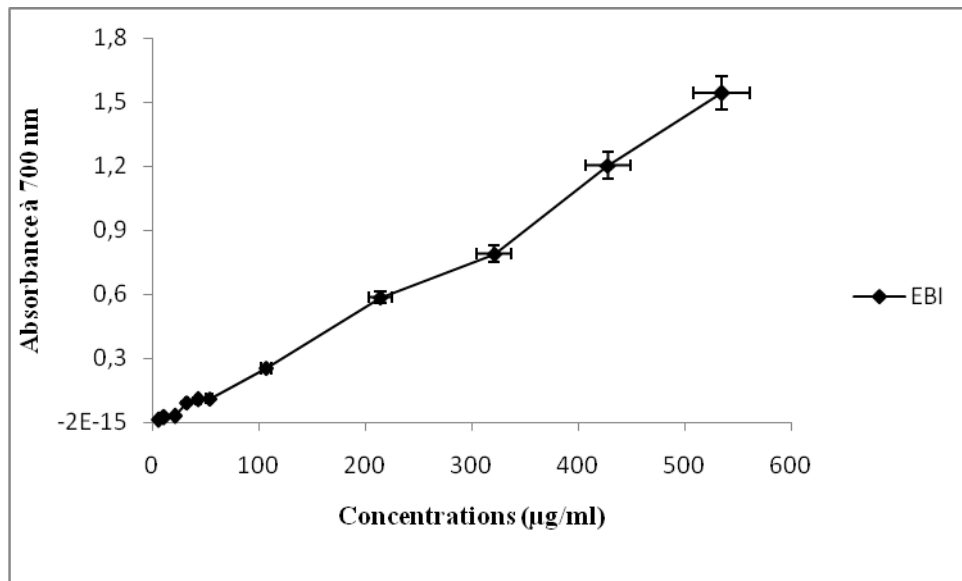


Figure 40: Pouvoir réducteur de fer en fonction des différentes concentrations de l'extrait brut hydrométhanolique d'*A. leucotrichus* préparé par infusion

EB extrait brut, *I* infusion

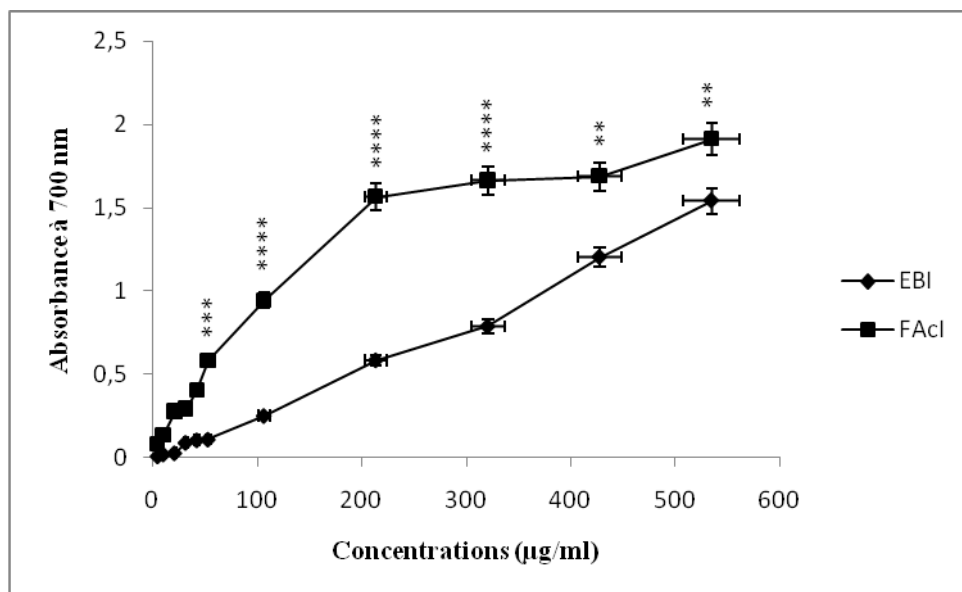


Figure 41: Pouvoir réducteur de fer en fonction des différentes concentrations de la fraction acétate d'éthyle de l'extrait brut hydrométhanolique d'*A. leucotrichus* préparé par infusion

EB extrait brut, *FAc* fraction acétate d'éthyle, *I* infusion

* Comparaison entre l'extrait brut hydrométhanolique d'*A. leucotrichus* préparé par infusion et sa fraction acétate d'éthyle

** $p < 0.01$ très significative, *** $p < 0.001$ hautement significative, **** $p < 0.0001$ très hautement significative

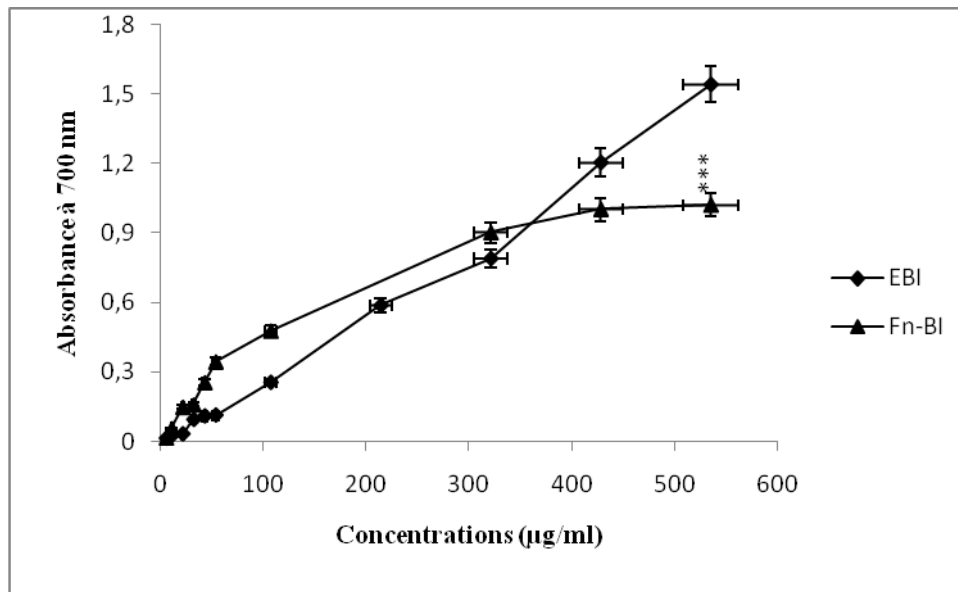


Figure 42: Pouvoir réducteur de fer en fonction des différentes concentrations de la fraction n-butanol de l'extrait brut hydrométhanolique d'*A. leucotrichus* préparé par infusion

EB extrait brut, *Fn-B* fraction n-butanol, *I* infusion

* Comparaison entre l'extrait brut hydrométhanolique d'*A. leucotrichus* préparé par infusion et sa fraction n-butanol

*** $p < 0.001$ hautement significative

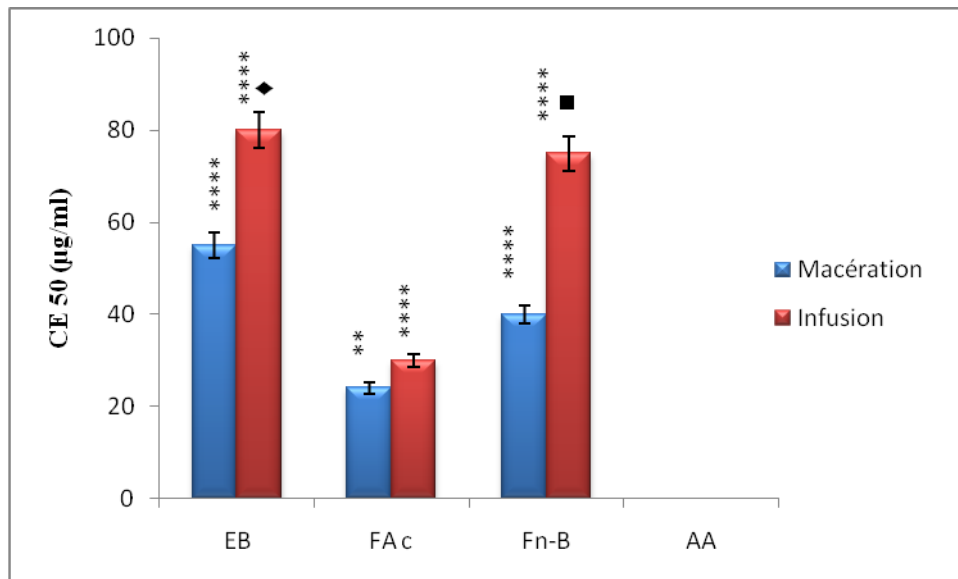


Figure 43: Concentrations efficaces CE₅₀ des extraits d'*A. leucotrichus*

EB extrait brut, *FAc* fraction acétate d'éthyle, *Fn-B* fraction n-butanol, *I* infusion, *M* macération, *AA*: acide ascorbique

* Comparaison entre les extraits et l'acide ascorbique

♦ Comparaison entre l'extrait brut hydrométhanolique d'*A. leucotrichus* préparé par macération et l'extrait brut hydrométhanolique d'*A. leucotrichus* préparé par infusion

■ Comparaison entre la fraction n-butanol de l'extrait brut hydrométhanolique d'*A. leucotrichus* préparé par macération et la fraction n-butanol de l'extrait brut hydrométhanolique d'*A. leucotrichus* préparé par infusion

* $p < 0.05$ significative, ** $p < 0.01$ très significative, **** $p < 0.0001$ très hautement significative

Traganum nudatum

Les figures montrent une augmentation proportionnelle de la réduction du fer des différents extraits de *T. nudatum* en fonction de leurs concentrations (Figures 44, 45, 46, 47, 48, 49). Il s'avère également que les extraits bruts hydrométhanoliques présentent significativement une faible activité réductrice par rapport à leurs fractions et que les fractions acétate d'éthyle sont plus efficaces que les fractions n-butanol, la fraction FAc_I exerce la plus forte réduction avec une absorbance de $0,5 \text{ à } 35 \pm 0,4 \text{ } \mu\text{g/ml}$ (Figure 50). Les valeurs des CE₅₀ des échantillons sont classées comme suit: FAc_I < Fn-B_I < FAc_M < Fn-B_M < EB_M < EB_I Cependant, l'acide ascorbique se trouve le plus puissant par rapport à tous les extraits.

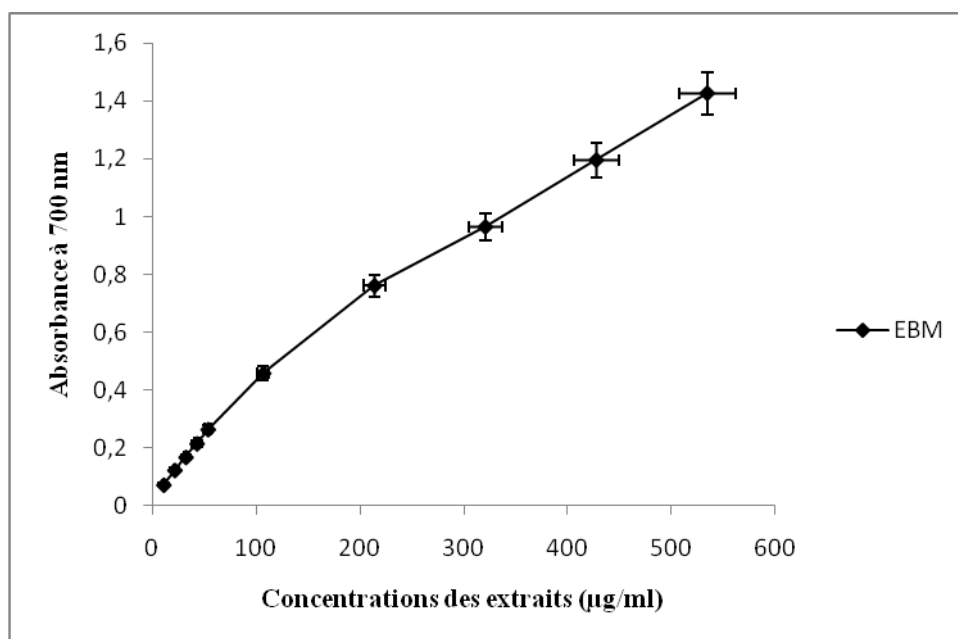


Figure 44: Pouvoir réducteur de fer en fonction des différentes concentrations de l'extrait brut hydrométhanolique de *T. nudatum* préparé par macération

EB extrait brut, *M* macération

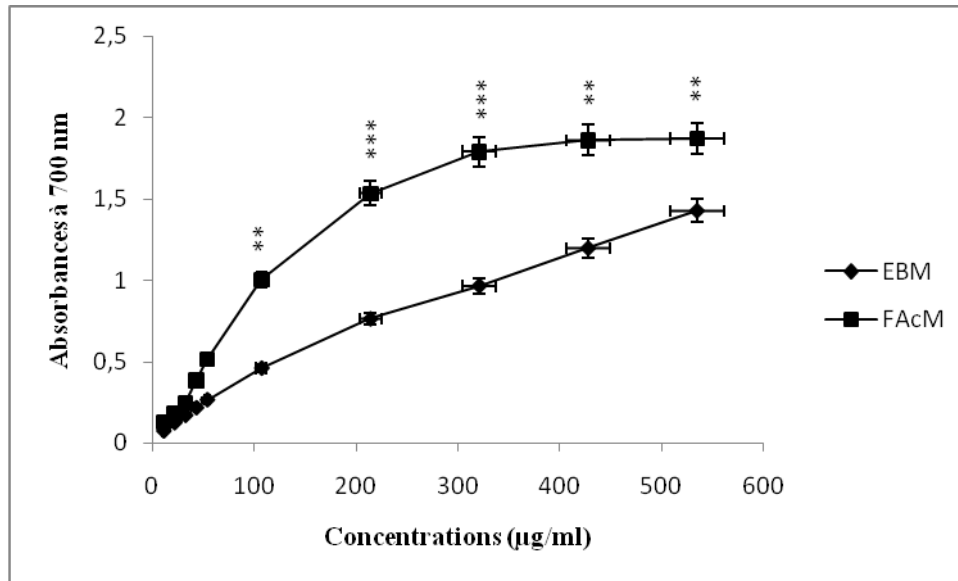


Figure 45: Pouvoir réducteur de fer en fonction des différentes concentrations de la fraction acétate d'éthyle de l'extrait brut hydrométhanolique de *T. nudatum* préparé par macération

EB extrait brut, *FAC* fraction acétate d'éthyle, *M* macération

* Comparaison entre l'extrait brut hydrométhanolique de *T. nudatum* préparé par macération et sa fraction acétate d'éthyle

** $p < 0.01$ très significative, *** $p < 0.001$ hautement significative

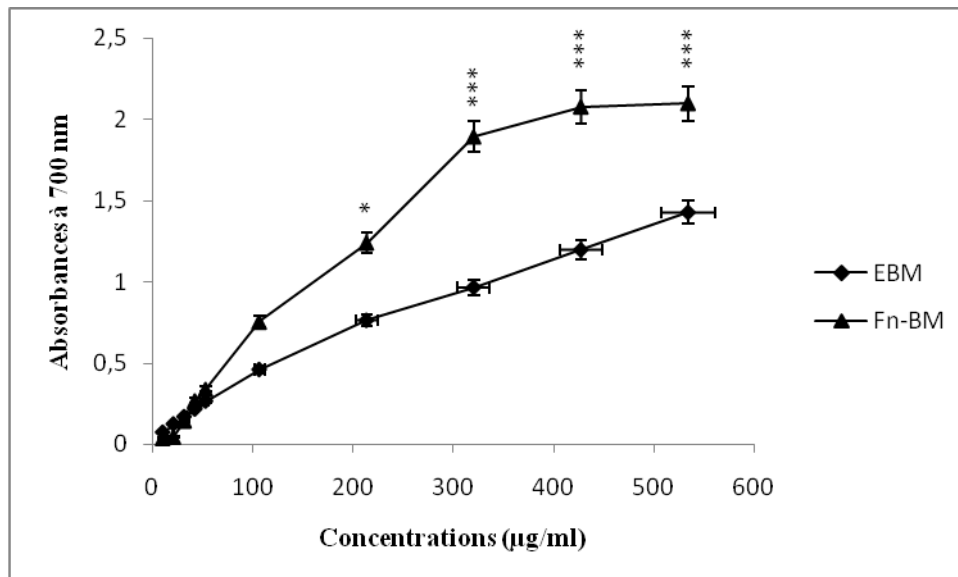


Figure 46: Pouvoir réducteur de fer en fonction des différentes concentrations de la fraction n-butanol de l'extrait brut hydrométhanolique de *T. nudatum* préparé par macération

EB extrait brut, *Fn-B* fraction n-butanol, *M* macération

* Comparaison entre l'extrait brut hydrométhanolique de *T. nudatum* préparé par macération et sa fraction n-butanol

* $p < 0.05$ significative, *** $p < 0.001$ hautement significative

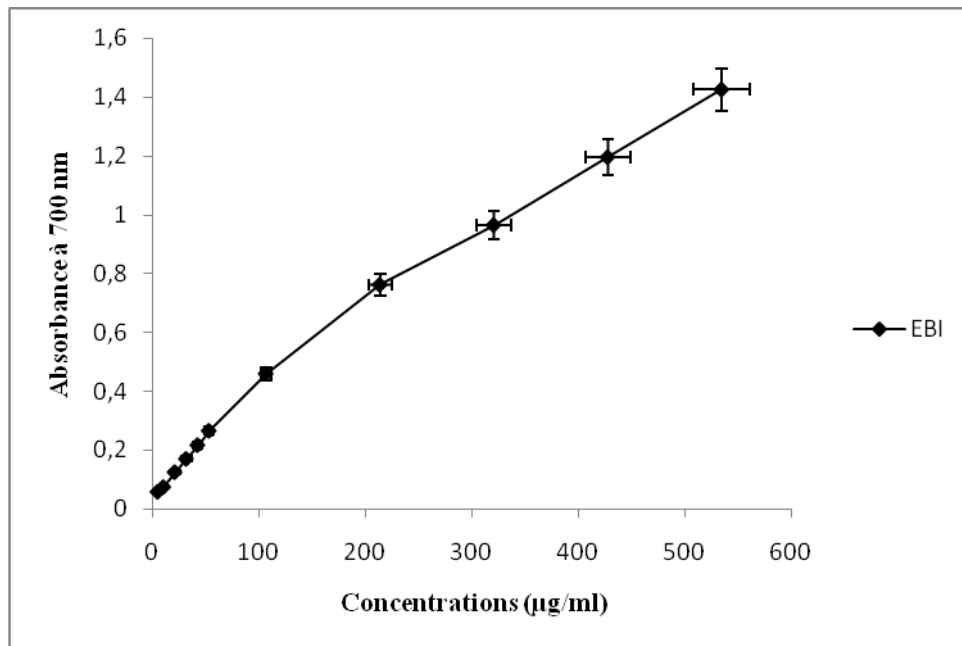


Figure 47: Pouvoir réducteur de fer en fonction des différentes concentrations de l'extrait brut hydrométhanolique de *T. nudatum* préparé par infusion

EB extrait brut, *I* infusion

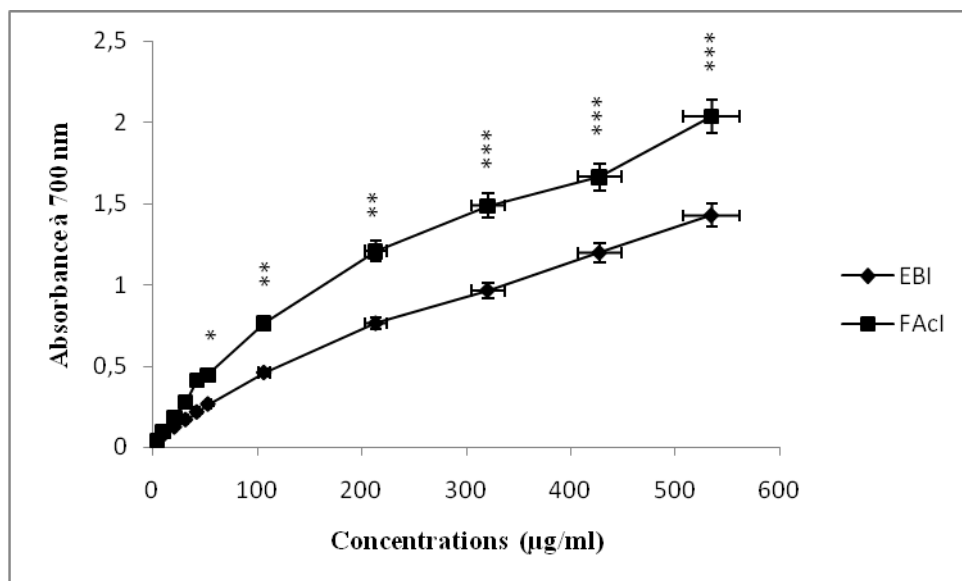


Figure 48: Pouvoir réducteur de fer en fonction des différentes concentrations de la fraction acétate d'éthyle de l'extrait brut hydrométhanolique de *T. nudatum* préparé par infusion

EB extrait brut, *FAc* fraction acétate d'éthyle, *I* infusion

* Comparaison entre l'extrait brut hydrométhanolique de *T. nudatum* préparé par infusion et sa fraction acétate d'éthyle

* $p < 0.05$ significative, ** $p < 0.01$ très significative, *** $p < 0.001$ hautement significative

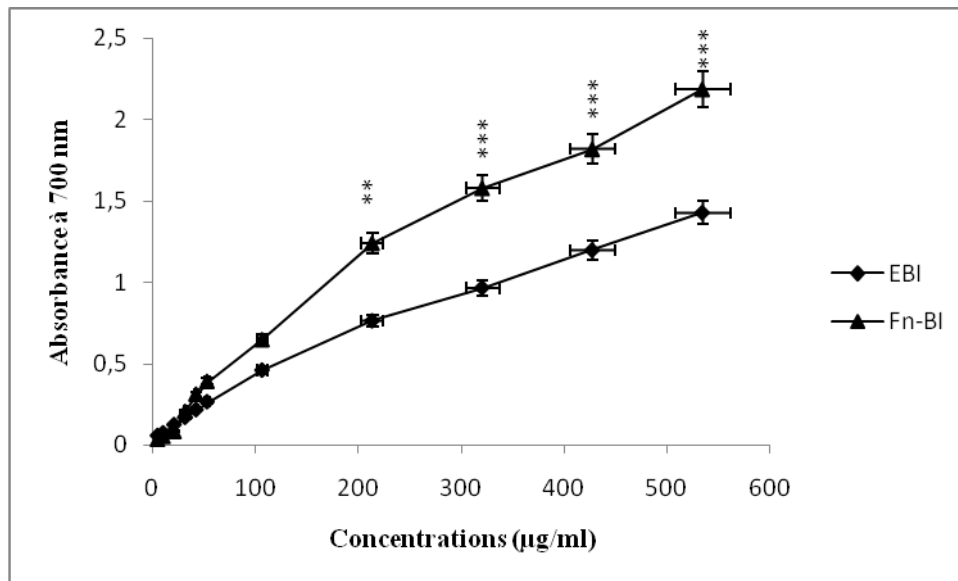


Figure 49: Pouvoir réducteur de fer en fonction des différentes concentrations de la fraction n-butanol de l'extrait brut hydrométhanolique de *T. nudatum* préparé par infusion

EB extrait brut, *Fn-B* fraction n-butanol, *I* infusion

* Comparaison entre l'extrait brut hydrométhanolique de *T. nudatum* préparé par infusion et sa fraction n-butanol

** $p < 0.01$ très significative, *** $p < 0.001$ hautement significative

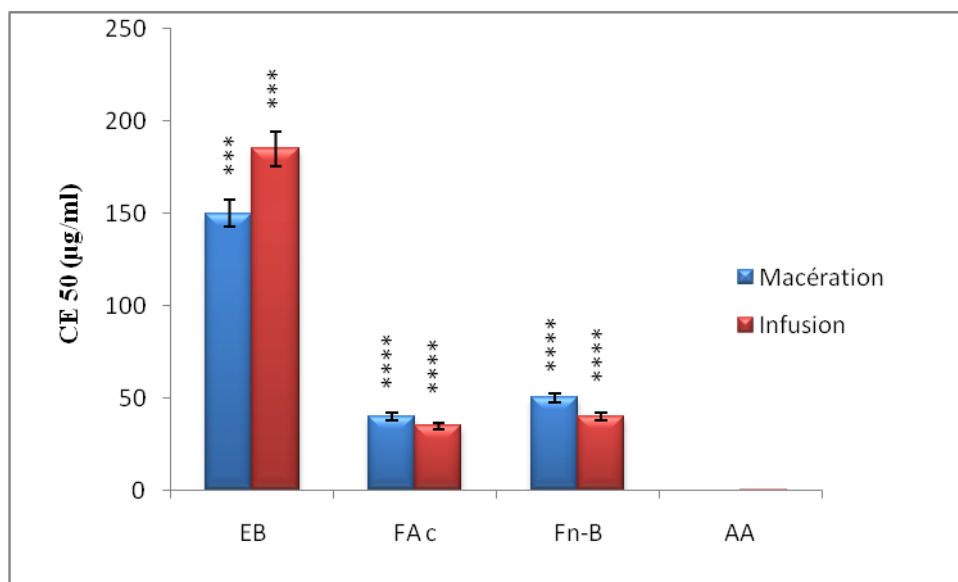


Figure 50: Concentrations efficaces CE_{50} des extraits de *T. nudatum*

EB extrait brut, *FAc* fraction acétate d'éthyle, *Fn-B* fraction n-butanol, *I* infusion, *M* macération, AA: acide ascorbique

*Comparaison entre les extraits et l'acide ascorbique

*** $p < 0.001$ hautement significative, **** $p < 0.0001$ très hautement significative

5. Activité antimicrobienne

5.1. Méthode de diffusion sur gélose

Ammodaucus leucotrichus

Il est clairement établi que les extraits d'*A. leucotrichus* à la concentration de 10 mg/ml présentent en général une faible activité antibactérienne avec des diamètres d'inhibition ne dépassant pas 10 mm (Tableaux 10, 11), la fraction FAC_M présente l'activité la plus importante contre neuf souches bactériennes notamment contre *L. monocytogenes* et *A. baumannii* avec des diamètres d'inhibition de 10 mm, *S. aureus* et *B. subtilis* avec des diamètres d'inhibition de 9 mm, FAC_I présente également une activité importante contre sept souches notamment contre *L. monocytogenes*, *S. aureus*, *B. subtilis* et *A. baumannii* avec des diamètres d'inhibition de $10 \pm 0,2$; $10 \pm 0,4$; $9 \pm 0,7$ et $9 \pm 0,1$ mm respectivement. Les autres extraits ne montrent pas d'activité notable EB_I , F_n-B_M ne sont actifs que sur 4 et 3 souches de Gram positif respectivement, EB_M n'est actif que sur une souche de Gram positif et une de Gram négatif avec des diamètres d'inhibition qui ne dépassent pas 9 mm et encore la fraction F_n-B_I se montre totalement inactive, les bactéries à Gram positif sont les plus sensibles aux extraits. D'autre part, *S. typhimurium* n'est sensible qu'à la fraction FAC_M , *P. mirabilis* et *E. cloacae* n'expriment de sensibilité qu'aux fractions FAC_M et FAC_I , *E. baumannii* est sensible à trois extraits FAC_M , FAC_I et EB_M Cependant, les extraits ne montrent aucune activité sur *E. coli*, *C. freundii*, *M. luteus* ou bien sur les souches de *C. albicans*.

Traganum nudatum

Les extraits montrent une activité antibactérienne sur les bactéries à Gram positif et négatif avec des zones d'inhibition comprises entre 7 et 14 mm (Tableaux 12, 13). Parmi tous les extraits testés, l'activité la plus remarquable est notée dans les fractions acétate d'éthyle: FAC_M et FAC_I contre 9 et 7 souches respectivement. Toutes les souches bactériennes se trouvent sensibles à au moins un extrait sauf *A. baumannii*, *C. freundii* et les trois souches fongiques de *C. albicans* qui résistent à tous les extraits. Les souches les plus sensibles sont *B. subtilis* qui se montre sensible à presque l'ensemble des extraits notamment pour EB_M et F_n-B_M avec des zones d'inhibition de $11 \pm 1,4$ et de $10 \pm 0,4$ mm respectivement et *S. aureus* qui elle aussi est sensible à 5 extraits notamment à FAC_I , FAC_M et F_n-B_M avec des zones d'inhibition de $14 \pm 0,8$; $10 \pm 0,7$ et $10 \pm 1,4$ mm respectivement. *B. cereus*, *L. monocytogenes* et *P. mirabilis* sont plus sensibles à FAC_I avec des diamètres d'inhibition de $10 \pm 0,7$; $10 \pm 0,8$ et $10 \pm 1,2$ mm respectivement. En général, il s'avère que les extraits sont plus actifs sur les bactéries Gram positif que sur les bactéries Gram négatif et que les extraits préparés par

macération sont meilleurs que ceux préparés par infusion. Cependant, la gentamycine se montre la plus active sur la totalité des souches testées.

Tableau 10: Diamètres des zones d'inhibition de l'extrait brut hydrométhanolique d'*A.leucotrichus* préparé par macération et de ses fractions acétate d'éthyle et n-butanol vis-à-vis des souches microbiennes.

Microorganismes	Diamètres des zones d'inhibition (mm)			
	EB _M	FAC _M	Fn-B _M	GEN
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	-	9 ± 0,4 *	7 ± 0,2 **	14 ± 0,89
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	-	9 ± 0,8 **	9 ± 0,3 *	19 ± 0,76
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 25212	-	7 ± 0,4 **	-	16 ± 0,34
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 19115	8 ± 0,4 **	10 ± 0,6	8 ± 0,4 *	12 ± 0,27
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 11778	-	8 ± 0,3 *	-	14 ± 0,41
<i>Micrococcus luteus</i> ATCC 9341	-	-	-	9 ± 0,9
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25933	-	-	-	12 ± 1,2
<i>Acinetobacter baumannii</i> ATCC 19606	7 ± 0,1 **	10 ± 0,9 *	-	13 ± 0,5
<i>Citrobacter freundii</i> ATCC 8090	-	-	-	23 ± 1,8
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 35659	-	7 ± 0,5 *	-	20 ± 0,67
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 13311	-	7 ± 0,6 **	-	24 ± 1,41
<i>Enterobacter cloacae</i> ATCC 13047	-	7 ± 0,1**	-	16 ± 0,45

EB extrait brut, FAC fraction acétate d'éthyle, Fn-B fraction n-butanol, M macération, GEN gentamycine, (-): résistance

* Comparaison entre les extraits et la gentamycine

* p < 0.05 significative, ** p < 0.01 très significative

Tableau 11: Diamètres des zones d'inhibition de l'extrait brut hydrométhanolique d'*A.leucotrichus* préparé par infusion et de ses fractions acétate d'éthyle et n-butanol vis-à-vis des souches microbiennes.

Microorganismes	Diamètres des zones d'inhibition (mm)			
	EB _I	FAC _I	Fn-B _I	GEN
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	8 ± 0,6*	9 ± 0,7 *	-	14 ± 0,89
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	8 ± 0,3**	10 ± 0,4 **	-	19 ± 0,76
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 25212	7 ± 0,5*	7 ± 0,6 **	-	16 ± 0,34
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 19115	8 ± 0,1*	10 ± 0,2	-	12 ± 0,27
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 11778	-	-	-	14 ± 0,41
<i>Micrococcus luteus</i> ATCC 9341	-	-	-	9 ± 0,9
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25933	-	-	-	12 ± 1,2
<i>Acinetobacter baumannii</i> ATCC 19606	-	9 ± 0,1 *	-	13 ± 0,5
<i>Citrobacter freundii</i> ATCC 8090	-	-	-	23 ± 1,8
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 35659	-	8 ± 0,8 ***	-	20 ± 0,67
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 13311	-	-	-	24 ± 1,41
<i>Enterobacter cloacae</i> ATCC 13047	-	8 ± 1,1 **	-	16 ± 0,45

EB extrait brut, FAC fraction acétate d'éthyle, Fn-B Fraction n-butanol, I infusion, GEN gentamycine, (-): résistance.

* Comparaison entre les extraits et la gentamycine

* p < 0.05 significative, ** p < 0.01 très significative, *** p < 0.001 hautement significative

Tableau 12: Diamètres des zones d'inhibition de l'extrait brut hydrométhanolique de *T. nudatum* préparé par macération et de ses fractions acétate d'éthyle et n-butanol vis-à-vis des souches microbiennes.

Microorganismes	Diamètres des zones d'inhibition (mm)			
	EB _M	FAC _M	Fn-B _M	GEN
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	11 ± 1,4	8 ± 0,5 *	10 ± 0,4	14 ± 0,89
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	8 ± 0,9 *	10 ± 0,7 *	10 ± 1,4 **	19 ± 0,76
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 25212	-	8 ± 0,5 *	8 ± 0,6 *	16 ± 0,34
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 19115	-	7 ± 0,8 **	-	12 ± 0, 27
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 11778	-	8 ± 0,5 *	-	14 ± 0,41
<i>Micrococcus luteus</i> ATCC 9341	8 ± 0,9	8 ± 0,3	-	9 ± 0,9
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25933	-	8 ± 0,3 *	-	12 ± 1,2
<i>Acinetobacter baumannii</i> ATCC 19606	-	-	-	13 ± 0,5
<i>Citrobacter freundii</i> ATCC 8090	-	-	-	23 ± 1,8
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 35659	7 ± 0,7 ***	7 ± 0,6 **	-	20 ± 0,67
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 13311	-	-	-	24 ± 1,41
<i>Enterobacter cloacae</i> ATCC 13047	7 ± 0,4 **	8 ± 1,2 ***	-	16 ± 0,45

EB extrait brut, FAC fraction acétate d'éthyle, Fn-B fraction n-butanol, M macération, GEN gentamycine, (-): résistance.

* Comparaison entre les extraits et la gentamycine

* p < 0.05 significative, ** p < 0.01 très significative, *** p < 0.001 hautement significative

Tableau 13: Diamètres des zones d'inhibition de l'extrait brut hydrométhanolique de *T. nudatum* préparé par infusion et de ses fractions acétate d'éthyle et n-butanol vis-à-vis des souches microbiennes.

Microorganismes	Diamètres des zones d'inhibition (mm)			
	EB _I	FAC _I	Fn-B _I	GEN
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	7 ± 0,3 *	-	7 ± 0,4	14 ± 0,89
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	8 ± 0,4 *	14 ± 0,8 *	-	19 ± 0,76
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 25212	-	7 ± 0,3 **	-	16 ± 0,34
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 19115	-	10 ± 0,8	-	12 ± 0,27
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 11778	-	10 ± 0,7 *	-	14 ± 0,41
<i>Micrococcus luteus</i> ATCC 9341	-	7 ± 1,3	-	9 ± 0,9
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25933	-	-	-	12 ± 1,2
<i>Acinetobacter baumannii</i> ATCC 19606	-	-	-	13 ± 0,5
<i>Citrobacter freundii</i> ATCC 8090	-	-	-	23 ± 1,8
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 35659	-	10 ± 1,2 **	-	20 ± 0,67
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 13311	-	7 ± 0,9 ***	7 ± 0,8 **	24 ± 1,41
<i>Enterobacter cloacae</i> ATCC 13047	-	-	-	16 ± 0,45

EB extrait brut, FAc fraction acétate d'éthyle, Fn-B fraction n-butanol, I infusion, GEN gentamycine, (-): résistance.

* Comparaison entre les extraits et la gentamycine

* p < 0.05 significative, ** p < 0.01 très significative, *** p < 0.001 hautement significative

5.2. Méthode de microdilution en milieu liquide

Ammodaucus leucotrichus

Nous constatons que les extraits donnent des résultats meilleurs par la technique de microdilution en milieu liquide que par la technique de diffusion en milieu solide, les CMI sont comprises entre $3,125 \pm 0,2$ et $25 \pm 0,9$ mg/ml (Tableaux 14, 15, 16). FAC_I est active sur la totalité des souches testées, viennent par la suite FAC_M, EB_M, Fn-B_M et EB_I sur 11, 10, 9 et 7 souches respectivement. Fn-B_I est active sur 10 souches mais avec des CMI les plus élevées. FAC_M est la plus active présentant les valeurs les plus faibles de CMI notamment sur *B.subtilis*, *B. cereus*, *L. monocytogenes*, *M. luteus* et *A. baumannii* avec une CMI de 3,125 mg/ml. En fait, *B. subtilis* est la souche la plus sensible, elle est inhibée par presque l'ensemble des extraits à une concentration de 3,125 mg/ml seulement. *B. subtilis*, *B. cereus*, *L. monocytogenes*, *M.luteus*, *S. aureus* et *A.baumannii* se montrent sensibles à tous les extraits testés dans cette analyse. Cependant, les bactéries à Gram négatif montrent une sensibilité moindre: *P. mirabilis* est inhibée par cinq extraits, *E. coli* et *E. cloaceae* sont inhibées par quatre extraits, *C. Freundii* et *S. typhimurium* montrent une sensibilité que pour trois extraits avec des valeurs élevées de CMI. De façon générale, c'est les bactéries de Gram positif qui sont les plus sensibles avec des CMI les plus remarquables.

Traganum nudatum

Nous remarquons qu'en milieu liquide, les extraits se montrent plus actifs qu'à la méthode précédente. En fait, ils inhibent un plus grand nombre de souches avec des CMI allant de $3,125 \pm 0,3$ à $25 \pm 0,8$ mg/ml (Tableaux 17, 18, 19). Nous constatons que FAC_M, FAC_I et EB_I sont actifs sur la totalité des souches testées. L'extrait EB_M est actif sur 10 souches parmi 12 testées, les fractions n-butanoliques présentent la plus faible activité avec des CMI les plus élevées sur un moindre nombre de souches. EB_I montre la plus forte inhibition des bactéries *B. subtilis*, *B. cereus* et *L. monocytogenes* avec une CMI de 3,125 mg/ml, les souches les plus sensibles sont celles de Gram positif *B. cereus*, *B. subtilis*, *L. monocytogenes*, *E. foecalis* et *M. luteus*. Les bactéries de Gram négatif se montrent moins sensibles, en fait *P.mirabilis* est la seule souche de Gram négatif qui est sensible à l'ensemble des extraits, *A. baumannii* et *E. cloaceae* se trouvent plus sensibles à EB_M avec une CMI égale à 3,125 mg/ml.

Tableau 14: Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI) de l'extrait brut hydrométhanolique d'*A. leucotrichus* préparé par macération et de ses fractions acétate d'éthyle et n-butanol (mg/ml).

Microorganismes	Concentrations minimales inhibitrices (mg/ml)		
	<i>EB_M</i>	<i>FAc_M</i>	<i>Fn-B_M</i>
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	3,125 ± 0,2	3,125 ± 0,4	3,125 ± 0,3
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	25 ± 0,9	6,25 ± 0,8 ***	25 ± 0,5
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 25212	12,5 ± 0,6	6,25 ± 0,3 **	-
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 19115	3,125 ± 0,4	3,125 ± 0,4	12,5 ± 0,7 *
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 11778	6,25 ± 0,5	3,125 ± 0,9 *	3,125 ± 0,3 *
<i>Micrococcus luteus</i> ATCC 9341	12,5 ± 0,4	3,125 ± 0,6 **	12,5 ± 1,2
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25933	25 ± 0,8	6,25 ± 0,7 **	-
<i>Acinetobacter baumannii</i> ATCC 19606	25 ± 1,1	3,125 ± 0,4 **	3,125 ± 0,1 *****
<i>Citrobacter freundii</i> ATCC 8090	25 ± 0,3	-	-
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 35659	6,25 ± 0,2	25 ± 0,2 ***	12,5 ± 0,5 **
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 13311	-	12,5 ± 0,5 ***	25 ± 0,7 ***
<i>Enterobacter cloacae</i> ATCC 13047	-	6,25 ± 0,3 **	12,5 ± 0,3 **

EB extrait brut, FAc fraction acétate d'éthyle, Fn-B fraction n-butanol, M macération, (-): résistance.

* Comparaison entre l'extrait brut hydrométhanolique d'*A. leucotrichus* préparé par macération et ses fractions acétate d'éthyle et n-butanol

* p < 0.05 significative, ** p < 0.01 très significative, *** p < 0.001 hautement significative, ***** p < 0.0001 très hautement significative

Tableau 15: Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI) de l'extrait brut hydrométhanolique d'*A. leucotrichus* préparé par infusion et de ses fractions acétate d'éthyle et n-butanol (mg/ml).

Microorganismes	Concentrations minimales inhibitrices (mg/ml)		
	<i>EB_I</i>	<i>FAC_I</i>	<i>Fn-B_I</i>
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	3,125 ± 0,5 **	3,125 ± 0,8 *	25 ± 0,7 **
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	25 ± 0,7 *	6,25 ± 0,3 **	25 ± 0,9 **
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 25212	-	6,25 ± 0,6 **	25 ± 0,6 **
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 19115	3,125 ± 0,9 **	3,125 ± 1,2 *	25 ± 0,5 **
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 11778	3,125 ± 0,8 **	3,125 ± 0,8 **	25 ± 0,6 **
<i>Micrococcus luteus</i> ATCC 9341	3,125 ± 0,6 **	3,125 ± 0,1 **	25 ± 0,7 **
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25933	-	25 ± 0,7 *	12,5 ± 0,4 **
<i>Acinetobacter baumannii</i> ATCC 19606	25 ± 0,2 **	6,25 ± 0,9 **	25 ± 0,9 **
<i>Citrobacter freundii</i> ATCC 8090	25 ± 0,4 **	25 ± 0,5 ***	-
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 35659	-	12,5 ± 0,3 **	25 ± 0,9 ***
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 13311	-	25 ± 0,7 ***	-
<i>Enterobacter cloacae</i> ATCC 13047	-	25 ± 0,9 **	12,5 ± 0,6 **

EB extrait brut, FAc fraction acétate d'éthyle, Fn-B fraction n-butanol, I infusion, (-): résistance.

* Comparaison entre l'extrait brut hydrométhanolique d'*A. leucotrichus* préparé par infusion et ses fractions acétate d'éthyle et n-butanol

* p < 0.05 significative, ** p < 0.01 très significative, *** p < 0.001 hautement significative

Tableau 16: Comparaison des CMI de l'extrait brut préparé par infusion d'*A. leucotrichus* et de ses fractions par rapport à l'extrait brut préparé par macération et ses fractions

Microorganismes	Concentrations minimales inhibitrices (mg/ml)					
	<i>EB_M</i>	<i>FAC_M</i>	<i>Fn-B_M</i>	<i>EB_I</i>	<i>FAC_I</i>	<i>Fn-B_I</i>
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	3,125 ± 0,2	3,125 ± 0,4	3,125 ± 0,3	3,125 ± 0,5	3,125 ± 0,8	25 ± 0,7 ^{***}
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	25 ± 0,9	6,25 ± 0,8	25 ± 0,5	25 ± 0,7	6,25 ± 0,3	25 ± 0,9
<i>E. faecalis</i> ATCC 25212	12,5 ± 0,6	6,25 ± 0,3	-	-	6,25 ± 0,6	25 ± 0,6 ^{***}
<i>L.monocytogenes</i> ATCC 19115	3,125 ± 0,4	3,125 ± 0,4	12,5 ± 0,7	3,125 ± 0,3	3,125 ± 1,2	25 ± 0,5 ^{***}
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 11778	6,25 ± 0,5	3,125 ± 0,9	3,125 ± 0,3	3,125 ± 0,8 *	3,125 ± 0,8	25 ± 0,6 ^{***}
<i>M. luteus</i> ATCC 9341	12,5 ± 0,4	3,125 ± 0,6	12,5 ± 1,2	3,125 ± 0,6 ^{**}	3,125 ± 0,1	25 ± 0,7 ^{***}
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25933	25 ± 0,8	6,25 ± 0,7	-	-	25 ± 0,7 ^{***}	12,5 ± 0,4 ^{***}
<i>A. baumannii</i> ATCC 19606	25 ± 1,1	3,125 ± 0,4	3,125 ± 0,1	25 ± 0,2	6,25 ± 0,9 [•]	25 ± 0,9 ^{***}
<i>C. freundii</i> ATCC 8090	25 ± 0,3	-	-	25 ± 0,4	25 ± 0,5 ^{***}	-
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 35659	6,25 ± 0,2	25 ± 0,2	12,5 ± 0,5	-	12,5 ± 0,3 ^{**}	25 ± 0,9 ^{***}
<i>S. typhimurium</i> ATCC 13311	-	12,5 ± 0,5	25 ± 0,7	-	25 ± 0,7 ^{***}	-
<i>E. cloacae</i> ATCC 13047	-	6,25 ± 0,3	12,5 ± 0,3	-	25 ± 0,9 ^{***}	12,5 ± 0,6

EB extrait brut, FAC fraction acétate d'éthyle, Fn-B fraction n-butanol, M macération, I infusion,

*Comparaison entre l'extrait brut hydrométhanolique d'*A. leucotrichus* préparé par macération et l'extrait brut hydrométhanolique d'*A. leucotrichus* préparé par infusion

• Comparaison entre la fraction acétate d'éthyle de l'extrait brut hydrométhanolique d'*A. leucotrichus* préparé par macération et la fraction acétate d'éthyle de l'extrait brut hydrométhanolique d'*A. leucotrichus* préparé par infusion

■ Comparaison entre la fraction n-butanol de l'extrait brut hydrométhanolique d'*A. leucotrichus* préparé par macération et la fraction n-butanol de l'extrait brut hydrométhanolique d'*A. leucotrichus* préparé par infusion

* p < 0.05 significative, ** p < 0.01 très significative, *** p < 0.001 hautement significative

Tableau 17: Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI) de l'extrait brut hydrométhanolique de *T. nudatum* préparé par macération et de ses fractions acétate d'éthyle et n-butanol (mg/ml).

Microorganismes	Concentrations minimales inhibitrices (mg/ml)		
	<i>EB_M</i>	<i>FAC_M</i>	<i>Fn-B_M</i>
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	6,25 ± 0,12	3,125 ± 0,6 *	25 ± 0,8***
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	12,5 ± 0,5	6,25 ± 0,9 **	-
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 25212	12,5 ± 0,9	6,25 ± 0,4 **	12,5 ± 0,4
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 19115	12,5 ± 0,7	12,5 ± 0,3	25 ± 0,6**
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 11778	6,25 ± 0,7	6,25 ± 0,8	25 ± 0,2**
<i>Micrococcus luteus</i> ATCC 9341	6,25 ± 0,3	6,25 ± 0,8	25 ± 0,9*
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25933	25 ± 1,3	25 ± 1,3	-
<i>Acinetobacter baumannii</i> ATCC 19606	3,125 ± 0,9	12,5 ± 0,7**	-
<i>Citrobacter freundii</i> ATCC 8090	-	25 ± 0,4**	-
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 35659	12,5 ± 0,6	6,25 ± 0,5**	12,5 ± 0,8
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 13311	-	12,5 ± 0,2	25 ± 0,4*
<i>Enterobacter cloacae</i> ATCC 13047	3,125 ± 0,3	6,25 ± 0,7*	12,5 ± 0,6**

EB extrait brut, *FAC* fraction acétate d'éthyle, *Fn-B* fraction n-butanol, *M* macération, (-): résistance.

* Comparaison entre l'extrait brut hydrométhanolique de *T. nudatum* préparé par macération et ses fractions acétate d'éthyle et n-butanol

* p < 0.05 significative, ** p < 0.01 très significative, *** p < 0.001 hautement significative

Tableau 18: Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI) de l'extrait brut hydrométhanolique de *T. nudatum* préparé par infusion et de ses fractions acétate d'éthyle et n-butanol (mg/ml).

Microorganismes	Concentrations minimales inhibitrices (mg/ml)		
	<i>EB_I</i>	<i>FAC_I</i>	<i>Fn-B_I</i>
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	3,125 ± 0,3	12,5 ± 0,7***	25 ± 0,1**
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	25 ± 0,8	25 ± 0,4	-
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 25212	25 ± 1,3	6,25 ± 0,8***	25 ± 0,4
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 19115	3,125 ± 0,7	25 ± 0,9***	25 ± 0,7**
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 11778	3,125 ± 0,4	25 ± 0,7***	25 ± 0,3***
<i>Micrococcus luteus</i> ATCC 9341	6,25 ± 0,4	6,25 ± 0,3	25 ± 0,7***
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25933	12,5 ± 0,3	12,5 ± 0,9	-
<i>Acinetobacter baumannii</i> ATCC 19606	25 ± 0,8	25 ± 1,4	-
<i>Citrobacter freundii</i> ATCC 8090	12,5 ± 0,4	25 ± 0,8*	-
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 35659	12,5 ± 0,6	6,25 ± 0,4**	12,5 ± 0,9
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 13311	12,5 ± 0,2	12,5 ± 0,6	-
<i>Enterobacter cloacae</i> ATCC 13047	6,25 ± 0,4	12,5 ± 0,2**	-

EB extrait brut, FAC fraction acétate d'éthyle, Fn-B fraction n-butanol, I infusion, (-): résistance.

* Comparaison entre l'extrait brut hydrométhanolique de *T. nudatum* préparé par infusion et ses fractions acétate d'éthyle et n-butanol

* p < 0.05 significative, ** p < 0.01 très significative, *** p < 0.001 hautement significative

Tableau 19: Comparaison des CMI de l'extrait brut préparé par infusion de *T. nudatum* et de ses fractions par rapport à l'extrait brut préparé par macération et ses fractions

Microorganismes	Concentrations minimales inhibitrices (mg/ml)					
	<i>EB_M</i>	<i>FAc_M</i>	<i>Fn-B_M</i>	<i>EB_I</i>	<i>FAc_I</i>	<i>Fn-B_I</i>
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	6,25±0,12	3,125±0,6	25±0,8	3,125±0,3*	12,5±0,7**	25±0,1
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	12,5 ± 0,5	6,25 ± 0,9	-	25 ± 0,8**	25 ± 0,4***	-
<i>E. faecalis</i> ATCC 25212	12,5 ± 0,9	6,25 ± 0,4	12,5 ± 0,4	25 ± 1,3**	6,25 ± 0,8	25±0,4**
<i>L.monocytogenes</i> ATCC 19115	12 5 ± 0,7	12,5 ± 0,3	25 ± 0,6	3,125 ±0,7*	25 ± 0,9**	25 ± 0,7
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 11778	6,25 ± 0,7	6,25 ± 0,8	25 ± 0,2	3,125 ±0,4*	25 ± 0,7**	25 ± 0,3
<i>M. luteus</i> ATCC 9341	6,25 ± 0,3	6,25 ± 0,8	25 ± 0,9	6,25 ± 0,4	6,25 ± 0,3	25 ± 0,7
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25933	25 ± 1,3	25 ± 1,3	-	12,5 ±0,3**	12,5 ±0,9**	-
<i>A. baumannii</i> ATCC 19606	3,125 ± 0,9	12,5 ± 0,7	-	25 ± 0,8***	25 ± 1,4*	-
<i>C. freundii</i> ATCC 8090	-	25 ± 0,4	-	12,5 ±0,4**	25 ± 0,8	-
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 35659	12,5 ± 0,6	6,25 ± 0,5	12,5 ± 0,8	12,5 ± 0,6	6,25 ± 0,4	12,5±0,9
<i>S. typhimurium</i> ATCC 13311	-	12,5 ± 0,2	25 ± 0,4	12,5 ±0,2**	12,5 ± 0,6	-
<i>E. cloacae</i> ATCC 13047	3,125 ± 0,3	6,25 ± 0,7	12,5 ± 0,6	6,25 ±0,4**	12,5 ±0,2**	-

EB extrait brut, *FAc* fraction acétate d'éthyle, *Fn-B* fraction n-butanol, *I* infusion, *M* macération, (-): résistance.

*Comparaison entre l'extrait brut hydrométhanolique de *T. nudatum* préparé par macération et l'extrait brut hydrométhanolique de *T. nudatum* préparé par infusion

• Comparaison entre la fraction acétate d'éthyle de l'extrait brut hydrométhanolique de *T. nudatum* préparé par macération et la fraction acétate d'éthyle de l'extrait brut hydrométhanolique de *T. nudatum* préparé par infusion

■ Comparaison entre la fraction n-butanol de l'extrait brut hydrométhanolique de *T. nudatum* préparé par macération et la fraction n-butanol de l'extrait brut hydrométhanolique de *T. nudatum* préparé par infusion

* p < 0. 05 significative, ** p < 0.01 très significative, *** p < 0.001 hautement significative

6. Effet hémolytique

Viabilité et dénombrement cellulaire

Le dénombrement cellulaire au microscope optique par une cellule de Thoma a révélé la viabilité de $4,6 \times 10^6$ de globules rouges/ μ l de suspension érythrocytaire utilisée dans les tests d'effet hémolytique d'un donneur sain de sexe féminin.

Ammodaucus leucotrichus

Les résultats reportés dans les figures 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59 montrent que les taux d'hémolyse sont proportionnels aux concentrations des différents extraits au cours du temps d'incubation. À la concentration la plus élevée 1mg/ml et après 60 minutes de contact avec les globules rouges l'extrait brut hydrométhanolique préparé par macération EB_M n'atteint pas 8% d'hémolyse, par contre l'hémolyse la plus importante avec un taux proche de 90% à partir de 30 minutes d'incubation seulement est provoquée par la fraction FAC_M à 1mg/ml et ceci d'une manière hautement significative, la fraction $Fn-B_M$ présente un faible effet hémolytique avec un taux maximal de 11% après 60 minutes d'incubation à 1mg/ml. L'extrait brut hydrométhanolique préparé par infusion EB_I et ses fractions FAC_I et $Fn-B_I$ présentent à la concentration de 1 mg/ml une légère toxicité vis-à-vis des érythrocytes après 60 minutes d'incubation avec des pourcentages d'hémolyse de 11, 6 et 7% respectivement.

Traganum nudatum

D'après les résultats obtenus, nous remarquons une augmentation des taux d'hémolyse en fonction du temps d'incubation et des concentrations des extraits (Figures 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68). Il s'avère que l'extrait brut hydrométhanolique EB_M est moins toxique que ses fractions. En revanche la fraction FAC_M à la dose de 1mg/ml se montre d'une manière très significative la plus toxique avec un pourcentage d'hémolyse qui dépasse 70 % après 45 minutes d'incubation seulement, à la même concentration la fraction $Fn-B_M$ détruit plus de 70% des érythrocytes après 60 minutes d'incubation. Généralement, les taux d'hémolyse enregistrés pour les extraits de *T. nudatum* sont supérieurs à ceux enregistrés pour le témoin négatif qui ne dépasse pas 4% après 60 minutes d'incubation et sont inférieurs à ceux du témoin positif qui dépassent 90% et ceci seulement après 45 minutes d'incubation. Nous constatons également que les extraits obtenus par infusion sont moins toxiques vis-à-vis des globules que ceux obtenus par macération (Figures). En effet, après 60 minutes d'incubation, l'extrait brut EB_I à la concentration de 1mg/ml provoque la lyse de 7% des globules rouges, l'hémolyse maximale est induite par la fraction FAC_I de 28% environ d'une façon hautement significative, une très faible toxicité est provoquée par la fraction $Fn-B_I$ de 3% seulement après 60 minutes d'incubation à la même concentration.

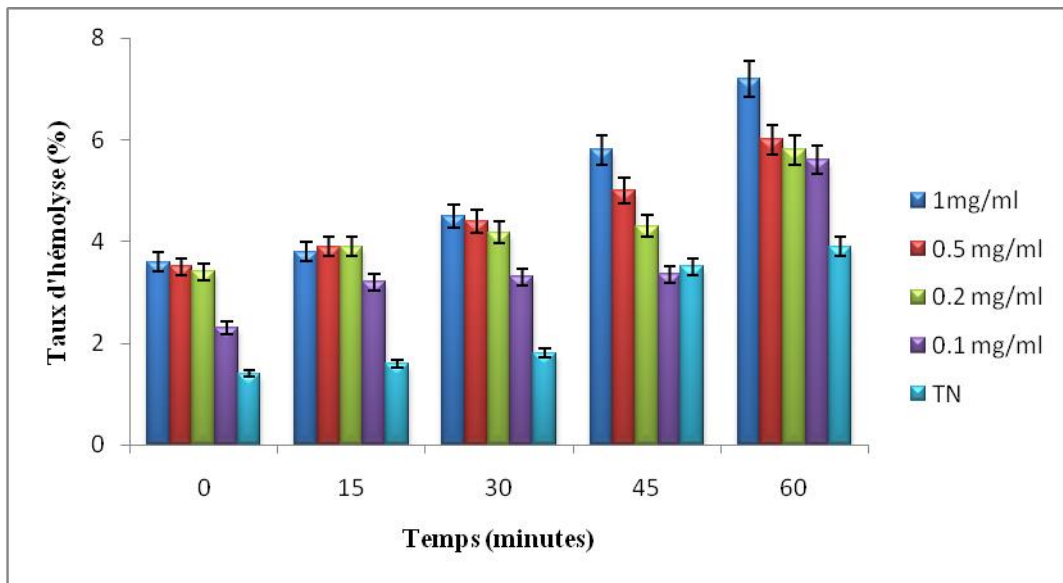


Figure 51: Evolution des taux d'hémolyse de l'extrait brut hydrométhanolique d'A. *leucotrichus* préparé par macération à différentes concentrations durant 60 minutes
TN témoin négatif

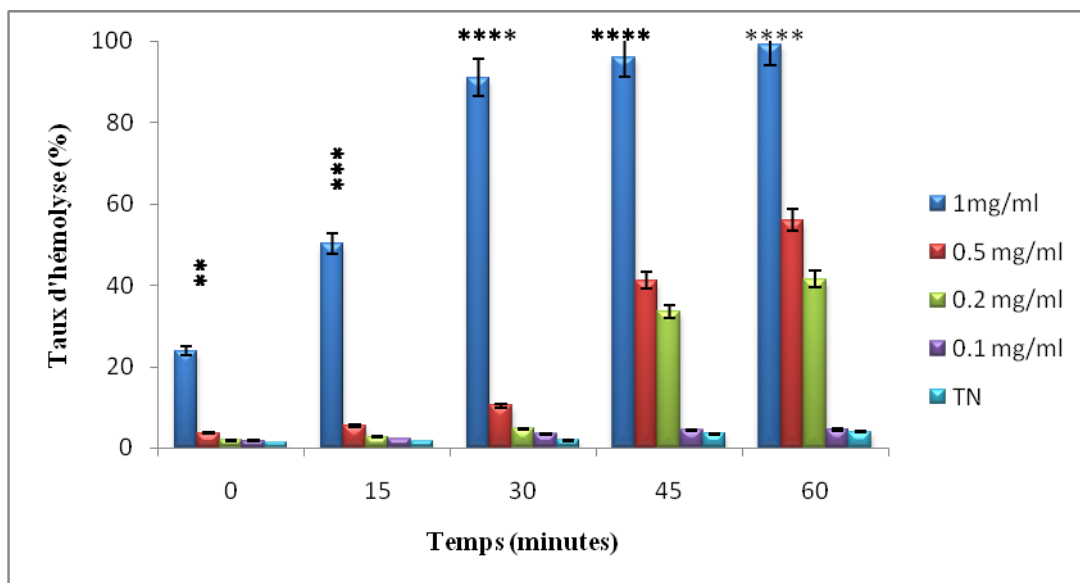


Figure 52: Evolution des taux d'hémolyse de la fraction acétate d'éthyle de l'extrait brut hydrométhanolique d'A. *leucotrichus* préparé par macération à différentes concentrations durant 60 minutes

TN témoin négatif

* Comparaison entre les différentes concentrations de la fraction acétate d'éthyle de l'extrait brut hydrométhanolique d'A. *leucotrichus* préparé par macération et le témoin négatif
** p < 0.01 très significative, *** p < 0.001 hautement significative, **** p < 0.0001 très hautement significative

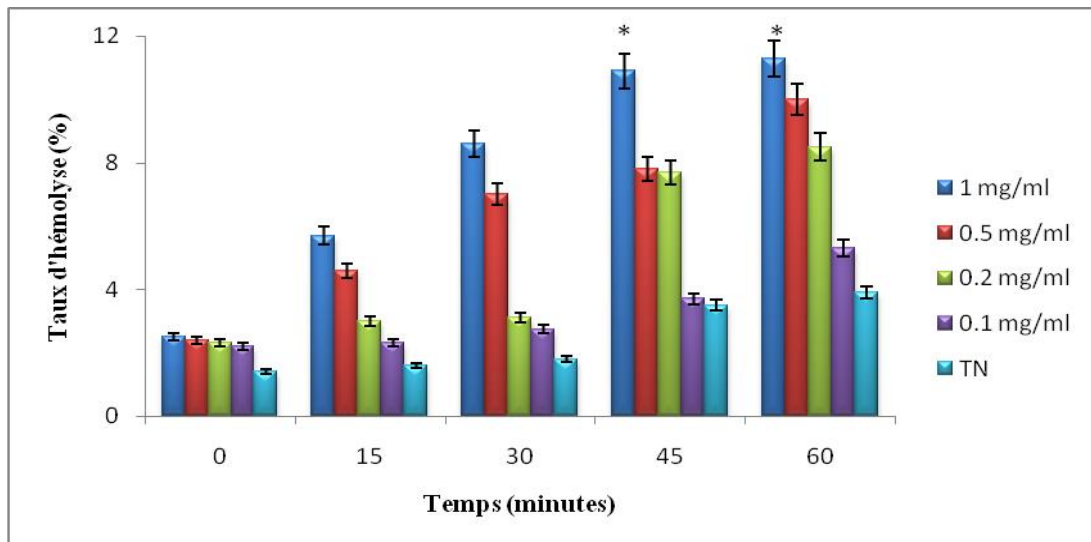


Figure 53: Evolution des taux d'hémolyse de la fraction n-butanol de l'extrait brut hydrométhanolique d'*A. leucotrichus* préparé par macération à différentes concentrations durant 60 minutes

TN témoin négatif

* Comparaison entre les différentes concentrations de la fraction n-butanol de l'extrait brut hydrométhanolique d'*A. leucotrichus* préparé par macération et le témoin négatif

* $p < 0.05$ significative

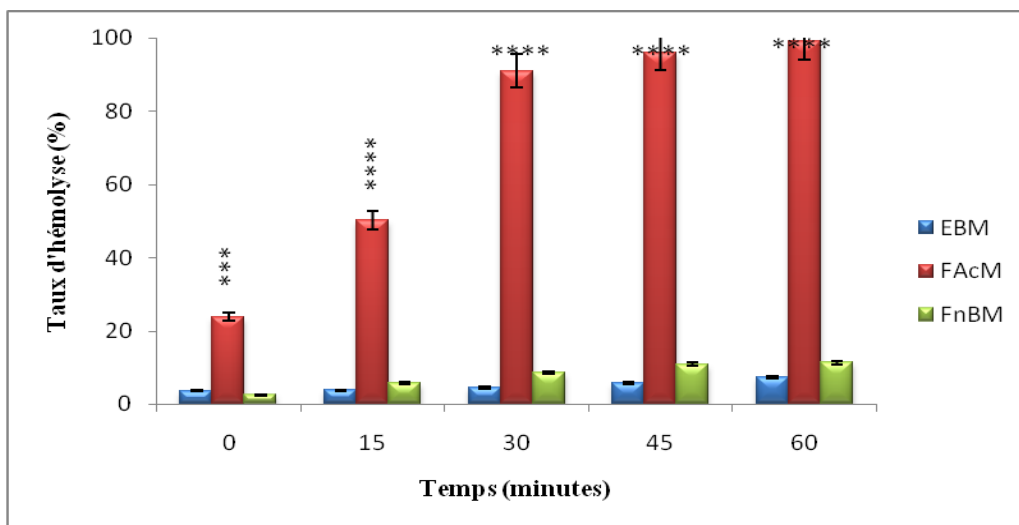


Figure 54: Comparaison des taux d'hémolyse de l'extrait brut hydrométhanolique préparé par macération d'*A. leucotrichus* et de ses fractions à la concentration de 1mg/ml durant 60 minutes

EB extrait brut, FAc fraction acétate d'éthyle, Fn-B fraction n-butanol, M macération

* Comparaison entre l'extrait brut hydrométhanolique d'*A. leucotrichus* préparé par macération et ses fractions acétate d'éthyle et n-butanol

*** $p < 0.001$ hautement significative, **** $p < 0.0001$ très hautement significative

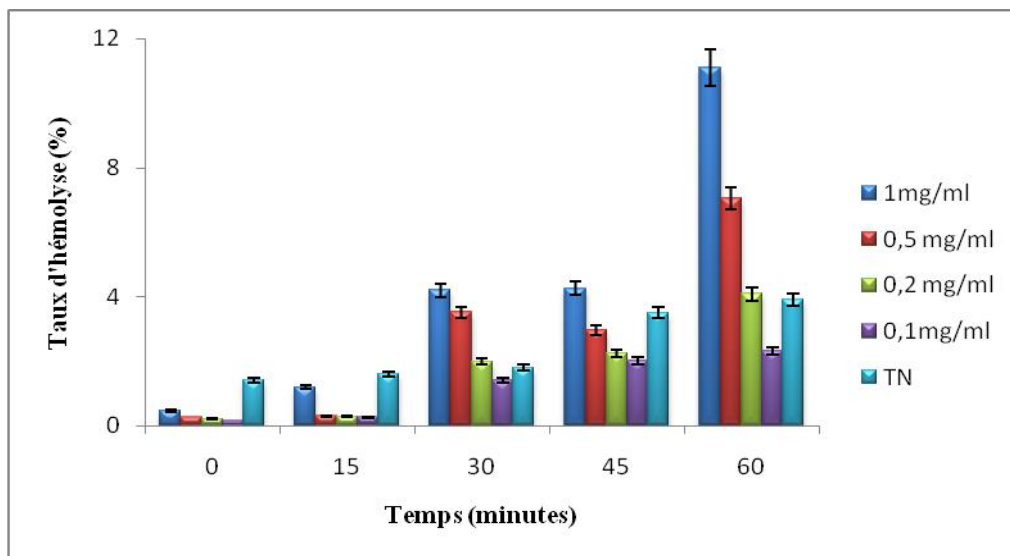


Figure 55: Evolution des taux d'hémolyse de l'extrait brut hydrométhanolique d'*A. leucotrichus* préparé par infusion à différentes concentrations durant 60 minutes

TN témoin négatif

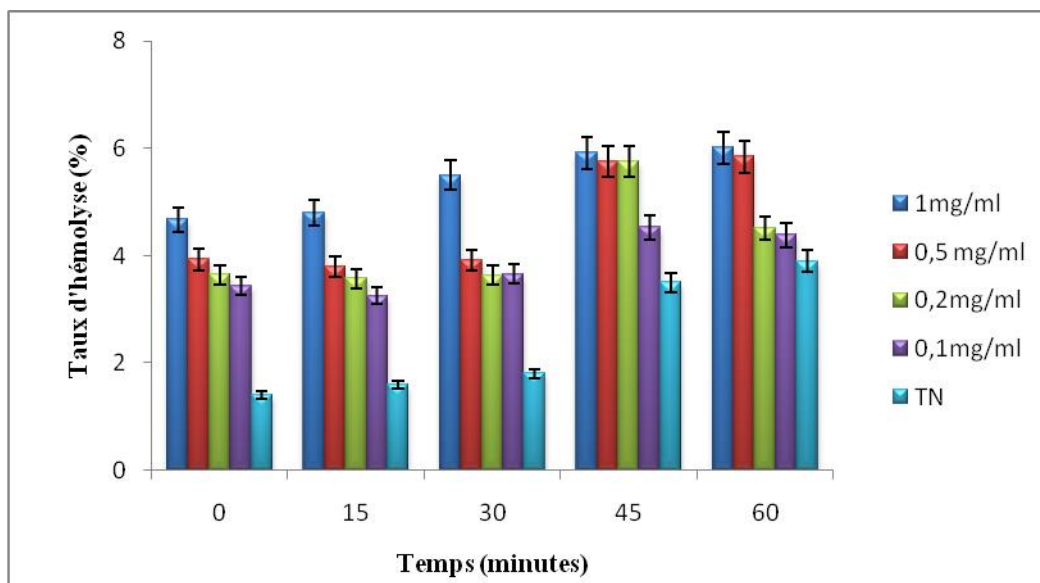


Figure 56: Evolution des taux d'hémolyse de la fraction acétate d'éthyle de l'extrait brut hydrométhanolique d'*A. leucotrichus* préparé par infusion à différentes concentrations durant 60 minutes

TN témoin négatif

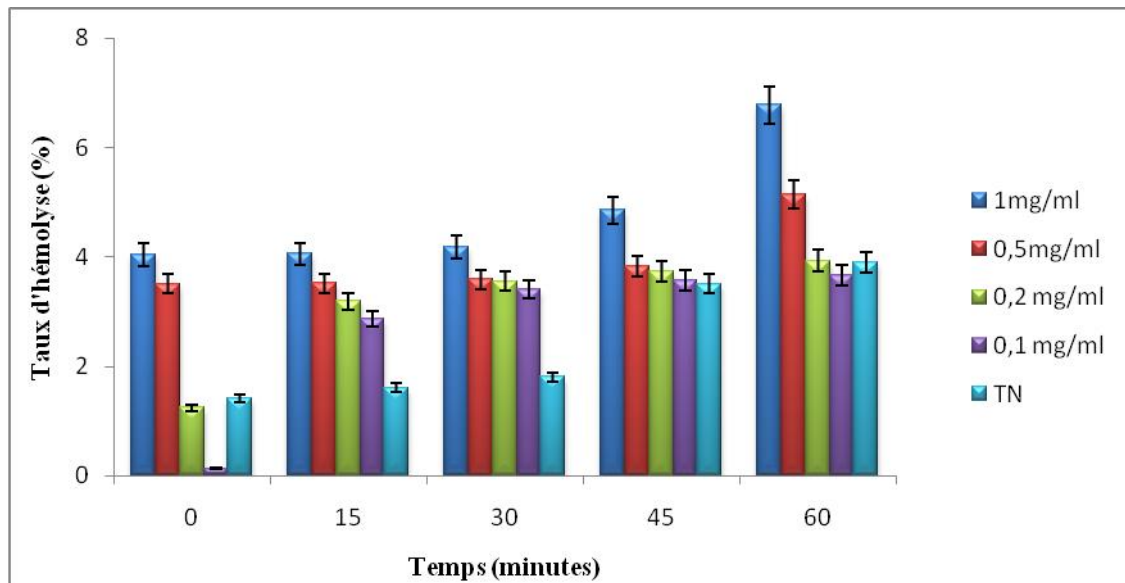


Figure 57: Evolution des taux d'hémolyse de la fraction n-butanol de l'extrait brut hydrométhanolique d'*A. leucotrichus* préparé par infusion à différentes concentrations durant 60 minutes

TN témoin négatif

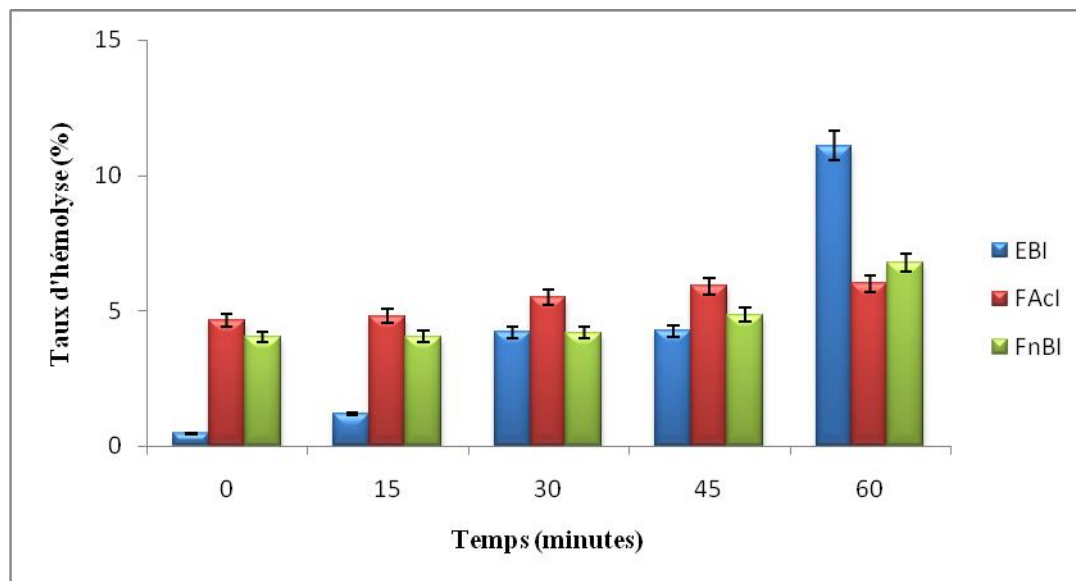


Figure 58: Comparaison des taux d'hémolyse de l'extrait brut hydrométhanolique préparé par infusion d'*A. leucotrichus* et de ses fractions à la concentration de 1mg/ml durant 60 minutes

EB extrait brut, FAc fraction acétate d'éthyle, Fn-B fraction n-butanol, I infusion

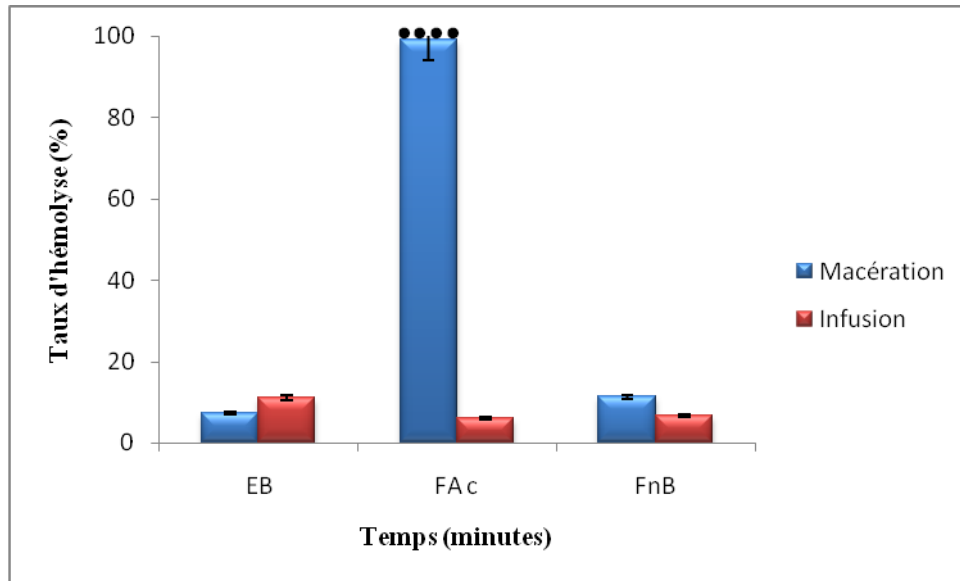


Figure 59: Comparaison des taux d'hémolyse de l'extrait brut d'*A. leucotrichus* préparé par infusion et ses fractions par rapport à l'extrait brut préparé par macération et ses fractions à la concentration 1mg/ml à 60 minutes

EB extrait brut, FAc fraction acétate d'éthyle, Fn-B fraction n-butanol

- Comparaison entre la fraction acétate d'éthyle de l'extrait brut hydrométhanolique d'*A. leucotrichus* préparé par macération et la fraction acétate d'éthyle de l'extrait brut hydrométhanolique d'*A. leucotrichus* préparé par infusion

**** p < 0.0001 très hautement significative

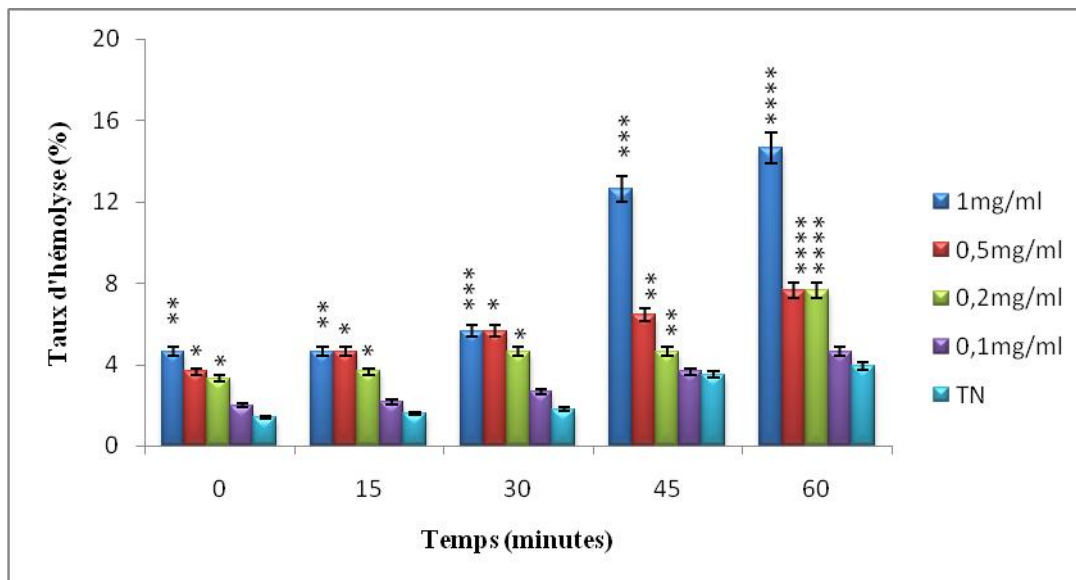


Figure 60: Evolution des taux d'hémolyse de l'extrait brut hydrométhanolique de *T. nudatum* préparé par macération à différentes concentrations durant 60 minutes

TN témoin négatif

- * Comparaison entre les différentes concentrations de l'extrait brut hydrométhanolique de *T. nudatum* préparé par macération et le témoin négatif

* p < 0.05 significative, ** p < 0.01 très significative, *** p < 0.001 hautement significative, **** p < 0.0001 très hautement significative

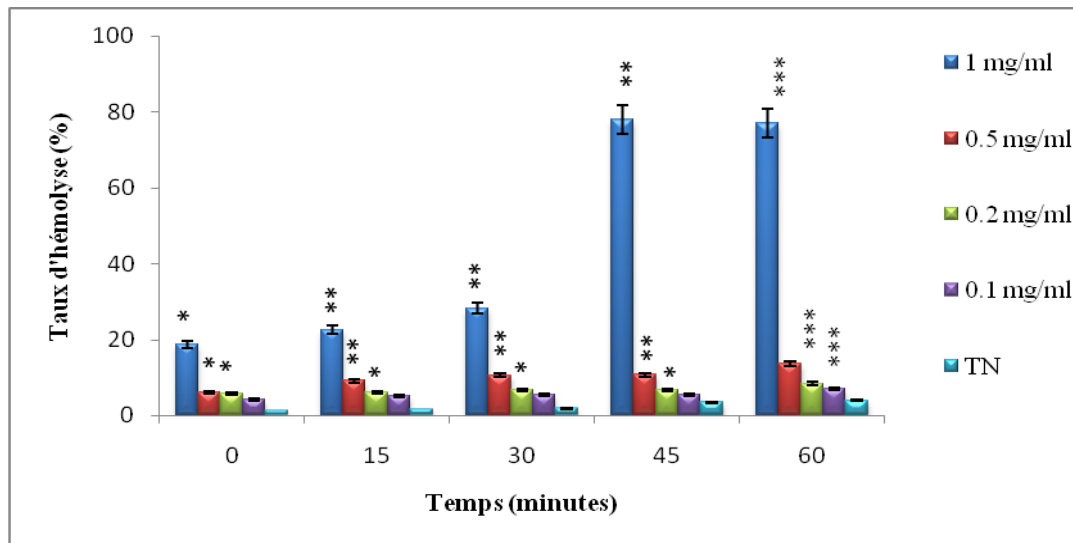


Figure 61: Evolution des taux d'hémolyse de la fraction acétate d'éthyle de l'extrait brut hydrométhanolique de *T. nudatum* préparé par macération à différentes concentrations durant 60 minutes

TN témoin négatif

- * Comparaison entre les différentes concentrations de la fraction acétate d'éthyle de l'extrait brut hydrométhanolique de *T. nudatum* préparé par macération et le témoin négatif
 * $p < 0.05$ significative, ** $p < 0.01$ très significative, *** $p < 0.001$ hautement significative

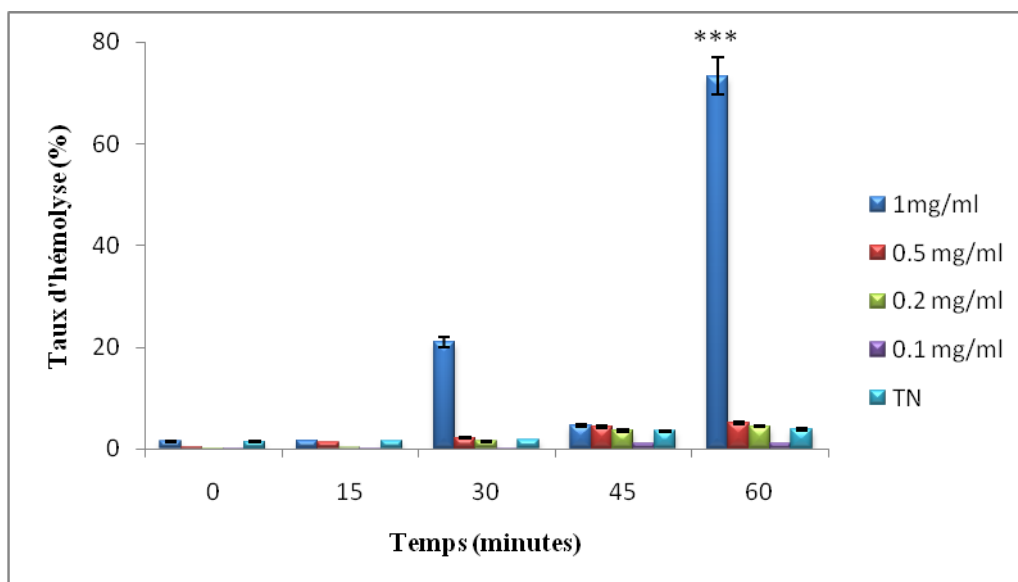


Figure 62: Evolution des taux d'hémolyse de la fraction n-butanol de l'extrait brut hydrométhanolique de *T. nudatum* préparé par macération à différentes concentrations durant 60 minutes

TN témoin négatif

- * Comparaison entre les différentes concentrations de la fraction n-butanol de l'extrait brut hydrométhanolique de *T. nudatum* préparé par macération et le témoin négatif, *** $p < 0.001$ hautement significative

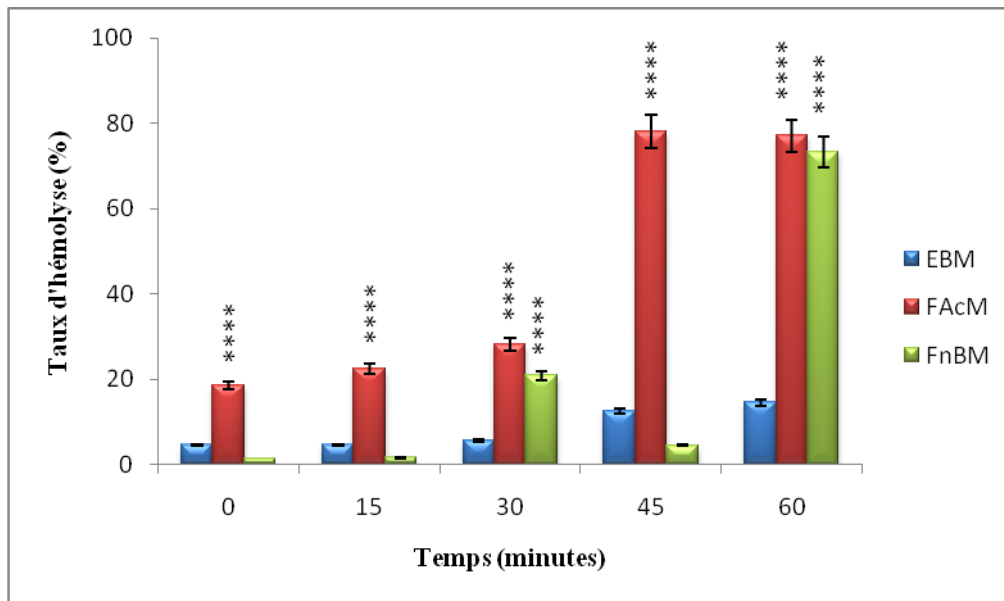


Figure 63: Comparaison des taux d'hémolyse de l'extrait brut hydrométhanolique préparé par macération de *T. nudatum* et de ses fractions à la concentration de 1mg/ml durant 60 minutes

EB extrait brut, *FAc* fraction acétate d'éthyle, *Fn-B* fraction n-butanol, *M* macération

* Comparaison entre l'extrait brut hydrométhanolique de *T. nudatum* préparé par macération et ses fractions acétate d'éthyle et n-butanol, **** $p < 0.0001$ très hautement significative

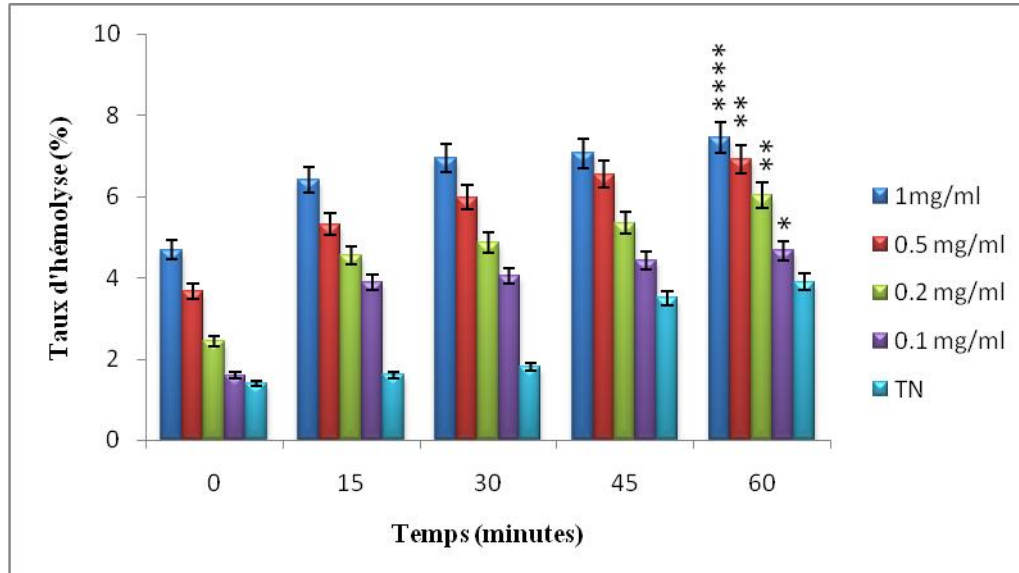


Figure 64: Evolution des taux d'hémolyse de l'extrait brut hydrométhanolique de *T. nudatum* préparé par infusion à différentes concentrations durant 60 minutes

TN témoin négatif

* Comparaison entre les différentes concentrations de l'extrait brut hydrométhanolique de *T. nudatum* préparé par infusion et le témoin négatif

* $p < 0.05$ significative, ** $p < 0.01$ très significative, **** $p < 0.0001$ très hautement significative

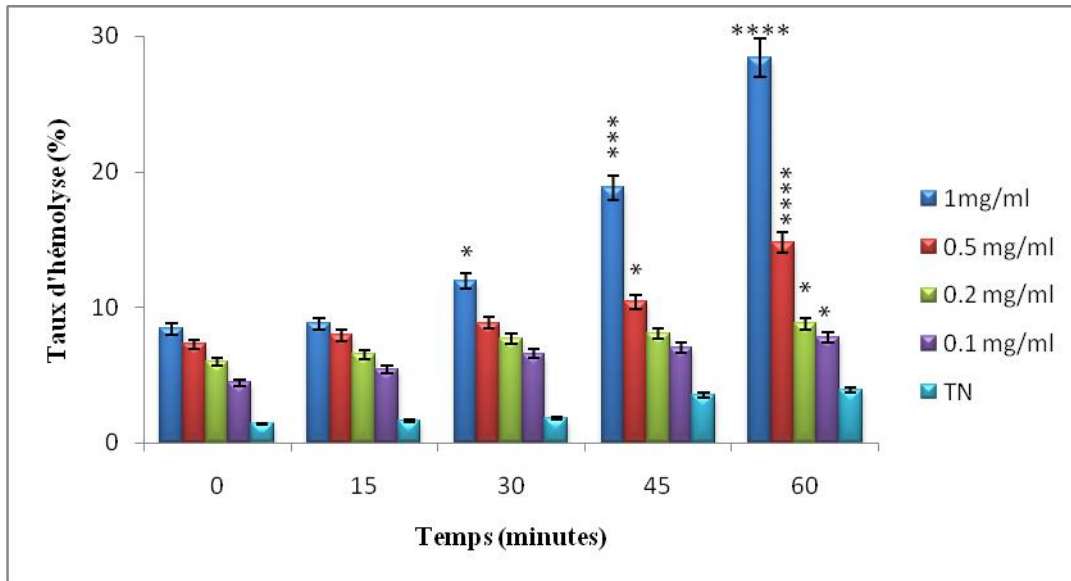


Figure 65: Evolution des taux d'hémolyse de la fraction acétate d'éthyle de l'extrait brut hydrométhanolique de *T. nudatum* préparé par infusion à différentes concentrations durant 60 minutes

TN témoin négatif

* Comparaison entre les différentes concentrations de la fraction acétate d'éthyle de l'extrait brut hydrométhanolique de *T. nudatum* préparé par infusion et le témoin négatif
 * $p < 0.05$ significative, *** $p < 0.001$ hautement significative, **** $p < 0.0001$ très hautement significative

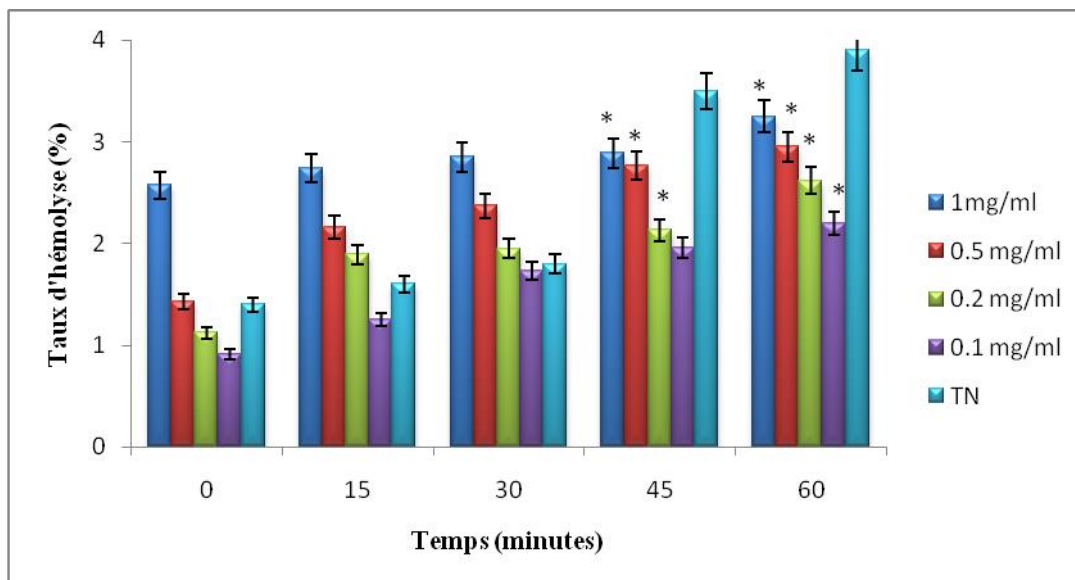


Figure 66: Evolution des taux d'hémolyse de la fraction n-butanol de l'extrait brut hydrométhanolique de *T. nudatum* préparé par infusion à différentes concentrations durant 60 minutes

TN témoin négatif

* Comparaison entre les différentes concentrations de la fraction n-butanol de l'extrait brut hydrométhanolique de *T. nudatum* préparé par infusion et le témoin négatif, * $p < 0.05$ significative

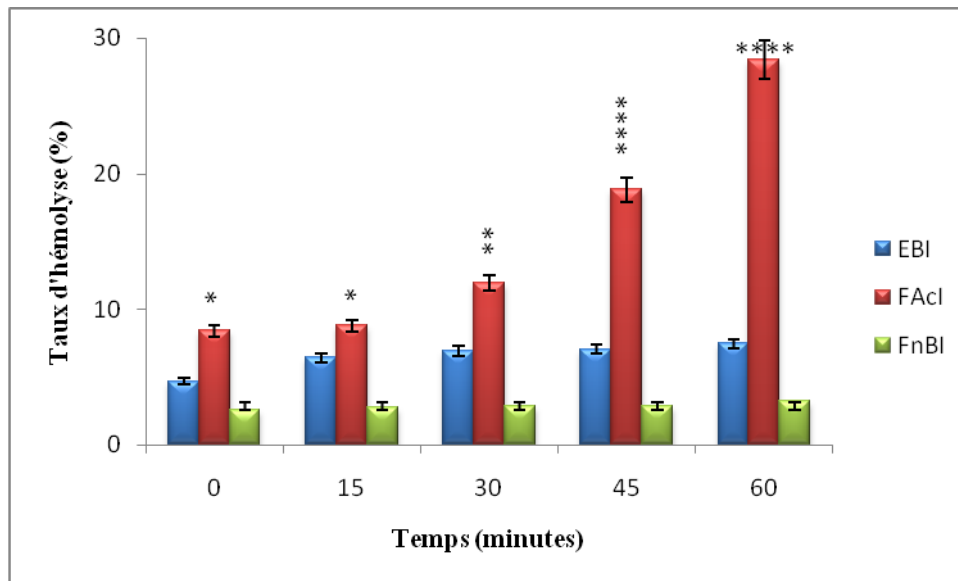


Figure 67: Comparaison des taux d'hémolyse de l'extrait brut hydrométhanolique préparé par infusion de *T. nudatum* et de ses fractions à la concentration de 1mg/ml durant 60 minutes

EB extrait brut, *FAc* fraction acétate d'éthyle, *Fn-B* Fraction n-butanol, *I* infusion

* Comparaison entre l'extrait brut hydrométhanolique de *T. nudatum* préparé par infusion et ses fractions acétate d'éthyle et n-butanol

* $p < 0.05$ significative, ** $p < 0.01$ très significative, **** $p < 0.0001$ très hautement significative

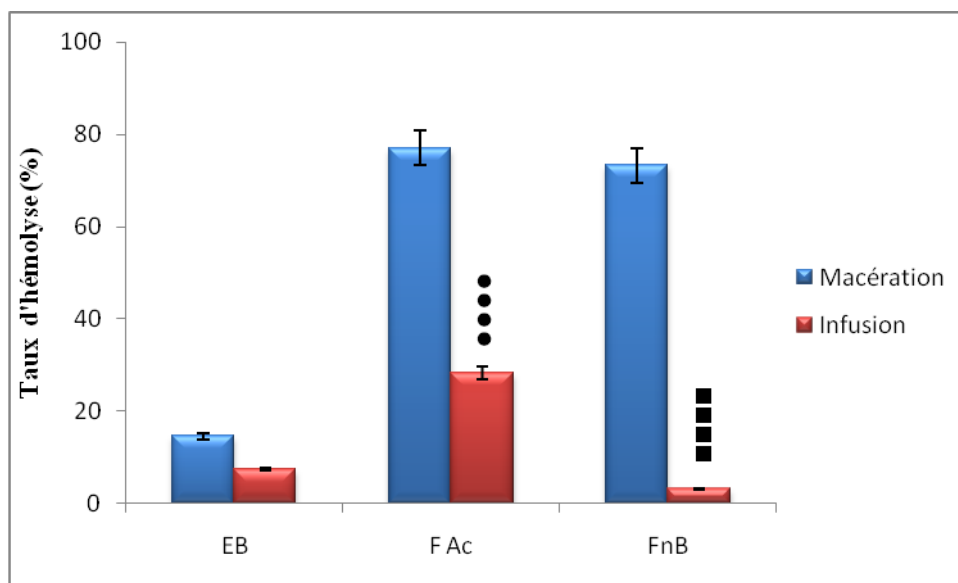


Figure 68: Comparaison des taux d'hémolyse de l'extrait brut de *T. nudatum* préparé par infusion et ses fractions par rapport à l'extrait brut préparé par macération et ses fractions à la concentration 1mg/ml à 60 minutes

EB extrait brut, *FAc* fraction acétate d'éthyle, *Fn-B* fraction n-butanol

• Comparaison entre la fraction acétate d'éthyle de l'extrait brut hydrométhanolique de *T. nudatum* préparé par macération et la fraction acétate d'éthyle de l'extrait brut hydrométhanolique *T. nudatum* préparé par infusion

▪ Comparaison entre la fraction n-butanol de l'extrait brut hydrométhanolique de *T. nudatum* préparé par macération et la fraction n-butanol de l'extrait brut hydrométhanolique de *T. nudatum* préparé par infusion

**** $p < 0.0001$ très hautement significative

7. Activité antidiabétique

7.1. Activité antidiabétique in vivo

Ammodaucus leucotrichus

Effet de l'extrait brut hydrométhanolique

Les figures montrent que l'injection de 250 mg/kg.p.c de l'extrait brut hydrométhanolique d'*A.leucotrichus* induit une diminution non significative de la glycémie chez les rats diabétiques comparativement aux rats diabétiques témoins pendant les 2 heures qui suivent l'injection, ce n'est qu'après 4 heures que cette diminution devient peu significative de l'ordre de 13,94 % (Figure 69), la diminution de la glycémie persiste durant 2 semaines d'une manière non significative et ce n'est qu'à la troisième semaine qu'elle devient peu significative puis hautement significative à la quatrième semaine de l'ordre de 14,92 %. Concernant les rats normaux injectés par le même extrait, nous observons une augmentation non significative de la glycémie par rapport à t_0 de l'ordre de 2,45 % après 4 heures. En poursuivant l'étude, il est établi que l'augmentation non significative persiste jusqu'à la fin de l'expérimentation avec un taux de 1,94 % après 4 semaines (Figure 70).

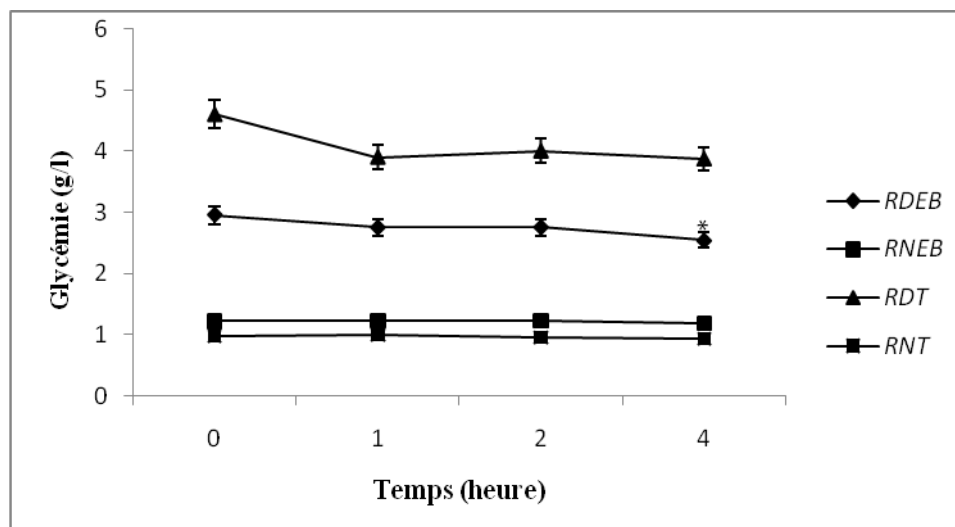


Figure 69: Effet de l'extrait brut hydrométhanolique d'*A. leucotrichus* sur la glycémie chez les rats injectés pendant 4 heures.

RDEB rats diabétiques traités par l'extrait brut, RNEB rats normaux traités par l'extrait brut, RDT rats diabétiques témoins, RNT rats normaux témoins

* Comparaison entre les rats diabétiques traités par l'extrait brut hydrométhanolique d'*A. leucotrichus* et les rats diabétiques témoins,* $p < 0.05$ significative

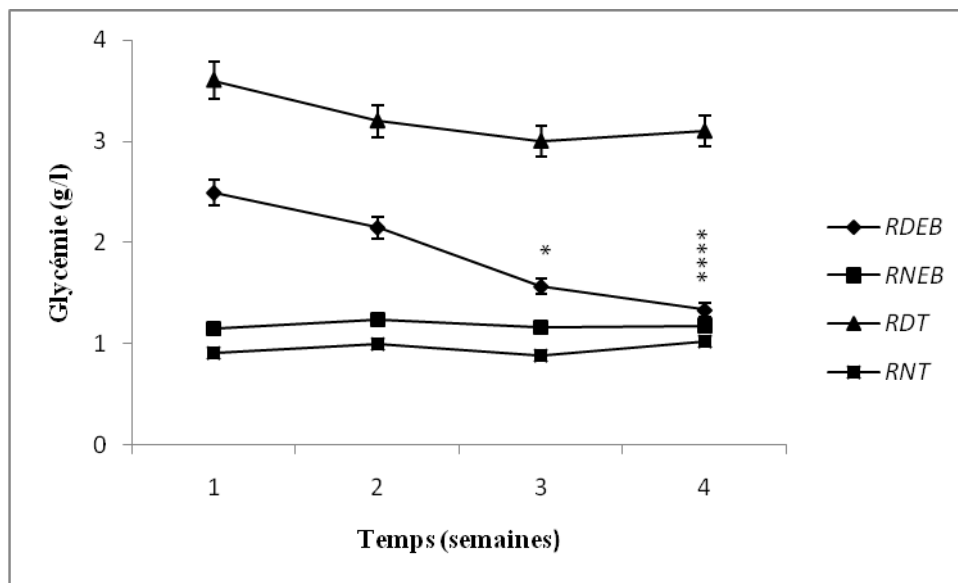


Figure 70: Effet de l'extrait brut hydrométhanolique d'*A. leucotrichus* sur la glycémie chez les rats injectés pendant 4 semaines.

RDEB rats diabétiques traités par l'extrait brut, RNEB rats normaux traités par l'extrait brut, RDT rats diabétiques témoins, RNT rats normaux témoins

* Comparaison entre les rats diabétiques traités par l'extrait brut hydrométhanolique d'*A. leucotrichus* et les rats diabétiques témoins, * $p < 0.05$ significative, **** $p < 0.0001$ très hautement significative

Effet de la fraction acétate d'éthyle

Suite à l'injection de la fraction acétate d'éthyle d'*A. leucotrichus* à une dose de 250 mg/kg.p.c, une diminution non significative de la glycémie est constatée après une heure chez les rats diabétiques, elle devient peu significative à la deuxième heure de l'ordre de 33,53 %, au delà de laquelle, la glycémie commence à augmenter puis après une semaine de l'injection, la glycémie commence à diminuer de nouveau jusqu'à la fin de l'expérimentation, peu significativement durant la première et la deuxième semaine et non significativement à la troisième et la quatrième semaine de l'ordre de 27,48 % par rapport aux rats diabétiques témoins. Par ailleurs, une augmentation non significative de la glycémie est observée suite à l'injection des rats normaux par la même dose de la même fraction de l'ordre de 2,09 % à la quatrième semaine (Figures 71, 72). Il s'avère que la fraction acétate d'éthyle d'*A. leucotrichus* exerce un effet plus important que l'extrait brut hydrométhanolique de la même plante à court et à long terme avec une variation de glycémie de 20,73 % après 4 heures d'injection contre 13,94 % et de 27,48 % contre 14,92 % après 4 semaines (Figures 73, 74).

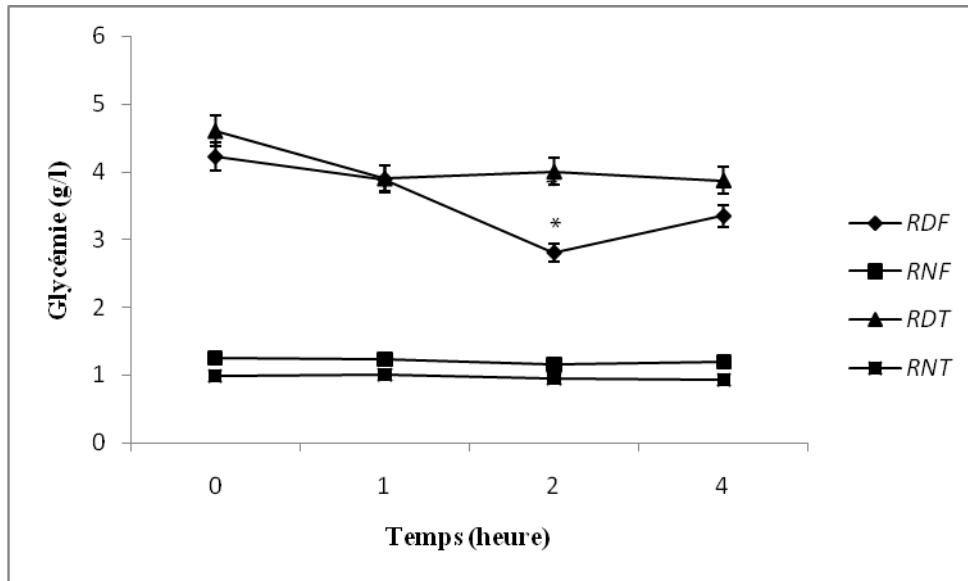


Figure 71: Effet de la fraction acétate d'éthyle de l'extrait brut hydrométhanolique d' *A. leucotrichus* sur la glycémie chez les rats injectés pendant 4 heures.

RDF rats diabétiques traités par la fraction acétate d'éthyle, RNF rats normaux traités par la fraction acétate d'éthyle, RDT rats diabétiques témoins, RNT rats normaux témoins

* Comparaison entre les rats diabétiques traités par la fraction acétate d'éthyle de l'extrait brut hydrométhanolique d'*A. leucotrichus* et les rats diabétiques témoins, * $p < 0.05$ significative

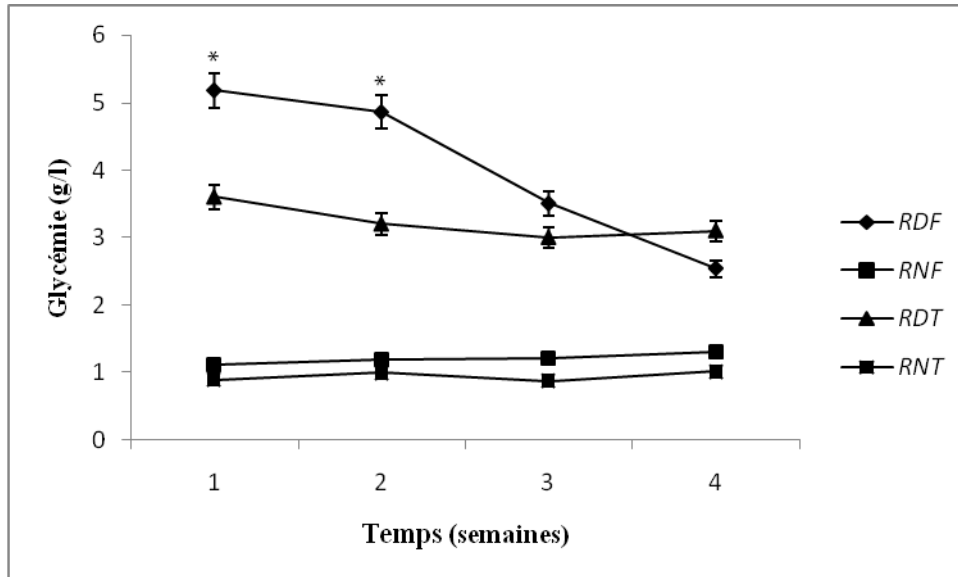


Figure 72: Effet de la fraction acétate d'éthyle de l'extrait brut hydrométhanolique d' *A. leucotrichus* sur la glycémie chez les rats injectés pendant 4 semaines.

RDF rats diabétiques traités par la fraction acétate d'éthyle, RNF rats normaux traités par la fraction acétate d'éthyle, RDT rats diabétiques témoins, RNT rats normaux témoins

* Comparaison entre les rats diabétiques traités par la fraction acétate d'éthyle de l'extrait brut hydrométhanolique d' *A. leucotrichus* et les rats diabétiques témoins, * $p < 0.05$ significative

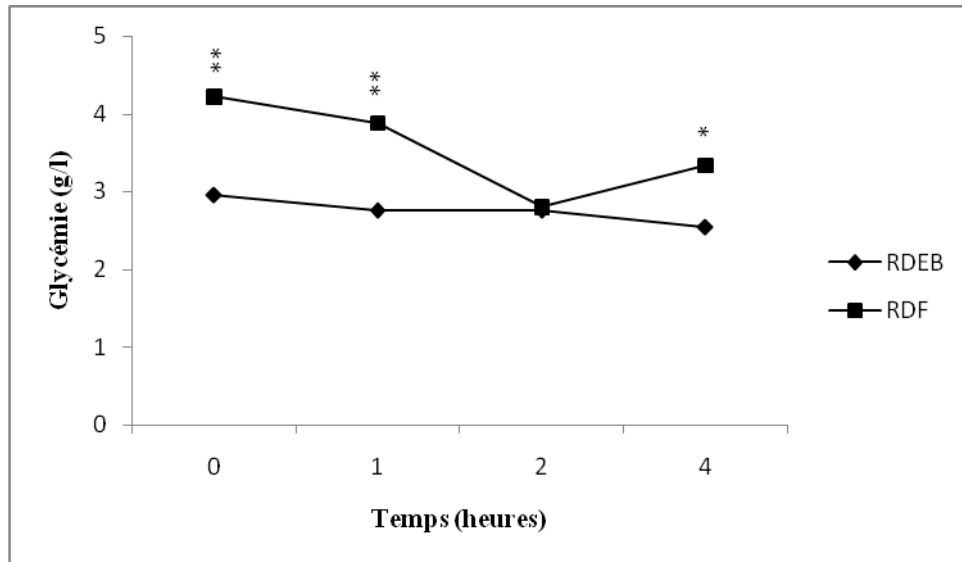


Figure 73: Comparaison de l'effet de l'extrait brut hydrométhanolique d' *A. leucotrichus* et de sa fraction acétate d'éthyle sur la glycémie chez les rats diabétiques injectés pendant 4 heures

RDEB rats diabétiques traités par l'extrait brut hydrométhanolique, RDF rats diabétiques traités par la fraction acétate d'éthyle

* Comparaison entre les rats diabétiques traités par l'extrait brut hydrométhanolique d' *A. leucotrichus* et les rats diabétiques traités par la fraction acétate d'éthyle de l'extrait brut hydrométhanolique d' *A. leucotrichus*
 * $p < 0.05$ significative, ** $p < 0.01$ très significative

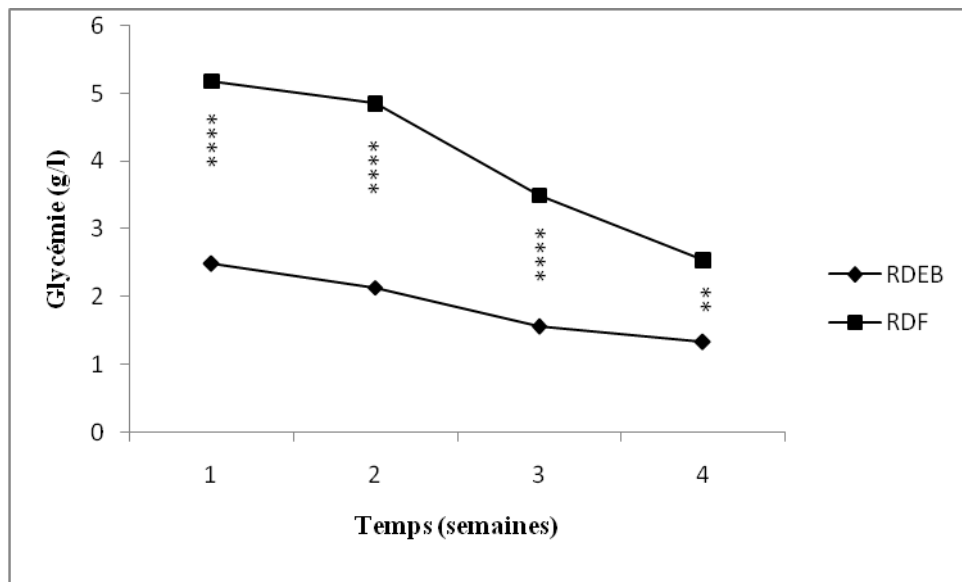


Figure 74: Comparaison de l'effet de l'extrait brut hydrométhanolique d' *A. leucotrichus* et de sa fraction acétate d'éthyle sur la glycémie chez les rats diabétiques injectés pendant 4 semaines

RDEB rats diabétiques traités par l'extrait brut hydrométhanolique d'*A. leucotrichus*, RDF rats diabétiques traités par la fraction acétate d'éthyle de l'extrait brut hydrométhanolique d'*A. leucotrichus*

* Comparaison entre les rats diabétiques traités par l'extrait brut hydrométhanolique d'*A. leucotrichus* et les rats diabétiques traités par la fraction acétate d'éthyle de l'extrait brut hydrométhanolique d'*A. leucotrichus*
 ** $p < 0.01$ très significative, **** $p < 0.0001$ très hautement significative

Traganum nudatum

Nous observons une diminution progressive de la glycémie au cours du temps chez les rats diabétiques ayant reçu une injection de 250 mg/kg.p.c de l'extrait brut hydrométhanolique de *T.nudatum* de l'ordre de 25,42 % après 4 heures mais non significative ni par rapport aux rats diabétiques témoins ni par rapport à t0 (Figure 75) Une semaine après l'injection de l'extrait, nous observons une diminution hautement significative de la glycémie chez les rats diabétiques traités par rapport aux rats diabétiques témoins qui persiste jusqu'à la deuxième semaine avec une diminution maximale de 25,66 %. Par ailleurs, chez les rats normaux ayant reçu une injection de 250 mg/kg.p.c du même extrait, une augmentation non significative par rapport à t0 de la glycémie est notée durant les quatre premières heures qui se poursuit jusqu'à la quatrième semaine (Figure 76).

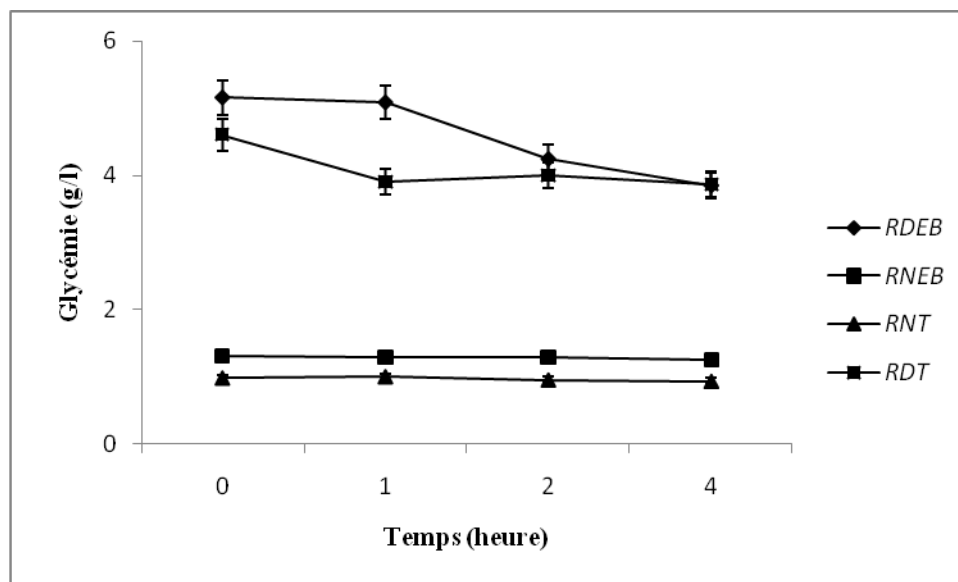


Figure 75: Effet de l'extrait brut hydrométhanolique de *T. nudatum* sur la glycémie chez les rats injectés pendant 4 heures.

RDEB rats diabétiques traités par l'extrait brut hydrométhanolique de *T. nudatum* RNEB rats normaux traités par l'extrait brut hydrométhanolique de *T. nudatum*, RDT rats diabétiques témoins, RNT rats normaux témoins

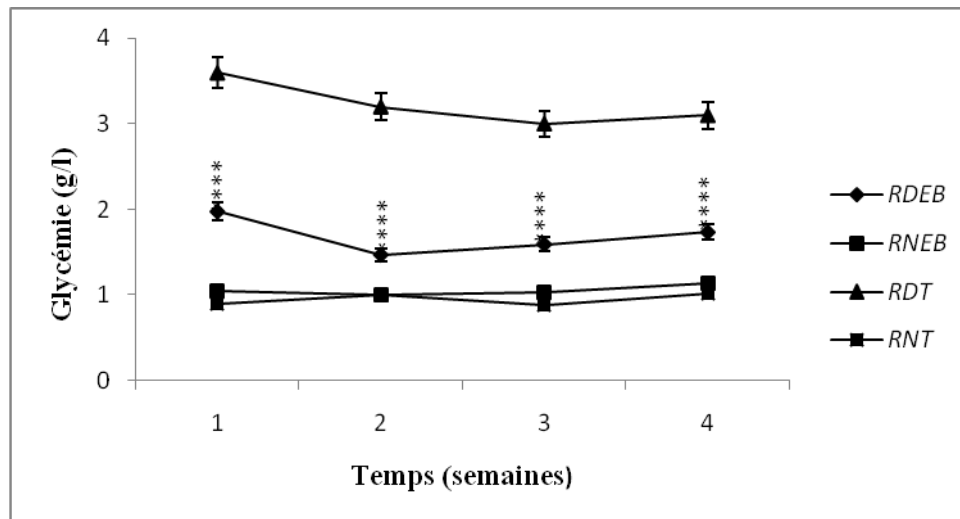


Figure 76: Effet de l'extrait brut hydrométhanolique de *T. nudatum* sur la glycémie chez les rats injectés pendant 4 semaines.

RDEB rats diabétiques traités par l'extrait brut hydrométhanolique de *T. nudatum*, RNEB rats normaux traités par l'extrait brut hydrométhanolique de *T. nudatum*, RDT rats diabétiques témoins, RNT rats normaux témoins
 * Comparaison entre les rats diabétiques traités par l'extrait brut hydrométhanolique de *T. nudatum* et les rats diabétiques témoins, **** p < 0.0001 très hautement significative

Effet de la fraction acétate d'éthyle

Après une heure de l'injection des rats diabétiques par 250 mg/kg.p.c de la fraction acétate d'éthyle de *T. nudatum*, nous remarquons une augmentation de la glycémie après une heure suivie d'une diminution peu significative après 2 heures et qui devient significative après 4 heures de l'ordre de 9,24 % comparativement aux rats diabétiques témoins et aussi par rapport à t_0 qui correspond au début de l'expérimentation (Figure 77). Après la deuxième injection de la fraction, une diminution hautement significative est notée, elle persiste jusqu'à la troisième semaine de l'ordre de 59,39 % par rapport aux rats diabétiques témoins, au delà de cette semaine la glycémie commence à augmenter. Les variations de la glycémie chez les rats normaux injectés par la même fraction ne sont pas significatives par rapport à t_0 avec un taux de 3,62 % à la quatrième heure. Une augmentation de la glycémie est notée chez les mêmes rats normaux traités après 4 semaines de l'ordre de 5,84 % (Figure 78). D'après ces résultats, nous constatons que l'extrait brut hydrométhanolique de *T. nudatum* présente le meilleur effet comparé à sa fraction acétate d'éthyle à court terme, après 4 heures d'injection il présente une diminution de 25,42 % de la glycémie contre 9,24%. En revanche, il semble que la fraction acétate d'éthyle agisse mieux à plus long terme, elle induit une diminution hautement significative de la glycémie atteignant 39,66 et 59,39 % après 2 et 3 semaines d'injection respectivement (Figures 79,80).

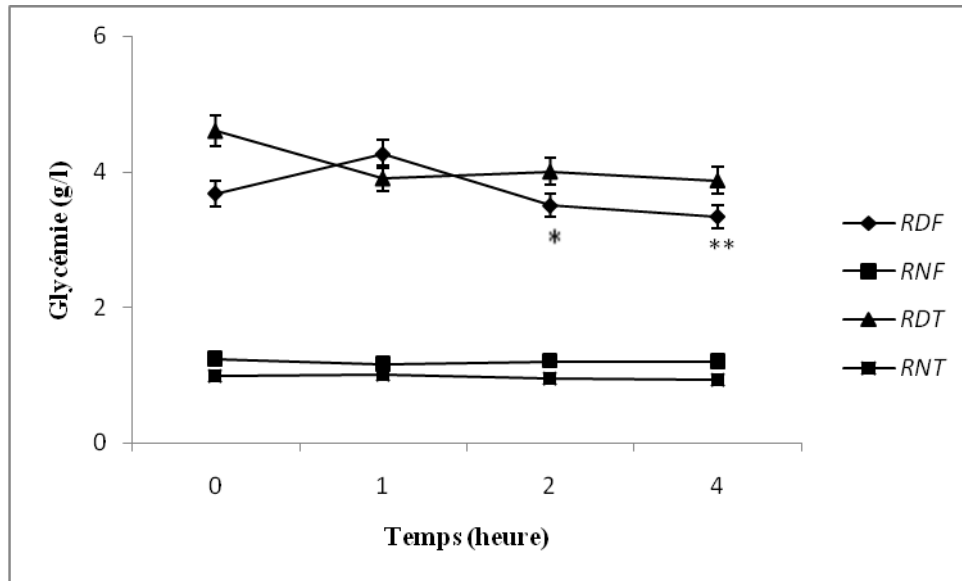


Figure 77: Effet de la fraction acétate d'éthyle de l'extrait brut hydrométhanolique de *T. nudatum* sur la glycémie chez les rats injectés pendant 4 heures.

RDF rats diabétiques traités par la fraction acétate d'éthyle de l'extrait brut hydrométhanolique de *T. nudatum*,
 RNF rats normaux traités par la fraction acétate d'éthyle de l'extrait brut hydrométhanolique de *T. nudatum*,
 RDT rats diabétiques témoins, RNT rats normaux témoins

* Comparaison entre les rats diabétiques traités par la fraction acétate d'éthyle de l'extrait brut hydrométhanolique de *T. nudatum* et les rats diabétiques témoins, * $p < 0.05$ significative, ** $p < 0.01$ très significative

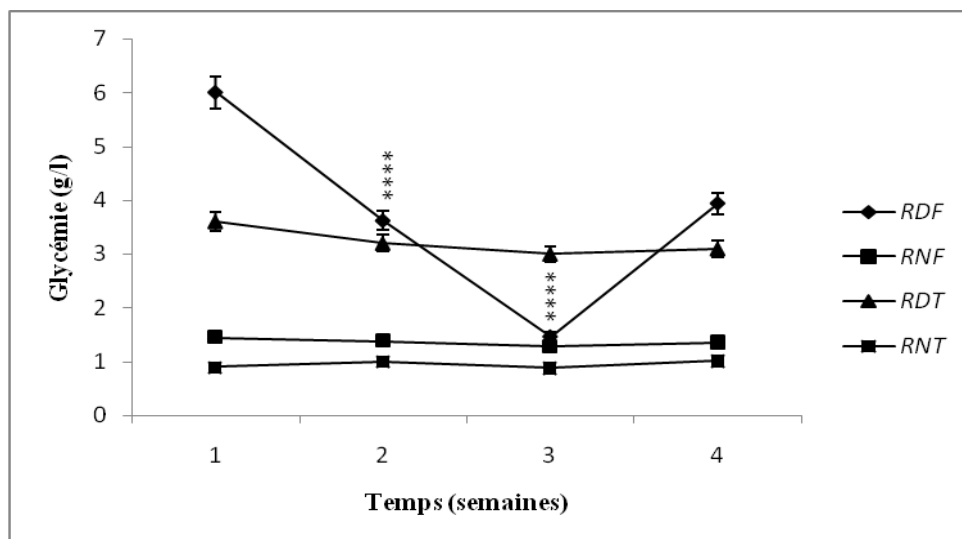


Figure 78: Effet de la fraction acétate d'éthyle de l'extrait brut hydrométhanolique de *T. nudatum* sur la glycémie chez les rats injectés pendant 4 semaines.

RDF rats diabétiques traités par la fraction acétate d'éthyle de l'extrait brut hydrométhanolique de *T. nudatum*,
 RNF rats normaux traités par la fraction acétate d'éthyle de l'extrait brut hydrométhanolique de *T. nudatum*,
 RDT rats diabétiques témoins, RNT rats normaux témoins

* Comparaison entre les rats diabétiques traités par la fraction acétate d'éthyle de l'extrait brut hydrométhanolique de *T. nudatum* et les rats diabétiques témoins, **** $p < 0.0001$ très hautement significative

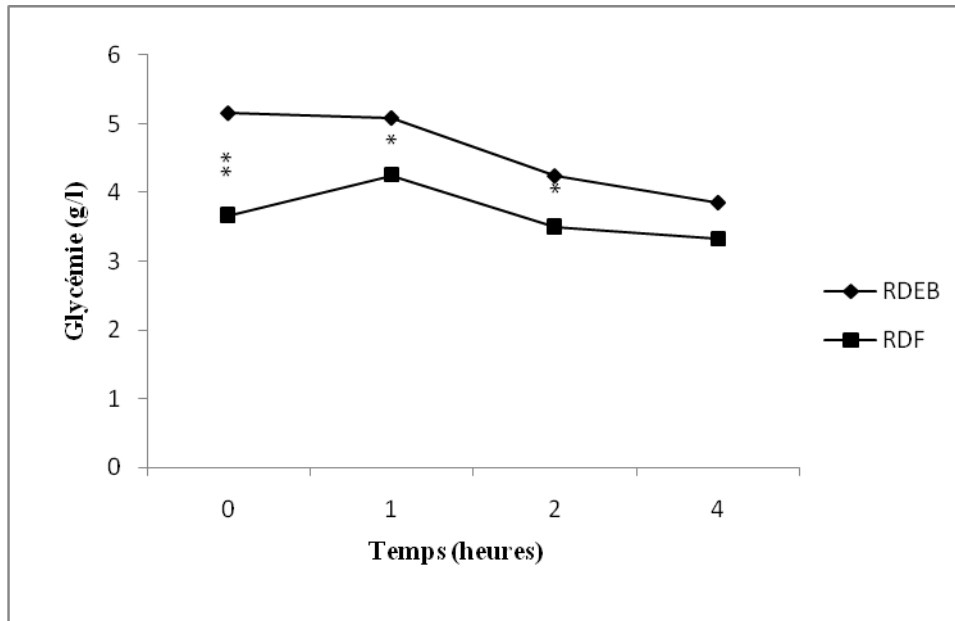


Figure 79: Comparaison de l'effet de l'extrait brut hydrométhanolique de *T. nudatum* et de sa fraction acétate d'éthyle sur la glycémie chez les rats diabétiques injectés pendant 4 heures

RDEB rats diabétiques traités par l'extrait brut hydrométhanolique de *T. nudatum*

RDF rats diabétiques traités par la fraction acétate d'éthyle de l'extrait brut hydrométhanolique de *T. nudatum*

* Comparaison entre les rats diabétiques traités par l'extrait brut hydrométhanolique de *T. nudatum* et les rats diabétiques traités par la fraction acétate d'éthyle de l'extrait brut hydrométhanolique de *T. nudatum*

* $p < 0.05$ significative, ** $p < 0.01$ très significative

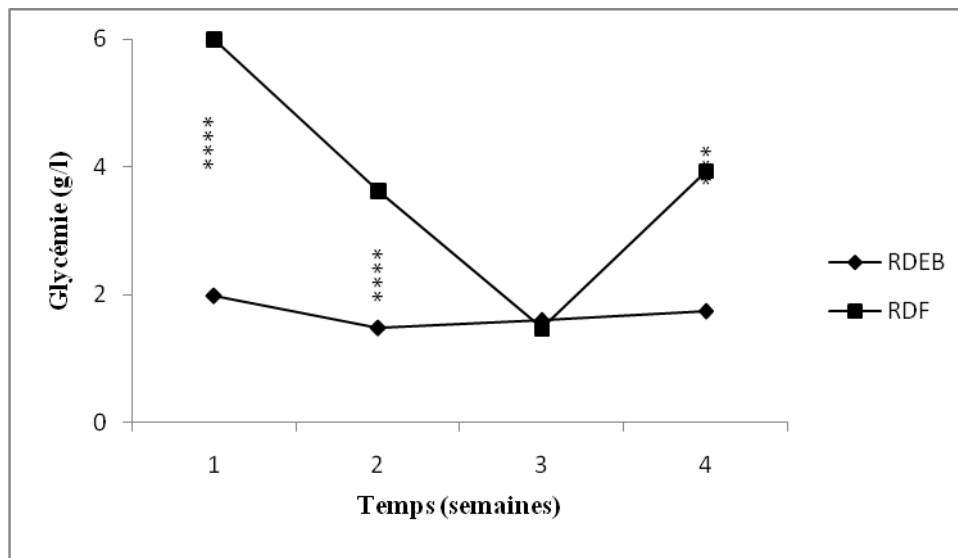


Figure 80: Comparaison de l'effet de l'extrait brut hydrométhanolique de *T. nudatum* et de sa fraction acétate d'éthyle sur la glycémie chez les rats diabétiques injectés pendant 4 semaines

RDEB rats diabétiques traités par l'extrait brut hydrométhanolique de *T. nudatum*

RDF rats diabétiques traités par la fraction acétate d'éthyle de l'extrait brut hydrométhanolique de *T. nudatum*

* Comparaison entre les rats diabétiques traités par l'extrait brut hydrométhanolique de *T. nudatum* et les rats diabétiques traités par la fraction acétate d'éthyle de l'extrait brut hydrométhanolique de *T. nudatum*

*** $p < 0.001$ hautement significative, **** $p < 0.0001$ très hautement significative

7.2. Activité antidiabétique in vitro: Effet sur l'absorption du glucose

Remarque

Les résultats des expériences de l'absorption de glucose par les coupes de foie et les adipocytes isolés de rats Wistar sont présentés en moyenne \pm ESM (n = 5).

7.2.1. Viabilité et dénombrement cellulaire

Le dénombrement cellulaire au microscope optique en utilisant une cellule de Thoma a permis de noter la viabilité de plus de 10 millions d'adipocytes et de plus de 67 millions d'hépatocytes dans 1g de tissu adipocytaire et hépatique respectivement par ml de suspension.

7.2.2. Effet sur l'absorption du glucose par le foie

a- Absorption basale de glucose par les coupes de foie

D'après les résultats rapportés dans les figures 81 et 82, nous constatons que les coupes de foie incubées seules sans insuline et sans extraits présentent une absorption basale de glucose qui augmente au cours du temps d'incubation et qui atteint un maximum de l'ordre de 10,4 % dans le milieu d'incubation contenant 5 mM de glucose d'une façon peu significative et de l'ordre de 9% dans le milieu d'incubation contenant 16 mM de glucose après 90 minutes d'incubation par rapport aux témoins (milieux d'incubation contenant 5 mM et 16 mM de glucose respectivement en absence des coupes de foie). Il est à noter que l'absorption du glucose par les coupes de foie dans le milieu d'incubation normoglycémique est légèrement plus élevée que dans le milieu hyperglycémique.

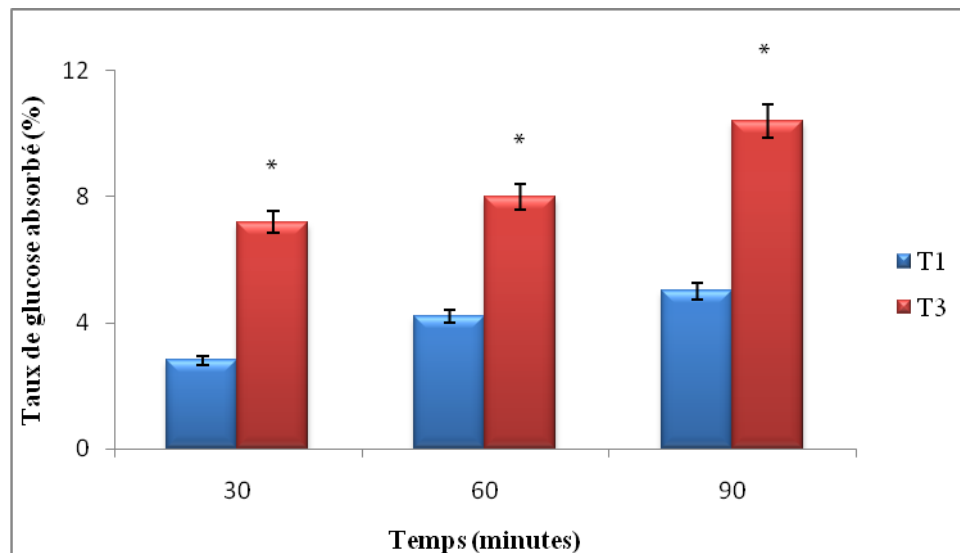


Figure 81: Taux de glucose absorbé par les coupes de foie pendant 90 minutes dans le milieu d'incubation contenant 5 mM de glucose.

T1 milieu d'incubation KRBA 4% contenant 5 mM de glucose en absence des coupes de foie

T3 milieu d'incubation KRBA 4% contenant 5 mM de glucose en présence des coupes de foie

* Comparaison des taux de glucose absorbé en absence et en présence des coupes de foie dans le milieu d'incubation KRBA 4% contenant 5 mM de glucose, * p < 0.05 significative

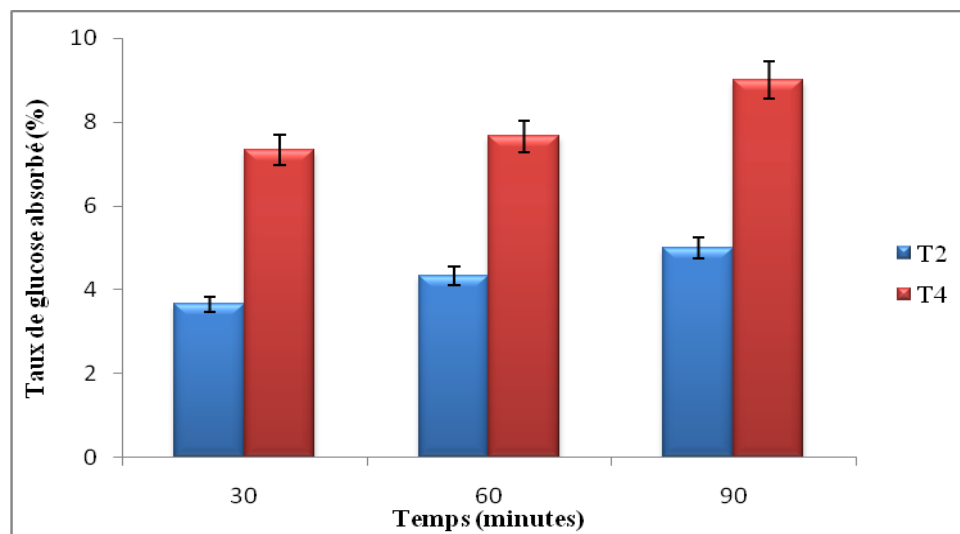


Figure 82: Taux de glucose absorbé par les coupes de foie pendant 90 minutes dans le milieu d'incubation contenant 16 mM de glucose.

T2 milieu d'incubation KRBA 4% contenant 16 mM de glucose en absence des coupes de foie
 T4 milieu d'incubation KRBA 4% contenant 16 mM de glucose en présence des coupes de foie

b- Effet de l'insuline sur l'absorption du glucose par les coupes de foie

Les figures 83 et 84 qui représentent les taux de glucose absorbé par les coupes de foie en présence de différentes concentrations d'insuline (10, 50 et 100 μ U/ml) montrent une augmentation proportionnelle de l'absorption du glucose aux concentrations et au temps d'incubation, cette augmentation est hautement significative à toutes les concentrations testées dans les deux milieux d'incubation par rapport aux témoins (coupes de foie incubées en présence de 5 mM et 16 mM de glucose sans insuline) tout au long de l'incubation. L'absorption de glucose la plus importante est enregistrée à la concentration la plus élevée d'insuline 100 μ U/ml avec des taux de 43,8% et de 47% dans les milieux d'incubation contenant 5 mM et 16 mM de glucose respectivement après 90 minutes d'incubation. Nous remarquons que l'action de l'insuline est plus importante dans le milieu d'incubation hyperglycémique que dans le milieu normoglycémique.

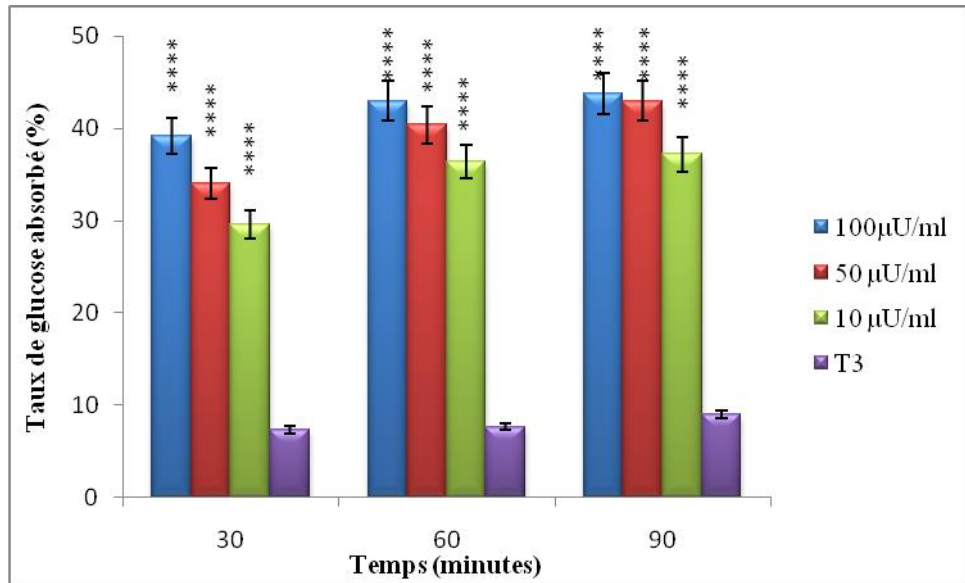


Figure 83: Taux de glucose absorbé par les coupes de foie en présence de l'insuline à différentes concentrations dans le milieu d'incubation contenant 5 mM de glucose.

T3 milieu d'incubation KRBA 4% contenant 5 mM de glucose en présence des coupes de foie et sans insuline

* Comparaison des taux de glucose absorbé par les coupes de foie en absence et en présence de différentes concentrations d'insuline dans le milieu d'incubation KRBA 4 % contenant 5 mM de glucose

**** p < 0.0001 très hautement significative

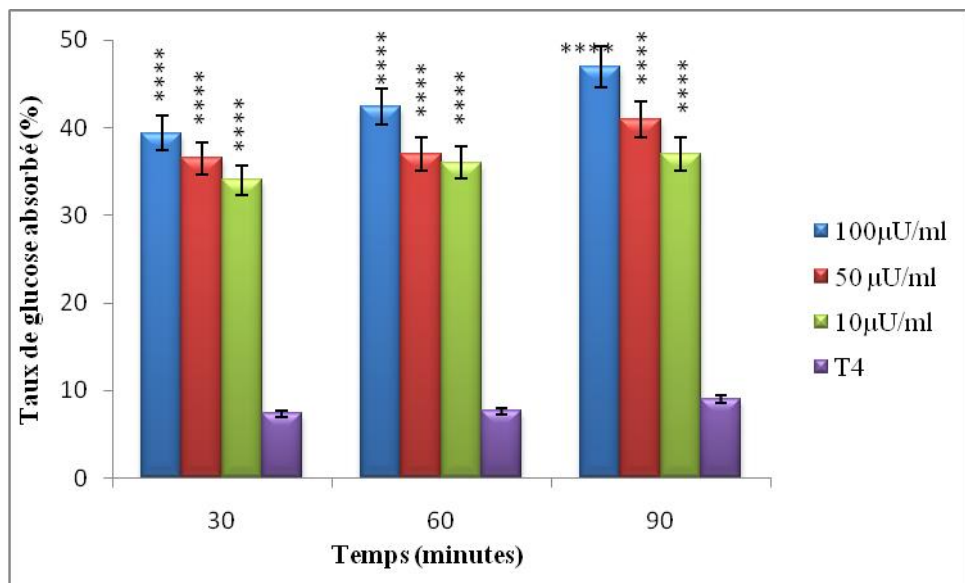


Figure 84: Taux de glucose absorbé par les coupes de foie en présence de l'insuline à différentes concentrations dans le milieu d'incubation contenant 16 mM de glucose.

T4 milieu d'incubation KRBA 4% contenant 16 mM de glucose en présence des coupes de foie et sans insuline

* Comparaison des taux de glucose absorbé par les coupes de foie en absence et en présence de différentes concentrations d'insuline dans le milieu d'incubation KRBA 4 % contenant 16 mM de glucose

**** p < 0.0001 très hautement significative

c- Effet de l'extrait brut hydrométhanolique et de sa fraction acétate d'éthyle d'*A. leucotrichus* sur l'absorption de glucose par les coupes de foie

Les résultats de l'absorption de glucose par les coupes de foie incubées en présence de différentes concentrations (100, 200 et 500 µg/ml) de l'extrait brut hydrométhanolique et de sa fraction acétate d'éthyle d'*A. leucotrichus* montrent que les taux de glucose absorbé sont croissants en fonction du temps et des concentrations (Figures 85, 86, 87, 88). En effet, pour les deux extraits le maximum d'absorption est noté à la concentration de 500 µg/ml d'une façon hautement significative après 90 minutes d'incubation dans les deux milieux d'incubation (contenant 5 mM et 16 mM de glucose) avec des taux de 44% et 47.6% pour l'extrait brut hydrométhanolique EB_M et de 43% et 48% pour la fraction FAc_M respectivement par rapport aux témoins (coupes de foie incubées en présence de 5 mM ou 16 mM de glucose sans extrait). Nous constatons que les deux extraits testés d'*A. leucotrichus* possèdent un effet similaire très proche de celui de l'insuline sur l'absorption du glucose par les coupes de foie et qu'ils agissent mieux dans le milieu d'incubation hyperglycémique que dans le milieu d'incubation normoglycémique (Figures 89, 90).

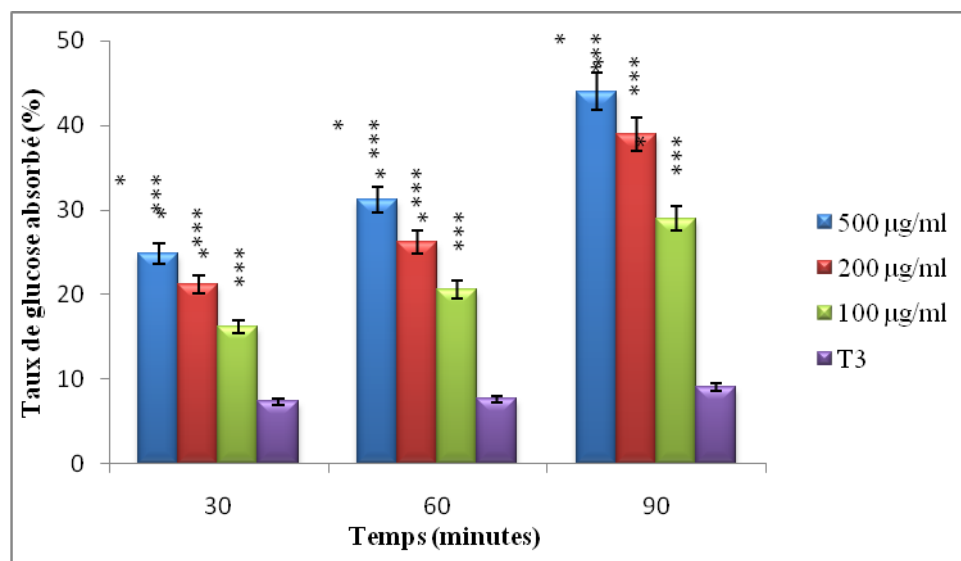


Figure 85: Taux de glucose absorbé par les coupes de foie en présence de l'extrait brut hydrométhanolique d'*A. leucotrichus* à différentes concentrations dans le milieu d'incubation contenant 5 mM de glucose.

T3 milieu d'incubation KRBA 4% contenant 5 mM de glucose en présence des coupes de foie et sans extrait
 * Comparaison des taux de glucose absorbé par les coupes de foie en absence et en présence de différentes concentrations de l'extrait brut hydrométhanolique d' *A. leucotrichus* dans le milieu d'incubation KRBA 4 % contenant 5 mM de glucose, **** p < 0.0001 très hautement significative

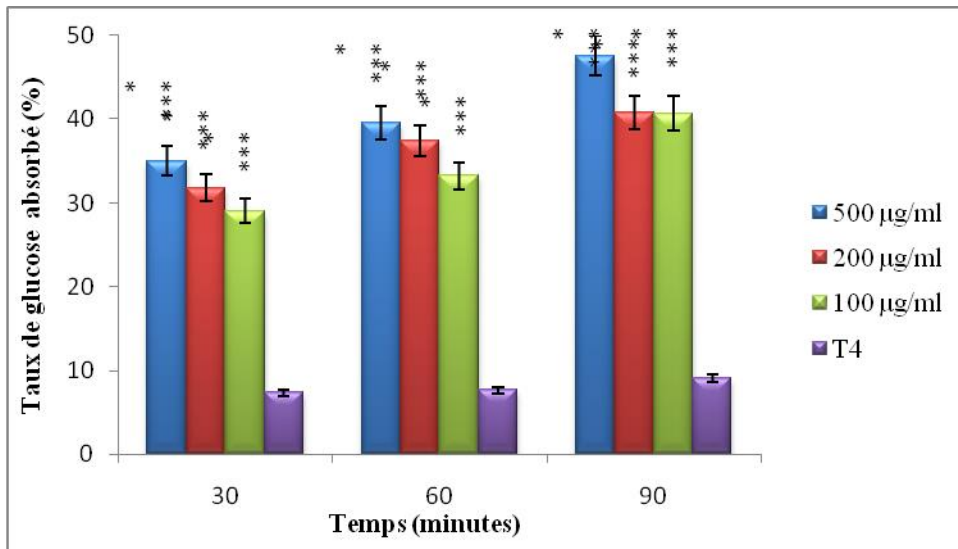


Figure 86: Taux de glucose absorbé par les coupes de foie en présence de l'extrait brut hydrométhanolique d'*A. leucotrichus* à différentes concentrations dans le milieu d'incubation contenant 16 mM de glucose.

T4 milieu d'incubation KRBA 4% contenant 16 mM de glucose en présence des coupes de foie et sans extrait
 * Comparaison des taux de glucose absorbé par les coupes de foie en absence et en présence de différentes concentrations de l'extrait brut hydrométhanolique d' *A. leucotrichus* dans le milieu d'incubation KRBA 4 % contenant 16 mM de glucose, **** p < 0.0001 très hautement significative

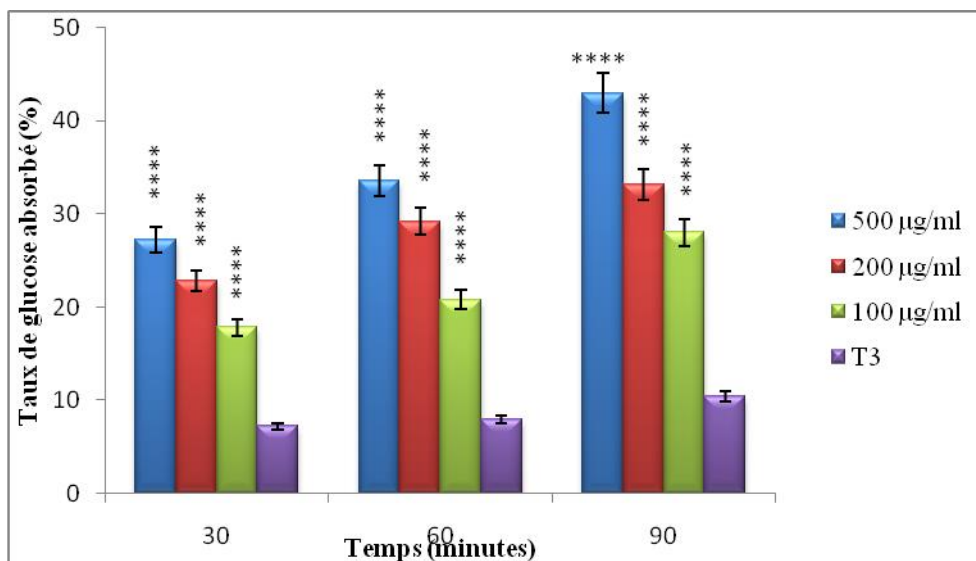


Figure 87: Taux de glucose absorbé par les coupes de foie en présence de la fraction acétate d'éthyle de l'extrait brut hydrométhanolique d'*A. leucotrichus* à différentes concentrations dans le milieu d'incubation contenant 5 mM de glucose.

T3 milieu d'incubation KRBA 4% contenant 5 mM de glucose en présence des coupes de foie et sans extrait
 * Comparaison des taux de glucose absorbé par les coupes de foie en absence et en présence de différentes concentrations de la fraction acétate d'éthyle de l'extrait brut hydrométhanolique d' *A. leucotrichus* dans le milieu d'incubation KRBA 4 % contenant 5 mM de glucose, **** p < 0.0001 très hautement significative

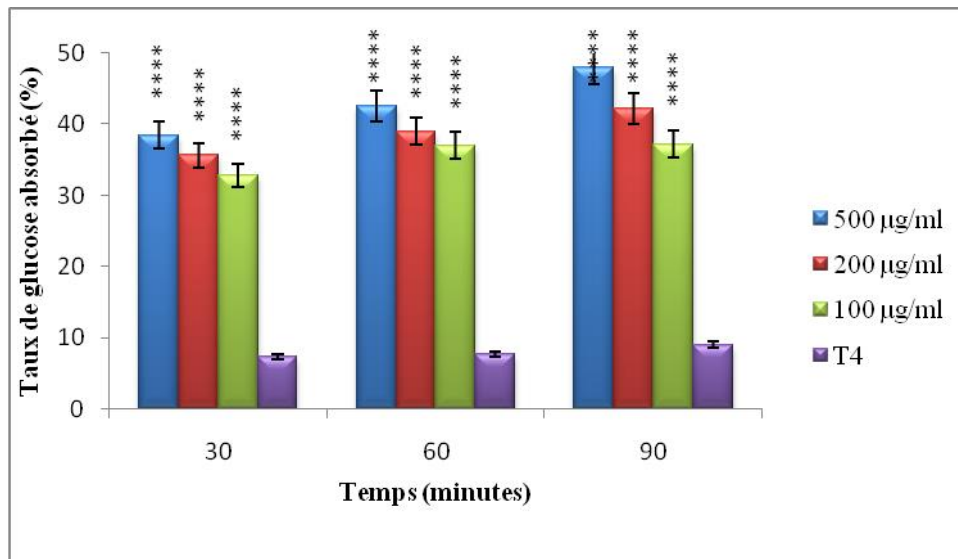


Figure 88: Taux de glucose absorbé par les coupes de foie en présence de la fraction acétate d'éthyle de l'extrait brut hydrométhanolique d'*A. leucotrichus* à différentes concentrations dans le milieu d'incubation contenant 16 mM de glucose.

T4 milieu d'incubation KRBA 4% contenant 16 mM de glucose en présence des coupes de foie et sans extrait

* Comparaison des taux de glucose absorbé par les coupes de foie en absence et en présence de différentes concentrations de la fraction acétate d'éthyle de l'extrait brut hydrométhanolique d' *A. leucotrichus* dans le milieu d'incubation KRBA 4 % contenant 16 mM de glucose, **** p < 0.0001 très hautement significative

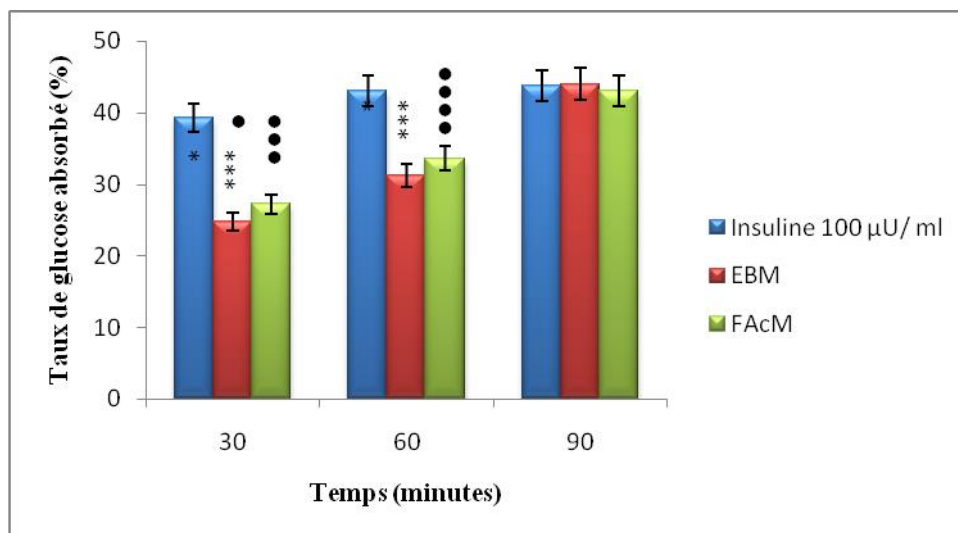


Figure 89: Comparaison de l'effet de l'extrait brut hydrométhanolique d'*A. leucotrichus* et de sa fraction acétate d'éthyle à la concentration 500µg/ml par rapport à l'insuline à 100 µU/ml sur l'absorption de glucose par les coupes de foie dans le milieu d'incubation contenant 5 mM de glucose

EB extrait brut, FAc fraction acétate d'éthyle, M macération

* Comparaison des taux de glucose absorbé par les coupes de foie en présence de l'extrait brut hydrométhanolique d' *A. leucotrichus* à 500 µg/ml et en présence d'insuline à 100 µU/ml dans le milieu d'incubation KRBA 4 % contenant 5 mM de glucose

• Comparaison des taux de glucose absorbé par les coupes de foie en présence de la fraction acétate d'éthyle de l'extrait brut hydrométhanolique d' *A. leucotrichus* à 500 µg/ml et en présence d'insuline à 100 µU/ml dans le milieu d'incubation KRBA 4 % contenant 5 mM de glucose, **** p < 0.0001 très hautement significative

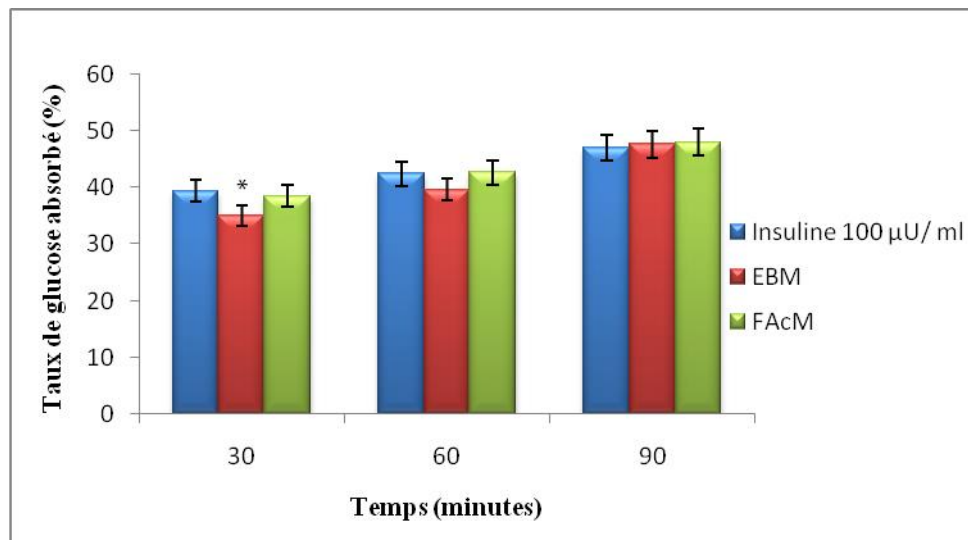


Figure 90: Comparaison de l'effet de l'extrait brut hydrométhanolique d'*A. leucotrichus* et de sa fraction acétate d'éthyle à la concentration 500 µg/ml par rapport à l'insuline à 100 µU/ml sur l'absorption de glucose par les coupes de foie dans le milieu d'incubation contenant 16 mM de glucose

EB extrait brut, FAc fraction acétate d'éthyle, M macération

* Comparaison des taux de glucose absorbé par les coupes de foie en présence de l'extrait brut hydrométhanolique d' *A. leucotrichus* à 500 µg/ml et en présence d'insuline à 100 µU/ml dans le milieu d'incubation KRBA 4 % contenant 16 mM de glucose, * p < 0.05 significative

d- Effet de l'extrait brut hydrométhanolique et de sa fraction acétate d'éthyle de *T. nudatum* sur l'absorption de glucose par les coupes de foie

Une augmentation proportionnelle de l'assimilation du glucose par les coupes de foie aux concentrations de l'extrait brut hydrométhanolique et de sa fraction acétate d'éthyle (100, 200 et 500µg/ml) de *T. nudatum* est observée pendant les 90 minutes d'incubation dans les figures, la concentration 500 µg/ml induit le maximum d'absorption de glucose d'une manière hautement significative avec des pourcentages de 37% et 42% pour EB_M et de 38% et 44% pour FAc_M dans les milieux d'incubation contenant 5 mM et 16 mM de glucose respectivement après 90 minutes d'incubation comparativement aux témoins (coupes de foie incubées dans des milieux d'incubation contenant 5 mM ou 16 mM de glucose sans extrait) (Figures 91, 92, 93, 94). Il est constaté que sous l'action des deux extraits de *T. nudatum*, les coupes de foie absorbent d'avantage de glucose dans le milieu d'incubation hyperglycémique que dans le milieu normoglycémique, nous constatons également que la fraction acétate d'éthyle est légèrement plus efficace que l'extrait brut hydrométhanolique mais moins efficace que l'insuline (Figures 95, 96).

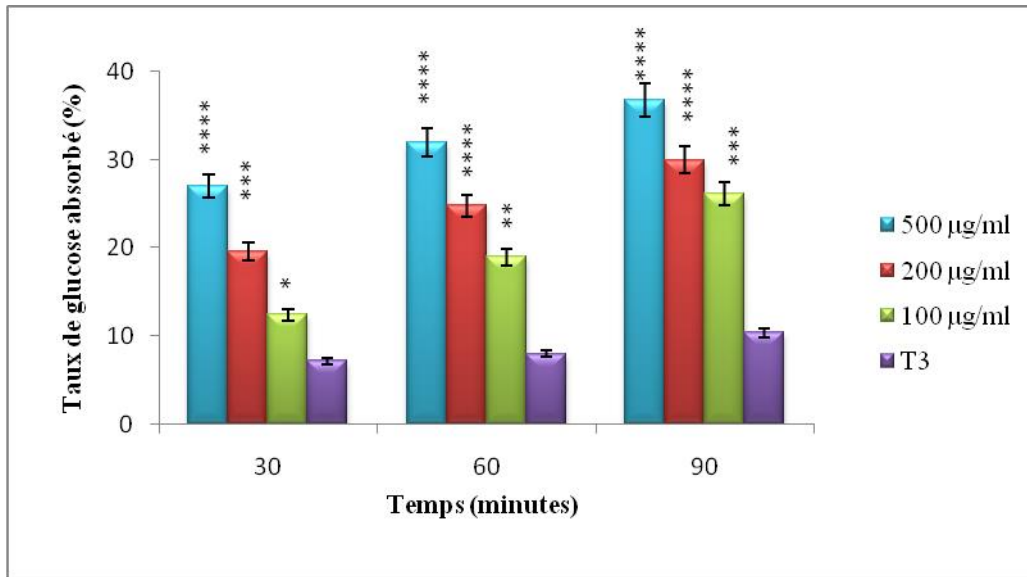


Figure 91: Taux de glucose absorbé par les coupes de foie en présence de l'extrait brut hydrométhanolique de *T. nudatum* à différentes concentrations dans le milieu d'incubation contenant 5 mM de glucose.

T3 milieu d'incubation KRBA 4% contenant 5 mM de glucose en présence des coupes de foie et sans extrait
 * Comparaison des taux de glucose absorbé par les coupes de foie en absence et en présence de différentes concentrations de l'extrait brut hydrométhanolique de *T. nudatum* dans le milieu d'incubation KRBA 4 % contenant 5 mM de glucose, * p < 0.05 significative, ** p < 0.01 très significative, *** p < 0.001 hautement significative, **** p < 0.0001 très hautement significative

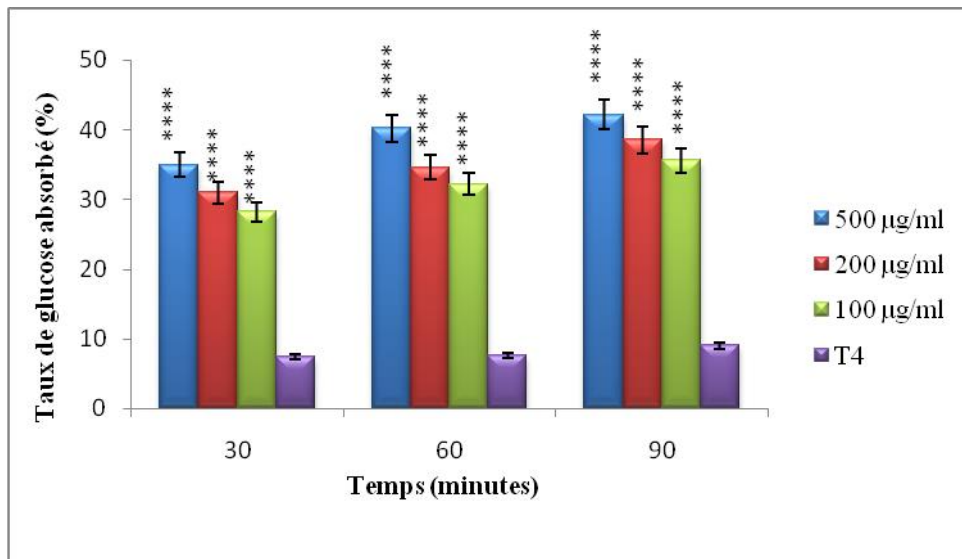


Figure 92: Taux de glucose absorbé par les coupes de foie en présence de l'extrait brut hydrométhanolique de *T. nudatum* à différentes concentrations dans le milieu d'incubation contenant 16 mM de glucose.

T4 milieu d'incubation KRBA 4% contenant 16 mM de glucose en présence des coupes de foie et sans extrait
 * Comparaison des taux de glucose absorbé par les coupes de foie en absence et en présence de différentes concentrations de l'extrait brut hydrométhanolique de *T. nudatum* dans le milieu d'incubation KRBA 4 % contenant 16 mM de glucose, **** p < 0.0001 très hautement significative

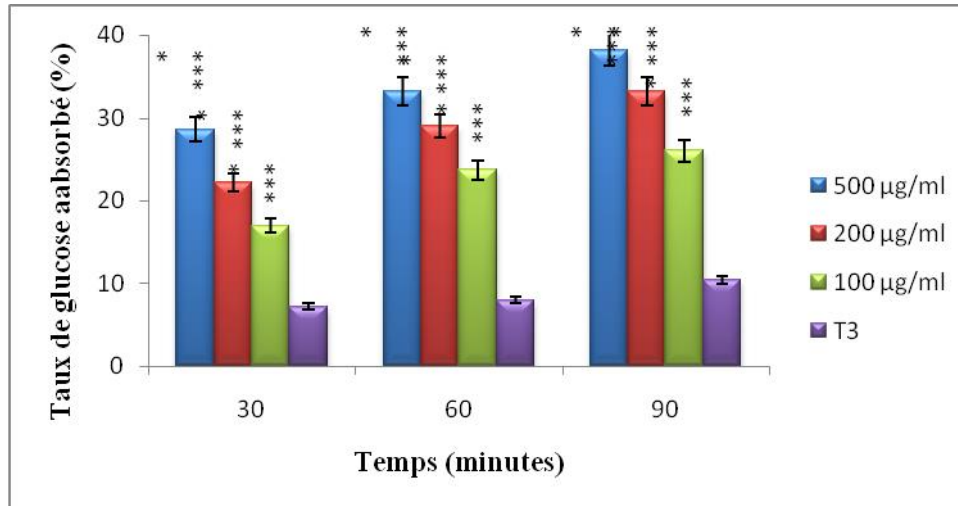


Figure 93: Taux de glucose absorbé par les coupes de foie en présence de la fraction acétate d'éthyle de l'extrait brut hydrométhanolique de *T.nudatum* à différentes concentrations dans le milieu d'incubation contenant 5 mM de glucose.

T3 milieu d'incubation KRBA 4% contenant 5 mM de glucose en présence des coupes de foie et sans extrait
 * Comparaison des taux de glucose absorbé par les coupes de foie en absence et en présence de différentes concentrations de la fraction acétate d'éthyle de l'extrait brut hydrométhanolique de *T. nudatum* dans le milieu d'incubation KRBA 4 % contenant 5 mM de glucose, **** p < 0.0001 très hautement significative

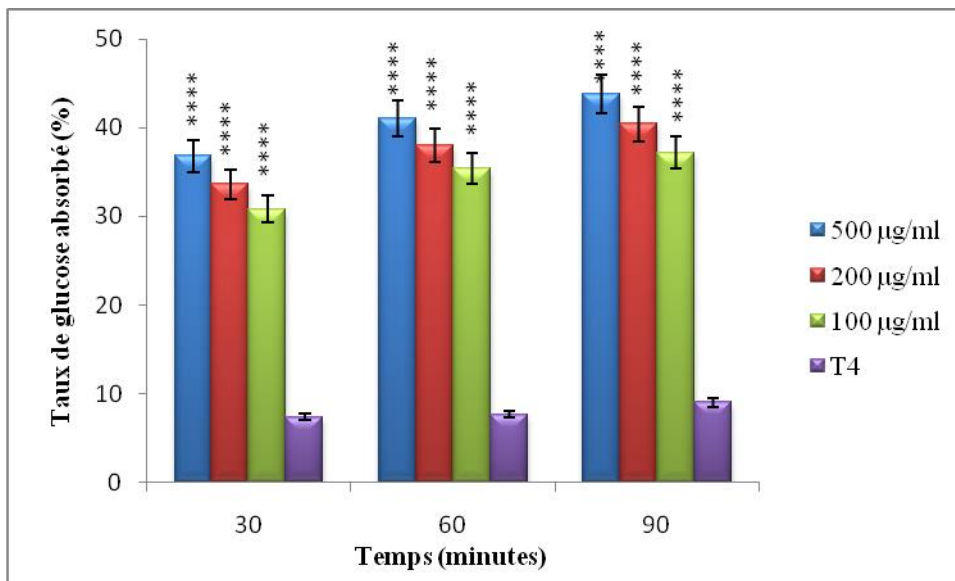


Figure 94: Taux de glucose absorbé par les coupes de foie en présence de la fraction acétate d'éthyle de l'extrait brut hydrométhanolique de *T.nudatum* à différentes concentrations dans le milieu d'incubation contenant 16 mM de glucose.

T4 milieu d'incubation KRBA 4% contenant 16 mM de glucose en présence des coupes de foie et sans extrait
 * Comparaison des taux de glucose absorbé par les coupes de foie en absence et en présence de différentes concentrations de la fraction acétate d'éthyle de l'extrait brut hydrométhanolique de *T. nudatum* dans le milieu d'incubation KRBA 4 % contenant 16 mM de glucose, **** p < 0.0001 très hautement significative

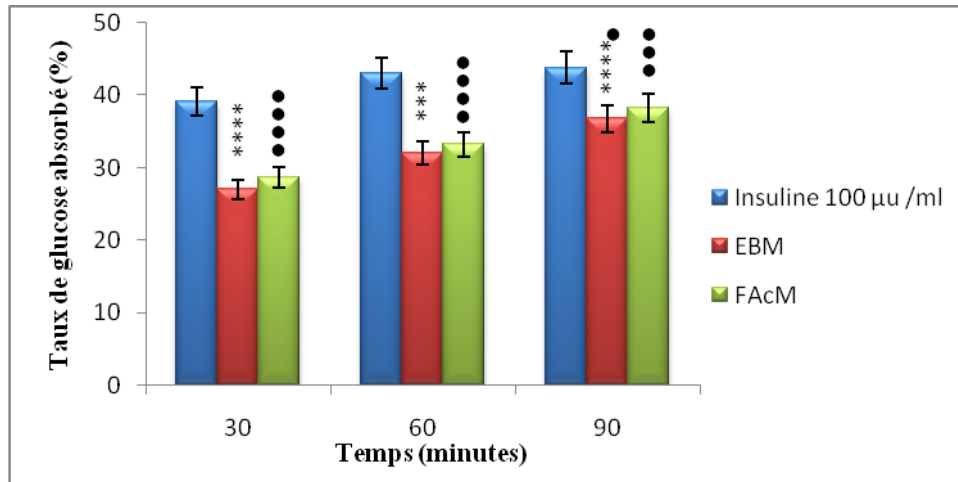


Figure 95: Comparaison de l'effet de l'extrait brut hydrométhanolique de *T. nudatum* et de sa fraction acétate d'éthyle à la concentration 500µg/ml par rapport à l'insuline à 100 µU/ml sur l'absorption de glucose par les coupes de foie dans le milieu d'incubation contenant 5 mM de glucose

EB extrait brut, FAc fraction acétate d'éthyle, M macération

* Comparaison des taux de glucose absorbé par les coupes de foie en présence de l'extrait brut hydrométhanolique de *T. nudatum* à 500 µg/ml et en présence d'insuline à 100 µU/ml dans le milieu d'incubation KRBA 4 % contenant 5 mM de glucose

- Comparaison des taux de glucose absorbé par les coupes de foie en présence de la fraction acétate d'éthyle de l'extrait brut hydrométhanolique de *T. nudatum* à 500 µg/ml et en présence d'insuline à 100 µU/ml dans le milieu d'incubation KRBA 4 % contenant 5 mM de glucose, *** p < 0.001 hautement significative, **** p < 0.0001 très hautement significative

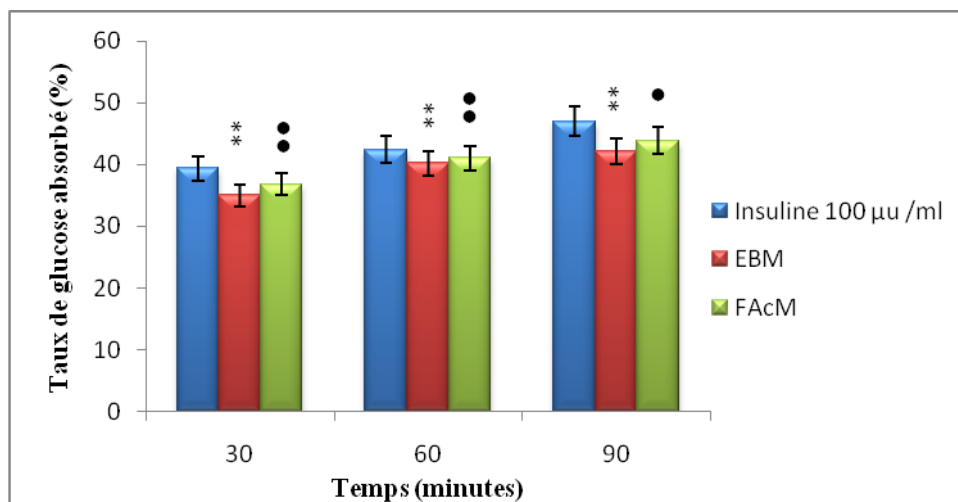


Figure 96: Comparaison de l'effet de l'extrait brut hydrométhanolique de *T. nudatum* et de sa fraction acétate d'éthyle à la concentration 500µg/ml par rapport à l'insuline à 100 µU/ml sur l'absorption de glucose par les coupes de foie dans le milieu d'incubation contenant 16 mM de glucose

EB extrait brut, FAc fraction acétate d'éthyle, M macération

* Comparaison des taux de glucose absorbé par les coupes de foie en présence de l'extrait brut hydrométhanolique de *T. nudatum* à 500 µg/ml et en présence d'insuline à 100 µU/ml dans le milieu d'incubation KRBA 4 % contenant 16 mM de glucose

- Comparaison des taux de glucose absorbé par les coupes de foie en présence de la fraction acétate d'éthyle de l'extrait brut hydrométhanolique de *T. nudatum* à 500 µg/ml et en présence d'insuline à 100 µU/ml dans le milieu d'incubation KRBA 4 % contenant 16 mM de glucose, * p < 0.05 significative, ** p < 0.01 très significative

7.2.2. Effet sur l'absorption du glucose par les adipocytes

a- Absorption basale de glucose par les adipocytes

Les figures 97 et 98 illustrent la capacité des adipocytes incubés à capter le glucose sans insuline et sans extraits, dans les deux milieux d'incubation (contenant 5 mM et 16 mM de glucose) l'augmentation de la captation est significative à 30 minutes, très significative et maximale à 60 minutes de l'ordre de 10% et de 6,8% respectivement puis peu significative après 90 minutes d'incubation par rapport aux témoins (milieu d'incubation contenant 5 mM et 16 mM de glucose en absence des adipocytes). Nous constatons que les adipocytes absorbent d'avantage de glucose dans le milieu normoglycémique que dans le milieu hyperglycémique.

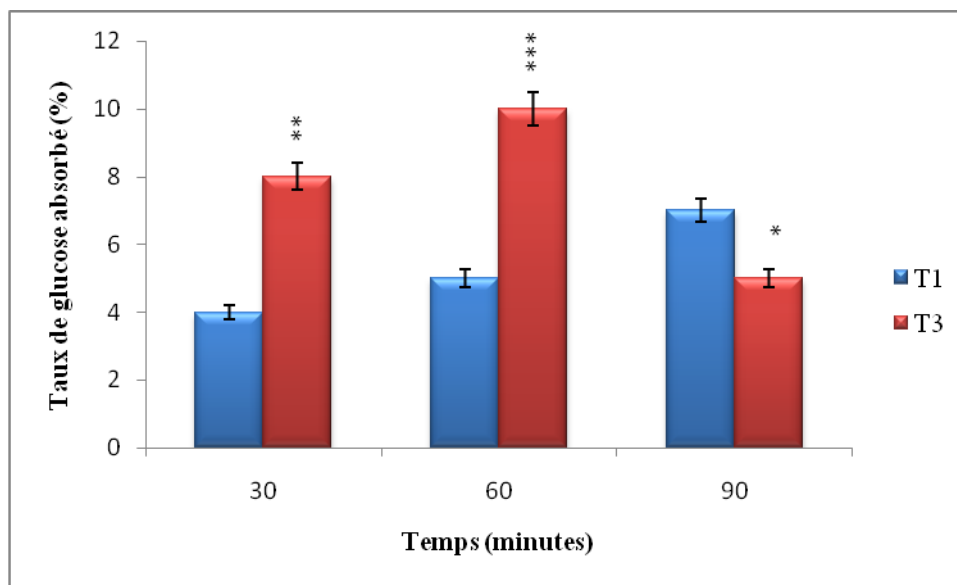


Figure 97: Taux de glucose absorbé par les adipocytes pendant 90 minutes dans le milieu d'incubation contenant 5 mM de glucose.

T1 milieu d'incubation KRBA 4% contenant 5 mM de glucose en absence des adipocytes

T3 milieu d'incubation KRBA 4% contenant 5 mM de glucose en présence des adipocytes

*Comparaison des taux de glucose absorbé en absence et en présence des adipocytes dans le milieu d'incubation KRBA 4 % contenant 5 mM de glucose

* p < 0.05 significative, ** p < 0.01 très significative, *** p < 0.001 hautement significative

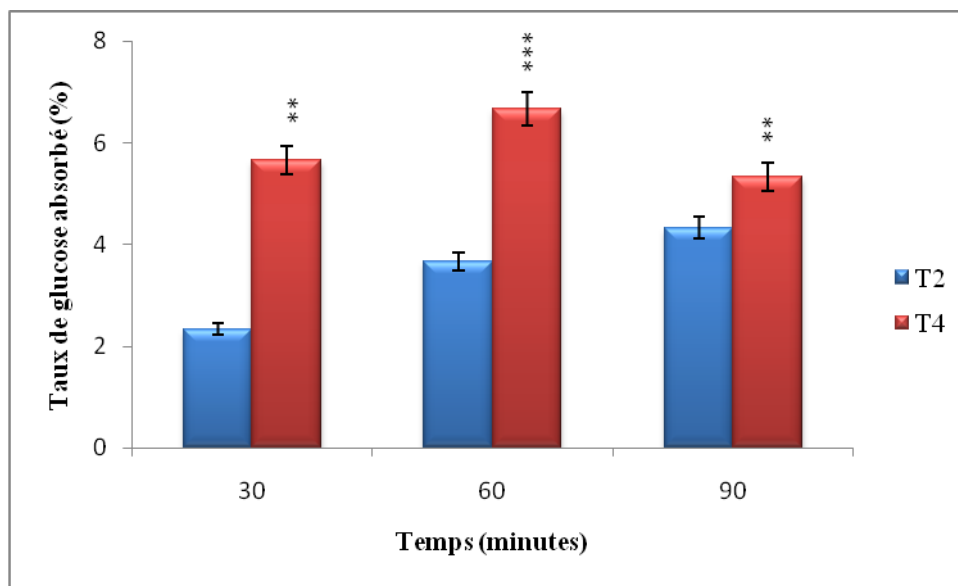


Figure 98: Taux de glucose absorbé par les adipocytes pendant 90 minutes dans le milieu d'incubation contenant 16 mM de glucose.

T2 milieu d'incubation KRBA 4% contenant 16 mM de glucose en absence des adipocytes

T4 milieu d'incubation KRBA 4% contenant 16 mM de glucose en présence des adipocytes

* Comparaison des taux de glucose absorbé en absence et en présence des adipocytes dans le milieu d'incubation KRBA 4 % contenant 16 mM de glucose

** p < 0.01 très significative, *** p < 0.001 hautement significative

b- Effet de l'insuline sur l'absorption du glucose par les adipocytes

Nous notons un effet dose-dépendant de l'insuline sur l'absorption du glucose par les adipocytes incubés d'une façon hautement significative par rapport aux témoins (adipocytes incubés en présence de 5 mM et 16 mM de glucose sans insuline) à toutes les concentrations testées tout au long de l'incubation (Figures 99, 100), le captage de glucose le plus important est enregistré à la concentration de 100 μ U/ml à 60 minutes de l'ordre de 39% dans le milieu d'incubation contenant 5 mM de glucose et de l'ordre de 32% dans le milieu d'incubation contenant 16 mM de glucose. Il est constaté qu'en milieu normoglycémique l'insuline agit mieux.

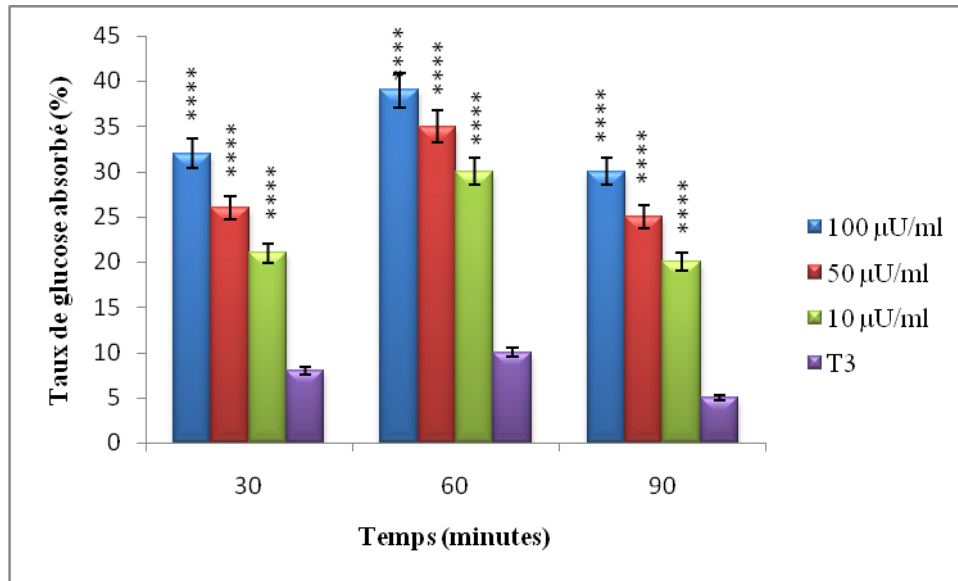


Figure 99: Taux de glucose absorbé par les adipocytes en présence de l'insuline à différentes concentrations dans le milieu d'incubation contenant 5 mM de glucose.

T3 milieu d'incubation KRBA 4% contenant 5 mM de glucose en présence des adipocytes et sans insuline
 * Comparaison des taux de glucose absorbé par les adipocytes en absence et en présence de différentes concentrations d'insuline dans le milieu d'incubation KRBA 4 % contenant 5 mM de glucose
 **** p < 0.0001 très hautement significative

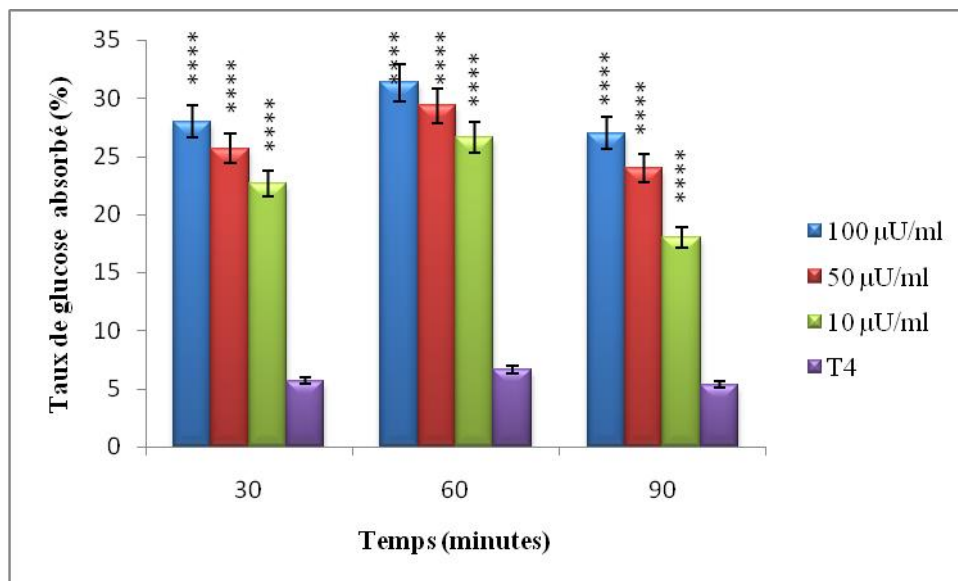


Figure 100: Taux de glucose absorbé par les adipocytes en présence de l'insuline à différentes concentrations dans le milieu d'incubation contenant 16 mM de glucose.

T4 milieu d'incubation KRBA 4% contenant 16 mM de glucose en présence des adipocytes et sans insuline
 * Comparaison des taux de glucose absorbé par les adipocytes en absence et en présence de différentes concentrations d'insuline dans le milieu d'incubation KRBA 4 % contenant 16 mM de glucose
 **** p < 0.0001 très hautement significative

c- Effet de l'extrait brut hydrométhanolique et de sa fraction acétate d'éthyle d'*A. leucotrichus* sur l'absorption de glucose par les adipocytes

En présence de l'extrait brut hydrométhanolique et sa fraction acétate d'éthyle d'*A. leucotrichus*, le captage de glucose augmente avec l'augmentation des concentrations, la concentration 500 µg/ml des deux extraits induit le maximum de captation dans les deux milieux d'incubation (contenant 5 mM et 16 mM de glucose) très significativement à 60 minutes avec des taux respectifs de 22% et de 21% pour l'extrait brut hydrométhanolique et de 23% pour la fraction acétate d'éthyle par rapport aux témoins (adipocytes incubés en présence de 5 mM et 16 mM de glucose sans extrait) (Figures 101, 102, 103, 104). Presque le même effet est exercé par l'extrait brut et sa fraction et dans les deux milieux d'incubation hyper et normoglycémique, en revanche l'effet de l'insuline est meilleur (Figures 105, 106).

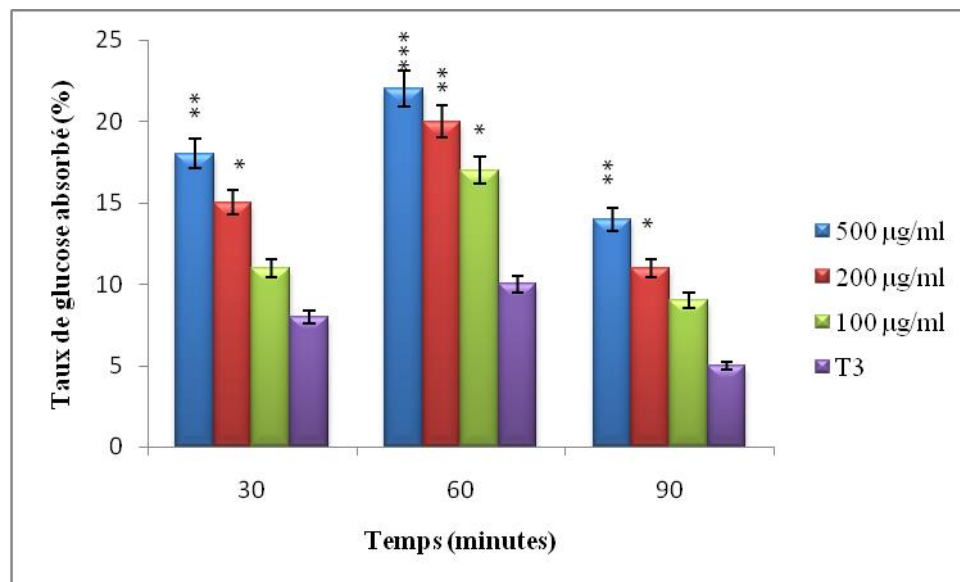


Figure 101: Taux de glucose absorbé par les adipocytes en présence de l'extrait brut hydrométhanolique d'*A. leucotrichus* à différentes concentrations dans le milieu d'incubation contenant 5 mM de glucose.

T3 milieu d'incubation KRBA 4% contenant 5 mM de glucose en présence des adipocytes et sans extrait

* Comparaison des taux de glucose absorbé par les adipocytes en absence et en présences de différentes concentrations de l'extrait brut hydrométhanolique d' *A. leucotrichus* dans le milieu d'incubation KRBA 4 % contenant 5 mM de glucose

* p < 0.05 significative, ** p < 0.01 très significative, *** p < 0.001 hautement significative

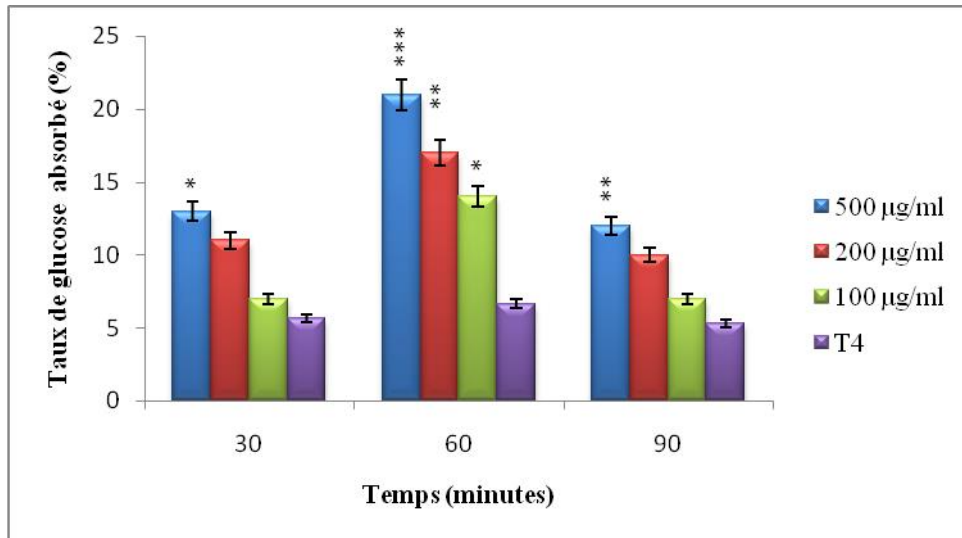


Figure 102: Taux de glucose absorbé par les adipocytes en présence de l'extrait brut hydrométhanolique d'*A. leucotrichus* à différentes concentrations dans le milieu d'incubation contenant 16 mM de glucose.

T4 milieu d'incubation KRBA 4% contenant 16 mM de glucose en présence des adipocytes et sans extrait
 *Comparaison des taux de glucose absorbé par les adipocytes en absence et en présences de différentes concentrations de l'extrait brut hydrométhanolique d' *A. leucotrichus* dans le milieu d'incubation KRBA 4 % contenant 16 mM de glucose

* p < 0.05 significative, ** p < 0.01 très significative, *** p < 0.001 hautement significative

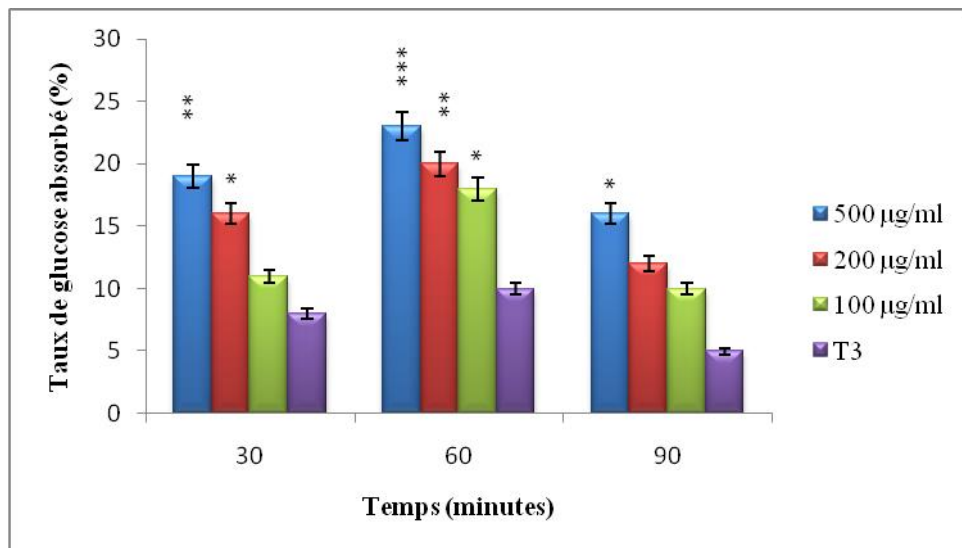


Figure 103: Taux de glucose absorbé par les adipocytes en présence de la fraction acétate d'éthyle de l'extrait brut hydrométhanolique d'*A. leucotrichus* à différentes concentrations dans le milieu d'incubation contenant 5 mM de glucose.

T3 milieu d'incubation KRBA 4% contenant 5 mM de glucose en présence des adipocytes et sans extrait
 * Comparaison des taux de glucose absorbé par les adipocytes en absence et en présence de différentes concentrations de la fraction acétate d'éthyle de l'extrait brut hydrométhanolique d' *A. leucotrichus* dans le milieu d'incubation KRBA 4 % contenant 5 mM de glucose

* p < 0.05 significative** p < 0.01 très significative, *** p < 0.001 hautement significative

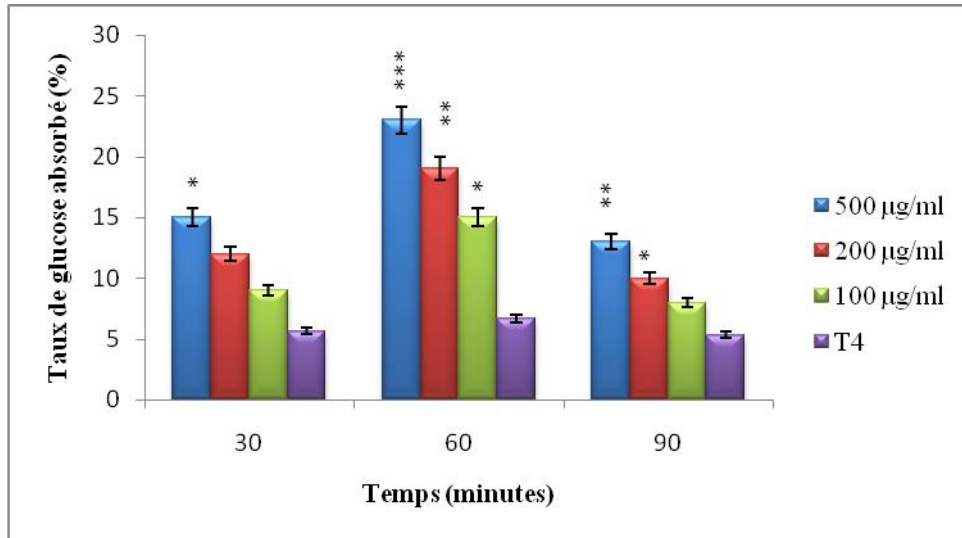


Figure 104: Taux de glucose absorbé par les adipocytes en présence de la fraction acétate d'éthyle de l'extrait brut hydrométhanolique d'*A. leucotrichus* à différentes concentrations dans le milieu d'incubation contenant 16 mM de glucose.

T4 milieu d'incubation KRBA 4% contenant 16 mM de glucose en présence des adipocytes et sans extrait
 * Comparaison des taux de glucose absorbé par les adipocytes en absence et en présence de différentes concentrations de la fraction acétate d'éthyle de l'extrait brut hydrométhanolique d' *A. leucotrichus* dans le milieu d'incubation KRBA 4 % contenant 16 mM de glucose

* p < 0.05 significative, ** p < 0.01 très significative, *** p < 0.001 hautement significative

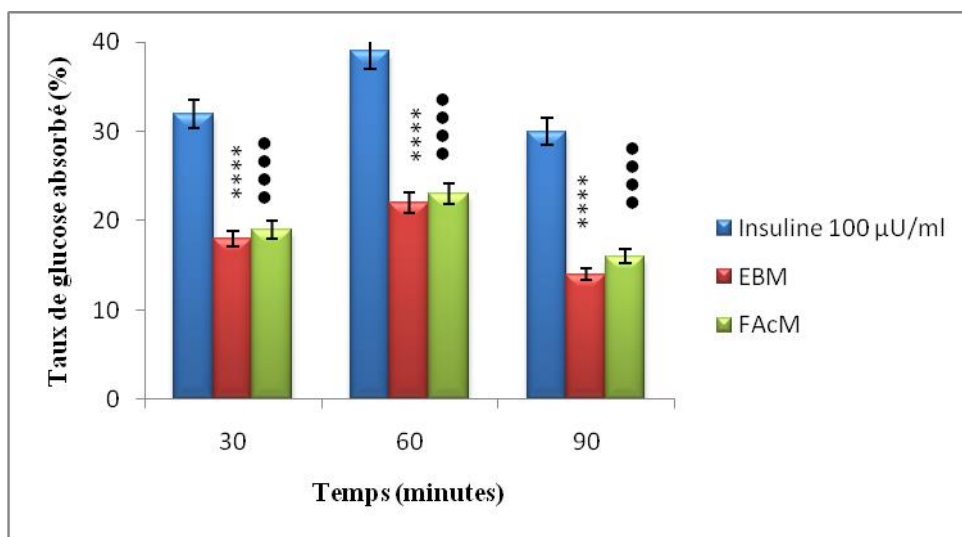


Figure 105: Comparaison de l'effet de l'extrait brut hydrométhanolique d'*A. leucotrichus* et de sa fraction acétate d'éthyle à la concentration 500µg/ml par rapport à l'insuline à 100 µU/ml sur l'absorption de glucose par les adipocytes dans le milieu d'incubation contenant 5 mM de glucose

EB extrait brut, FAc fraction acétate d'éthyle, M macération

* Comparaison des taux de glucose absorbé par les adipocytes en présence de l'extrait brut hydrométhanolique d' *A. leucotrichus* à 500 µg/ml et en présence d'insuline à 100 µU/ml dans le milieu d'incubation KRBA 4 % contenant 5 mM de glucose

• Comparaison des taux de glucose absorbé par les adipocytes en présence de la fraction acétate d'éthyle de l'extrait brut hydrométhanolique d' *A. leucotrichus* à 500 µg/ml et en présence d'insuline à 100 µU/ml dans le milieu d'incubation KRBA 4 % contenant 5 mM de glucose, **** p < 0.0001très hautement significative

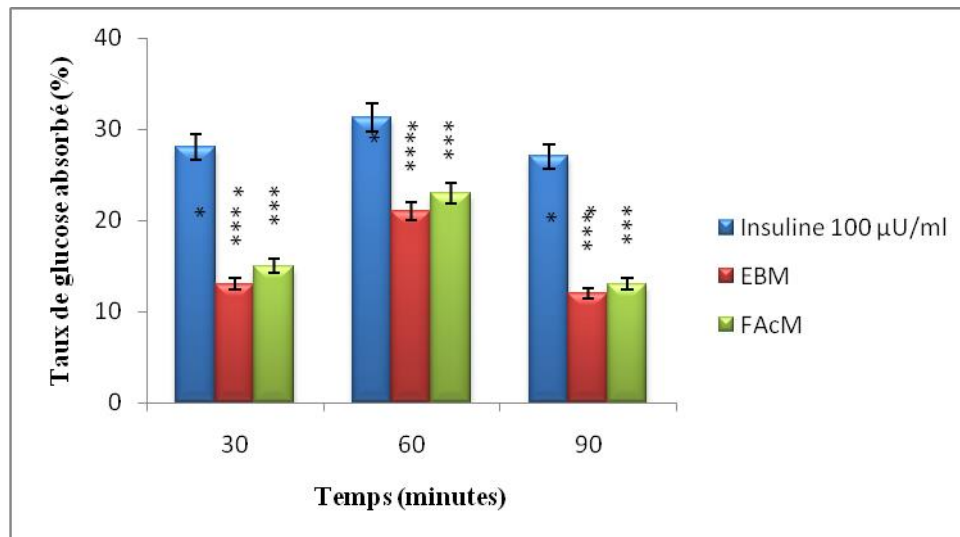


Figure 106: Comparaison de l'effet de l'extrait brut hydrométhanolique d'*A. leucotrichus* et de sa fraction acétate d'éthyle à la concentration 500 µg/ml par rapport à l'insuline à 100 µU/ml sur l'absorption de glucose par les adipocytes dans le milieu d'incubation contenant 16 mM de glucose

EB extrait brut, FAc fraction acétate d'éthyle, M macération

* Comparaison des taux de glucose absorbé par les adipocytes en présence de l'extrait brut hydrométhanolique d'*A. leucotrichus* à 500 µg/ml et en présence d'insuline à 100 µU/ml dans le milieu d'incubation KRBA 4 % contenant 16 mM de glucose

• Comparaison des taux de glucose absorbé par les adipocytes en présence de la fraction acétate d'éthyle de l'extrait brut hydrométhanolique d'*A. leucotrichus* à 500 µg/ml et en présence d'insuline à 100 µU/ml dans le milieu d'incubation KRBA 4 % contenant 16 mM de glucose, **** p < 0.0001 très hautement significative

d- Effet de l'extrait brut hydrométhanolique et de sa fraction acétate d'éthyle de *T. nudatum* sur l'absorption de glucose par les adipocytes

Les histogrammes reportés dans les figures 107, 108, 109, 110 montrent qu'en présence de l'extrait brut hydrométhanolique et sa fraction acétate d'éthyle de *T. nudatum* l'absorption du glucose s'élève au cours du temps avec un maximum d'absorption à 60 minutes d'incubation à la concentration 500 µg/ml d'une manière significative pour la fraction acétate d'éthyle et très significative pour l'extrait brut hydrométhanolique d'environ 24% et de 23% respectivement dans le milieu d'incubation contenant 5 mM de glucose et d'environ 23,3% et 20,6% dans le milieu d'incubation contenant 16 mM de glucose par rapport aux témoins (adipocytes incubés en présence de 5 mM et 16 mM de glucose sans extrait). Il s'avère qu'à la concentration de 5 mM de glucose, l'extrait brut hydrométhanolique et sa fraction acétate d'éthyle ont un effet proche sur l'absorption du glucose par les adipocytes incubés, à la concentration de 16 mM de glucose nous remarquons que la fraction acétate d'éthyle est légèrement plus active que l'extrait brut hydrométhanolique (Figures 111, 112).

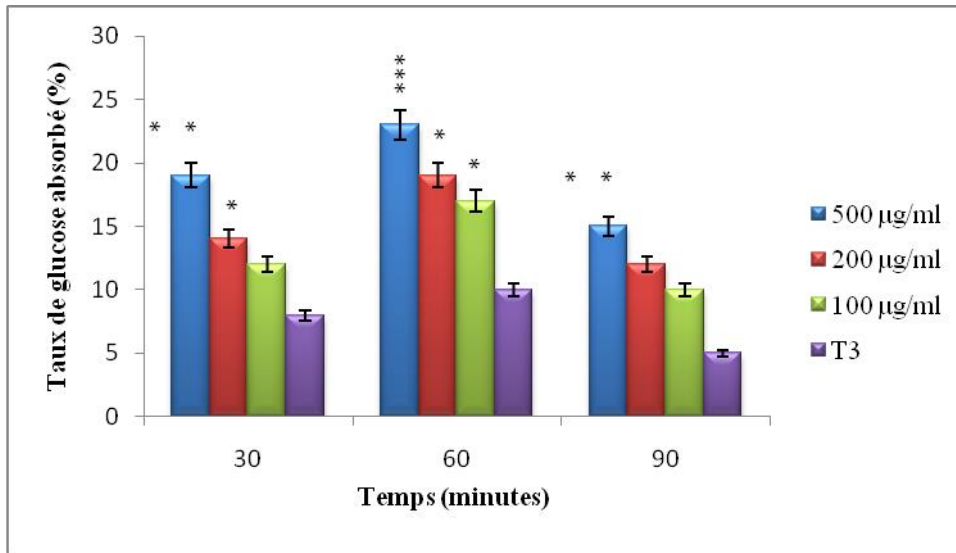


Figure 107: Taux de glucose absorbé par les adipocytes en présence de l'extrait brut hydrométhanolique de *T. nudatum* à différentes concentrations dans le milieu d'incubation contenant 5 mM de glucose.

T3 milieu d'incubation KRBA 4% contenant 5 mM de glucose en présence des adipocytes et sans extrait
 * Comparaison des taux de glucose absorbé par les adipocytes en absence et en présences de différentes concentrations de l'extrait brut hydrométhanolique de *T. nudatum* dans le milieu d'incubation KRBA 4 % contenant 5 mM de glucose, * p < 0.05 significative, ** p < 0.01 très significative, *** p < 0.001 hautement significative

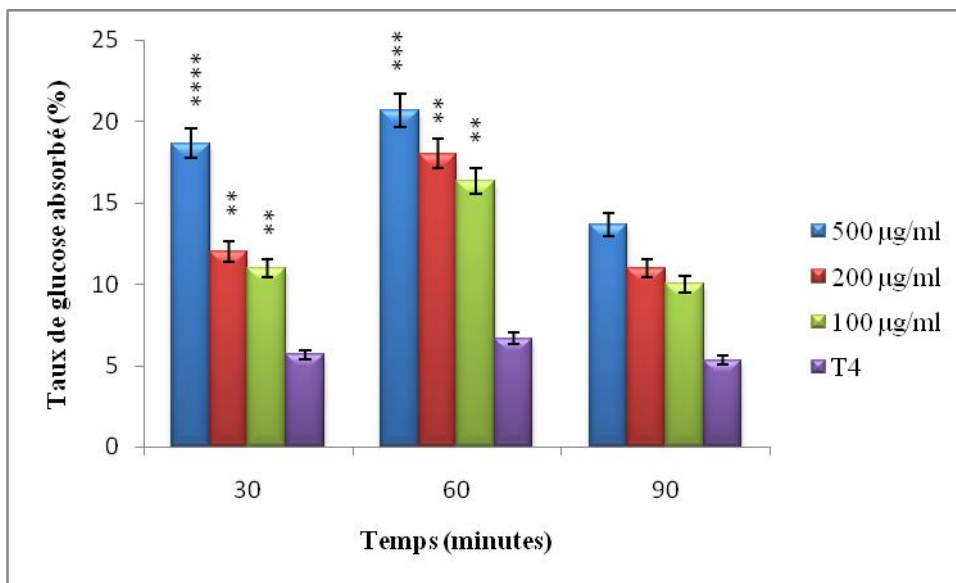


Figure 108: Taux de glucose absorbé par les adipocytes en présence de l'extrait brut hydrométhanolique de *T. nudatum* à différentes concentrations dans le milieu d'incubation contenant 16 mM de glucose.

T4 milieu d'incubation KRBA 4% contenant 16 mM de glucose en présence des adipocytes et sans extrait
 *Comparaison des taux de glucose absorbé par les adipocytes en absence et en présence de différentes concentrations de l'extrait brut hydrométhanolique de *T. nudatum* dans le milieu d'incubation KRBA 4 % contenant 16 mM de glucose, ** p < 0.01 très significative, *** p < 0.001 hautement significative

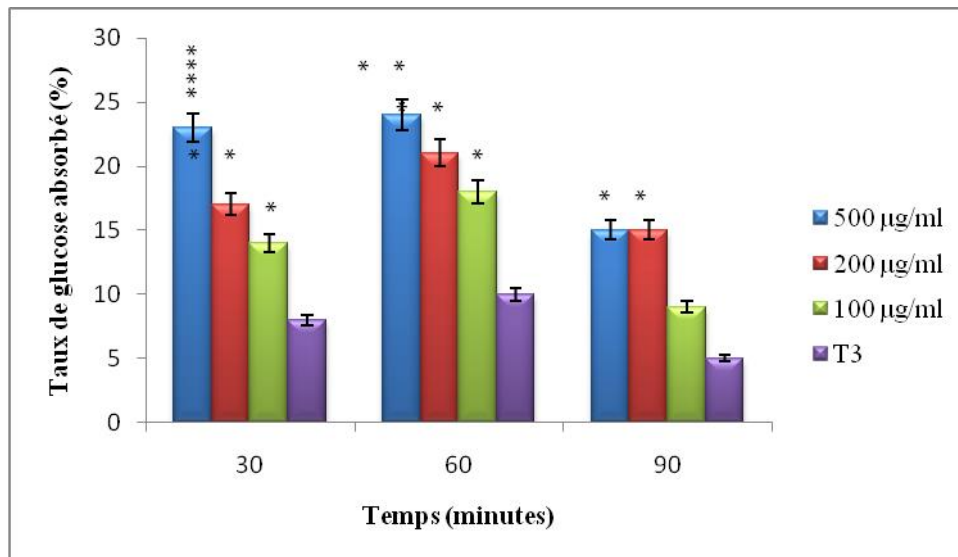


Figure 109: Taux de glucose absorbé par les adipocytes en présence de la fraction acétate d'éthyle de l'extrait brut hydrométhanolique de *T. nudatum* à différentes concentrations dans le milieu d'incubation contenant 5 mM de glucose.

T3 milieu d'incubation KRBA 4% contenant 5 mM de glucose en présence des adipocytes et sans extrait
 * Comparaison des taux de glucose absorbé par les adipocytes en absence et en présence de différentes concentrations de la fraction acétate d'éthyle de l'extrait brut hydrométhanolique de *T. nudatum* dans le milieu d'incubation

KRBA 4 % contenant 5 mM de glucose

* p < 0.05 significative, ** p < 0.01 très significative, **** p < 0.0001 très hautement significative

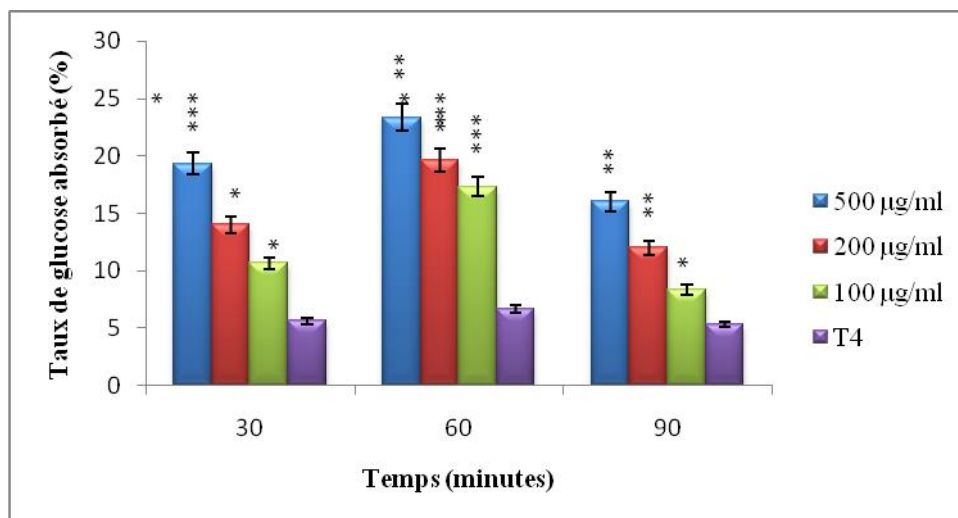


Figure 110: Taux de glucose absorbé par les adipocytes en présence de la fraction acétate d'éthyle de l'extrait brut hydrométhanolique de *T. nudatum* à différentes concentrations dans le milieu d'incubation contenant 16 mM de glucose.

T4 milieu d'incubation KRBA 4% contenant 16 mM de glucose en présence des adipocytes et sans extrait
 * Comparaison des taux de glucose absorbé par les adipocytes en absence et en présence de différentes concentrations de la fraction acétate d'éthyle de l'extrait brut hydrométhanolique de *T. nudatum* dans le milieu d'incubation KRBA 4 % contenant 16 mM de glucose

* p < 0.05 significative, ** p < 0.01 très significative, **** p < 0.0001 très hautement significative

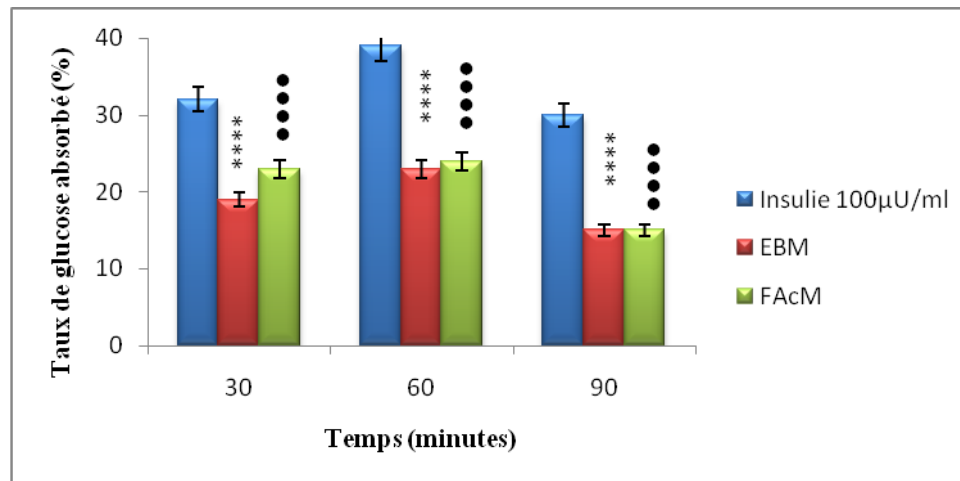


Figure 111: Comparaison de l'effet de l'extrait brut hydrométhanolique de *T. nudatum* et de sa fraction acétate d'éthyle à la concentration 500µg/ml par rapport à l'insuline à 100 µU/ml sur l'absorption de glucose par les adipocytes dans le milieu d'incubation contenant 5 mM de glucose

EB extrait brut, FAc fraction acétate d'éthyle, M macération

- * Comparaison des taux de glucose absorbé par les adipocytes en présence de l'extrait brut hydrométhanolique de *T. nudatum* à 500 µg/ml et en présence d'insuline à 100 µU/ml dans le milieu d'incubation KRBA 4 % contenant 5 mM de glucose
- Comparaison des taux de glucose absorbé par les adipocytes en présence de la fraction acétate d'éthyle de l'extrait brut hydrométhanolique de *T. nudatum* à 500 µg/ml et en présence d'insuline à 100 µU/ml dans le milieu d'incubation KRBA 4 % contenant 5 mM de glucose, **** p < 0.0001 très hautement significative

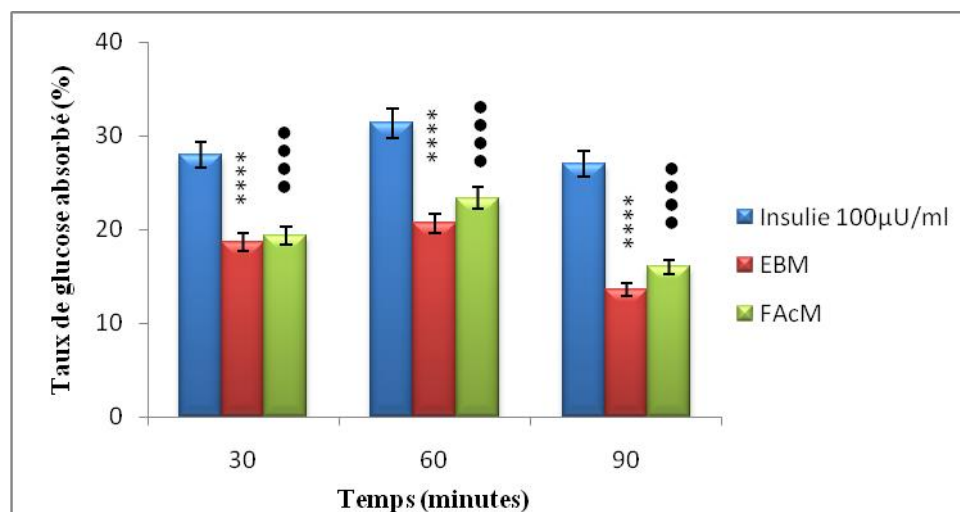


Figure 112: Comparaison de l'effet de l'extrait brut hydrométhanolique de *T. nudatum* et de sa fraction acétate d'éthyle à la concentration 500µg/ml par rapport à l'insuline à 100 µU/ml sur l'absorption de glucose par les adipocytes dans le milieu d'incubation contenant 16 mM de glucose

EB extrait brut, FAc fraction acétate d'éthyle, M macération

- * Comparaison des taux de glucose absorbé par les adipocytes en présence de l'extrait brut hydrométhanolique de *T. nudatum* à 500 µg/ml et en présence d'insuline à 100 µU/ml dans le milieu d'incubation KRBA 4 % contenant 16 mM de glucose
- Comparaison des taux de glucose absorbé par les adipocytes en présence de la fraction acétate d'éthyle de l'extrait brut hydrométhanolique de *T. nudatum* à 500 µg/ml et en présence d'insuline à 100 µU/ml dans le milieu d'incubation KRBA 4 % contenant 16 mM de glucose, **** p < 0.0001 très hautement significative

8. Identification de composés phénoliques par RP - HPLC PDA

Ammodaucus leucotrichus

Les profils chromatographiques qualitatifs obtenus montrent des différences dans la composition en polyphénols entre les différents extraits analysés (Figures 113, 114, 115), plusieurs molécules sont détectées, six entre elles sont identifiées: deux flavonoïdes (la naringénine et la quercétine), trois acides phénoliques (sinapique, férulique et p-coumarique) et la vanilline. Il s'avère que l'acide sinapique est le composé majoritaire, il est détecté dans les trois fractions et c'était le plus abondant dans FAC_I, l'acide férulique est détecté également dans les trois fractions. L'acide p-coumarique est détecté dans FAC_M et FAC_I. Deux flavonoïdes sont identifiés: un flavanone qui est la naringénine détectée dans les trois fractions et la plus abondante dans FAC_I et un flavonol la quercétine qui n'est détectée que dans la fraction Fn-B_M. La présence de la vanilline est détectée uniquement dans FAC_M qui est par ailleurs la fraction la plus riche avec cinq composés identifiés.

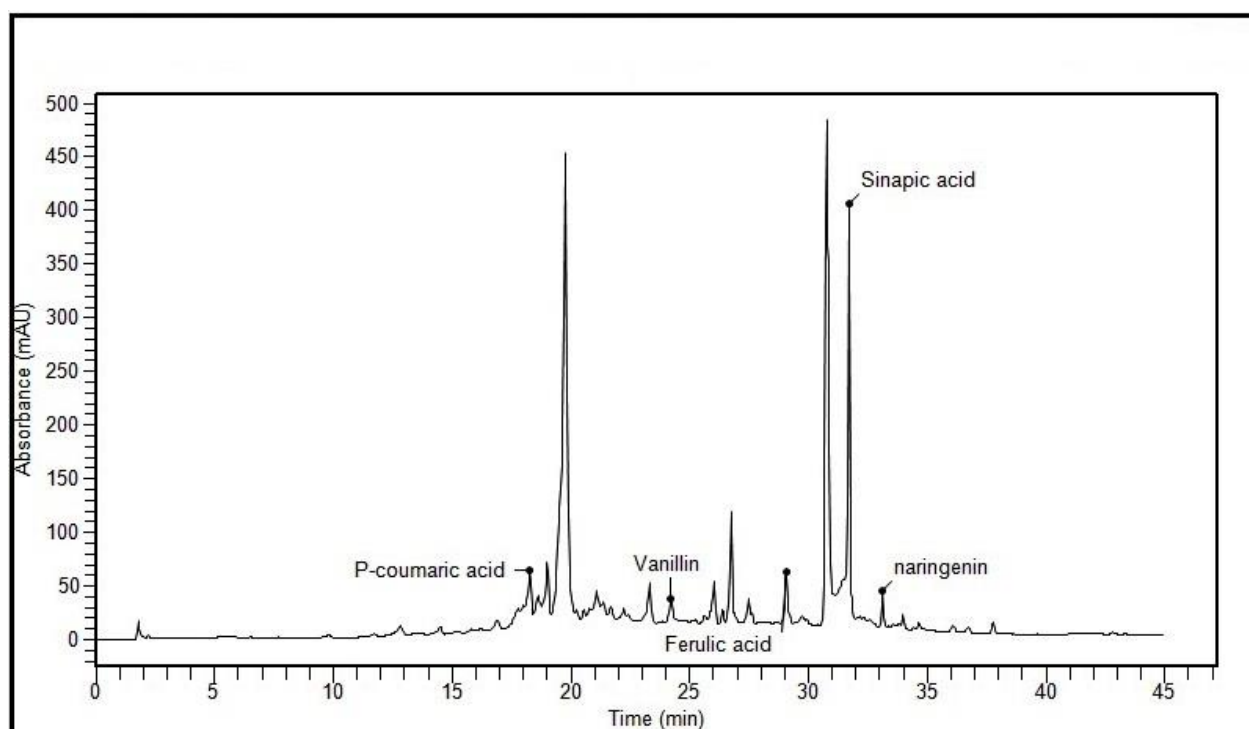


Figure 113: Chromatogramme de la fraction acétate d'éthyle de l'extrait brut hydrométhanolique d'*A. leucotrichus* préparé par macération enregistré à 280 nm

Colonne Eclipse ODS C18 en phase inverse 150 mm × 4,6 μm Hypersil, température ambiante, débit 1 ml/min, phase mobile : acide acétique (2%) (solvant A), méthanol ultra-pure (solvant B), gradient d'élution: 5 min avec 10% de B, 25 min avec 90% de B puis 15 min de gradient linéaire de 90% à 100% de B et 20 minutes pour l'équilibration

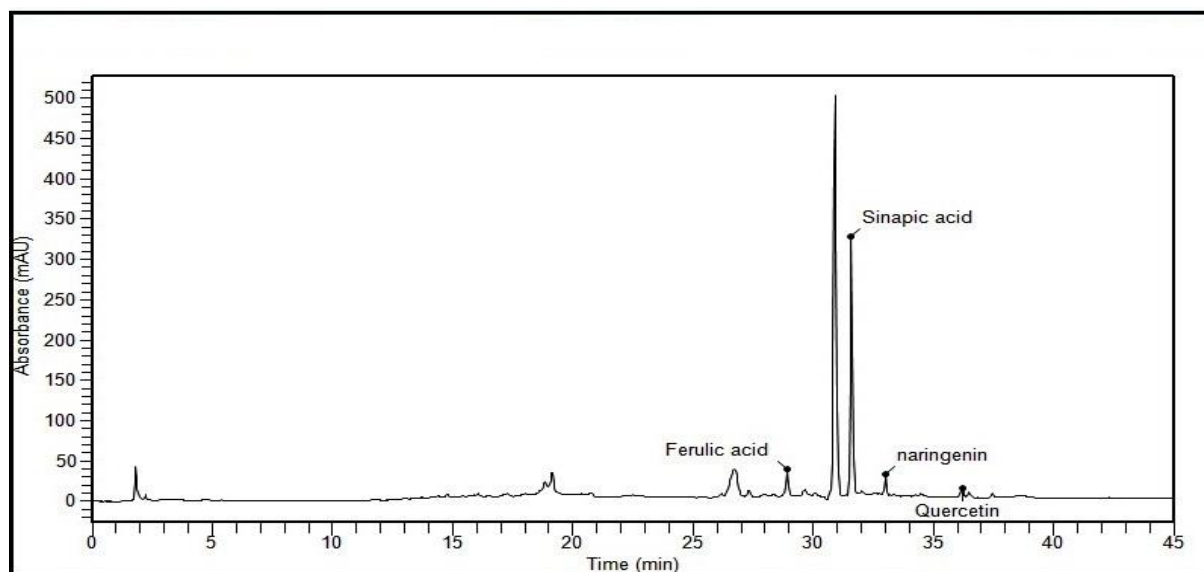


Figure 114: Chromatogramme de la fraction n-butanol de l'extrait brut hydrométhanolique d'*A. leucotrichus* préparé par macération enregistré à 280 nm

Colonne Eclipse ODS C18 en phase inverse 150 mm × 4,6 µm Hypersil, température ambiante, débit 1 ml/min, phase mobile : acide acétique (2%) (solvant A), méthanol ultra-pure (solvant B), gradient d'élution: 5 min avec 10% de B, 25 min avec 90% de B puis 15 min de gradient linéaire de 90% à 100% de B et 20 minutes pour l'équilibration

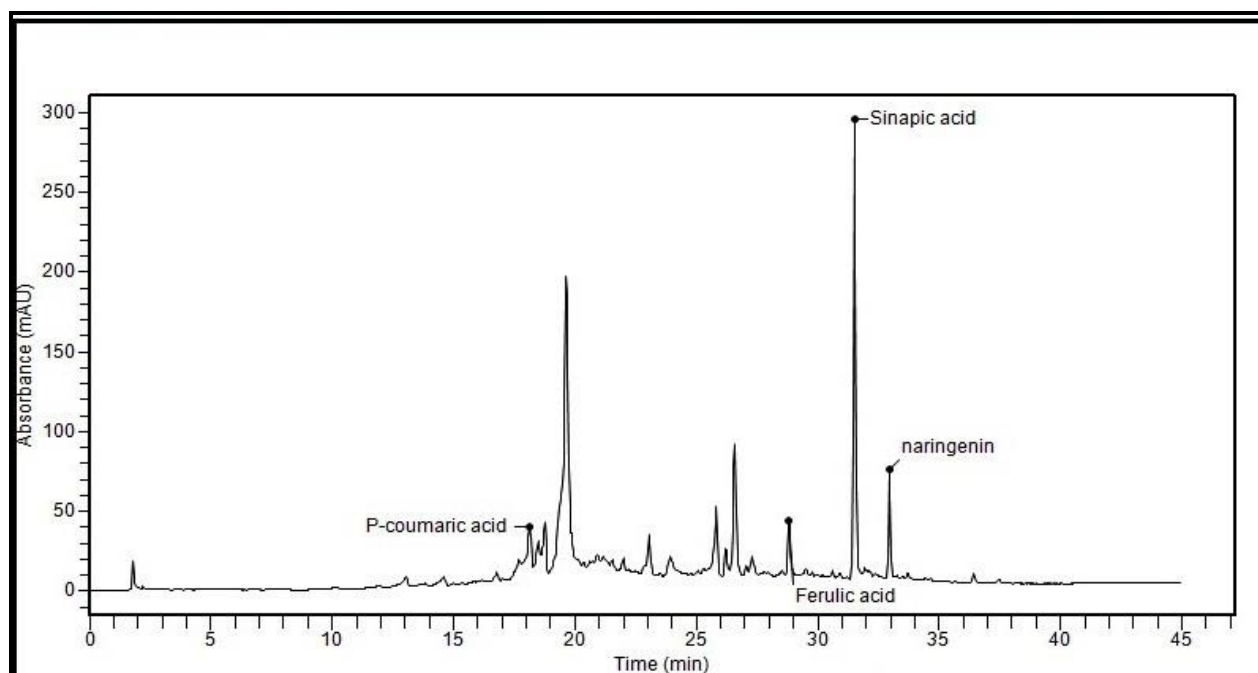


Figure 115: Chromatogramme de la fraction acétate d'éthyle de l'extrait brut hydrométhanolique d'*A. leucotrichus* préparé par infusion enregistré à 280 nm

Colonne Eclipse ODS C18 en phase inverse 150 mm × 4,6 µm Hypersil, température ambiante, débit 1 ml/min, phase mobile : acide acétique (2%) (solvant A), méthanol ultra-pure (solvant B), gradient d'élution: 5 min avec 10% de B, 25 min avec 90% de B puis 15 min de gradient linéaire de 90% à 100% de B et 20 minutes pour l'équilibration

Traganum nudatum

L'identification des composés phénoliques contenus dans les fractions FAC_M , FAC_I , et $Fn-B_M$ est réalisée par technique RP-HPLC-PDA. Les chromatogrammes enregistrés à 280 nm (Figures 116, 117, 118) révèlent un grand nombre de pics bien séparés indiquant une grande diversité dans la composition phénolique des fractions, sept composés ont été identifiés dont quatre acides phénoliques (sinapique, syringique, férulique et p-coumarique), deux flavonoïdes (la naringénine et la catéchine) et la vanilline. Parmi tous les composés phénoliques identifiés, l'acide sinapique est le plus abondant dans tous les extraits et particulièrement dans la fraction FAC_I , l'acide férulique est également détecté dans les trois fractions, l'acide p-coumarique est détecté dans FAC_I et $Fn-B_M$ tandis que l'acide syringique n'est détecté que dans la fraction FAC_M , la naringénine est le flavonoïde majeur identifié chez *T. nudatum*, elle est détectée dans les trois fractions et elle est plus abondante dans la fraction $Fn-B_M$ le deuxième flavonoïde qui est la catéchine est détecté uniquement dans la fraction FAC_I en faible quantité. La présence de la vanilline est également détectée dans FAC_I seulement. En outre, plusieurs composés sont détectés mais ne sont pas identifiés. Il est à noter que la fraction FAC_I est plus riche que la fraction FAC_M avec 6 et 4 composés identifiés respectivement.

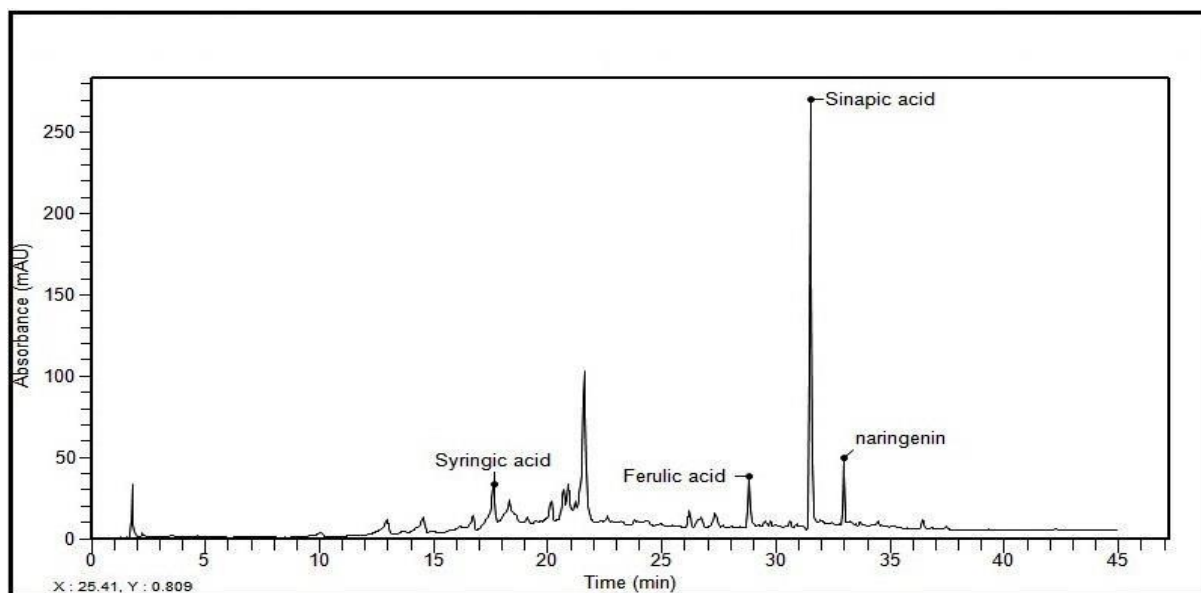


Figure 116: Chromatogramme de la fraction acétate d'éthyle de l'extrait brut hydrométhanolique de *T. nudatum* préparé par infusion enregistré à 280 nm.

Colonne Eclipse ODS C18 en phase inverse 150 mm × 4,6 μm Hypersil, température ambiante, débit 1 ml/min, phase mobile : acide acétique (2%) (solvant A), méthanol ultra-pure (solvant B), gradient d'élution: 5 min avec 10% de B, 25 min avec 90% de B puis 15 min de gradient linéaire de 90% à 100% de B et 20 minutes pour l'équilibration

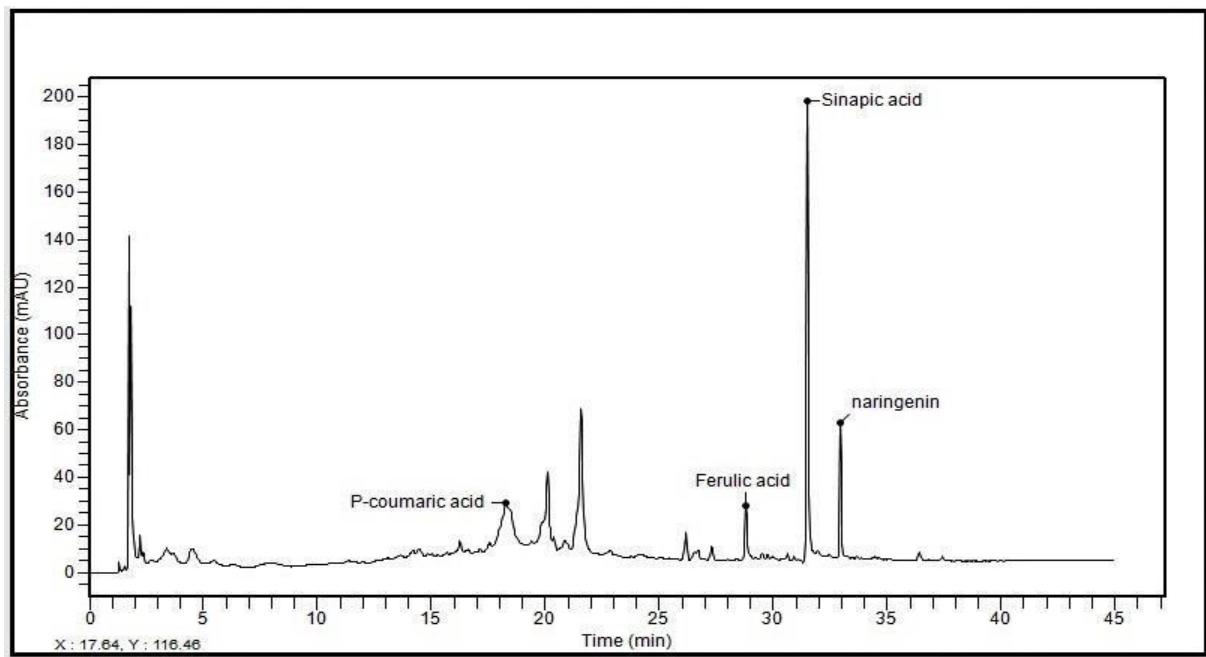


Figure 117: Chromatogramme de la fraction n-butanol de l'extrait brut hydrométhanolique de *T. nudatum* préparé par macération enregistré à 280 nm

Colonne Eclipse ODS C18 en phase inverse 150 mm × 4,6 µm Hypersil, température ambiante, débit 1 ml/min, phase mobile : acide acétique (2%) (solvant A), méthanol ultra-pure (solvant B), gradient d'élution: 5 min avec 10% de B, 25 min avec 90% de B puis 15 min de gradient linéaire de 90% à 100% de B et 20 minutes pour l'équilibration

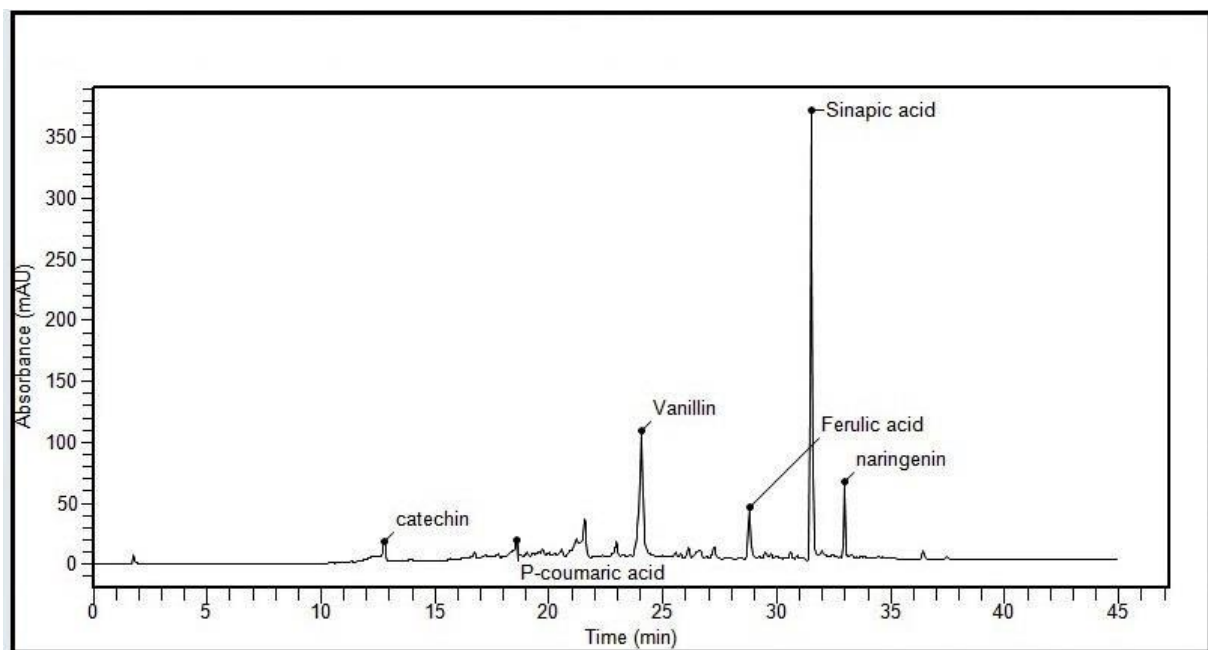


Figure 118: Chromatogramme de la fraction acétate d'éthyle de l'extrait brut hydrométhanolique de *T. nudatum* préparé par infusion enregistré à 280 nm.

Colonne Eclipse ODS C18 en phase inverse 150 mm × 4,6 µm Hypersil, température ambiante, débit 1 ml/min, phase mobile : acide acétique (2%) (solvant A), méthanol ultra-pure (solvant B), gradient d'élution: 5 min avec 10% de B, 25 min avec 90% de B puis 15 min de gradient linéaire de 90% à 100% de B et 20 minutes pour l'équilibration

Discussion

Autrefois appelées Ombellifères, les Apiacées dont *Ammodaucus leucotrichus* constituent une des plus grandes familles de plantes connues sur terre avec plus de 3000 espèces et 400 genres. C'est une famille très homogène facile à reconnaître grâce à son inflorescence en ombelles composées. La famille des Apiacées est répartie sur une grande partie du globe et particulièrement dans les régions montagneuses tempérées. En Algérie, elle occupe une place importante dans la flore où elle est représentée par 55 genres, 130 espèces (dont 24 endémiques) et 26 sous espèces. Les genres *Bupleurum* et *Daucus* sont les plus abondants en Algérie (Quézel et Santa, 1963; Heywood et al., 1996; Tabanca et al., 2006).

Les Apiacées sont le plus souvent des plantes aromatiques. Elles sécrètent des huiles essentielles qui leur confèrent des odeurs et des saveurs caractéristiques, ce qui explique leur emploi à la fois comme aliments, condiments et comme traitements en médecine traditionnelle. Elles renferment de nombreuses plantes alimentaires: la carotte (*Daucus carota*), le fenouil (*Foeniculum vulgare*) les feuilles de persil (*Petroselinum crispum*) ainsi que de céleri (*Apium graveolens*), des plantes ornementales et des plantes condimentaires. La plupart des Apiacées utilisées comme condiments sont également réputées pour leurs nombreuses vertus médicinales. Parmi les plus connues: les grains du cumin (*Cuminum cyminum*), l'anis (*Pimpinella anisum*), les grains de *Carum carvi*, la coriandre (*Coriandrum sativum*),... d'autres plantes à usage uniquement médicinal *Ammi visnaga*, *Anethum graveolens* (l'Aneth), *Angelica archangelica* (angélique). Comme il existe des espèces toxiques telles que la grande ciguë (*Conium maculatum*) et la ciguë vireuse (*Cicuta virosa*) (Tirapelli et al., 2007; Olle et Bender, 2010; Sofowara, 2010; Amiri et Joharchi, 2016).

Ammodaucus leucotrichus Cosson & Durieu est une apiacée qui joue un rôle important en médecine traditionnelle dans les pays de l'Afrique du nord notamment au sud d'Algérie. Cependant, rares sont les études de la composition chimique et d'activités biologiques et pharmacologiques des extraits de cette espèce.

Selon la nouvelle classification dite APG III (Angiosperms Phylogeny group III) les Chénopodiacées dont *Traganum nudatum* sont dorénavant appelés Amaranthacées, comprenant plus de cent genres et 2400 espèces, ce sont des plantes de terrains salés, buissonnantes rarement des herbes, vivant surtout sous les climats arides et semi-arides (Monteil, 1906). La répartition géographique des Amaranthacées est très vaste. On les retrouve dans le bassin méditerranéen et le Sahara, au Moyen-Orient dans les steppes et déserts de l'Asie centrale, en Afrique, en Australie et dans les deux Amériques. En Europe, cette famille compte quelques dizaines d'espèces (Ozenda, 1958; Mulas, 2004).

Traganum nudatum Delile est une halophyte appartenant à la famille des Chénopodiacées. Malgré ses usages nombreux en médecine traditionnelle, nous retrouvons peu de recherche scientifique à ce sujet.

Cette étude a porté sur un criblage phytochimique et biologique de *Traganum nudatum* et *Ammodaucus leucotrichus* largement utilisées en pharmacopée traditionnelle locale pour traiter d'innombrables maladies. Nous avons commencé par une série d'extractions en utilisant différentes techniques afin d'extraire le maximum de composés phénoliques. La macération et l'infusion ont été adoptées à une proportion de 10% dans un mélange méthanol/eau 80/20. Après l'étape de la préparation des extraits, nous avons procédé à un criblage phytochimique puis à des dosages des composés phénoliques. Nous sommes passés par la suite à la recherche des activités biologiques commençant par l'activité antioxydante, nous avons opté pour la technique de piégeage du radical libre DPPH et la réduction des ions de fer (méthode FRAP) et de molybdène (méthode CAT). Nous avons également recherché une éventuelle activité antimicrobienne de nos extraits à l'égard de certaines souches bactériennes et fongiques pathogènes de référence en utilisant deux techniques: la technique de diffusion sur gélose ou méthode des disques et la méthode de microdilutions en milieu liquide. Par ailleurs, nous avons recherché l'effet de nos extraits vis-à-vis des globules rouges humains d'un donneur unique et sain. Nous avons ensuite recherché les effets antidiabétiques probables des extraits *in vivo*. Après avoir dévoilé des effets antihyperglycémiant intéressants *in vivo* et afin de comprendre les mécanismes d'action possibles impliqués dans ces effets nous avons procédé à des tests antidiabétiques *in vitro* en testant les extraits pour leur effet sur l'absorption du glucose par le foie et par le tissu adipeux de rats Wistar. Enfin, les extraits qui se sont révélés les plus actifs ont été analysés par HPLC afin d'identifier leurs composés bioactifs responsables des effets observés.

Traganum nudatum

Les différents extraits de *T. nudatum* sont obtenus sous forme de pâte hygroscopique de couleur vert-noirâtre et solubles seulement dans le méthanol pur ou dans le DMSO avec des rendements d'extraction plus élevés avec le mélange méthanol/eau, ce qui suggère que la plante est riche en métabolites secondaires polaires. Ce mélange de solvants très polaire extrait toutes les substances polaires (même non phénoliques) comme les sucres et les protéines (Djeridane et al., 2006). D'une autre part la macération donne des rendements plus importants que l'infusion, ça peut être expliqué par le fait que certaines molécules ont été détruites par l'effet de la chaleur.

Les tests phytochimiques ont démontré la présence des tannins, des quinones, des flavonoïdes, des alcaloïdes, de saponines, des terpénoïdes et des coumarines. Ces résultats concordent avec ceux de Badawneh et al. (2017) qui a démontré la présence des flavonoïdes, des alcaloïdes, des tannins et des saponines dans l'extrait éthanolique de *T. nudatum* récoltée en Arabie Saoudite.

Les plantes de la famille des Chénopodiacées sont riches en polyphénols, en particulier en flavonoïdes (Repo-Carrasco-Valencia et al., 2010). Effectivement, il ressort des dosages que les teneurs en composés phénoliques varient en fonction du mode et du solvant d'extraction et que les teneurs les plus élevées sont enregistrées dans les fractions acétate d'éthyle, ces résultats sont similaires à ceux trouvés dans des études réalisées sur quelques espèces de la famille des chénopodiacées: *Retama reatam* par Saada et al. (2014) et *Atriplex farinosa*, *Atriplex nummularia* et *Haloxylon salicornicum* par Abd El Raheim et al. (2012) qui ont reporté que les contenus les plus riches en polyphénols se trouvent dans les fractions acétate d'éthyle, ceci est expliqué selon Wei et al. (2010) par le fait que les polyphénols sont des molécules légèrement polaires qui tendent à s'accumuler dans des fractions de polarité moyenne telles que l'acétate d'éthyle.

L'analyse de l'activité antiradicalaire des extraits sur le DPPH montre que la fraction acétate d'éthyle présente la meilleure activité antiradicalaire. En étudiant l'activité antiradicalaire de plusieurs extraits de *Sueda japonica* (Chénopodiacées), Kang et al. (2017) ont également reporté que la fraction acétate d'éthyle se trouve la plus active, ceci peut être attribué à la polarité de l'acétate d'éthyle qui permet l'extraction de composés antioxydants tels que les polyphénols, les flavonoïdes et autres biomolécules actives, ce qui suggère que les composés doués de la plus forte activité antiradicalaire de *T. nudatum* sont de la même polarité que celle de l'acétate d'éthyle. L'activité réductrice des ions de fer a été démontrée dans la totalité des extraits testés de cette plante et encore une fois la fraction acétate d'éthyle se montre la plus

active, la plus forte réduction des ions de molybdate a été enregistrée dans la fraction n-butanol. Ces capacités sont attribuées aux contenus phénoliques de ces extraits probablement en raison de leurs propriétés rédox, ce qui leur a permis de jouer le rôle d'antioxydants et d'agents réducteurs (Chang et al., 2001). En fait, de nombreuses études ont montré que les composés phénoliques d'extraits de plantes constituent l'un des principaux groupes de composés agissant en tant qu'antioxydants primaires ou agents piègeurs de radicaux libres (Lee et al. 2007; Veerabahu et al., 2012). De nombreuses études ont démontré une corrélation positive entre les quantités de composés phénoliques et le potentiel antioxydant (Ghasemzadeh et al., 2012; Chaouche et al., 2014). De plus, ces composés possèdent une structure idéale pour leurs propriétés antioxydantes (Sulaiman et al., 2011). Un certain nombre d'études ont porté sur une corrélation entre la structure des polyphénols et leur activité antioxydante (Rice-Evans et al., 1996). Par ailleurs, les halophytes dont *T. nudatum* sont des espèces qui se développent dans des conditions extrêmes telles que la salinité, de nombreuses études ont montré que la production d'antioxydants chez ces espèces est élevée comme réponse adaptative aux changements fréquents du niveau de salinité afin de lutter contre les niveaux élevés de ROS toxiques induits par les sels dans les cellules (Ksouri et al., 2008; 2011).

Les extraits ont montré des effets antibactériens d'avantage sur les bactéries à Gram positif que sur les bactéries à Gram négatif. Parmi tous les extraits étudiés, l'activité antibactérienne la plus intéressante a été fournie par les fractions acétate d'éthyle, l'extrait brut hydrométhanolique a présenté également une bonne activité antibactérienne notamment sur *B. subtilis*, *B. cereus* et *L. monocytogenes*. Ces résultats sont conformes à ceux de Pandey et Gupta (2014) qui ont démontré que l'extrait méthanolique de *Chenopodium album* (Chenopodiaceae) a inhibé *B. subtilis* et *S. aureus* et *E.coli*. En revanche dans la même étude, il a été constaté que l'extrait d'acétate d'éthyle ne montrait aucune activité antibactérienne ce qui est en discordance avec nos résultats. Cette activité est attribuée à la présence de composés phénoliques dans les extraits, tels que les acides phénoliques et les flavonoïdes bien connus pour leur potentiel antibactérien (Macé et al., 2017). Les extraits n'ont manifesté aucune activité antifongique pourtant cette plante est utilisée souvent contre les dermatoses, probablement parce qu'elle est active sur d'autres types de levures et/ou champignons ou bien parce que les composés actifs antifongiques n'ont pas pu être extraits par les solvants utilisés.

Quatre acides phénoliques (sinapique, syringique, férulique et p-coumarique), deux flavonoïdes (naringénine et catéchine) et la vanilline ont été identifiés dans les fractions acétate d'éthyle et n-butanol de *T. nudatum*, jusqu'à présent, il n'existe aucune publication sur la composition et / ou la teneur en acides phénoliques individuels et en flavonoïdes chez cette espèce mais des recherches antérieures menées sur la composition phénolique de certaines espèces de la famille des chénopodiacées ont révélé la présence des acides chlorogénique, sinapique, férulique, caféique, salicylique, syringique, cinnamique, vanillique, p-coumarique et trans-cinnamique ainsi que certains flavonoïdes tels que la myricétine, la quercétine, le kaempférol, la rhamnetine, l'isorhamnetine, la naringine, l'isoquercitrine, l'hespéretine, la galangine, l'acacétine, la quercétine-3-b-glucoside, la rutine et autres flavonoïdes (Essaidi et al., 2013; Labronici et al., 2014).

Contrairement aux fractions acétate d'éthyle et n-butanol de l'extrait brut hydrométhanolique préparé par macération qui se sont montrées les plus toxiques avec des taux importants d'hémolyse à une concentration de 1mg/ml, une légère toxicité vis-à-vis des érythrocytes humains a été provoquée par l'extrait brut hydrométhanolique préparé par infusion et sa fraction n-butanol de l'ordre de 7 et 3% respectivement. Jusqu'à présent, il n'existe aucune étude concernant l'effet hémolytique des extraits de *T. nudatum*, la seule étude concernant la toxicité de cette espèce et celle de Badawneh (2017) réalisée in vivo démontrant qu'elle est dénuée de toute toxicité, à une dose de 500 mg/kg de poids corporel des rats, l'extrait éthanolique n'a induit aucun effet fatal. Une autre étude réalisée par Ajayi (2016) sur la toxicité aiguë de l'extrait aqueux des feuilles de *Chenopodium opulifolium* schrad (chénopodiacées) in vivo a montré que l'extrait n'a provoqué aucun changement du comportement ou la mort chez les rats injectés jusqu'à une concentration de 5000 mg / kg de poids corporel. D'une autre part, le fait que les extraits obtenus par infusion sont moins toxiques que ceux obtenus par macération nous laisse supposer que les substances responsables de l'effet hémolytique observé seraient thermolabiles.

Les résultats des analyses antidiabétiques in vivo ont décelé un effet antihyperglycémiant de l'extrait brut hydrométhanolique de *T. nudatum*. En effet, l'injection de cet extrait chez les rats diabétiques a engendré une diminution continue de l'hyperglycémie à court et à long terme de l'ordre de 25% à la deuxième semaine avant le retour à l'état d'hyperglycémie, par ailleurs chez les rats normaux l'injection de cet extrait a engendré une augmentation de la glycémie qui a atteint 7% à la fin de l'expérimentation. De même, un effet antihyperglycémiant a été observé suite à l'injection des rats diabétiques par la fraction acétate d'éthyle de *T. nudatum* à court et à long terme de l'ordre de 9 % après 4 heures et de 59 % à la troisième semaine, au

delà de cette semaine la glycémie remonte, par ailleurs une augmentation de la glycémie chez les rats normaux a été constatée de l'ordre de 5% à la fin de l'expérimentation. Une étude réalisée par Badawneh et al. (2017) pendant trois semaines de traitement quotidien par injection intrapéritonéale de l'extrait éthanolique à une dose de 400 mg/kg p.c. de *T. nudatum* a démontré un effet anti-hyperglycémiant significatif par rapport au glibenclamide chez des rats rendus diabétiques par l'alloxane, de même il a été démontré que cet extrait corrige plusieurs paramètres sériques biochimiques. Contrairement à l'extrait brut hydrométhanolique qui agit presque de la même manière à court et à long terme (avec le même taux de variation de la glycémie de 25% après 4 heures et après deux semaines avant que la glycémie commence à augmenter de nouveau), il a été constaté que la fraction acétate d'éthyle agit d'avantage à long terme qu'à court terme avec des taux respectifs de réduction de glycémie de 59,39 % après 3 semaines d'injection et de 9,24 % après 4 heures.

Avant de tester les extraits pour leur effet sur l'absorption du glucose par le foie et par le tissu adipeux et afin de vérifier l'état fonctionnel des cellules, un test d'absorption basale de glucose (sans insuline et sans extraits) a été réalisé et a démontré que les adipocytes isolés de rats ont présenté une absorption basale de glucose dans les deux milieux d'incubation (contenant 5 mM ou 16 mM de glucose) maximale à 60 minutes de l'ordre de 10% et de 6,8% respectivement, une baisse de l'absorption de glucose a été notée au-delà de 60 minutes. Une absorption basale de glucose par les coupes de foie a été également démontrée dans les deux milieux d'incubation (contenant 5mM ou 16 mM de glucose) avec des taux maximums respectifs de 10,4 % et de 9 % après 90 minutes d'incubation. Ces résultats corroborent ceux de Azzi et al., (2007) qui ont démontré également une consommation basale de glucose par les adipocytes isolés de rats incubés en présence de 2,5 mM et 9 mM de glucose en absence d'insuline de l'ordre de 9 % et de 11 % respectivement, une diminution significative du taux de glucose restant dans le milieu d'incubation KRBA 4% contenant 0,54 g/l de glucose en présence des coupes de foie et en absence d'insuline soit un taux de captation de 7% pendant 90 minutes d'incubation a été reportée également par Belhadj (2011). Cette absorption basale est à l'origine des transporteurs de glucose GLUT1 ubiquitaires qui en absence d'insuline assurent l'approvisionnement basal des cellules en glucose nécessaire au métabolisme cellulaire (Deng et al., 2012).

Ensuite, nous avons testé plusieurs concentrations d'insuline, qui ont entraîné toutes une augmentation hautement significative de l'absorption du glucose par les coupes de foie dans les deux milieux d'incubation (contenant 5 mM ou 16 mM de glucose) pendant les 90 minutes d'incubation avec un maximum d'absorption à la concentration de 100 μ U/ml avec des taux respectifs de 43,8% et de 47% après 90 minutes d'incubation. De même, un effet stimulateur hautement significatif a été induit par toutes les concentrations testées de l'insuline sur la pénétration du glucose dans les adipocytes tout au long de l'incubation avec un maximum d'absorption de 39 % et de 32 % dans les deux milieux d'incubation (contenant 5 mM ou 16 mM de glucose) respectivement à 60 minutes. Ces résultats confirment l'étude d'Azzi et al. (2007) qui ont également constaté que l'insuline active significativement la pénétration du glucose dans les adipocytes isolées du tissu épидидymal des rats à la concentration 500 et 1000 μ UI/ml durant 1 heure d'incubation. Par ailleurs, l'étude réalisée par Belahdj (2011) a démontré un effet pareil de l'insuline sur les coupes de foie incubées dans un milieu KRBA 4 % contenant 0.54 g/l de glucose avec un maximum d'absorption de glucose à une dose de 300 μ U/ml avec un taux de 24 % après 1 heure d'incubation. Ces résultats viennent confirmer le rôle de l'insuline dans la stimulation du transport et l'utilisation du glucose par les tissus périphériques: le foie, le muscle et le tissu adipeux.

Pour le tissu adipeux, nous avons constaté que le maximum d'absorption de glucose est observé à 60 minutes d'incubation tant pour les extraits testés que pour l'insuline. Ceci est peut être le résultat de la saturation des récepteurs au-delà de 60 minutes, ou de leur insensibilisation. Ce phénomène de diminution de l'absorption de glucose par les adipocytes isolées de rats stimulée par l'insuline au cours du temps a été constaté dans une étude de Reaven et al. (1989), ces auteurs ont expliqué ce phénomène par une perte de sensibilité du système de transport de glucose adipocytaire à l'insuline.

Il a été décelé que la présence des extraits de *T. nudatum* a amélioré également l'assimilation du glucose par les coupes de foie pendant les 90 minutes d'incubation, la concentration 500 μ g/ml a induit le maximum d'absorption de glucose d'une manière hautement significative avec des pourcentages de 37% et 42% pour l'extrait brut hydrométhanolique et de 38% et 44% pour la fraction acétate d'éthyle dans les milieux d'incubation contenant 5 mM et 16 mM de glucose respectivement après 90 minutes d'incubation. De même, une élévation significative de l'absorption du glucose par les adipocytes a été provoquée par les extraits de *T. nudatum* avec un optimum d'absorption à 60 minutes d'incubation à la concentration 500 μ g/ml dans les deux milieux d'incubation (contenant 5 mM et 16 mM de glucose) de l'ordre de 23 % et 20 % pour l'extrait brut hydrométhanolique et de 24% et 23 % pour la fraction

acétate d'éthyle. Toutefois, ces effets sur les deux tissus sont moins importants que ceux de l'insuline.

Nombreuses sont les études démontrant les effets antidiabétiques des chénopodiacées, *Atriplex halimus* est de loin la plus étudiée pour ses propriétés antidiabétiques, Chikhi et al. (2014) ont reporté que cette plante est douée d'un excellent effet hypoglycémiant chez des rats diabétiques, deux autres espèces du même genre: *Atriplex farinosa* et *Atriplex numularia* ont démontré des effets antihyperglycémiants intéressants proches du glibenclamide chez des rats diabétiques à des doses de 200 et 400 mg/kg.p.c respectivement après 8 semaines de traitement par voie orale, elles ont démontré également une diminution du taux d'hémoglobine glyquée, de cholestérol total, de triglycérides, des LDL, du MDA avec une élévation des taux l'insuline plasmatiques et de l'activité des CAT, SOD, GPx, GSH (Soliman et al., 2015). Zerriouh et al. (2014) ont reporté un effet important proche du glibenclamide sur l'hyperglycémie provoquée par voie orale de l'extrait méthanolique d'*Haloxylon scoparium*. Une b-sitoglycoside saponine isolée d'*Anabsis articulata* diminue significativement l'hyperglycémie de souris diabétiques (Kambouche et al., 2011). Ces activités semblent être dues aux composés phénoliques mais aussi aux sels minéraux qui sont de puissants antidiabétiques sachant que les chénopodiacées (y comprise *T. nudatum*) sont des halophytes et donc riches en sels minéraux. Chez *Atriplex halimus*, il a été démontré que le chrome organique régule la glycémie en potentialisant l'effet de l'insuline (Aharonson et al., 1969; Evans et Bowman, 1992). En outre, le vanadium qui est connu pour ses vertus antidiabétiques avant la découverte de l'insuline est un insulino-mimétique utilisé pour le contrôle de la glycémie (Thompson et Godin, 1995; Dey et al., 2002). En revanche, aucune explication n'a pu être apportée au phénomène de l'augmentation de la glycémie chez les rats normaux ni à la remontée de la glycémie après deux semaines.

Ammodaucus leucotrichus

Le mélange polaire hydrométhanolique donne les meilleurs rendements que les autres solvants. Les extraits récupérés sont caractérisés par une couleur marron foncée et d'un aspect pâteux. La présence des quinones, des tannins, des flavonoïdes, des alcaloïdes, des saponines et des terpénoïdes a été révélée lors du criblage phytochimique, ce qui est en concordance avec les travaux de Sebaa et al. (2018) et de Halla et al. (2018) qui ont reporté la présence de ces classes de composés phénoliques dans différents extraits de cette espèce. Des teneurs faibles en polyphénols et en flavonoïdes ont été enregistrées et c'est les fractions acétate d'éthyle et n-butanol qui se sont montrées les plus riches en composés phénoliques, les taux en polyphénols totaux des extraits bruts hydrométhanoliques EB_I et EB_M étaient de $39,3 \pm 0,6$ et de $45,69 \pm 0,4$ mg EAG/g respectivement et les taux en flavonoïdes des mêmes extraits étaient de $18,62 \pm 0,12$ et de $18,94 \pm 0,29$ mg EC/g. Ces taux sont proches à ceux trouvés par Rached et al. (2010) de l'ordre de $46,77$ mg EAG/g et $15,48$ mg EC/g dans l'extrait aqueux d'*A. leucotrichus*. En revanche, Halla et al. (2018) a reporté un taux des polyphénols totaux dans l'extrait hydrométhanolique préparé par macération de la même plante de $10,32 \pm 0,17$ mg EAG/g seulement. Cette différence est peut être due à la différence des parties de la plante étudiées ou bien aux conditions climatiques de développement ou la période de récolte de la plante (Ksouri et al., 2008; Zheljzakov et al., 2013), ou même aux capacités d'extraction des solvants utilisés ainsi au degré de polymérisation et de solubilisation des composés.

Les extraits répondent positivement au test DPPH, la plus forte activité de piégeage du radical a été exercée par les fractions n-butanol et acétate d'éthyle. De même tous les extraits testés présentent une capacité de réduction des ions molybdate avec une activité maximale dans les fractions acétate d'éthyle, cette activité pourrait être expliquée par la présence de flavonoïdes et de composés phénoliques. En effet, plusieurs études ont montré que de nombreux flavonoïdes et polyphénols des plantes médicinales contribuent de manière significative à la réduction des ions phosphomolybdate (Sharififar et al., 2009). La réduction des ions de fer a été démontrée dans l'ensemble des extraits et le pouvoir réducteur le plus élevé est évident dans les fractions acétate d'éthyle. Toutefois, toutes ces activités démontrées dans les extraits de cette plante sont moins importantes à celles démontrées dans l'acide ascorbique, le faible potentiel antioxydant de nos extraits semble être dû à leur faible abondance en composés phénoliques. Halla et al. (2018) ont également signalé des activités modérées de piégeage de DPPH et de réduction de fer pour les extraits d'*A. leucotrichus* comparativement aux témoins positifs. En revanche, Sebaa et al. (2018) ont noté que l'extrait méthanolique de la même plante présente une forte activité de piégeage de la DPPH égale à celle du témoin BHA avec

une IC₅₀ de 2 µg / ml et une activité de réduction de fer importante et supérieure à celle du témoin BHT. Ceci est en accord avec les données de la bibliographie qui affirment que les épices de la famille des Ombellifères sont douées de fortes propriétés antioxydantes (Wojdylo et al., 2007).

Une activité antibactérienne modérée et une activité antifongique nulle ont été démontrées dans les extraits d'*A. leucotrichus*, les fractions acétate d'éthyle présentent les diamètres des zones d'inhibition les plus importants et valeurs de CMI les plus faibles démontrant l'effet antibactérien le plus intéressant, il ressort aussi que les bactéries à Gram positif étaient les plus sensibles aux extraits. Ziani et al. (2018) ont également signalé que les extraits d'*A. leucotrichus* étaient plus actifs sur les bactéries à Gram positif. Selon Gyawali et Ibrahim (2012), la résistance des bactéries à Gram négatif pourrait être due à la membrane externe qui constitue une barrière contre de nombreuses substances environnementales notamment les antibiotiques ou à des facteurs génétiques.

L'analyse des composés phénoliques des extraits par HPLC a permis la détection d'un grand nombre de molécules et l'identification de six entre elles: deux flavonoïdes (la naringénine et la quercétine), trois acides phénoliques (sinapique, férulique et p-coumarique) et la vanilline. La bibliographie indique que l'acide sinapique est un acide phénolique bioactif largement présent dans les épices et que l'acide férulique est également ubiquitaire dans les graines et les feuilles (Kumar et Pruthi, 2014; Chen, 2016). Ziani et al. (2018) ont reporté la présence de sept composés phénoliques dans l'extrait hydroéthanolique d'*A. leucotrichus*: deux dérivés d'acide phénolique et cinq flavones (dérivés de l'apigénine et de la lutéoline).

À l'exception de la fraction acétate d'éthyle qui a montré une toxicité élevée, tous les autres extraits d'*A. leucotrichus* ont montré un faible effet hémolytique qui ne dépasse pas 11% après 60 minutes d'incubation à 1mg/ml. Contrairement à nos résultats, il a été démontré dans une étude de l'effet hémolytique élaborée par Telli (2017) que les extraits aqueux d'*A. leucotrichus* ne présentent aucune activité hémolytique à des concentrations ≤ 500 µg/ml.

Pour une concentration égale à 1000 µg/ml, ils présentent un taux d'hémolyse inférieur à 1%. De 2500 à 10000 µg/ml, l'activité hémolytique augmente mais reste négligeable (< 5%). Cette discordance revient probablement à la différence des solvants utilisés et par conséquent la nature des molécules extraites.

Parmi 66 espèces recensées, *A. leucotrichus* est parmi les quatre plantes les plus citées dans l'enquête ethnobotanique réalisée par Telli et al. (2016) sur les plantes utilisées dans le traitement traditionnel du diabète dans la région d'Ouargla. Effectivement, il ressort des résultats des tests antidiabétiques in vivo que l'injection de l'extrait brut hydrométhanolique

d'*A. leucotrichus* a induit une réduction continue du taux du glucose chez les rats diabétiques comparativement aux rats diabétiques témoins de l'ordre de 13,94 % à court terme (après 4 heures d'injection), cette réduction persiste à long terme après chaque injection avec presque le même taux de diminution de la glycémie de 14,92 % à la quatrième semaine, une augmentation de la glycémie de l'ordre de 2,45 % a été observée chez les rats normaux injectés par le même extrait par rapport aux rats normaux témoins après 4 heures et de l'ordre de 1,94 % après 4 semaines. Suite à l'injection de la fraction acétate d'éthyle d'*A. leucotrichus* chez les rats diabétiques, une diminution de la glycémie a été constatée de l'ordre de 33,53 % à la deuxième heure, au-delà de laquelle, la glycémie commence à augmenter puis après une semaine de l'injection, la glycémie commence à diminuer de nouveau jusqu'à la fin de l'expérimentation avec une diminution de 27,48 % à la quatrième semaine. Par ailleurs, une augmentation significative de l'ordre de 1,99 % après 4 heures a été observée suite à l'injection des rats normaux par la même dose de la même fraction, cette augmentation a atteint 2,09 % à la quatrième semaine. La fraction acétate d'éthyle a montré un effet meilleur que l'extrait brut hydrométhanolique avec des taux quasi doubles de réduction de la glycémie à court et à long terme. Ces effets antihyperglycémiant sont confirmés par les travaux de Telli et al. (2017) qui ont démontré une diminution significative de la glycémie suite au traitement des souris diabétiques par l'extrait aqueux d'*A. leucotrichus* pendant quatre semaines à une dose de 1g/kg.p.c avec une variation de 45%. Dans la même étude, cet extrait a montré de très nombreux effets très intéressants in vitro et in vivo: un effet inhibiteur des enzymes digestives l' α amylase et la lipase, une diminution de la glycémie et des triglycérides sanguins, une diminution du taux de l'HbA1C, une amélioration de la tolérance au glucose, une amélioration des marqueurs de stress oxydant (SOD, GR et MDA), une action hépatoprotective ainsi que la régénération des cellules β chez les souris diabétiques traitées. À propos des résultats des études in vitro, une activation hautement significative de l'absorption du glucose par les coupes de foie a été observée en présence de différentes concentrations de l'extrait brut hydrométhanolique et de la fraction acétate d'éthyle d'*A. leucotrichus* avec un maximum d'absorption à la concentration de 500 μ g/ml après 90 minutes dans les deux milieux d'incubation (contenant 5 mM ou 16 mM de glucose) avec des taux de 44% et 47.6% pour l'extrait brut hydrométhanolique et de 43% et 48% pour la fraction acétate d'éthyle respectivement. Il a été constaté que les deux extraits testés d'*A. leucotrichus* possèdent presque le même effet et qui est très proche à celui de l'insuline sur l'absorption du glucose par les coupes de foie. Ces extraits augmentent également très significativement le captage de glucose par les adipocytes dans les deux milieux d'incubation (contenant 5mM ou

16 mM de glucose) essentiellement à 60 minutes avec des taux respectifs de 22% et de 21% pour l'extrait brut hydrométhanolique et de 23% pour la fraction acétate d'éthyle à la concentration 500 µg/ml. Presque le même effet est exercé par l'extrait brut et sa fraction et dans les deux milieux d'incubation hyper et normoglycémique, en revanche l'effet de l'insuline est meilleur. Les différentes molécules identifiées dans les extraits d'*A. leucotrichus* (les acides phénoliques et les flavonoïdes) ainsi que les autres familles de métabolites secondaires détectées lors des tests phytochimiques (tannins, quinones, alcaloïdes, saponines et terpénoïdes) sont probablement responsables de l'augmentation de l'absorption de glucose par le foie et le tissu adipeux de type insulin-like régulant ainsi l'hyperglycémie. Il est possible que ces composés agissent en synergie dans ces activités. De nombreuses enquêtes ethnobotaniques à travers le monde ont montré que la famille des apiacées est parmi les familles les plus fréquemment employées pour le traitement traditionnel du diabète. Effectivement, l'action antidiabétique de plusieurs apiacées a été confirmée, des activités hypoglycémiantes significatives de différents extraits aqueux et organiques ont été démontrées in vivo aussi bien chez les rats et les souris tels que *Carum carvi* (Moubarz et al., 2014), *Cuminum cyminum* (Abdou Mohamed, 2018), *Foeniculum vulgare*, que chez des humains tels que *Coriandrum sativum* (Akbar et al., 2006).

Les résultats ont démontré que les extraits des deux espèces étudiées stimulent significativement l'absorption du glucose par le foie et le tissu adipeux, ce qui nous permet de supposer que la régulation de la glycémie à jeun observée in vivo est le résultat d'un insulino-mimétisme en augmentant l'utilisation périphérique du glucose permettant le passage de glucose vers ces organes et son stockage sous forme de glycogène ou de lipides. Il semble que l'action des extraits des deux plantes étudiées est contributive à leurs différents métabolites secondaires détectés. En effet, plusieurs études ont montré que les extraits des plantes médicinales diminuent l'hyperglycémie par différents mécanismes tels que l'inhibition de l' α -amylase et de l' α -glucosidase, la stimulation de la sécrétion d'insuline, la potentialisation ou le mimétisme de l'action d'insuline, la diminution de l'insulinorésistance, l'inhibition de la néoglucogénèse et la glycogénolyse, l'activation de la glycogénogénèse et de la lipogénèse, l'augmentation du transport de glucose vers les tissus périphériques, la stimulation des voies de signalisation, la stimulation de la prolifération et la régénération des cellules β pancréatiques, augmentation de l'excretion rénale du glucose (Cui et al., 2009; Noorshahida et al., 2009; Wang et al., 2011; Patel et al., 2012) par différentes classes de métabolites secondaires (composés phénoliques, alcaloïdes, polysaccharides, terpénoïdes, peptides)(Bhutkar et Bhise, 2012 ; Dey et al., 2015; Gbekley et al, 2017; Governa et al, 2018).

Conclusion et perspectives

À l'issue de ce travail qui contribue à la valorisation de deux espèces de la flore locale *Ammodaucus leucotrichus* Cosson & Durieu et *Traganum nudatum* Delile utilisées en ethnopharmacologie, nous concluons que les différents extraits de ces plantes possèdent des activités antioxydante, réductrice et antiradicalaire, ils démontrent également une activité antibactérienne notamment sur les bactéries de Gram positif.

Généralement les activités biologiques des extraits préparés par macération sont meilleures que celles des extraits obtenus par infusion, ce qui indique que la température d'extraction influence les activités biologiques des extraits de plantes et que les molécules thermolabiles qui sont conservées par la technique d'extraction par macération interviennent dans ces activités reportées avec les molécules thermostables extraites par infusion. D'une autre part, ce sont les fractions qui se sont montrées les plus efficaces en particulier les fractions acétate d'éthyle malgré leurs rendements faibles comparativement aux extraits bruts hydrométhanoliques, ce qui suggère que les molécules bioactives responsables de ces activités seraient des composés peu polaires.

Les analyses phytochimiques démontrent la richesse des extraits en plusieurs groupes de composés phénoliques dont les flavonoïdes, les alcaloïdes, les terpénoïdes, les tannins, les saponines et les quinones et des taux appréciables en polyphénols et en flavonoïdes, certains composés phénoliques sont identifiés dans les fractions des deux espèces que probablement les activités biologiques observées leur sont attribuées. Toutefois ces effets sont modérés par rapport aux contrôles positifs.

Des effets antidiabétiques intéressants se sont révélés également chez les deux espèces aussi bien in vitro qu'in vivo avec un effet antihyperglycémiant in vivo à court et à long terme et un effet stimulateur in vitro très significatif sur l'absorption de glucose par le tissu adipeux et hautement significatif et similaire à celui de l'insuline sur l'absorption de glucose par le foie, le cas des extraits d' *A. leucotrichus*. Ce qui explique que les extraits exercent un effet de type insulin-like sur l'absorption de glucose par le foie et par le tissu adipeux contribuant ainsi à la régulation de l'hyperglycémie. Cependant, un effet hémolytique et toxique est observé à certaines concentrations dans les fractions acétate d'éthyle.

À la lumière des résultats obtenus, il ressort que les deux espèces étudiées sont douées d'actions biologiques antioxydante, antibactérienne et antidiabétique. Ce qui confirme et justifie le bien-fondé de l'utilisation ethnopharmacologique de ces plantes comme traitement de diabète. Ces activités sont attribuées à leurs contenus en composés phénoliques. Dès lors, ces espèces représentent une source importante de molécules bioactives qui contribuent à

lutter contre le stress oxydatif et le diabète.

Cette étude préliminaire ne constitue que la première étape de la valorisation de ces deux espèces végétales. Il serait intéressant de compléter et d'approfondir ce travail par:

La recherche d'activité antioxydante par d'autres techniques in vitro et in vivo

La recherche d'activité antibactérienne sur d'autres souches bactériennes pathogènes (multi-résistantes, sauvages, ...)

La recherche d'activité antifongique sur d'autres levures et champignons

L'élucidation des mécanismes d'actions cellulaires et moléculaires via lesquels ces plantes exercent leurs effets biologiques

La recherche de l'effet sur l'insulino-sécrétion

La recherche de l'effet sur la régénération des cellules β de Lagerhans pancréatiques

La recherche de l'effet sur d'autres enzymes digestives comme l' α -glucosidase, la lipase,.....

La recherche de l'effet sur l'absorption du glucose par le muscle

L'élucidation du mécanisme d'absorption du glucose par le foie, le tissu adipeux ainsi que par le muscle (sur les voies de signalisation, sur les transporteurs de glucose,...)

L'isolement et la caractérisation des principes actifs des différents extraits par des techniques chromatographiques et spectrales

Tester les molécules isolées pour leurs activités biologiques in vitro et in vivo et rechercher leurs effets synergiques entre eux ou en combinaison avec des médicaments conventionnels

La recherche de toxicité par d'autres techniques (dosage des cytochromes P 450,...)

La recherche d'autres éventuelles activités biologiques comme l'activité anti-inflammatoire, l'activité anti-tumorale, l'activité cytotoxique

Références bibliographiques

- Abastado P (2006) Police épistémologique: l'enquête «streptomycine». *Med Sci* 22 (5):544–547
- Abd El Raheim MD, Alqasoumi SI, Radwan AM, Burand J (2012) Phytochemical screening and insecticidal activity of three plants from Chenopodiaceae family. *J Med Plant Res* 6: 5863–5867
- Abdou Mohamed D, Mohamed Hamed I, Aly Fouda K (2018) Effets antioxydants et antidiabétiques de l'extrait brut d'éthanol de graines de cumin. *J Biol Sci* 18: 251-259
- ADA (American Diabetes Association). (2014). Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*, 37(supplement 1), S81-S90.
- Aharonson Z, Shani J Mishkinsky, Sulman FG (1969) Hypoglycaemic effect of the salt bush (*Atriplex halimus*) - a Feeding source of the sand rat (*Psammomys obesus*). *Diabetologia* 5: 379-383.
- Ajayi AM, Tanayen JK, Magomere A, Ezeonwumelu JO (2016) Antinociceptive and anti-inflammatory effects of aqueous extract of *Chenopodium opulifolium* schrad leaves. *J Intercult Ethnopharmacol*, 6 (1): 14–21
- Ajibesin KK, Ekpo BA, Bala DN, Essien EE, Adesanya SA (2008) Ethnobotanical survey of Akwa Ibom state of Nigeria *Journal of Ethnopharmacology* 115: 387- 408
- Akbar W, Ga Miana SA, Ka M (2006) Clinical investigation of hypoglycemic effect of *Coriandrum sativum* in Type-2 (Niddm) diabetic patients. *Pakistan J Psychol* 23: 7-11
- Akroum S (2011) Étude Analytique et Biologique des Flavonoïdes Naturels. Thèse de Doctorat, Université Mentouri de Constantine, Algérie. 113p
- Alanis AJ (2005) Resistance to Antibiotics: Are We in the Post-Antibiotic Era? *Arch Med Res* 36 (6): 697–705
- Alvarez-Suarez JM, Carrillo-Perdomo E, Aller A, Giampieri F, Gasparrini M, Gonzalez-Perez L, Beltran-Ayala P, Battino M (2017) Anti-inflammatory effect of Capuli cherry against LPS-induced cytotoxic damage in RAW 264.7 macrophages. *Food Chem Toxicol* 102: 46-52
- Alvarez-Suarez JM, Giampieri F, Battino M (2013) Honey as a Source of Dietary Antioxidants: Structures, Bioavailability and Evidence of Protective Effects Against Human Chronic Diseases. *Curr Med Chem* 20 (5): 621-38
- American Diabetes Association (2016) Classification and diagnosis of diabetes (Sec 2) In *Standards of Medical Care in Diabetes*. *Diabetes Care*, 39(Suppl. 1): S13–S22

- Amiri MS and Joharchi MR (2016) Ethnobotanical knowledge of Apiaceae family in Iran: A review. *Avicenna J Phytomed*, 6 (6): 621–635
- Amzal H (2010) Étude de l'activité antioxydante des saponines du tourteau de l'arganier. Thèse de Doctorat de l'université de Mohammed V AGDAL: 9-22
- Andreelli F, Jacquier D, Dierick-Gallet A, Amouyal C (2011) Pharmacogénétique des antidiabétiques. *Médecine des maladies Métaboliques* 5 (5): 512-519
- Andremont AT and Tibon-Cornillot M (2007) Le triomphe des bactéries: La fin des antibiotiques? Max Milo Editions p 250
- Annicotte JS (2004) Etude de fonctions pancréatiques du récepteur nucléaire orphelin Liver Receptor Homolog-1 (LRH-1) et du facteur de transcription E2F1 (Doctoral dissertation, Université Louis Pasteur (Strasbourg)).
- Anton R, Lobstein A, Teuscher E (2005) Plantes aromatiques : épices, aromates, condiments et huiles essentielles, Éditions Tec & Doc / Éditions médicales internationales, Paris Lavoisier
- Astin JA (1998) Why patients use alternative medicine: results of a national study. *JAMA* 279(19): 1548–53
- Avignon A, Picard S (1999) Lipotoxicité et régulation glycémique. *Diabetes & Metab* 25: 275-82
- Avogaro A, Kreutzenberg SV, Fadini GP (2008) Oxidative stress and vascular disease in diabetes: is the dichotomization of insulin signaling still valid? *Free Radic Biol Med* 44: 1209-15
- Azmir J, Zaidul ISM, Rahman MM, Sharif KM, Mohamed A, Sahena F, Jahurul MHA, Ghafoor K, Norulaini NAN, Omar AKM (2013) Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. *J Food Eng* 117: 426-436
- Azzi R (2007) Contribution à la recherche des effets antidiabétiques des alcaloïdes et glycosides cucurbitacines extraits des graines de coloquinte (*Citrullus colocynthis*) chez le rat rendu diabétique par la Streptozotocine. Mémoire de magister en biologie Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen, Algérie.
- Badawneh M, Aljamal J, Aelsehli BR, Daradka HM (2017) Antidiabetic effect of ethanolic extract of *Traganum nudatum* on alloxan induced diabetics Wistar rats. *Int J Biol Pharm Allied Sci* 6: 918–930
- Balunas MJ, Kinghorn AD (2005) Drug discovery from medicinal plants. *Life Sci* 78: 431-441

- Barquissau V, Morio B (2011) Physiopathologie de l'insulinorésistance dans le muscle squelettique et implication des fonctions mitochondriales. *Nutr Clin Metab* 25(3): 114-130
- Belhadj I (2011) Optimisation de l'action de l'insuline sur les hépatocytes en culture. Mémoire de master en biologie Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen, Algérie.
- Bhat SV, Nagasampagi BA, Sivakumar M (2005) *Chemistry of Natural Products*. Narosa Publishing House 4: 237 New Delhi, India
- Bhutkar MA et Bhise SB (2012) In vitro assay of alpha amylase inhibitory activity of some indigenous plants. *Int J Chem Sci* 10 (1): 457-462
- Bindseil KU, Jakupovic J, Wolf D et al (2001) Pure compound libraries; a new perspective for natural product based drug discovery. *Drug Discov Today* 6 (16): 840 – 847
- Blade C, Aragonés G, Arola-Arnal A, Mugerza B, Bravo FI, Salvado MJ, Arola L, Suarez M (2016) Proanthocyanidins in health and disease. *Biofactors* 42: 5-12
- Bonnefont-Rousselot D (2002) Glucose and reactive oxygen species. *Curr Opin Clin Nutr Met Care* 5: 561-68
- Bonnefont-Rousselot D, Beaudeau JL, Théron P, et al (2004) Diabetes mellitus, oxidative stress and advanced glycation endproducts. *Ann Pharm Fr* 62 (3): 147-157
- Bosquet F, Hartemann-Heurtier A (2004) Insulinothérapie dans le diabète de type 2. *EMC-Endocrinologie* 1 (1): 55-65
- Boulanger E, Dequiedt P, Wautier JL (2002) Les produits de glycation avancée (AGE): de nouvelles toxines? *Nephron* 23 (7): 349–57
- Bravo L (1998) Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism and nutritional significance. *Nutr Rev* 56: 317-333
- Brinkhaus B, Ortiz M, Witt CM et al (2013) Acupuncture in patients with seasonal allergic rhinitis: a randomized trial. *Ann Intern Med* 158 (4): 225-234
- Brownlee M (2005) The pathobiology of diabetic complications: a unifying mechanism. *Diabetes* 54 (6): 1615-1625
- Brownlee M (2001) Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature* 414 (6865): 813-20
- Bruneton J (1999) *Pharmacognosie, phytochimie, Plantes Médicinales*. Tec et Doc, Lavoisier 3ème édition, p 1120
- Bruneton J (2008) *Pharmacognosie: phytochimie, plantes médicinales*. 3ème Ed Paris, Lavoisier Tech & Doc

- Bruneton J. (2009) Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes Médicinales. Tec et Doc, Lavoisier, 4ème édition, p 811-815, 1292
- Burcelin R, Pénicaud L (2003) Rôle de l'axe intestin, foie, et système nerveux dans la régulation de la glycémie en période absorptive MCED17(2) : 89-93
- Bush K (2004) Antibacterial drug discovery in the 21st century. Clin Microbiol Infect 10: 10-17
- Chang ST, Wu JH, Wang SY, Kang PL, Yang NS, Shyur LF (2001) Antioxidant activity of extracts from *Acacia confusa* bark and heartwood. J Agric Food Chem 49: 3420–3424
- Chaouche TM, Haddouchi F, Ksouri R, Atik-Bekkara F (2014) Evaluation of antioxidant activity of hydromethanolic extracts of some medicinal species from South Algeria. J Chin Med Assoc 77: 302–307
- Chen C (2016) Sinapic Acid and Its Derivatives as Medicine in Oxidative Stress-Induced Diseases and Aging. Oxid Med Cell Longev 2016: 3571-614
- Chikhi I, Allali H, Dib MEA, Medjdoub H, Tabti B (2014) Antidiabetic activity of aqueous leaf extract of *Atriplex halimus* L. (Chenopodiaceae) in streptozotocin-induced diabetic rats. Asian Pac J Trop Dis 4: 181-184
- Chung YC, Chang CT, Chao WW, Lin CF, Chou ST (2002) Antioxidative activity and safety of the 50% ethanolic extract from red bean fermented by *Bacillus subtilis* IMR-NK1. J Agr Food Chem 50 (8): 2454-8
- CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute), M07-A8. (2010) Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard-Eighth Edition
- CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute), M2-A9. (2010) Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests, approved standard, 9th ed., CLSI, Wayne, PA
- Cui B, Han L, Qu J, Lv Y (2009) Hypoglycemic activity of *Grifola frondosa* rich in vanadium. Biol Trace Elem Res 131(2): 186-91
- Cunningham JM and Green IC (1994) Cytokines, nitric oxide and insulin secreting cells. G Reg 4: 173-180
- Davies MJ, D'Alessio DA, Fradkin J et al (2018) Management of hyperglycemia in type 2 diabetes, 2018. A consensus report by the American diabetes association (ADA) and the European association for the study of diabetes (EASD). Diabetes care 41 (12): 2669-2701
- De Smet P A (2005) Herbal medicine in Europe: Relaxing regulatory standards. N Engl J Med 352 (12): 1176–1178

- Defraigne JO (2005) Un mécanisme physiopathologique central à l'origine des complications du diabète? *Rev Méd Liège*, 60 (5-6): 472-478
- Del Rio D, Rodriguez-Mateos A, Spencer JP, Tognolini M, Borges G, Crozier A (2013) Dietary (poly)phenolics in human health: structures, bioavailability and evidence of protective effects against chronic diseases. *Antioxid Redox Signal* 18 (14): 1818-1892
- Delattre JB, Beaudoux J-L, Bonnefont-Rousselot D (2007) Radicaux libres et stress oxydant. Aspects biologiques et pathologiques. Tec et Doc Lavoisier: 1-23
- Demir Y, Isik M, Gulcin I, Beydemir S (2017) Phenolic compounds inhibit the aldose reductase enzyme from the sheep kidney. *J Biochem Mol Toxicol* 31 (9)
- Deng Y, He K, Ye X, Chen X, Huang J, Li X, Yuan L, Jin Y, Jin Q, Li P (2012) Saponin rich fractions from *Polygonatum odoratum* (Mill.) Druce with more potential hypoglycemic effects. *J Ethnopharmacol* 141(1): 228-233
- Devaraj S, Hirany SH, Burk R (2001) Divergence between LDL oxidative susceptibility and urinary F2-isoprostanes as measures of oxidative stress in type 2 diabetes. *Clin Chem* 47: 1974-1979
- Dey P, Ranjan Saha M, Roy Chowdhuri S, Sen A, Poddar Sarkar M, Haldar B, Kumar Chaudhuri T (2015) Assessment of anti-diabetic activity of an ethnopharmacological plant *Nerium oleander* through alloxan induced diabetes in mice. *J Ethnopharmacol* 161: 128-137
- Dibong SD, Mpondo Mpondo E, Ngoye A, Kwin NF (2011 c) Plantes médicinales utilisées par les populations bassa de la région de Douala au Cameroun. *Int J Biol Chem Sci* 5 (3): 1105-1117
- Dibong SD, Mpondo Mpondo E, Ngoye A, Kwin NF, Betti JL (2011a) Ethnobotanique et phytomédecine des plantes médicinales de Douala, Cameroun. *J Appl Biosci* 37: 2496-2407
- Din N, Mpondo Mpondo E, Dibong SD, Kwin NF, Ngoye A (2011) Inventory and identification of plants used in the treatment of diabetes in Douala town (Cameroon). *Eur J Med Plants* 1 (3): 60-73
- Dion F (2016) La résistance à l'insuline en insuffisance rénale chronique et le risque de développer un diabète de type 2: un cercle vicieux, Mémoire de Maîtrise universitaire en sciences, Université de Montréal.

- Djeridane A, Yousfi M, Nadjemi B, Boutassouna D, Stocker P, Vidal N (2006) Antioxidant activity of some algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chem* 97: 654–660
- Doucet J, Bauduceau B, Bliclé JF (2011) Les inhibiteurs de la dipeptyl-peptidase-4(DPP-) chez le patient âgé diabétique de type 2. *Ger Psychol Neuropsychiatr Vieil* 9(2): 157-62
- Dower JI, Geleijnse JM, Gijsbers L, Schalkwijk C, Kromhout D, Hollman PC (2015) Supplementation of the Pure Flavonoids Epicatechin and Quercetin Affects Some Biomarkers of Endothelial Dysfunction and Inflammation in (Pre) Hypertensive Adults: A Randomized Double-Blind, Placebo-Controlled, Crossover Trial. *J Nutr* 145: 1459-1463
- Drouin P, Bliclé JF, Charbonnel B, Eschwege E, Guillausseau PJ, Plouin PE, Daninos JM, Balarac N, Sauvanet JP (1999) Diagnostic et classification du diabète sucré les nouveaux critères. *Diabetes & Metab (Paris)*, 25: 72-83
- Du XL, Edelstein D, Rossetti L, Fantus IG, Goldberg H, Ziyadeh F, Wu J, Brownlee M (2000) Hyperglycemia-induced mitochondrial superoxide overproduction activates the hexosamine pathway and induces plasminogen activator inhibitor-1 expression by increasing Sp1 glycosylation. *Proc Natl Acad Sci* 97 (22): 12222-6
- Ducobu J (2003) Les antidiabétiques oraux en 2003. *Rev Med Brux*, p 361-368
- Dupont F, Guignard JL (2007) *Botanique: Systématique moléculaire*. Edition Masson, 13^{ème} édition, Paris, France, p 248
- Durand D et Le Jeune C (2014) *Dorosz: Guide pratique des médicaments*. 34^{ème} édition. Ed. Maloine, Paris, France. p1906
- Eddouks M, Ajbli M, Hebi M (2016) Ethnopharmacological survey of medicinal plants used in Daraa-Tafilalet region (Province of Errachidia), Morocco. *J Ethnopharmacol* 198: 516-530
- Edelman SV, Caballero L (2006) Amylin replacement therapy in patients with type 1 diabetes. *Diabetes Educ*, 32 (Suppl3): 119S-127S
- Edeoga HO, Okwu DE, Mbaebie BO (2005) Phytochemical constituents of some Nigerian medicinal plants. *Afric J Biotech* 4: 685 – 688
- Eliasson B, Eeg-Olofsson K, Cedeholm J, Nilsson PM, Gudbjörnsdóttir S (2007) Antihyperglycaemic treatment of type 2 diabetes: results from national diabetes register. *Diabetes and Metab* 33: 269-276

- Epifano F, Genovese S, Menghini L, Curini M (2007) Chemistry and pharmacology of oxyprenylated secondary plant metabolites. *Phytochemistry* 68 (7): 939-953
- Erdman J, Balentine JD, Arab L, Dwyer JT, Folts J, Harnly, Hollman JP, Keen LC, Mazza G, Messina M, Scalbert A, Vita J, Williamson G, Burrowes J (2007) Flavonoids and heart health: Proceeding of the ILSI North American flavonoids workshop, Washington. *J Nutr* 137(3 supp 1): 718-737
- Erlund I (2004) Review of the Flavonoids Quercetin, Hesperetin, and Naringenin. Dietary Sources, Bioactivities, Bioavailability and Epidemiology. *Nutr Res* 24: 851-874
- Ernst E, Stevinson C, White A (2004) Médecines alternatives : le guide critique. Elsevier Masson, p 524
- Essaïdi I, Brahmî Z, Snoussi A, Koubaier HBH, El Omri A, Chaabouni MM, Bouzouita N (2013) Phytochemical investigation of Tunisian *Salicornia herbacea* L., antioxidant, antimicrobial and cytochrome P450 (CYPs) inhibitory activities of its methanol extract. *Food Control* 32: 125–133
- Estrada A, Katselis GS, Laarveld B, Barl B (2000) Isolation and evaluation of immunological adjuvant activities of saponins from *Polygala senega* L. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis* 23: 27- 43
- Evans GW, Bowman TD (1992) Chromium Picolinate Increases Membrane Fluidity and rate of Insulin Internalization. *J Inorg Biochem* 46: 243-250
- Evans JL, Goldfine ID, Maddux BA, Grodsky GM (2003) Are oxidative stress- activated signaling pathways mediators of insulin resistance and beta-cell dysfunction? *Diabetes* 52: 1-8
- Evans JL, Maddux BA, Goldfine ID (2005) The molecular basis for oxidative stress induced insulin resistance. *Antioxid Redox Signal* 7: 1040-52
- Faure S (2011). Biguanides. *Actual pharm* 50 (506): 51-54
- FID: Fédération Internationale du Diabète, 2015. <http://www.diabetesatlas.org/>.
- FID: Fédération Internationale du Diabète, 2019. Atlas de Diabète 9ème édition. <https://diabetesatlas.org/fr/>
- Fleurentin J (2012) L'Ethnopharmacologie au Service de la Thérapeutique: Sources et Méthodes Hegel 2 (2): 12-18
- Fonseca V, Rosenstock J, Patwardhan R, Salzman A (2000). Effect of metformin and-rosiglitazone combination therapy in patients with type 2 diabetes mellitus: a randomized controlled trial. *Jama* 283 (13): 1695-1702

- Frisvold G, Day-Rubenstein K (2008) Bioprospecting and biodiversity conservation: What happens when discoveries are made? *Ariz Law Rev* 50: 545–76
- Furtado de Souza C, Dalzochio MB, de Oliveira FJ, Gross JL, Leitao CB (2012) Glucose tolerance status is a better predictor of diabetes and cardiovascular outcomes than metabolic syndrome: a prospective cohort study. *Diabetol Metab Syndr* 4: 4-25
- Gbekley EH, Agbodeka K, Karou SD et al (2017) Composés bioactifs isolés des plantes à propriété antidiabétique *Revue de littérature. IJIAS* 19 (4): 839-849
- Ghasemzadeh A, Azarifar M, Soroodi O, Jaafar HZE (2012) Flavonoid compounds and their antioxidant activity in extract of some tropical plants. *J Med Plant Res* 6: 2639–2643
- Giacco F, Brownlee M (2010) Oxidative stress and diabetic complications. *Circ Res* 107: 1058-1070
- Giugliano D, Ceriello A, Paolisso G (1996) Oxidative stress and diabetic vascular complications. *Diabetes Care*, 19: 257-267
- Goossens H, Ferech M, Vander Stichele R, Elseviers M (2005) Outpatient antibiotic use in Europe and association with resistance: a cross-national database study. *Lancet* 365 (9459): 579-87
- Governa P, Bains G, Borgonetti V, Cettolin G, Giachetti D, Magnano AR, Miraldi E, Biagi M (2018) Phytotherapy in the Management of Diabetes: A Review. *Molecules* 23 (1): 105
- Grimaldi A, Hartemann-Heurtier A, Jacqueminet S, Bosquet F, Masseboeuf N, Halborn M, Sachon C (2009) *Guide pratique du diabète*, 4 ème édition. Edition Elsevier Masson, p 313
- Guignard JL, Cosson L, Henry H (1985) *Abrégé de phytochimie*. Edition Masson, p 224
- Guillet C (2010) Implication des produits terminaux de glycation dans les complications liées au diabète. *Nutr Clin métab*, 24 (3): 109-114
- Guo-Xiang L, Zai-Qun L (2008) The protective effects of ginsenosides on human erythrocytes against hemin-induced hemolysis. *Food Chem Toxicol* 46: 886–892
- Gurib-Fakim A (2006) Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of tomorrow, *Mol Aspects Med* 27: 1-93
- Gutteridge JMC (1993) Free radicals in disease processes: a compilation of cause and consequence. *Free Radical Res Com* 19: 141 – 158
- Gyawali R and Ibrahim S (2012) Impact of plant derivatives on the growth of foodborne pathogens and the functionality of probiotics. *Appl microbiol biot* 95: 29-45

- Haleng J, Pincemail J, Defraigne JO, Charlier C, Chapelle JP (2007) Le stress oxydant. Rev Med Liège 62: 628-38
- Halimi S, Debaty I, Villaret L, Muller M (2008) Les nouveaux traitements du diabète de type 2: quelle place pour les incrétines et le rimonabant par rapport aux précédents? Rev Méd Interne 29: 881-890
- Halla N, Boucherit K, Boucherit-otmani Z, Zohra F, Rahmani N (2018) *Ammodaucus leucotrichus* and *Citrullus colocynthis* from Algerian Sahara: ethnopharmacological application, phyto- chemical screening, polyphenols content and antioxidant activity of hydromethanolic extracts. J King Saud Univ Sci. <https://doi.org/10.1016/jksus.2018.03.018>
- Halliwell B (2012) Free radicals and antioxidants: updating a personal view. Nutr Rev 70: 257-265
- Halliwell B, Gutteridge JMC, Cross CE (1992) Free radicals, antioxidants, and human disease: where are we now? J Lab Clin Med 119: 598 – 620
- Hammiche V, Maiza K (2006) Traditional medicine in Central Sahara: pharmacopoeia of Tassili Najjer. J Ethnopharmacol 105 (3): 358–367
- Harbone AJ (1998) Phytochemical Methods: A guide to modern techniques of plant analysis. 3^{ème} Ed. Chapman and hall: 303
- Hartog JW, Voors AA, Bakker SJ, Smit AJ, van Veldhuisen DJ (2007) Advanced glycation end-products (AGEs) and heart failure: pathophysiology and clinical implications. Eur J Heart Fail 9 (12): 1146–55
- Havsteen BH (2002) The biochemistry and medical significance of the flavonoids. Pharmacol Therap 96: 67 - 202
- Hennebelle T, Sahpaz S, Bailleul F (2004) Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. Phytothér 1: 3 – 6
- Herrmann K, Brunell SC, Li Y, Zhou M, Maggs DG (2016). Impact of Disease Duration on the Effects of Pramlintide in Type 1 Diabetes: A Post Hoc Analysis of Three Clinical Trials. Adv ther 1-14
- Heywood VH (1996). Les Plantes à Fleurs: 306 Familles de la Flore Mondiale, Nathan (Farnand), Paris, p 335
- Hopkins WG, Evrard CM (2003) Physiologie végétale Molécules et métabolisme, Edition De Boeck Supérieur, Bruxelles, p 532- 539
- Houstis N, Rosen ED, Lander ES (2006) Reactive oxygen species have a causal role in multiple forms of insulin resistance. Nature 440: 944-948

- Hubert J (2006) Caractérisation biochimique et propriétés biologiques des micronutriments du germe de soja. Etude des voies de sa valorisation en nutrition et santé humaines, Thèse pour l'obtention du Diplôme de Doctorat à l'Institut Nationale Polytechnique de Toulouse, Ecole Doctorale des Sciences Ecologiques, Vétérinaires, Agronomiques et Bioingénieries.
- Hunt JV, Dean RT, Wolff SP (1988) Hydroxyl radical production and autoxidative glycosylation. Glucose autoxidation as the cause of protein damage in the experimental glycation model of diabetes mellitus and aging. *Biochem J* 256: 205-12
- Iserin P, Masson M, Restellini JP et al (2001) Larousse des plantes médicinales: identification, préparation, soins. Edition Larousse, p 10- 12
- Itokawa H, Morris-Natshke S, Akiyama T, Lee KH (2008) Plant-derived natural product research aimed at new drug discovery *J Nat Med* 62: 263- 280
- Jamwal Komal, Sujata Bhattacharya, Sunil Puri (2018) Plant growth regulator mediated consequences of secondary metabolites in medicinal plants. *J Appl Res Med Aromat Plants* 9 (1): 26-38
- Janah H, Elouazzani H, Souhi H et al (2014) Est ce que le fumeur connaît les méfaits du tabac? *Pan Afr Med J* 19: 127
- Junio HA, Cordero AA, Ettefagh KA, Burns JT, Micko KT, Graf TN (2011) Synergy-directed fractionation of botanical medicines: A case study with goldenseal (*Hydrastis canadensis*). *J Nat Prod* 74: 1621-1629
- Kaku K (2010) Pathophysiology of type 2 diabetes and its treatment policy. *JMAJ*53 (1): 41-4
- Kalita P, Barman TK, Pal TK, Kalita R (2013) Estimation of total flavonoids content (TFC) and antioxidant activities of methanolic whole plant extract of *Biophytum sensitivum* linn. *J Drug Deliv Ther* 3 (4): 33-37
- Kambouche N, Merah B, Derdour A, Bellahouel S, Younos C, Soulimani R (2011) Activité antihyperglycémiant d'un stérol β -sitoglucoside isolé de la plante *Anabasis articulata* (Forssk) Moq. *Phytothérapie* 9: 2–6
- Kang KY, Hwang YH, Lee SJ, Kim JJ, Nam SJ, Yee ST (2017) Verification of the antioxidant activity of a subterranean part of *Suaeda japonica* Makino. *Ind Crop Prod* 109: 836–842
- Kardong D, Upadhyaya S, Saikia LR (2013) Screening of phytochemicals, antioxidant and antibacterial activity of crude extract of *Pteridium aquilinum* Kuhn. *J Pharm Res* 6: 179-182

- Karumi Y, Onyeyili PA, Ogugbuaja VO (2004) Identification of active principles of *M. balsamina* (Balsam Apple) leaf extract. *J Med Sci* 4 (3): 179-182
- Kaul K, Tarr JM, Ahmad SI, Kohner EM, Chibber R (2012) Introduction to diabetes mellitus. Chapter in *Diabetes: An old disease, a New insight*. Edition Landes Bioscience and Springer Science+Business Media, New York, USA, p 1-11
- Kent K, Charlton KE, Netzel M, Fanning K (2017) Food-based anthocyanin intake and cognitive outcomes in human intervention trials: a systematic review. *J Hum Nutr Diet* 30: 260-274
- Kessler L, Moreau F (2010) Nouveautés thérapeutiques dans le diabète de type 1: Situation actuelle et perspectives. *MT* 16 (2): 87-95
- Kindermans JM, Pilloy J, Olliaro P, Gomes M (2007) Ensuring sustained ACT production and reliable artemisinin supply. *Malaria J* 6: 125, <https://doi.org/10.1186/1475-2875-6-125>
- Kinghorn AD, Chin YW, Swanson SM (2009) Discovery of natural product anticancer agents from biodiverse organisms. *Curr Opin Drug Discov Devel* 12 (2): 189–196
- Korkina LG, Afanas'ev IB (1997) Antioxidant and chelating properties of flavonoids. *Adv Pharmacol* 38: 151–163
- Ksouri R, Megdiche W, Falleh H, Trabelsi N, Boulaaba M, Smaoui A et al (2008) Influence of biological, environmental and technical factors on phenolic content and antioxidant activities of Tunisian halophytes. *C R Biol* 331: 865–873
- Ksouri R, Megdiche W, Jallali I, Debez A, Magné C, Hiroko I, Abdelly C (2011) Medicinal halophytes: potent source of health promoting biomolecules with medical, nutraceutical and food applications. *Crit Rev Biotechnol* 32: 289–326
- Kumar N, Pruthi V (2014) Potential applications of ferulic acid from natural sources. *Biotechnol Rep (Amst)* 4: 86-93
- Kumar S, Dinesh K, Manjusha KS, Nidhan S, Bhoodev V (2008) Antioxidant and free radical scavenging potential of *Citrullus colocynthis* (L.) Schrad. methanolic fruit extract. *Acta Pharmaceut* 58: 215–220
- Labronici BR, Valdemiro GL, Campelo BGDS, Stremel AM, Maltez HF, Heller M, Amadeu MG, Benathar BTL, Fett R (2014) Nutrient composition and identification/quantification of major phenolic compounds in *Sarcocornia ambigua* (Amaranthaceae) using HPLC–ESI-MS/MS. *Food Res Int Food Res Int* 55: 404–411

- Lahfa FB (1985). Etude in vitro du métabolisme des lipides du foie chez le poussin *Gallus domesticus* à l'éclosion. Magister en Nutrition Métabolismes. Institut de biologie. Université des Sciences et de la technologie Houari Boumediene. Alger, Algérie
- Lazo M and Fernández C (2013) Oxidative Stress in Diabetes Mellitus and the Role of Vitamins with Antioxidant Actions, p 214
- Lee AY, Chung SS (1999) Contributions of polyol pathway to oxidative stress in diabetic cataract. *FASEB J* 13(1): 23–30
- Lee WM, Sung HJ, Jong C, Cho JY, Park HJ, Kim S, Rhee MH (2007) Effects of solvent-extracted fractions from *Salicornia herbacea* on anti-oxidative activity and lipopolysaccharide-induced NO production in murine macrophage RAW264.7 cells. *J Exp Biomed Sci* 13: 161–168
- Lewis K (2013) Platforms for antibiotic discovery. *Nat Rev Drug Discov* 12 (5): 371–87
- Liu Y and Wang MW (2008) Botanical drugs: Challenges and opportunities - Contribution to Linnaeus memorial symposium 2007. *Life Sci* 82 : 445-449
- Lo Vasco VR, Leopizzi M, Di Maio V, Di Raimo T, Cesa S, Masci A, Della Rocca C (2017) LPS, Oleuropein and Blueberry extracts affect the survival, morphology and Phosphoinositide signalling in stimulated human endothelial cells. *J Cell Commun Signal* 11: 317-327
- Macé S, Hansen LT, Rupasinghe HPV (2017) Anti-bacterial activity of phenolic compounds against *Streptococcus pyogenes*. *Medicines (Basel)* 4 (2): 25
- Maddux BA, See W, Lawrence JC, Goldfine AL, Goldfine ID, Evans JL (2001) Protection against oxidative stress-induced insulin resistance in rat L6 muscle cells by micromolar concentrations of alpha-lipoic acid. *Diabetes* 50: 404- 410
- Malec LS, Pomilio BA (2003) Herbivory effects on the chemical constituents of *Broussais pictus*. *Molecular Med Chem* 1: 30-32
- Manach C, Scalbert A, Morand C, Remesy C, Jimenez L (2004) Polyphenols: food sources and bioavailability. *Am J Clin Nutr* 79: 727-747
- Mann J, Davidson RS, Hobbs JB, Banthorpe DV, Harborne JB (1994) Natural Products: their chemistry and biological significance. Longman Scientific & Technical, New York: Wiley 7, p 389
- Marsaudon E (2011) Le diabète connaitre, comprendre, prévenir, les 200 questions clés pour mieux vivre, éditions Ellébore, p 19-20-23-33-34-44-45-115-116

- Marshall WJ, Bangert SK (2005) Biochimie médicale: physiopathologie et diagnostic. Elsevier Masson, p 59-87
- Maugendre D, Yaouanq J, Guilhem I, Campion L, Lorcy Y, Leguerrier AM, Allannic H (2007) Etiologie et physiopathologie des diabètes secondaires. In: Encyclopédie Médico-chirurgicale. Endocrinologie-Nutrition. Editions scientifiques et médicales, Elsevier Masson SAS, 10-366-D-20: 6
- Maulik N, McFadden D, Otani H, Thirunavukkarasu M, Parinandi N L (2013) Antioxidants in longevity and medicine. Oxid Med Cell Longev 2013: 820679
- McDermott W and Rogers DE (1982) "Social ramifications of control of microbial disease" Johns Hopkins Med J 151: 302-312
- Meerwaldt R, Links T, Graaff R, Thorpe SR, Baynes JW, Hartog J, Gans R, Smit A (2005) Simple noninvasive measurement of skin autofluorescence. Ann N Y Acad Sci 1043: 290-298
- Mensor LL, Menezes FS, Leitão GG, Reine AS, Santos TC, Coube CS, Leitão SG (2001) Screening of Brazilian plant extracts for antioxidant isoactivity by the use of DPPH free radical method. Phytother Res 15: 127-130
- Miara MD, Bendif H, Rebbas K, Rabah B, Hammou MA, Maggi F (2019) Medicinal plants and their traditional uses in the highland region of Bordj Bou Arreridj (Northeast Algeria). J Herb Med 16, 100262
- Miliauskas G, Venskutonis PR, Van Beek TA (2004) Screening of radical scavenging activity of some medicinal plants and aromatic plant extract. Food Chem 85: 231-237
- Mishra K, Ojha H, Chaudhury N (2012) Estimation of antiradical properties of antioxidants using DPPH assay: Critical review and results. Food Chem 130: 1036-1043
- Mojab F, Kamalinejad M, Ghaderi N, Vahidipour HR (2003) Phytochemical screening of some species of Iranian plants. Iran J Pharm Res 2: 77-82
- Monnier L (2014) Diabétologie, 2ème édition Elsevier Masson, Paris, p 215-217, 254
- Monteil M P (1906) Comparative anatomy of the leaves of the chenopodiaceae. Thesis. Doct. Univ. Paris.8, 11-14, p 126-131
- Moubarz G, Abdallah MH, Mona MT (2014) Antioxidant Effect of *Carum carvi* on the Immune Status of Streptozotocin-Induced Diabetic Rats Infected with *Staphylococcus aureus*. World Appl Sci J 30 (1): 63-6
- Mpondo Mpondo E, Dibong SD (2012) Traditional knowledge on medicinal plants use by ethnic communities in Douala, Cameroon. Eur J Med Plants 2 (2): 159-176

- Mpondo Mpondo E, Dibong DS, Priso RJ, Ngoye A, Ladoh Yemeda CF (2012) État actuel de la médecine traditionnelle dans le système de santé des populations rurales et urbaines de Douala (Cameroun). *J Appl Biosci* 55: 4036– 4045
- Mulas M (2004) Potentialité d'utilisation stratégique des plantes des genres *Atriplex* et *Opuntia* dans la lutte contre la desertification. Short and Medium, Term Priority Environmental Action Programme (SMAP) p91
- N'Guessan K, Kadja B, Zirihi G, Traoré D, Aké-Assi L (2009) Screening phytochimique de quelques plantes médicinales ivoiriennes utilisées en pays Krobou (Agboville, Côte-d'Ivoire). *Sci Nat* 6 (1): 1 – 15
- Nakashima E (2015) Prandial glucose regulator and insulin secretagogue; glinide and its combination therapy. *Nippon Rinsho Jpn J Clin Med* 73(3): 416- 423
- NCCLS, M44-A (2004) Method for Antifungal Disk Diffusion Susceptibility Testing of Yeasts; Approved Guideline. 24 (15) NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA
- Noorshahida A, Wong TW, Choo CY (2009) Hypoglycemic effect of quassinoids from *Brucea javanica* (L.) Merr (Simaroubaceae) seeds. *J Ethnopharmacol* 124: 586-591
- Olle M, Bender I (2010) The content of oils in umbelliferous crops and its formation. *Agron Res* 8 (3): 687-696
- Oloyede O I (2005) Chemical profile of Unripe Pulp of *Carica papaya*. *Pak J Nutr* 4: 379-381
- OMS | Le monde risque de sombrer dans une ère post-antibiotiques: le moment est venu de prendre des mesures énergiques. 2016
<http://www.who.int/mediacentre/commentaries/antibiotic-resistance/fr/>
- OMS. Organisation mondiale de la Santé. (2016). Rapport mondial sur le diabète.
<https://www.who.int/diabetes/global-report/fr/>
- Oyaizu M (1986) Studies on products of browning reaction-Antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *Jpn J Nutr Diet* 44 (6): 307-315
- Ozenda P (1958) Flore du Sahara Septentrional et central, CNRS, Paris, p 486
- Pan YK, Zheng YM, Ho WS (2018 b) Effect of quercetin glucosides from *Allium* extracts on HepG2, PC-3 and HT-29 cancer cell lines. *Oncol Lett* 15: 4657-4661
- Pandey S, Gupta RK (2014) Screening of nutritional, phytochemical, antioxidant and antibacterial activity of *Chenopodium album* (Bathua). *J Pharmacogn Phytochem* 3:1-9

- Patel DK, Prasad SK, Kumar R, Hemalatha S (2012) An overview on antidiabetic medicinal plants having insulin mimetic property. *Asian Pac J Trop Biomed* 2 (4): 320- 330
- Pattanayak SP, Mazumder PM, Sunita P (2011) Total phenolic content, flavonoid content and in vitro antioxidant activities of *Dendrophthoe falcata* (L.f.). *Pharm Tech Res* 3: 1392-1406
- Payet B, Shum Cheong Sing A, Smadja J (2006) Comparison of the concentrations of phenolic constituents in cane sugar manufacturing products with their antioxidant activities. *J Agr food Chem* 54 (19): 7270- 7276
- Pereira Nunes X, Souza Silva F, Alneida JRG (2012) Biological Oxidations and Antioxidant Activity of Natural Products. Chapter 1. In “phytochemicals as Nutraceuticals Global Approaches to Their Role in Nutrition and Health”. 1ère édition Venketeshwer Rao, p 1-20
- Pillon F, Tan K, Jouty P, Frullani Y (2014) Le traitement médicamenteux du diabète de type 2. *Actual pharm* 541: 23-28
- Prakash D, Suri S, Upadhyay G, Singh BN (2007 b) Total phenol, antioxidant and free radical scavenging activities of some medicinal plants. *Int J Food Sci Nutr* 58: 18-28
- Pratley RE, Weyer C (2001) The role of impaired early insulin secretion in the pathogenesis of type II diabetes mellitus. *Diabetologia* 44(8): 929-945
- Prieto P, Pineda M, Aguilar M (1999) Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. *Anal Biochem* 269: 337–341
- Quetin-Leclerc J (2002) Le voyage insolite de la plante au médicament. *J Pharm Belg* 57: HS 2, 11-20
- Quezel P, Santa S (1962-1963) Nouvelle flore de l’Algérie et des régions désertiques méridionales, Editions du Centre National de la Recherche Scientifique CNRS, Paris, p 475–476 -677
- Raccach D (2004) Epidémiologie et physiopathologie des complications dégénératives du diabète sucré. *EMC-Endocrinologie* 1 (1): 29-42
- Rached W, Benamar H, Bennaceur M, Marouf A (2010) Screening of the antioxidant potential of some Algerian indigenous plants. *J Biol Sci* 10(4): 316–324
- Ramawat KG, Mérillon JM (2008) Bioactives molecules and medicinal plants. Edition Springer Verlag Berlin Héidelberg 1 st édition, p 379

- Ramkumar KM, Sekar TV, Bhakkiyalakshmi E et al (2013) The impact of oxidative stress on islet transplantation and monitoring the graft survival by non-invasive imaging. *Curr Med Chem* 20 (9): 1127-46
- Reaven GM, Chang H, Hoffman BB, Azhar S (1989) Resistance to insulin-stimulated glucose uptake in adipocytes from spontaneously hypertensive rats. *Diabetes* 38 (9): 1155–1160
- Regional framework for integrating essential non communicable disease services in primary healthcare. WHO Regional Committee for Africa (2017) <https://afro.who.int/sites/default/files/2017-08/AFR-RC67%20Regional%20framework%20to%20integrate%20NCDs%20in%20PHC.pdf>
- Régis B (2011) Les mécanismes toxiques liés à l'hyperglycémie chronique chez le diabétique de type 2, thèse de doctorat en pharmacie, Université de Limoges
- Renner S, Blutke A, Streckel E, Wanke R, Wolf E (2016) Incretin actions and consequences of incretin-based therapies: lessons from complementary animal models. *J Pathol* 238 (2): 345-358
- Repo-Carrasco-Valencia R, Hellström Pihlava JM, Mattila PH (2010) Flavonoids and other phenolic compounds in Andean indigenous grains: quinoa (*Chenopodium quinoa*), Kañiwa (*Chenopodium pallidicaule*) and Kiwicha (*Amaranthus caudatus*). *Food Chem* 120: 128–133
- Rice-Evans C, Miller NJ, Paganga G (1996) Structure-antioxidant activity relationship of flavonoids and phenolic acids. *Free Radic Bio Med* 20: 933–956
- Rios JL (2011) Ethnomedicinal Plants : Progress and the Future of Drug Development. In: Rai M, Acharya D, Ríos JL. *Ethnomedicinal Plants Revitalization of Traditional Knowledge of Herbs*. Etats-Unis : Science Publishers, CRC Press, Taylor and Francis Group, p 1-10
- Robertson RP (2004) Chronic oxidative stress as a central mechanism for glucose toxicity in pancreatic islet cells in diabetes. *J Biol Chem* 279: 42351–42354
- Rodbell M (1964) Metabolism of isolated fat cells: I. Effects of hormones on glucose metabolism and lipolysis. *J Biol Chem* 239: 375-80
- Romain C (2010) Syndrome métabolique et diabète chez l'homme. Composition lipidique et oxydation des lipoprotéines de basse densité (LDL) plasmatiques en relation avec l'activation des plaquettes sanguines: thèse de doctorat en biochimie ; Université de Lyon, P 32

- Rosset R (2003) Pasteur et les vétérinaires. Bull Soc Fr Hist Méd Sci Vét 2 (2): 1-25
- Rouessac F et Rouessac A (2004) Analyse chimique-Méthodes et techniques instrumentales modernes, Edition Dunod 6 ème édition p 36-59
- Saada M, Falleh H, Jalleli I, Snoussi M, Ksouri R (2014) Phenolic profile, biological activities and fraction analysis of the medicinal halophyte *Retama raetam*. South Afr J Bot 94: 114–121
- Santhakumar AB, Battino M, Alvarez-Suarez JM (2018) Dietary polyphenols: Structures, bioavailability and protective effects against atherosclerosis. Food Chem Toxicol 113: 49-65
- Schauenberg P, Paris F (2006) Guide des plantes médicinales. Analyse, description et utilisation de 400 plantes. 2ème ed. Ed Delachaux et Niestlé Paris, p 33-34
- Sebaa A, Marouf A, Kambouche N, Derdour A (2018) Phytochemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of *Ammodaucus leucotrichus* fruit from Algerian Sahara. Orient J Chem 34 (1): 519–525
- Selvaraj N, Bobby Z, Sathiyapriya V (2006) Effect of lipid peroxides and antioxidants on glycation of hemoglobin: an in vitro study on human erythrocytes. Clin Chim Acta 366 (1-2): 190-5
- Shao B, Bayraktutan U (2014) Hyperglycaemia promotes human brain microvascular endothelial cell apoptosis via induction of protein kinase C-βI and prooxidant enzyme NADPH oxidase. Redox Biol 28 (2): 694–701
- Sharififar F, Dehghn-Nudeh G, Mirtajaldini M (2009) Major flavonoids with antioxidant activity from *Teucrium polium* L. Food Chem 112: 885–888
- Sikora FJ, Mc Bride MB (1990) Aluminium complexation by protocatechuic and caffeic acids as determined by UV spectrophotometry. Soil Sci Soc Am J 54: 78-86
- Soliman GA et Abd El Raheim MD (2015) Effet antihyperglycémique, antihyperlipidémique et antioxydant d'*Atriplex farinosa* et d'*Atriplex nummularia* dans le diabète induit par la streptozotocine chez le rat. Bull Env Pharmacol Life Sci 4 (12): 10-18
- Sparg SG, Light ME, Staden J (2004) Biological activities and distribution of plant saponins. J Ethnopharmacol 94 (2-3): 219-243
- Stojkovic D, Smiljkovic M, Ciric A et al (2019) An insight into antidiabetic properties of six medicinal and edible mushrooms: Inhibition of α-amylase and α-glucosidase linked to type 2 diabetes. S Afr J Bot 120: 100–103

- Stookey LL(1970) Ferrozine- A new spectrophotometric reagent for iron. *Anal Chem* 42 (7): 779-781
- Sulaiman SF, Yusoff NAM, Eldeen IM, Seow EM, Sajak AAB, Supriatno OKL (2011) Correlation between total phenolic and mineral content with antioxidant activity of eight Malaysian bananas (*Musa* sp.). *J Food Compos Anal* 24: 1–10
- Summers SA (2006) Ceramides in insulin resistance and lipotoxicity. *Prod Lipid Res* 45: 42-72
- Sun L, Zhang J, Lu X, Zhang L and Zhang Y (2011) Evaluation to the antioxidant activity of total flavonoids extract from persimmon (*Diospyros kaki* L.) leaves. *Food Chem Toxicol* 49: 2689-2696
- Szablewski L (2011) Glucose Homeostasis–Mechanism and Defects In Rigobelo E Diabetes-Damages and Treatments Intech Open Publisher, p 227
- Tabanca N, Demirci B, Ozek T, Kirimer N, Baser KHC, Bedir E, Khan IA and Wedge DE (2006) Gas Chromatographic–Mass Spectrometric Analysis of Essential Oils from *Pimpinella* Species Gathered from Central and Northern Turkey. *J Chromatogr A* 1117 (2): 194-205
- Tanabe H, Pervin M, Goto S, Isemura M, Nakamura M (2017) Beneficial effects of plant polyphenols on obesity. *Obes Control Ther* 4: 1-16
- Taveau C (2014) Rôle de la vasopressine dans les troubles du métabolisme glucidique: possible impact dans le développement du diabète (Doctoral dissertation, Université Pierre et Marie Curie-Paris VI).
- Telli A (2017) Activité anti-oxydante, antibactérienne, antidiabétique des deux espèces spontanées utilisés dans le traitement du diabète dans la région de Ouargla: *Ammodaucus leucotrichus* et *Anvillea radiata*. Thèse de doctorat en biologie Université KASDI Merbah – Ouargla Faculté des sciences de la nature et de la vie Département des sciences biologiques.
- Telli A, Esnault MA, El Hadj Ould, Khelil A (2016) An ethnopharmacological survey of plants used in traditional diabetes treatment in South-Eastern Algeria (Ouargla province). *J Arid Environ* 127: 82–92
- Teshima Y, Takahashi N, Nishio S, Saito S, Kondo H, Fukui A et al (2014) Production of Reactive Oxygen Species in the Diabetic Heart. *Circ J* 78 (2): 300–6
- Thompson KH, Godin DV (1995) Micronutrients and antioxidants in the progression of diabetes. *Nutr Res* 15(9): 1377-1410

- Tirapelli CR, de Andrade CR, Cassano AO, De Souza FA, Ambrosio SR, da Costa FB and de Oliveira AM (2007) Antispasmodic and relaxant effects of the hidroalcoholic extract of *Pimpinella anisum* (Apiaceae) on rat anococcygeus smooth muscle. *J Ethnopharmacol* 110 (1): 23-29
- Toda S (2011) Polyphenol content and antioxidant effects in herb teas. *Chin Med* 2: 29 – 31
- Trease GE, Evans WC (2002) *Pharmacognosy. Phytochemicals*, 15th ed. Edinburgh, New York: WB Saunders, p 246–249, 391–393
- Trémolières F, Cohen R, Schlemmer B (2006) Requiem for Antibiotics. Should We Fear the Disappearance of Antibiotics? *Ther Med* 12: 154-159
- Trinder P (1969) Determination of Glucose in Blood using Glucose Oxidase with an alternative oxygen acceptor. *Ann clin Biochem* 6: 24–27
- Vatier C, Fève B (2010) Place des produits de glycation avancés (AGEs) dans les complications du diabète: Advanced glycation end products (AGEs) and diabetic complications. *MmM* 4 (6): 637-642
- Veerabahu E, Dalmeida D, Karuppasamy R, Veerabahu RM, Ramasamy M (2012) Estimates total phenolic, flavonoid content and in vitro antioxidant activity of root of *Suaeda monaica* Forssk ex Gmel (Chenopodiaceae). *Appl Bot* 53: 11885–11889
- Velasco-Negueruela A, Perez-Alonso MJ, De Paz PP, Pala-Paul J, Sanz J (2006) Analysis by gas chromatography–mass spectrometry of the volatiles from the fruits of *Ammodaucus leucotrichus* subsp. *leucotrichus* and subsp. *nanocarpus* grown in North Africa and the Canary Islands, respectively. *J Chromatogr A* 1108 (2): 273–275
- Vermerris W, Nicholson R (2006) *Phenolic Compound Biochemistry*. Springer Netherlands, p 276
- Vidot BJ, Navarra G, Leone M, Bourdon E, Militello V, Rondeau P (2014) Deciphering metal-induced oxidative damages on glycated albumin structure and function. *Biochim Biophys Acta* 1840: 1712-1724
- Villiot-Danger JC (2011) Diabète et précautions kinésithérapiques: Special attention for physical therapy in the diabetic patient. *Kinesither Rev* 11 (118): 35-40
- Vincent HK, Taylor AG (2006) Biomarkers and potential mechanisms of obesity-induced oxidant stress in humans. *Int J obesity* 30 (3): 400-418
- Viollet B, Guigas B, Garcia NS, Leclerc J, Foretz M, Andreelli F (2012) Cellular and molecular mechanisms of metformin: an overview. *Clin Sci* 122(6): 253-270

- Virally M, Blicklé JF, Girard J, Halimi S, Simon D, Guillausseau PJ (2007) Type 2 diabetes mellitus: epidemiology, pathophysiology, unmet needs and therapeutical perspectives. *Diabetes and metab* 33: 231-44
- Wall ME, Wani MC (1996) Camptothecin and taxol: from discovery to clinic. *J Ethnopharmacol* 51: 239-254
- Wang T, Wang N, Song H, Xi X, Wang J, Hao A, Li T (2011) Preparation of an anhydrous reverse micelle delivery system to enhance oral bioavailability and antidiabetic efficacy of berberine. *Eur J Pharm Sci* 44: 127-135
- Wautier MP, Tessier FJ, Wautier JL (2014) Les produits de glycation avancée: un risque pour la santé humaine. *Ann Pharm Fr* 72 (6): 400- 408
- Wei SD, Zhou HC, Lin YM (2010) Antioxidant activities of extract and fractions from the hypocotyls of the mangrove plant *Kandelia candel*. *Int J Mol Sci* 11: 4080–4093
- Weyer C, Bogardus C, Mott DM, Pratley RE (1999) The natural history of insulin secretory dysfunction and insulin resistance in the pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. *J Clin Invest* 104 (6): 787-794
- Wherrett D, Huot C, Mitchell B, Pacaud D (2013) Le diabète de type 1 chez les enfants et les adolescents. *Can J Diabetes* 37 Supplement 5: S531-S541
- White P (2000) What can general practice learn from complementary medicine? *Br J Gen Pract* 50 (459): 821–3
- Wojdylo A, Oszmianski J, Czemerys R (2007) Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. *Food Chem* 105: 940-949
- World Health Organization. Antimicrobial resistance: global report on surveillance 2014. <http://www.who.int/drugresistance/documents/surveillancereport/en/>
- World Health Organization. Non Communicable Diseases: Key facts. 2019. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/noncommunicable-diseases>
- Yang WS, Jeng CY, Wu TJ et al (2002) Synthetic peroxisome proliferator-activated receptor-gamma agonist, rosiglitazone, increases plasma levels of adiponectin in type 2 diabetic patients. *Diabetes Care* 25: 376-80
- Yki-Jarvinen H (2004) Thiazolidinediones. *N Engl J Med* 351: 1106-18
- Zanotti I, Dall'Asta M, Mena P, Mele L, Bruni R, Ray S, Del Rio D (2015) Atheroprotective effects of (poly)phenols: a focus on cell cholesterol metabolism. *Food Funct* 6 (1): 13-31

- Zenasni L (2014). Etude de Polymorphisme Chimique des Huiles Essentielles de *Thymus satureioides* Coss et d'*Origanum compactum* Benth et du Genre *Nepeta* et Evaluation de leur propriété antibactérienne. Thèse de Doctorat, Biochimie Pharmacologique, Université Mohammed V – AGDAL, Rabat, 169p.
- Zerriouh M (2014) Contribution à l'étude phytochimique et activité antidiabétique de Hammada scoparia (Pomel), « Remth » Thèse de Doctorat en biologie Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen, Algérie.
- Zhang L, Demain AL (2005) Natural Products Drug Discovery and Therapeutic Medicine. New Jersey: Humana Press, p 386
- Zheljazkov VD, Cantrell CL, Astakie T, Jeliaskova E (2013) Distillation time effect on lavender essential oil yield and composition. J Oleo Sci 62 (4): 195–199
- Zhishen J, Mengcheng T, Jianming W (1999) The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. Food Chem 64: 555–559
- Ziani BEC, Rached W, Bachari K, Alves MJ, Calhelha RC, Barros L, Ferreira ICFR (2018) Detailed chemical composition and functional properties of *Ammodaucus leucotrichus* Cross & Dur and *Moringa oleifera* Lamarck. J Funct Foods 53: 237–247
- Ziegler J, Facchini PJ (2008) Alkaloid Biosynthesis: Metabolism and Trafficking. Annu Rev Plant Biol 59: 735 – 769