

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



UNIVERSITE ABOU BEKR BELKAID-TLEMCCEN

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

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

Mémoire

Présenté par :

M^{lle} Benabed Yamina

En vue de l'obtention du

Diplôme de Master

En Biologie

Option biochimie appliquée

Thème

Contribution à la recherche de l'effet d'extrait brut et d'extrait des
flavonoïdes d'*Ammodaucus leucotrichus* sur la captation du
glucose par des coupes fines de tissu adipeux isolées de rat Wistar

Devant le jury composé de :

soutenu le :

Président	M^r DJAZIRI .R	Professeur	Université de Tlemcen
Examineur	M^r AZZI .R	Maitre de conférences	Université de Tlemcen
Encadreur	M^r LAHFA .F	Maitre de conférences	Université de Tlemcen

Année Universitaire : 2016 – 2017

Remerciements

Avant toute chose je remercie Dieu le tout puissant de m'avoir accordé la force et la santé afin de pouvoir réaliser ce travail.

Mes sincères remerciements s'adressent à monsieur Lahfa F., doyen et Maître de conférences au département de Biologie, Université Abou Bekr Belkaïd-Tlemcen, Faculté SNV-STU pour la confiance qu'il a voulu m'accorder en acceptant de diriger ce modeste travail, pour ses orientations et ces encouragements durant la réalisation de ce mémoire. Qu'il trouve ici le témoignage de ma reconnaissance et de mon profond respect.

Je tiens à remercier profondément Madame Abdallaoui F., Doctorante en Biologie pour sa disponibilité et son aide tout au long la partie expérimentale.

Un spécial remerciement à Mr Azzi R., Maître de conférences au département de Biologie, Université Abou Bekr Belkaïd-Tlemcen, Faculté SNV-STU pour son aide pour le sacrifice des animaux, ses précieux conseils et de m'avoir fait l'honneur d'examiner ce travail.

Je tiens à remercier vivement Monsieur Djaziri R, Professeur au département de Biologie, Université Abou Bekr Belkaïd-Tlemcen, Faculté SNV-STU pour avoir accepté de présider le jury.

Je remercie profondément m^{lle} Mazouar D, pour sa participation à la correction du manuscrit.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à :

❖ *mes chers parents*

Pour leurs soutiens tout au long mes études

❖ *mes frères adorés*

❖ *ma sœur*

❖ *et tous mes amis de la promotion de master biochimie
appliquée*

Résumé

Le présent travail a pour objectif l'évaluation de l'effet de l'extrait brut et de l'extrait des flavonoïdes de la partie aérienne d'*Ammodaucus leucotrichus* sur la captation de glucose par des coupes fines de tissu adipeux épépidymal et péri rénal isolé de rat Wistar.

Ces coupes ont été incubées dans deux milieux KRBA4%+glucose 1g/l (état physiologique) et KRBA4%+glucose 3g/l (état hyper glycémique) en présence des différentes concentrations d'extrait brut ou des flavonoïdes (500µg/ml, 200µg/ml et 100µg/ml) ou d'insuline (100µU, 50µU et 10µU) pendant 30, 60 et 90 min.

Après la réalisation d'un dosage enzymatique du glucose restant dans les milieux d'incubation les résultats révèlent qu'à t=60 min la dose de 500µg/ml stimule une captation d'environ 22% pour l'extrait brut et 23% pour l'extrait des flavonoïdes dans le cas de milieu d'incubation glucosé à 1g/l, dans le cas de milieu d'incubation glucosé à 3g/l cette stimulation est de l'ordre de 21% pour l'extrait brut et 23% pour l'extrait des flavonoïdes.

En comparant ces résultats nous observons que l'extrait des flavonoïdes a un effet similaire à l'extrait brut mais l'effet de ces deux derniers reste inférieur à celui de l'insuline en effet à t=60min cette dernière stimule une captation de glucose d'environ 39% dans le milieu d'incubation à 1g/l et 32% dans le milieu d'incubation à 3g/l.

Il semblerait que nos extraits auraient un effet insuline like sur la captation de glucose par le tissu adipeux dont le principal responsable de cet effet serait les flavonoïdes.

Mots clés : *Ammodaucus leucotrichus*, extrait brut, extrait des flavonoïdes, coupes fines de tissu adipeux, insuline, captation de glucose.

Abstract

The objective of this study is to evaluate the effect of the crude extract and the flavonoid extract of the aerial part of *Ammodaucus leucotrichus* on the glucose uptake by thin sections of epididymal and perirenal adipose tissue isolated from Wistar rat.

These sections were incubated in two mediums KRBA4% + 1g/l glucose (physiological state) and KRBA4% + 3g/l glucose (hyperglycaemic state) in the presence of different concentrations of crude extract or flavonoids extract (500 µg / ml, 200 µg /ml and 100µg /ml) or insulin (100µU/ ml, 50µU/ml and 10µU/ml) for 30, 60 and 90 minutes.

After an enzymatic determination of the glucose left in the incubation media, the results show that the dose of 500 µg / ml stimulates a capture of approximately 22% for the crude extract and 23% for the extract of the flavonoids in the case of glucose incubation medium at 1 g/l, in the case of glucose incubation medium at 3 g/l, this stimulation is of the order of 21% for the crude extract and 23% for the extract of the flavonoids.

Comparing these results we observe that the extract of the flavonoids has a similar effect to the crude extract but the effect of both of them is lower than that of the insulin which stimulates a glucose uptake of 39 % in the glucose incubation medium at 1g/ l and 32% in the incubation medium at 3g/l.

It seems that our extracts would have an insulin like effect on the glucose uptake by adipose tissue which the main responsible for this effect would be flavonoids.

Key words: *Ammodaucus leucotrichus*, crude extract, flavonoid extract, thin sections of adipose tissue, insulin, glucose uptake.

الملخص

إن الدراسة الحالية تهدف الى تقييم مفعول المستخلص الخام ومستخلص الفلافونويدات للجزء العلوي ل *Ammodaucus leucotrichus* على امتصاص الجلوكوز من طرف اقسام رقيقة من الانسجة الدهنية المعزولة من الفأران ويستار.

هذه الاقسام حضنت في وسطين 4%KRBA+ جلوكوز 1غ/ل (الحالة الفيزيولوجية) و 4%KRBA+ جلوكوز 3غ/ل (حالة فرط الجلوكوز) بوجود مختلف ترا كيز المستخلص الخام ومستخلص الفلافونويدات (500 ميكرو غرام/مل و 200 ميكرو غرام/مل و 100 ميكرو غرام/مل) او الأنسولين (100ميكرو وحدة و 50 ميكرو وحدة و 10 ميكرو وحدة) مدة 30, 60 و 90 دقيقة.

بعد تحقيق فحص انزيمي للجلوكوز المتبقي في الأوساط اوضحت النتائج ان بعد 60 دقيقة جرعة 500 ميكرو غرام/مل تحفز امتصاص حوالي 22 %بالنسبة للمستخلص الخام و 23 %بالنسبة لمستخلص الفلافونويدات.

بمقارنة هذه النتائج نلاحظ ان مستخلص الفلافونويدات عنده تأثير مماثل للمستخلص الخام لكن تأثير هذين الأخيرين يبقى اقل من الأنسولين، حيث أن هذه الاخيرة بعد 60 دقيقة تحفز امتصاص الجلوكوز حوالي 39 % في وسط احتضان 1غ/ل و 32 % في وسط احتضان 3غ/ل.

أظهرت النتائج أن للمستخلصين تأثير مماثل على امتصاص الجلوكوز من طرف النسيج الدهني للأنسولين حيث المسؤول الأساسي لهذا التأثير هو وجود الفلافونويدات.

الكلمات المفتاحية: المستخلص الخام، مستخلص الفلافونويدات اقسام رقيقة من النسيج الدهني، امتصاص الجلوكوز.

Liste des figures

FIGURE01 : Molécules de signalisation impliquées dans la stimulation du transport du glucose par l'insuline dans le tissu adipeux.....	06
FIGURE02 : Squelette de base des flavonoïdes.....	13
FIGURE 03 : Principales classes des flavonoïdes	14
FIGURE 04 : <i>Ammodaucus Leucotrichus</i>	15
FIGURE 05 : Montage et dispositif de l'extraction liquide-liquide.....	10
FIGURE 06: schéma explicatif de la préparation des extraits brut et acétate d'éthyle.....	,21
FIGURE 07 : Schéma représentant les étapes de la recherche de l'activité antidiabétique par la mesure de la captation du glucose par le tissu adipeux.....	31
FIGURE 08 : concentration du glucose restant dans le milieu d'incubation avec 1g/l du glucose en absence et en présence des coupes fines de tissu adipeux pendant 30, 60 et 90 min.....	39
FIGURE 09: Concentration du glucose restant dans le milieu d'incubation avec 3g/l du glucose en absence et en présence des coupes fines de tissu adipeux pendant 30,60 et90 min.....	39
FIGURE 10 : Concentration du glucose restant dans le milieu d'incubation avec 1g/l du glucose en présence de différentes concentrations d'insuline pendant 30 minutes.....	40
FIGURE 11 : Concentration du glucose restant dans le milieu d'incubation avec 1g/l du glucose en présence de différentes concentrations d'insuline pendant 60 minutes.....	41
FIGURE 12: Concentration du glucose restant dans le milieu d'incubation avec 1g/l du glucose en présence de différentes concentrations d'insuline pendant 90minutes.....	42
FIGURE13: Concentration du glucose restant dans le milieu d'incubation avec 3g/l du glucose en présence de différentes concentrations d'insuline pendant 30minutes.....	43
FIGURE14: Concentration du glucose restant dans le milieu d'incubation avec 3g/l du glucose en présence de différentes concentrations d'insuline pendant 60minutes.....	43

FIGURE 15: Concentration du glucose restant dans le milieu d'incubation avec 3g/l du glucose en présence de différentes concentrations d'insuline pendant 90minutes.....	44
FIGURE 16: Concentration du glucose restant dans le milieu d'incubation KRBA4%+1g/l en présence de différentes concentrations d'extrait brut pendant 30min.....	45
FIGURE 17: Concentration du glucose restant dans le milieu d'incubation avec 1g/l du glucose en présence de différentes concentrations d'extraits brute pendant 60 minutes.....	46
FIGURE 18: Concentration du glucose restant dans le milieu d'incubation avec 1g/l du glucose en présence de différentes concentrations d'extraits brute pendant 90 minutes.....	46
FIGURE 19 : Concentration du glucose restant dans le milieu d'incubation avec 3g/l du glucose en présence de différentes concentrations d'extrait brut pendant 30 minutes.....	47
FIGURE 20: Concentration du glucose restant dans le milieu d'incubation avec 3g/l du glucose en présence de différentes concentrations d'extraits brute pendant 60 minutes.....	48
FIGURE 21: Concentration du glucose restant dans le milieu d'incubation avec 3g/l du glucose en présence de différentes concentrations d'extrait brut pendant 90 minutes.....	49
FIGURE 22: Concentration du glucose restant dans le milieu d'incubation avec 1g/l du glucose en présence de différentes concentrations d'extrait des flavonoïdes pendant 30minutes.....	50
FIGURE 23: Concentration du glucose restant dans le milieu d'incubation avec 1g/l du glucose en présence de différentes concentrations d'extraits de flavonoïdes pendant 60 minutes.....	50
FIGURE 24: Concentration du glucose restant dans le milieu d'incubation avec 1g/l du glucose en présence de différentes concentrations d'extraits de flavonoïdes pendant 90 minutes.....	51
FIGURE 25: Concentration du glucose restant dans le milieu d'incubation avec 3g/l du glucose en présence de différentes concentrations d'extraits flavonoïque pendant 30 minutes.....	52
FIGURE 26: Concentration du glucose restant dans le milieu d'incubation avec 3g/l du glucose en présence de différentes concentrations d'extraits flavonoïque pendant 60 minutes.....	53
FIGURE 27: Concentration du glucose restant dans le milieu d'incubation avec 3g/l du glucose en présence de différentes concentrations d'extraits des flavonoïdes pendant 90 minutes.....	53

FIGURE 28: Comparaison entre l'effet de l'extrait brut, l'extrait des flavonoïdes, et l'effet de l'insuline dans le milieu d'incubation glucosé à 1 g/l à 30, 60, et 90 minutes.....55

FIGURE 29: Comparaison entre l'effet de l'extrait brut, l'extrait des flavonoïdes, et l'effet de l'insuline dans le milieu d'incubation glucosé à 3 g/l à 30, 60, et 90 minutes.....56

Liste des tableaux

Tableau 01 : Modes d'actions de quelques plantes antidiabétiques.....	11
Tableau 2 : Préparation du KRB.....	25
Tableau 3 : Milieux d'incubation contenant le KRBA4% Glucosé à 1g et 3g, les différentes concentrations de l'extrait brut et d'extrait des flavonoïdes et les coupes fines de tissu adipeux.....	27
Tableau 4 : Milieux d'incubation contenant les différentes concentrations de l'insuline.....	28
Tableau 5 : Les milieux témoins utilisés.....	28
Tableau 6 : Dosage enzymatique du glucose.....	30
Tableau 07 : Analyses chromatographiques (CCM) de l'extrait brut et l'extrait des flavonoïdes d' <i>Ammodaucus leucotrichus</i>	35
Tableau 08: Concentration du glucose restant dans les milieux d'incubation glucosés à 1g/l et 3g/l en présence et en absence des coupes fines de tissu adipeux	38
Tableau 09 : Concentrations de glucose restant dans le milieu d'incubation KRBA4%+ glucosé à 1g/l en présence des différentes concentrations d'insuline et des coupes fines de tissu adipeux pendant 30, 60 et 90min.....	40
Tableau 10 : Concentrations de glucose restant dans le milieu d'incubation KRBA4% glucosé à 3g/l en présence de différentes concentrations d'insuline et des coupes fines de tissu adipeux pendant 30, 60 et 90min.....	43
Tableau 11 : Concentrations de glucose restant dans le milieu d'incubation KRBA4%+ glucose 1g/l pendant 30, 60 et 90min en présence de différentes concentrations d'extrait brut et des coupes fines de tissu adipeux.....	47
Tableau 12 : Concentrations de glucose restant dans le milieu d'incubation KRBA4%+ glucose 3g/l pendant 30, 60 et 90min en présence de différentes concentrations d'extrait brut et des coupes fines de tissu adipeux.....	49
Tableau 13 : Concentrations de glucose restant dans le milieu d'incubation KRBA4%+ glucose 1g/l pendant 30, 60 et 90min en présence de différentes concentrations d'extrait des flavonoïdes et des coupes fines de tissu adipeux.....	51
Tableau 14 : Concentrations de glucose restant dans dans le milieu d'incubation KRBA4%+ glucose 3g/l pendant 30, 60 et 90min en présence de différentes concentrations d'extrait des flavonoïdes et des coupes fines de tissu adipeux.....	53

Liste des abréviations

ADO : Antidiabétiques oraux

CCM: Chromatographie sur couche mince

DID : Diabète insulino-dépendant

DNID : Non insulino-dépendant

DPP-4 : Dipeptidyl peptidase-4

EB : Extrait brut

EAc : Extrait Acétate d'éthyle

eNOS : endothéliale nitric oxyde synthase

FD : Facteur de dilution

FID: Fédération Internationale des diabétiques

GIP: Gastric inhibitory polypeptide

GLP1: Glucagon like peptide

GLUT : Transporteur de glucose

GOD : Glucose-oxydase

IRS: Insulin receptor substrate

LDL: Low density lipoprotein

MAPK: Mitogen-activated protein kinases

OMS: Organisation Mondiale de la Santé

PDS : Polyneuropathie distale à prédominance sensitive

PI-3K: Phosphatidylinositol 3-kinase

PPAR γ : Peroxisome proliferator activated receptor

Rf: Rapport frontal

Rpm : rotation par minute

SNAR : Soluble N-éthylmaleimide-sensitive factor Attachment protein Receptor

UCP1 : Uncoupling protein 1

UV : Ultraviolet

Sommaire

Chapitre I : Diabète sucré et captation du glucose par le tissu adipeux

Introduction	1
1. Définition du diabète sucré.....	3
2. Classification :.....	3
2.1. Diabète de type1.....	3
2.2. Diabète de type2.....	3
2.3. Diabète gestationnel.....	3
3. l'insuline.....	3
3.1 Mécanisme d'action de l'insuline.....	4
4. Tissu adipeux.....	4
4.1. Tissu adipeux blanc.....	5
4.2. Tissu adipeux brun.....	6
5. Les complications du diabète.....	6
5.1 Les complications aiguës.....	6
5.2 Les complications à long terme.....	6
5.2.2. La micro angiopathie diabétique.....	7
5.2.3. La macro angiopathie diabétique.....	7
6. Les traitements actuels du diabète.....	8
6.1. Traitement du diabète de type1.....	8
6.2. Traitements du diabète de type2.....	8
6.2.1. Les stimulateurs de la sécrétion de l'insuline.....	8
6.2.2 Les inhibiteurs des α glycosidases et de la lipase pancréatique.....	8
6.2.3 Médicaments qui augmentent la sensibilité à l'insuline.....	9

Chapitre II : Phytothérapie

1. Phytothérapie.....	11
2. Plantes antidiabétiques.....	11
3. Principes actifs.....	12
3.1. Les flavonoïdes.....	13
3.1. Définition.....	13
3.1. Structure.....	13
4. Plante étudiée.....	14

4.1. Taxonomie.....	14
4.2. Appellation.....	15
4.3. Description morphologique.....	15
4.4. Répartition géographique.....	16
4.5. Utilisation thérapeutique et traditionnelle.....	16
4.6. Etudes antérieures.....	16

Chapitre III : Partie expérimentale

Matériel et méthodes

I. Analyse phytochimique

1. Matériel végétal.....	19
2. Préparation de l'extrait brut et l'extrait des flavonoïdes	19
3. Chromatographie sur couche mince.....	22

II. partie biologique

1. Animaux.....	24
2. Conditions d'élevage.....	24
3. Préparation du milieu KRB.....	25
4. Préparation du sérum physiologique.....	25
5. Isolements du tissu adipeux.....	25
6. viabilité et numération cellulaire.....	26
7. Incubation	26
8. Prélèvement des puits.....	29
9. Dosage enzymatique du glucose.....	29

III. Analyse statistique

1. La moyenne.....	32
2. L'erreur standard de la moyenne (SME).....	32
3. Test de Student.....	32

Résultats et discussion

I- Analyse phytochimique

1. Analyse chromatographique sur couche mince.....	34
--	----

II- Analyse biologique

1. Viabilité et numération cellulaire.....	38
--	----

2. Captation basale du glucose par les coupes fines de tissu adipeux.....	38
---	----

3. Effet d'insuline sur la captation du glucose par les coupes fines de tissu adipeux.....	40
--	----

4. Effet de l'extrait brut sur la captation du glucose par les coupes fines de tissu adipeux.....	45
---	----

5. Effet de l'extrait des flavonoïdes sur la captation du glucose par les coupes fines de tissu adipeux.....	50
--	----

6. Comparaison entre l'effet de l'extrait brut, l'extrait des flavonoïdes, et l'insuline.....	55
---	----

Discussion	58
-------------------------	----

Conclusion	62
-------------------------	----

Références bibliographiques	63
--	----

Synthèse bibliographique

Introduction :

Le diabète est une affection métabolique caractérisée par la présence d'une hyperglycémie chronique résultant d'une déficience de sécrétion d'insuline, d'anomalie de l'action de l'insuline sur les tissus cibles ou l'association des deux (**Simon et al., 2009**).

Une personne est déclarée diabétique quand la glycémie à jeun mesurée à deux reprises est supérieure ou égale à 1,26 g/l, ou dont la glycémie est à 2 g /l deux heures après la prise de 75 g de glucose (épreuve de l'hyperglycémie provoquée par voie orale) (**Marsaudon, 2011**).

Les personnes atteintes de cette maladie peuvent développer différents **signes et symptômes dont les plus communs sont** : polyurie, polydipsie, amaigrissement, polyphagie, troubles de vision, fatigue extrême et fourmillement, douleur et engourdissement des mains/pieds (**American diabète association, 2015**).

Le diabète est devenu un problème de santé majeur qui touche une large population qui non dépistée et non traitée entraîne des complications redoutables pour la qualité de vie des personnes atteintes (**Prudhomme et Brun., 2008**). En effet le diabète est une cause majeure de cécité, d'insuffisance rénale, d'accidents cardiaques, d'accidents vasculaires cérébraux et d'amputation des membres inférieurs (**OMS, 2016**).

A l'échelle mondiale l'OMS estime que 422 millions d'adultes vivaient avec le diabète en 2014 comparé à 108 millions en 1980.

La prévalence du diabète en Algérie est de 10.5% (**OMS, 2016**), et cette pathologie vient en 2^{ème} position du classement des maladies chroniques, après l'hypertension artérielle (HTA) (**Association des médecins d'Oran pour la prévention, 2012**).

Afin de traiter cette maladie plusieurs médicaments ont été développés qui agissent par des mécanismes différents mais visent tous à équilibrer la glycémie et réduire le risque d'apparition des complications à long terme.

Or ces médicaments présentent de nombreux effets secondaires en plus de leurs coûts élevés et leur non disponibilité pour les populations qui accèdent difficilement aux traitements modernes, les malades s'orientent de plus en plus vers la médecine traditionnelle qui demeure le recours principal pour une grande majorité des populations pour résoudre leurs problèmes de santé (**Benkhigne et al., 2014**). Dernièrement l'OMS a encouragé des études

ethnobotaniques et des recherches pharmaceutiques pour améliorer des médicaments à base de plantes médicinales (OMS, 2016).

L'objectif de notre travail consiste en l'évaluation de l'effet de l'extrait brut et de l'extrait des flavonoïdes d'une plante qui pousse au sud de l'Algérie (Bechar) *Ammodaucus leucotrichus*, sur la captation du glucose par sur le tissu adipeux isolées de rat Wistar.

- Dans le premier chapitre nous donnerons des généralités sur le diabète et sur la captation du glucose par le tissu adipeux.

-Le second chapitre sera consacré à la présentation botanique de notre plante, les études antérieures qui ont été faites sur cette dernière.

- le troisième traitera la partie expérimentale avec ses deux parties phytochimique et biologique ainsi qu'à l'interprétation et la discussion des résultats.

Chapitre I :
Généralité sur le diabète sucré
et
la captation du glucose par le
tissu adipeux

1. Définition du diabète sucré :

Le diabète est une maladie chronique qui désigne communément un excès de sucre dans le sang et dans les urines. Il provient d'un déficit de production d'insuline ou d'une inefficacité de cette dernière, faisant obstacle à la pénétration cellulaire du glucose et à son stockage dans l'organisme (**Prudhomme et Brun., 2008**).

2. Classification :

2.1. Diabète de type 1 : Diabète Insulino-dépendant DID : désigne toute hyperglycémie déclenchée par la destruction auto-immune des cellules bêta des îlots de Langerhans du pancréas provoquant dès lors une carence relative ou absolue en insuline (**Marsaudon, 2011**).

2.2. Diabète de type 2 : Diabète Non Insulino-dépendant : DNID caractérisé par une résistance des tissus à l'action de l'insuline (**Marsaudon, 2011**). Il représente 90% des diabètes rencontrés dans le monde (**OMS, 2016**).

2.3. Diabète gestationnel : est une forme de diabète qui se traduit par une glycémie élevée pendant la grossesse, il est associé à des complications à la fois pour la mère et le bébé. Le diabète gestationnel disparaît généralement après la grossesse mais les femmes qui en ont été atteintes ainsi que leurs enfants sont exposés à un risque accru de développer un diabète de type 2 plus tard au cours de leur vie (**International diabetes federation, 2015**).

Il existe d'autres types de diabètes mais ils sont soit trop rares, soit trop mal définis pour que l'on puisse faire l'épidémiologie dites diabètes secondaires (**Fontbonne et Simon., 2004**). Comme par exemple le diabète <MODY> qui est un diabète de type 2 survenant chez l'enfant (**Marsaudon, 2011**).

3. L'insuline :

L'insuline est une hormone fabriquée naturellement par l'organisme et indispensable au fonctionnement des cellules périphériques, produite et sécrétée par le pancréas au niveau des cellules β des îlots de Langerhans, présente en permanence dans le sang et sécrétée 24h /24 à petites doses.

La sécrétion d'insuline augmente après consommation de glucides afin de maintenir le taux de sucre sanguin (glycémie) autour de 1g/l dans le sang. Elle est donc la seule hormone qui diminue la glycémie (hormone dite hypoglycémisante). Elle inhibe la production hépatique de

glucose permettant ainsi le captage du glucose par les muscles, le foie, et le tissu adipeux (**Prudhomme et Brun., 2008**).

3.1 Mécanisme d'action de l'insuline :

Pour agir l'insuline se lie à des récepteurs spécifiques qui sont exprimés à la surface de la plus part des cellules mais sont présents en plus grande quantité dans le foie, muscle squelettique et le tissu adipeux, ce récepteur est une protéine tetramérique formée de deux sous unités α extracellulaires et de deux sous unités β transmembranaires contenant le domaine tyrosine kinase.

La liaison de l'insuline induit des modifications conformationnelles du récepteur, qui permettra l'accès au site catalytique et la phosphorylation des résidus tyrosine des sous unités β (**Burnol, 2009**) nécessaire au déclenchement d'une cascade de réactions enzymatiques dont la première est IRS-1 puis RAS et l'activations des kinases phospho-inositide permettant l'ouverture des transporteurs de glucose les GLUT (*glucose transporters*) assurant la diffusion facilitée de ce dernier (**Marsaudon, 2011**).

Parmi les différentes isoformes qui constituent la famille des GLUT, GLUT4 a la particularité d'être exprimée majoritairement, et presque exclusivement, dans les tissus périphériques insulino-sensibles musculaires et adipeux (**Bastard, 2004**).

Notre travail sera consacré sur le tissu adipeux.

4. Le tissu adipeux:

Le tissu adipeux est un tissu conjonctif aréolaire (arrangement lâche de ses fibres) surtout constitué de fibroblastes, de macrophages, de cellules adipeuses et de mastocytes (**Marieb, 1999**).

Quand il est en excès, il s'accompagne de surpoids, voire d'obésité, dont la fréquence augmente dans le monde. Il est impliqué dans les maladies cardio-vasculaires et métaboliques, notamment le diabète. Le tissu adipeux exerce une double fonction qui le place au cœur de l'homéostasie énergétique chez les mammifères. D'une part, c'est le seul tissu capable de stocker les réserves de l'organisme sous forme de triglycérides dans des cellules hautement spécialisées, les adipocytes. D'autre part secrète des molécules biologiquement actives, collectivement appelées " adipokines " et d'autres hormones dont les principales sont : la leptine, l'adiponectine (protéine la plus produite), l'angiotensinogène, l'interleukine-6 (IL-6) et l'inhibiteur de l'activation du plasminogène (**Ritchie, 2004**).

Il existe deux types de tissu adipeux : le tissu adipeux blanc et le tissu adipeux brun, dont les rôles métaboliques sont distincts :

4.1. Tissu adipeux blanc :

Les adipocytes de la graisse blanche sont des cellules sphériques, volumineuses d'un diamètre de 100 micromètre ou plus (150 voire 200), Leur cytoplasme renferme une volumineuse vacuole lipidique unique (la cellule est dite uniloculaires) entourée par une mince couche cytoplasmique, le noyau refoulé en périphérie de la cellule contre la membrane plasmique.

Ce tissu représente l'une des plus importantes réserves énergétiques de l'organisme (environ 95% des triglycérides stockés dans l'organisme).

L'activité métabolique de cette adipocyte comporte 3 étapes :

A/-la synthèse des lipides à partir de différents substrats (triglycérides d'origine alimentaire et glucose) ou lipogenèse est stimulée par l'insuline.

-GLUT4 : Lors d'une stimulation par l'insuline, le nombre de transporteurs de glucose augmente de manière importante via un processus de translocation des protéines de transport GLUT4 contenues dans les vésicules intracellulaires vers la surface membranaire (**Zierath et al., 2003**).

Après la liaison de l'insuline à la sous unité α du récepteur, la sous unité β acquiert une activité tyrosine kinase lui permettant de phosphoryler les protéines IRS-1 et 2 sur leurs résidus tyrosines interagissant avec la phosphatidylinositol 3 kinase (PI 3 kinase) qui initie la translocation des GLUT4. En réponse à ce signalé insuliniqne les protéines SNARE associées aux vésicules contenant les GLUT4 permettent l'adressage et la fusion de ces vésicules à la membrane cible (**Andelli et Girard., 2009**).

B/-le stockage des lipides sous forme de triglycérides dans la vacuole centrale de l'adipocyte.

C/-leur libération sous forme d'acides gras non estérifiés ou lipolyse, est stimulée par les catécholamines qui seront utilisés par les autres cellules de l'organisme à des fins énergétiques.

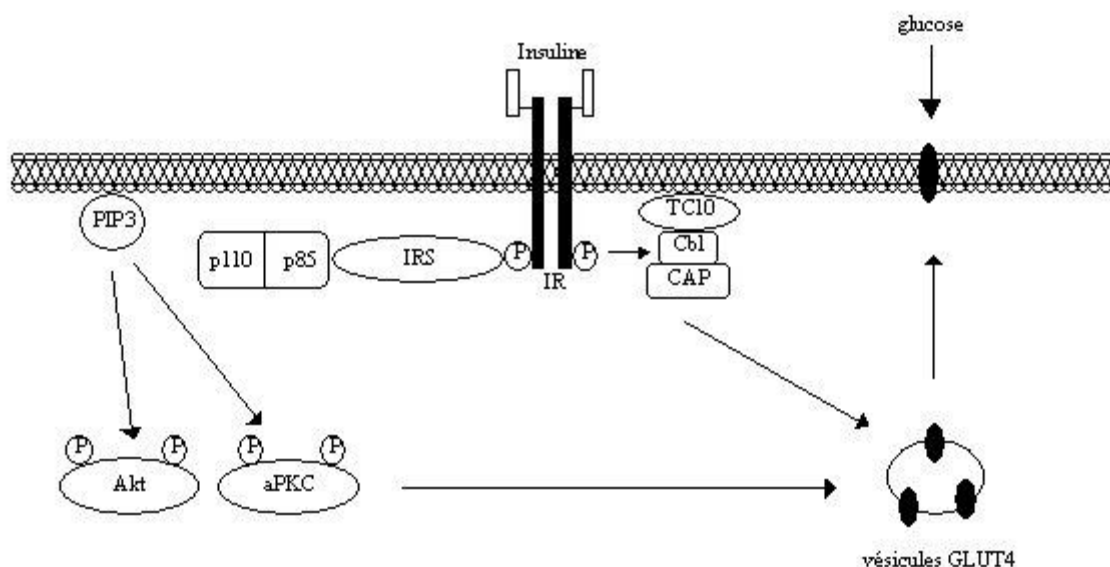


Figure 01: Molécules de signalisation impliquées dans la stimulation du transport du glucose par l'insuline dans le tissu adipeux.

Ces dernières années plusieurs recherches ont été focalisées sur ce tissu comme par exemple les expériences réalisées chez les souris obèses et insulino-résistantes et ont révélé que l'apeline augmente significativement l'utilisation de glucose par le tissu adipeux blanc et le muscle squelettique, il s'agit du même rôle que l'insuline mais une voie de signalisation totalement différente. Les chercheurs ont pu mettre en évidence que l'apeline stimule le transport de glucose en phosphorylant la NOsynthase endothéliale (eNOS) mais aussi l'AMP-activated protéine kinase (AMPK) dans le muscle (**Dray et al., 2008**).

Une enzyme appelée la 11- β -hydroxystéroïde déshydrogénase de type 1 (11HSD1) intervient dans la transformation de la cortisone inactive en cortisol actif, elle est responsable d'un hypercorticisme purement local, dans le tissu adipeux et/ou dans le foie. L'inhibition de cet enzyme est impliqué dans la pathogénie de l'obésité abdominale, du syndrome métabolique et du diabète de type 2 et présente une cible pharmacologique potentielle et une perspective thérapeutique innovante, en effet les expériences réalisées chez l'animal et chez l'homme ont montrés une diminution de l'insulino-résistance et une amélioration des profils glycémiques et lipidiques. Le développement d'inhibiteurs de la 11HSD1 est toujours en cours pour obtenir

des molécules appelées peut-être à devenir une nouvelle classe d'antidiabétiques oraux (**Iovino et al., 2010**).

4.2 Le tissu adipeux brun :

Contrairement aux adipocytes blancs, les adipocytes bruns ont un noyau central et un cytoplasme rempli de nombreuses petites vacuoles lipidiques (la cellule est dite multiloculaire) et des mitochondries.

Il existe au cours de la vie fœtale et chez le nourrisson puis disparaît presque entièrement chez l'adulte (**Grignon, 2002**).

Les enzymes de la phosphorylation sont absentes dans les mitochondries des adipocytes bruns de ce fait au lieu d'être couplée à la phosphorylation oxydative, l'énergie libérée par l'oxydation mitochondriale des acides gras a la capacité de se convertir en chaleur. La protéine mitochondriale responsable de ce découplage est la thermogénine ou UCP1 (UnCoupling protein 1) (**Poirier et al., 2006**). Les chercheurs voient dans l'activation de ce tissu brun une piste pour réguler le métabolisme du glucose, ils ont testé le métabolisme d'un groupe d'hommes exposés au froid : 7 avaient encore du tissu adipeux brun contre 5 qui n'en avaient pas. Les dépenses énergétiques et le métabolisme des sucres ont alors été mesurés sur les membres du groupe en exposition à une température normale et au froid, lors de ces expériences, on s'aperçoit que les participants avec graisse brune brûlent plus d'énergie au froid, ce qui se traduit par une meilleure régulation du métabolisme des sucres et une meilleure sensibilité à l'insuline. Il reste encore à trouver une molécule ou un protocole qui augmenterait la proportion de tissu adipeux brun, ouvrant ainsi la perspective d'une nouvelle thérapie (**Chondronikola et al., 2014**).

5. Les complications du diabète :

Il existe deux types de complications aiguës et d'autres à long terme:

5.1. Les complications aiguës : Les complications métaboliques aiguës du diabète sont présentées par : **des accidents hypoglycémiques** : soit en raison d'un surdosage accidentel ou volontaire en insuline; soit d'une insuffisance d'apport glucidique ou d'un défaut de contre régulation hormonale ; et trois **complications hyperglycémiques** :

-Une acidocétose diabétique : 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.

- **Une hyperglycémie hyperosmolaire** : anciennement coma hyperosmolaire qui se définit par une hyperglycémie très élevée, et une déshydratation importante.

- **Et une acidose lactique** : due à une accumulation d'acide lactique par augmentation de sa production ou diminution de son utilisation (Maynaud-Charpentier, 2001 ; Orban et Ichai., 2008 ; Marsaudon, 2011 ; Monnier, 2014).

5.2. Les complications à long terme :

5.2.1. La microangiopathie diabétique: ensemble de conséquences de l'altération fonctionnelle et structurale de la microcirculation (au niveau des petits vaisseaux).

-**La rétinopathie** : Lorsque la glycémie reste élevée elle provoque des lésions capillaires rétiniens aboutissant à l'épaississement de la rétine au niveau du macula (l'œdème maculaire), ou le passage des lipides qui se déposent forme des exsudats et si la paroi des capillaires continue à s'épaissir elle aboutit à l'occlusion de ces derniers qui provoque une hémorragie intravitréenne (Monnier, 2014).

-**La néphropathie** : Les reins sont constitués d'une multitude de petits vaisseaux sanguins qui jouent un rôle dans l'élimination des déchets du sang. Le diabète provoque une détérioration des reins caractérisée par une hyper filtration glomérulaire et une augmentation de la taille des deux reins.

-**La neuropathie**: La forme clinique la plus fréquente est la polyneuropathie distale symétrique à prédominance sensitive (PDS) Le glucose pénètre dans le neurone périphérique et dans les cellules endothéliales d'un facteur 4 au cours de l'hyperglycémie chronique ; La voie de la glycolyse est alors saturée. D'autres voies métaboliques habituellement peu ou pas actives sont mises en jeu (voie des polyols, voie des hexosamines et voie de la protéine kinase C...) responsables d'intoxité nerveuse et vasculaire par différents mécanismes (stress oxydatif, inflammation, hyperosmolarité) (Hartemann et al.,2015). Cette complication se manifeste par une paresthésie, des troubles sensitifs, d'impression de pied mort, des crampes... (Monnier, 2014).

5.2.2. La macroangiopathie diabétique : le diabète peut altérer aussi les gros vaisseaux sanguins, est due à la sclérose des vaisseaux (athérosclérose) secondaire à l'accumulation de

corps gras (essentiellement LDL) au niveau de l'intima et la média (**Lubertzki et al., 2000**). Ce dépôt entraîne donc un rétrécissement des artères.

Les artères les plus touchées sont les artères du cœur la "coronaropathie", des jambes le risque est l'artérite des membres inférieurs, pouvant aboutir à l'amputation, et du cou avec le risque d'accident vasculaire cérébral. Ces lésions ne sont pas spécifiques de la maladie diabétique, mais surviennent plutôt et avec une fréquence accrue chez les patients en hyperglycémie chronique (**Diabète HEGP, 2015**).

Pour éviter ou au moins retarder ces complications, de nombreux traitements sont développés afin d'améliorer l'équilibre glycémique.

6. Les traitements actuels du diabète :

6.1. Traitement du diabète de type 1 : le traitement habituel consiste à l'apport d'insuline administrée avec des injections quotidiennes à l'aide de seringues, de stylos ou de manière continue à l'aide d'une pompe à insuline.

6.2. Traitement du diabète de type 2 :

En plus du régime alimentaire et la pratique d'activités physiques (marche, natation...) il ya l'administration de médicaments antidiabétiques oraux (ADO) et/ou injectables.

Des injections d'insuline seront proposées en complément lors de la carence en insuline sera trop importante.

6.2.1. Les stimulateurs de la sécrétion de l'insuline :

-les sulfamides hypoglycémiantes : agissent principalement en stimulant la sécrétion d'insuline par les cellules β des îlots de Langerhans en se liant sur un récepteur sur la membrane de ces cellules, ils régulent la sécrétion d'insuline en fermant les canaux potassiques ce qui entraîne une dépolarisation de la membrane et l'entrée du calcium, l'augmentation de concentration intracellulaire de calcium stimule la libération d'insuline par exocytose.

-les glinides : le répaglidine (Novonorm®) et le Natéglinide sont classés dans la catégorie des régulateurs de la glycémie postprandiale (**Marsaudon, 2011**). Ils ont le même mécanisme

d'action que les sulfamides hypoglycémiantes mais leur durée d'action est brève (**Hennen, 2001**).

-Les incrétines :

Le GLP-1 (glucagon-like peptide) et le GIP (gastric inhibitory polypeptide), sont des hormones gastro-intestinales stimulant la sécrétion d'insuline lorsque la glycémie est élevée (glycémie postprandiale), ces hormones sont produites par les cellules K du duodénum pour le GIP et les cellules L de l'iléon et du côlon pour le GLP1 et ont une demi vie extrêmement courte en raison d'une dégradation rapide par la DPP-4. Chez les personnes atteintes du diabète de type 2 le GIP n'agit plus sur la sécrétion de l'insuline (**Quilliot, 2011**). Cependant des molécules synthétisées chimiquement ont été développées :

-Les inhibiteurs de la DPP4 ralentissent la dégradation du GLP1 par cette enzyme (**Doucet et al., 2011**).

-Les analogues du GLP1 ont des effets pharmacologiques similaires mais ayant une période d'action plus longue et une résistance à la dégradation par la DPP-4 (**El-Ouaghli et Nauck., 2004**).

6.2.2. Les inhibiteurs des α glycosidases et de la lipase pancréatique:

-**L'acarbose** : ce médicament bloque l'action d'une enzyme de l'intestin grêle que l'on appelle α glucosidase dont la fonction est d'hydrolyser les glucides alimentaires pour leur permettre de passer dans le sang sous forme de monosaccharides (**Marsaudon, 2011**).

-**Les inhibiteurs de la lipase pancréatique** : sont efficaces chez les patients obèses, l'amélioration de la cholestérolémie est significative et la perte de poids modérée est suffisante pour améliorer la glycémie. Les effets secondaires sont proches de ceux générés par l'acarbose (**Hennen, 2001**).

6.2.3. Médicaments qui augmentent la sensibilité à l'insuline :

- **les glitazones : ou thiazolidinediones**, améliorent la captation musculaire du glucose et la pénétration des triglycérides et des acides gras libres dans les cellules graisseuses. Leur site

d'action sur les cellules est un récepteur appelé <PPRA gama> (peroxisome proliferator-activated récepteur), lorsque les glitazones stimulent ces récepteurs , elles provoquent la destruction des grosses cellules graisseuses qui produisaient trop d'acides gras libres permettant une réduction du taux de triglycérides sanguin et une diminution indirecte de l'insulinorésistance.

-Les biguanides : représentés par la metformine, agit essentiellement sur le foie en diminuant la production hépatique du glucose en inhibant la néoglucogenèse favorisant ainsi son utilisation par le muscle.

-Les médicaments cités ci-dessus présentent plusieurs effets secondaires comme par exemple l'acarbose qui provoque des intolérances gastro-intestinales avec selles liquides voire diarrhée et des douleurs abdominales, due à l'augmentation des processus de fermentation et des effets osmotiques au niveau du gros intestin , et la metformine qui provoque une acidose lactique **(Hennen, 2001)**.

Chapitre II :
La phytothérapie

1. La phytothérapie

Les plantes sont utilisées dans toutes les cultures pour leurs vertus médicinales et de nos jours encore l'organisation mondiale de la santé OMS estime que la médecine traditionnelle couvre les besoins en soins de santé primaires de 80% de la population mondiale (Farnsworth et Soejarto., 1985).

La phytothérapie est une discipline destinée à prévenir et à traiter certains troubles fonctionnels et/ou certains états pathologiques au moyen de plantes, de parties de plantes ou de préparations à base de plantes, elle fait partie des médecines parallèles ou des médecines douces (Maurice, 2004).

2. Plantes antidiabétiques :

Pour pallier aux effets secondaires des médicaments, les recherches scientifiques portent sur 1123 plantes utilisées traditionnellement contre le diabète, l'activité antidiabétique de ces plantes peuvent dépendre de plusieurs mécanismes.

Le tableau ci dessous présente quelques modes d'action des plantes antidiabétiques.

Tableau 01 : Modes d'actions de quelques plantes antidiabétiques (Azzi, 2013).

Noms scientifiques	Familles	Partie Utilisée	Modes d'action et références
<i>Catharanthus roseus</i> (L.). G. Don	Apocynacées	Feuilles	Stimule la sécrétion d'insuline à partir des cellules β des îlots de Langerhans du pancréas (Nammi et al., 2003).
<i>Citrullus colocynthis</i> L.	Cucurbitacées	Graines	Stimule la sécrétion d'insuline (Nmila et al.,2002).
<i>Coccinia grandis</i> L. Voigt.	Cucurbitacées	Fruits	Stimulation de la glycogénèse hépatique (Shibib et al., 1993).
<i>Mangifera indica</i> L	Anacardiacees	Fruits, Feuilles	Stimulation de la glycogénèse hépatique (Bhowmik et al., 2009).
<i>Nerium oleander</i> L.	Apocynacées	Feuilles	Inhibition α -glucosidase (Ishikawa et al.,2007).
<i>Punica granatum</i> L.	Lythracées	Fleurs	Inhibition α -glucosidase (Li et al., 2005).
<i>Morus alba</i> L.	Moracées	Feuilles	Augmentation le nombre de cellules β dans les îlots de Langerhans (Mohammadi et Naik., 2008).
<i>Aegle marmelos</i>	Rutacées	Feuilles	Stimule la captation du glucose par les cellules (Sharma et al., 2007). Réduire la résistance à l'insuline

		Fruits	(Sharma et al., 2011). Effet protecteur sur les cellules β du pancréas (Kamalakkannan et Prince., 2005).
<i>Ervatamia microphylla</i>	Apocynacées	Feuilles	stimule la différenciation des cellules progénitrices pancréatiques (Kojima et Umezawa., 2006).
<i>Amaranthus esculents</i>	Amarantacées	Plante Entière	Diminution des activités du cortisol (Gholap et Kar., 2004).

3. Principes actifs :

Le savoir de préparation et d'utilisation des extraits de plantes médicinales est transmis d'une génération à une autre avec l'ignorance d'effet exact ou le mode d'action des composants de ces extraits sur l'organisme humain jusqu'au dernier siècle avec ce qu'on appelle la révolution « scientifique » et les progrès dans tous les domaines « médecine, pharmacie, biologie, botanique, pharmacologie, toxicologie, pharmacognosie... » (Fournier, 1999). La recherche trouve chez les plantes des molécules actives ou des matières premières pour l'hémisynthèse de composés actifs, l'isolement de principes actifs a contribué à l'amélioration des connaissances des structures, ce qui a permis de passer progressivement d'une phytothérapie traditionnelle souvent empirique, acceptée parfois avec une certaine méfiance à une thérapie moderne, acceptée scientifiquement.

Il existe plus de 200 métabolites secondaires qui présentent une activité antihyperglycémiant (Marles et Farnsworth., 1995 ; Lamba et al., 2000 ; Sanjay, 2002).

Ainsi un certain nombre de groupes, tels que les alcaloïdes, les saponines, les flavonoïdes... et d'autres obtenus à partir de diverses sources végétales, semblent avoir des effets, d'une importance particulière, dans le traitement du diabète (Mukherjee et al., 2006 ; Soumyanath, 2006).

Parmi ces principes actifs nous allons nous intéresser dans ce présent travail à la fraction brute des flavonoïdes.

De plus en plus, les flavonoïdes font l'objet de recherche scientifique. Ils ont été signalés pour de nombreuses propriétés, y compris l'activité anti-inflammatoire, oestrogénique, inhibition enzymatique, activité antimicrobienne, antiallergique, antitumorale et cytotoxique (Cushnie et Lamb., 2005).

Ces composés sont aussi réputés pour leur caractère antioxydant, neutralisant les radicaux libres limitant ainsi certains dommages oxydatifs. Ils sont donc à l'origine d'effets

physiologiques bénéfiques pour l'organisme humain et méritent l'intérêt croissant que la recherche leur porte (**Raskin et al., 2002**). Le nombre de flavonoïdes, leur diversité structurale et leur bioactivité font de ces composés un des groupes les plus importants de substances d'origine naturelle (**Harborne, 2000**).

3.1. Les flavonoïdes :

3.1.1. Définition : Les flavonoïdes sont des composés polyphénoliques qui sont omniprésents dans les plantes (**Wenying et al., 2003**), ce sont des pigments responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles assurant ainsi la protection des tissus contre les agressions des ultraviolets (**Rajnerayanama et al., 2001**).

3.1.2. Structure : Les flavonoïdes ont tous la même structure chimique de base, ils possèdent un squelette carboné de quinze atomes de carbones constitué de deux cycles aromatiques (A) et (B) qui sont reliés entre eux par une chaîne en C3 en formant ainsi l'hétérocycle (C) (**Erdman et al., 2007**). Généralement, la structure des flavonoïdes est représentée selon le système C6-C3-C6 (**Emerenciano et al., 2007**).

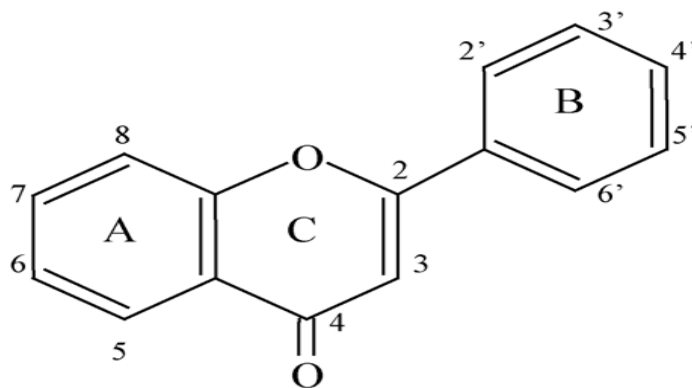


Figure02: Squelette de base des flavonoïdes (Cushnie et Lamb., 2005).

-Les flavonoïdes se représentent en 15 familles de composés dans les plus importantes sont :

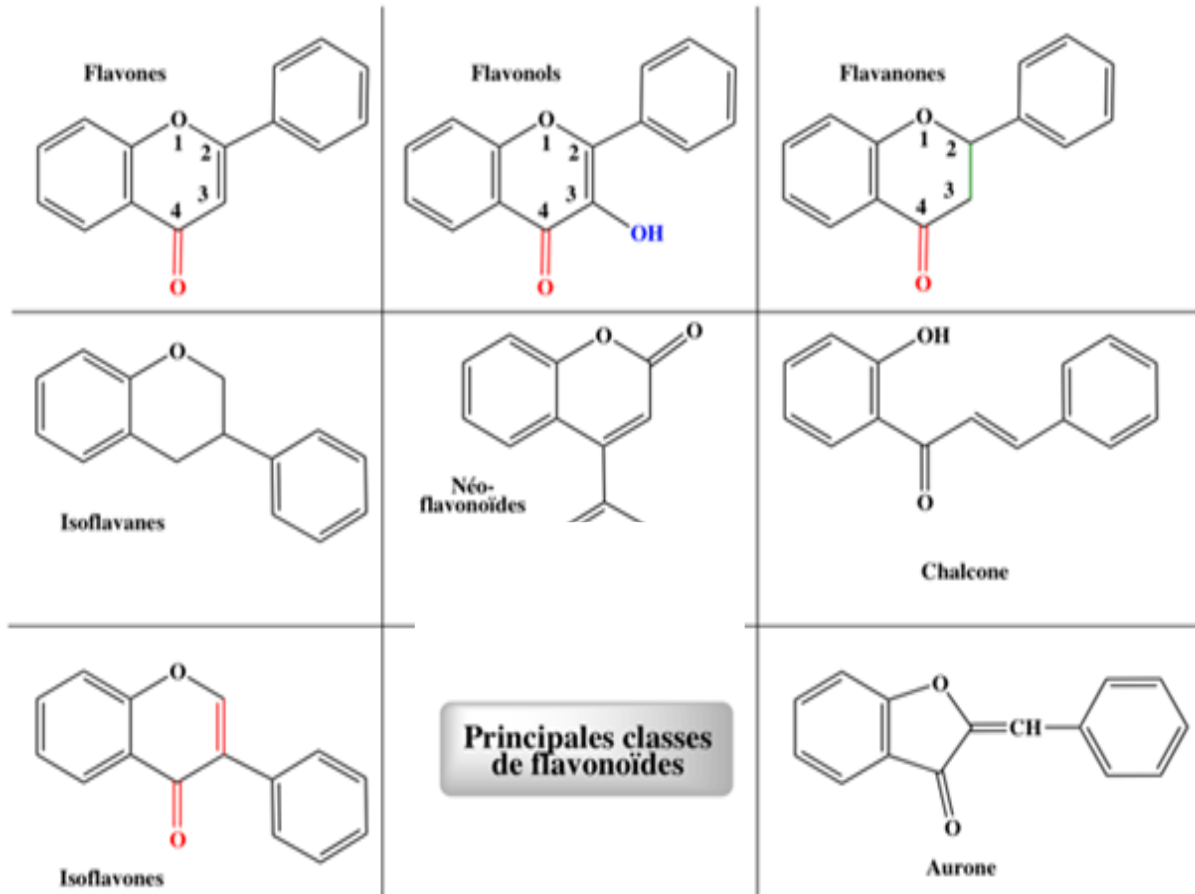


Figure03: Principales classes des flavonoïdes.

4. Plante étudiée : *Ammodaucus leucotrichus* Cosson et Durieu supsp. *leucotrichus*

4.1. Taxonomie :

Embranchement : Magnoliophyta

Classe : Rosopsida

Sous-classe : Cornidae

Ordre : Araliales

Sous ordre : Aralianae

Famille : Apiaceae

Genre : Ammodaucus

Espèce : leucotrichus (Quezel, 1963).

4.2.Appellations :

Nom Arabe : الكمون الصوفي- المسوفة

Nom Berbère : Akaman

Nom Français : cumin velu, cumin de sahara Nom anglais: Hairy cumin

Nom vernaculaire: Nessoufa-Moudrayga (Velasco-Negueruela *et al.*, 2006).

4.3. Description morphologique :

Petite plante annuelle glabre à tiges dressées, rameuses, finement striées, feuilles très divisées à lanières étroites, un peu charnues, ombelles à 2-4 rayons, involucre à bractées très divisées (Ozenda *et al.*, 1977); fleurs blanches, toutes égales. Méricarpes allongés 6-9 x 4-5mm, à côtes secondaires couvertes de longs poils soyeux très denses, crépus, jaune roux à la base, puis blancs et longs de 8-10mm. Cette plante est très appréciée et ramassée, ce qui tend à la raréfier. C'est une plante à très forte odeur d'anis (Quezel, 1963).



Figure04: *Ammodaucus Leucotrichus* (www.sahara-nature.com).

4.4. Répartition géographique de la plante :

La distribution entière est basée au nord de l'Afrique (Algérie, Maroc, Tunisie, Libye, elle s'étend jusqu'à l'Égypte et l'Afrique tropicale) (**Beltran et al., 1983**). Elle est assez commune dans tout le pâturage désertique (**Quezel, 1963**).

-Secteur du Sahara septentrional et occidental

-Elle est rare dans le secteur du Sahara central

4.5. Utilisation thérapeutique et traditionnelle:

Les fruits d'*Ammodaucus leucotrichus* se croquent et parfument l'haleine, on en parfume le thé. En Afrique du nord, les fruits sont utilisés comme condiment et en médecine traditionnelle, ils sont employés dans le traitement des coups du froid, fièvre et troubles digestifs particulièrement pour les enfants. La plante est utilisée aussi, sous forme de décoction de fruits, pour le traitement du diabète (**Adams et al., 1995**).

4.6. Etudes antérieures sur la plante :

Une étude a été faite par (**El-Haci, 2015**) sur le pouvoir antimicrobien, antioxydant ainsi que le pouvoir hémolytique des huiles essentielles des fruits d'*Ammodaucus leucotrichus*. Cette étude a montré une activité remarquable sur différentes souches bactériennes (*S.typhimurium* la plus sensible à l'action des huiles), et une très faible activité antioxydante expliquée par la

faible concentration des molécules dotées d'activité antioxydante dans cette huile, quant aux résultats obtenus pour le pouvoir hémolytique ont montré un pouvoir cytotoxique modéré de l'huile pure par contre ce pouvoir est nul lorsque cette huile est diluée au 1/10.

Une autre étude a été réalisée sur la composition chimique d'une préparation utilisée dans la pharmacopée traditionnelle dans la région de Bechar pour le traitement des maladies gastriques. Ce remède utilisé comme sirop est un extrait aqueux de 11 plantes dont *Ammodaucus leucotrichus*. Le criblage phytochimique de cette préparation a montré la présence de toutes les substances bioactives, l'efficacité de ce remède est obtenue grâce à l'effet synergique (**Belboukhari et al., 2013**).

Deux échantillons de fruits d'*Ammodaucus leucotrichus* subsp *nanocarpus*, ALN1 et ALN2 ont été étudiés. L'huile essentielle des fruits de l'espèce d'*Ammodaucus leucotrichus* subsp. *nanocarpus* (ALN1, ALN2) se composent de (94.7-94.9%) de monoterpènes, (4.6-5.0 %) de sesquiterpènes et (0.3-0.5 %) de différents composants. La majorité de ces constituants sont le β -pinène (22.2-33.6 %), angelate de bornyle (20.6-21.8 %), camphre (8.3-11.7 %), α -pinène (5.2-5.5 %), camphène (3.3-3.8 %), sabinène (3.7-7.0 %), myrcène (1.8-5.4 %), limonène (3.5-4.86 %), γ terpène (4.6-5.6 %), acétate de bornyle (4.7-5.0 %) et δ -cadinène (2.1-1.9 %). (**Velasco-Negueruela et al., 2006**).

A l'heure actuelle aucune étude scientifique à notre connaissance sur l'activité antidiabétique n'a été publiée. L'usage empirique des différentes préparations traditionnelles à base d'*Ammodaucus leucotrichus* ainsi que le nombre réduit des études phytochimiques qui ont été faites sur cette dernière nous a encouragés à rechercher cette plante afin de tester son effet sur la captation du glucose par des coupes de tissu adipeux prélevées à partir de rats Wistar selon la méthode de **Rodbell 1964** (peu modifiée).

Chapitre III :
Partie expérimentale

Matériels et méthode

I- Partie phytochimique :

Notre étude a été réalisée au sein du laboratoire : Antibiotiques , Antifongiques, Physicochimie , Synthèse et Activité biologique (LAPSAB).

1. Matériel végétal :

Le matériel végétal utilisé au cours de notre étude est la partie aérienne (Tige, feuilles, fleurs et graines) d'*Ammodaucus leucotrichus*, récoltée en mars 2016 à Taghit wilaya de Bechar-Algérie, après identification botanique la plante est séchée à l'ombre à température ambiante pendant plusieurs jours, ensuite broyée en poudre fine à l'aide d'un moulin à café et conservée dans un endroit bien aéré à température ambiante et à l'abri de la lumière jusqu'au jour de l'extraction.

2. Préparation de l'extrait brut et l'extrait des flavonoïdes à partir d'*Ammodaucus leucotrichus* :

2.1. Préparation des extraits bruts :

- 10g de poudre végétale est mise en macération dans un mélange de 100 ml d'eau/méthanol à 20/80 v/v sous agitation pendant 72 heures à température ambiante.
- Filtration du mélange.
- Evaporation à sec du filtrat hydrométhanolique afin d'éliminer le méthanol pour obtenir l'extrait brut EB.

2.2 Préparation de l'extrait des flavonoïdes :

L'extrait hydrométhanolique obtenu après l'évaporation est partagé entre 10ml d'acétate d'éthyle et le même volume d'eau distillée, après agitation le mélange est laissé décanter, la phase organique d'acétate d'éthyle est récupérée et la phase aqueuse est à nouveau partagée, l'extraction est refaite plusieurs fois jusqu'à ce que le solvant devient transparent. L'acétate d'éthyle est par la suite évaporé et l'extrait résultant est considéré comme étant la fraction enrichie en flavonoïdes (**Figure 05**).



Figure05 : Montage et dispositif de l'extraction liquide-liquide.

-La figure 06 ci-dessous montre un schéma explicatif de la préparation des extraits brut et enrichi en flavonoïdes.

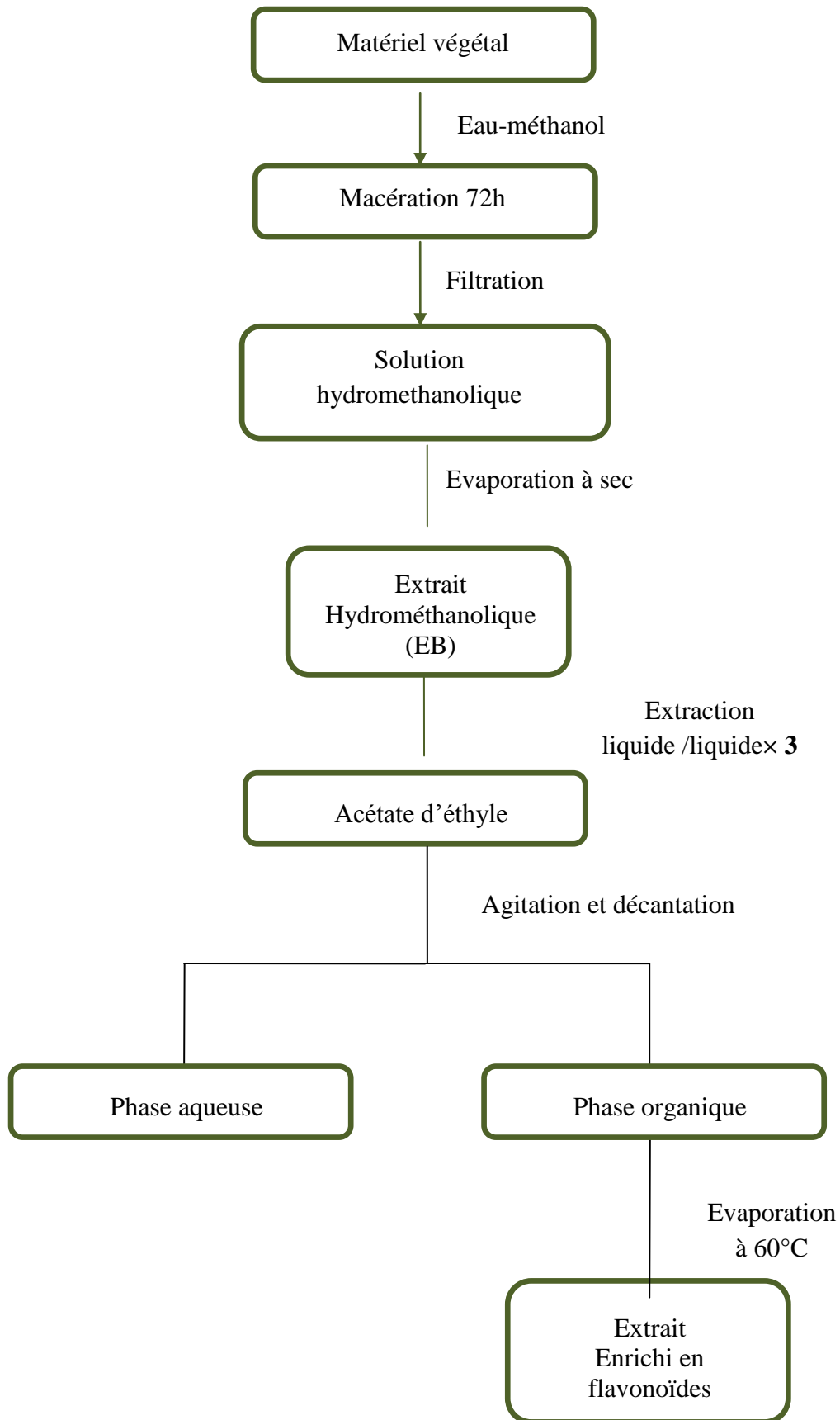


Figure 06 : schéma explicatif de la préparation des extraits brut et enrichi en flavonoïdes.

3-Chromatographie sur couche mince :

La chromatographie sur couche mince CCM est une chromatographie d'adsorption qui est due à la formation de liaisons entre molécules de l'espèce chimique qui migrent et la phase stationnaire. La séparation est basée sur la différence de vitesse de déplacement des espèces chimiques qui dépend de la capacité d'adsorption de cette dernière par la phase stationnaire et sa force d'entraînement par l'éluant.

3.1-Mode opératoire :

-Les extraits utilisés :

Macération : extrait brut, fraction enrichie en flavonoïdes.

-Les standards utilisés : la quercétine, la catéchine.

-La plaque utilisée : plaque de gel de silice.

- Activation de la plaque dans l'étuve à 120 °C pendant 10min.
- Saturation de la cuve par l'éluant.
- Dépôt d'échantillon en petits spots.
- Introduction de la plaque dans la cuve saturée.
- Suivre le développement du chromatogramme jusqu'à l'arrivée du solvant au front supérieur.

-Choix de la phase mobile :

Plusieurs systèmes de solvants ont été testés pour voir celui qui donne une meilleure séparation des différents composés présents dans nos extraits :

- Chloroforme, acétate d'éthyle, méthanol, acide acétique, eau (60/10/25/5/0.2).
- Chloroforme, méthanol, acide acétique, eau (60/30/5/0.2).
- Chloroforme, acétate d'éthyle, méthanol, eau (20/30/50/0.2) (65/10/25/0.2).
- Chloroforme, acide formique, acide acétique, eau (100/11/11/26).
- Chloroforme, méthanol, eau (65/35/0.2) (75/15/0.1).
- BAW (60/15/25) (5/0.5/3) (10/8/2).
- Chloroforme, méthanol, acétate d'éthyle, eau (30/40/30/0.1).
- Chloroforme, méthanol (90/10) (60/25).
- Chloroforme, méthanol, eau (60/25/0.2).
- Chloroforme, méthanol, acétate d'éthyle (65/25/10) (50/30/20).

➤ **3.2-Révélation :**

Après migration des extraits par capillarité sur la plaque CCM, on procède à la révélation des chromatogrammes sous une lampe UV à 366 nm.

L'interprétation qualitative des chromatogrammes s'effectue par la détermination du rapport frontal Rf calculé selon la formule suivante.

$$R_f = \frac{\text{Distance parcourue par substance}}{\text{Distance parcourue par le solvant}}$$

II-Partie biologique :

1-Animaux :

Notre étude a porté sur des rats femelles de laboratoire de variété Wistar (*Ratus norvegicus*) âgés de 2 à 3 mois et ayant un poids entre 200 et 300g.

2-Conditions d'élevage :

L'élevage des animaux s'est déroulé au sein de l'animalerie de 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, Photopériode 12H/12H et sont nourris *ad libitum* par un aliment supplémenté en vitamines sous forme de granulés composé de maïs, tourteaux de soja, issu de meunerie, calcaire, phosphore, sels, acides aminés, polyvitamines, antioxydants, facteurs de croissance et antibiotiques.

Remarque : Les animaux sont mis à jeun 16h avant sacrifice.

-L'effet de l'extrait brut et d'extrait des flavonoïdes sur la captation du glucose par des coupes fines de tissu adipeux :

Nous avons testé l'effet de l'extrait brut et l'extrait des flavonoïdes sur la captation du glucose par des coupes fines de tissu adipeux et nous avons comparé l'effet de ces extraits à différentes concentrations par rapport à l'effet de l'insuline et par rapport à des témoins.

3-Préparation du milieu d'incubation KRBA :**Tableau 02:** Préparation du KRB.

Constituants	Masse (g)	Concentrations [mM]	Volume nécessaire [ml]
NaCl	7	120	698
CaCl ₂	0.19	1.3	19
KCl	0.375	4.8	37
KH ₂ PO ₄	0.16	1.2	16
MgSO ₄	0.295	1.2	30
NaHCO ₃	2.01	24	200

Une fois le KRB préparé 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-piperazine-éthane sulfonique) tout juste avant son utilisation.

Nous avons ajouté 1g de BSA (albumine bovine) pour préparer la solution KRBA1% qui sert au lavage du tissu adipeux, et 4g de BSA pour préparer la solution de KRBA4% pour l'incubation des coupes fines de tissu adipeux, à partir de cette dernière on prépare deux autres solutions de KRBA4% glucosées : KRBA4% glucosé à 1g et KRBA4% glucosé à 3g.

4-Préparation du sérum physiologique NaCl 9‰ :

On pèse 9 g de NaCl et on le fait dissoudre dans 1L d'eau distillée.

Le sérum physiologique est conservé à température ambiante.

5-Isolement du tissu adipeux (Rodbell 1964 peu modifiée) :

-Sacrifice de l'animal par dislocation cervicale.

-Ouverture de l'abdomen en forme U à l'aide d'un scalpel après dissection.

-prélèvement du tissu adipeux épидидymal et surrénal.

- Pesée du tissu adipeux.
- Lavage du tissu adipeux dans du sérum physiologique NaCl 9‰ afin de le nettoyer des vaisseaux et caillots sanguins.
- Lavage du tissu 2 à 3 fois dans le KRBA 1%.
- Introduction du tissu dans un tube conique et centrifugation 500tour /min pendant 5min à 37°C.

6-Viabilité et numération cellulaire :

Le comptage cellulaire nous permet d'avoir des informations à la fois qualitative sur l'état de nos cellules et quantitative sur le nombre des cellules vivantes.

La numération est réalisée à l'aide d'une cellule de Thoma

0.2 g de coupes fines de tissu adipeux sont lavées dans de l'eau physiologique puis KRBA1%, après écrasement la suspension cellulaire est récupérée dans 2ml de solution (EDTA+ KRBA1%), ensuite 50µl de cette dernière est mélangée avec 50µl de bleu de trypan à 0.2% dans du KRB, à partir de ce mélange un volume est prélevé et déposé entre lame et lamelle au niveau de la cellule de Thoma.

Les cellules non viables vont être colorées en bleu et les résultats sont exprimés par le nombre de cellules viables/ml.

$$\frac{\text{La somme des cellules dénombrée dans chaque carreau}}{\text{le nombre des carreaux} \times \text{FD} \times 25 \times 10^4 (\text{mm}^3)}$$

FD: Facteur de dilution.

7- Incubation :

Nous avons utilisé des plaques d'incubation de 24 puits, ces plaques sont mises dans un incubateur agitateur à 37°C à 47 rpm.

Tableau03: milieux d'incubation contenant le KRBA4% Glucosé à 1g et 3g, les différentes concentrations de l'extrait brut et d'extrait des flavonoïdes et les coupes fines de tissu adipeux.

Milieux	Extrait brut			Extrait des flavonoïdes		
	30 minutes	60 minutes	90minutes	30 minutes	60minutes	90minutes
KRBA4% [Glucose] 1g /l +0.2g TA	500µg/ml	500µg/ml	500µg/ml	500µg/ml	500µg/ml	500µg/ml
	200µg/ml	200µg/ml	200µg/ml	200µg/ml	200µg/ml	200µg/ml
	100µg/ml	100µg/ml	100µg/ml	100µg/ml	100µg/ml	100µg/ml
KRBA4% [Glucose] 1g /l +0.2g TA	500µg/ml	500µg/ml	500µg/ml	500µg/ml	500µg/ml	500µg/ml
	200µg/ml	200µg/ml	200µg/ml	200µg/ml	200µg/ml	200µg/ml
	100µg/ml	100µg/ml	100µg/ml	100µg/ml	100µg/ml	100µg/ml

Tableau04 : milieux d'incubation contenant les différentes concentrations de l'insuline.

	Insuline		
	30 minutes	60 minutes	90 minutes
KRBA4% [Glucose] 1g /l +0.2g TA	100μU/ml	50μU/ml	10μU/ml
KRBA4% [Glucose] 3g /l +0.2g TA	100μU/ml	50μU/ml	10μU/ml

Remarque : 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).

Tableau05 : Les milieux témoins utilisés

	T1	T2	T3	T4
Témoins	KRBA4% [Glucose] 1g/l	KRBA4% [Glucose] 3g/l	KRBA4% [Glucose] 1g/l + 0.2g de coupes fines de tissu adipeux	KRBA4% [Glucose] 3g/l+0.2g de coupes fines de tissu adipeux

8-Prélèvement des puits :

Après 30 minutes la réaction est stoppée en posant la plaque d'incubation sur des glaces pendant une minute.

A l'aide d'une micropipette 500µl est prélevé de chaque puits et introduit dans des tubes à essai on centrifuge 2000 tour/min pendant 5 min.

Cette opération est répétée après 60 min et 90 min.

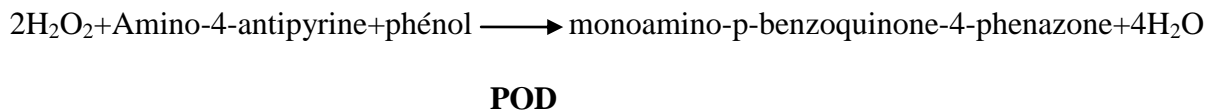
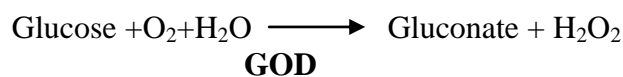
9-Dosage enzymatique du glucose:**Principe :**

Le dosage est basé sur deux réactions enzymatiques :

-la première (E1) : catalysée par la glucose oxydase qui oxyde le glucose en acide gluconique et produit le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂).

-la deuxième (E2) : catalysée par la peroxydase utilise le peroxyde d'hydrogène formé comme substrat et le phénol ainsi qu'un chromogène (4-aminoantipyrine) et produit de l'eau et la forme colorée du chromogène (Trinder (1969))

Remarque : Le chromogène absorbe fortement à 505 nm, l'intensité de la coloration est directement proportionnelle à la concentration en glucose.



GOD: glucose oxydase.

POD: peroxydase.

-Méthode du dosage :**Tableau 06 : Dosage enzymatique du glucose.**

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

Le contenu des tubes est homogénéisé à l'aide d'un vortex et ces derniers sont incubés pendant 10min dans l'étuve à 37°C.

Après incubation le contenu des tubes est versé dans des micro-cuves et la densité optique est lue (DOD) à 505 nm contre le blanc.

Calcul :

$$\text{Concentration glucose restant dans le milieu} = (\text{DOD}/\text{DOE})$$

DOD : Densité optique de l'étalon

DOE : Densité optique de l'échantillon

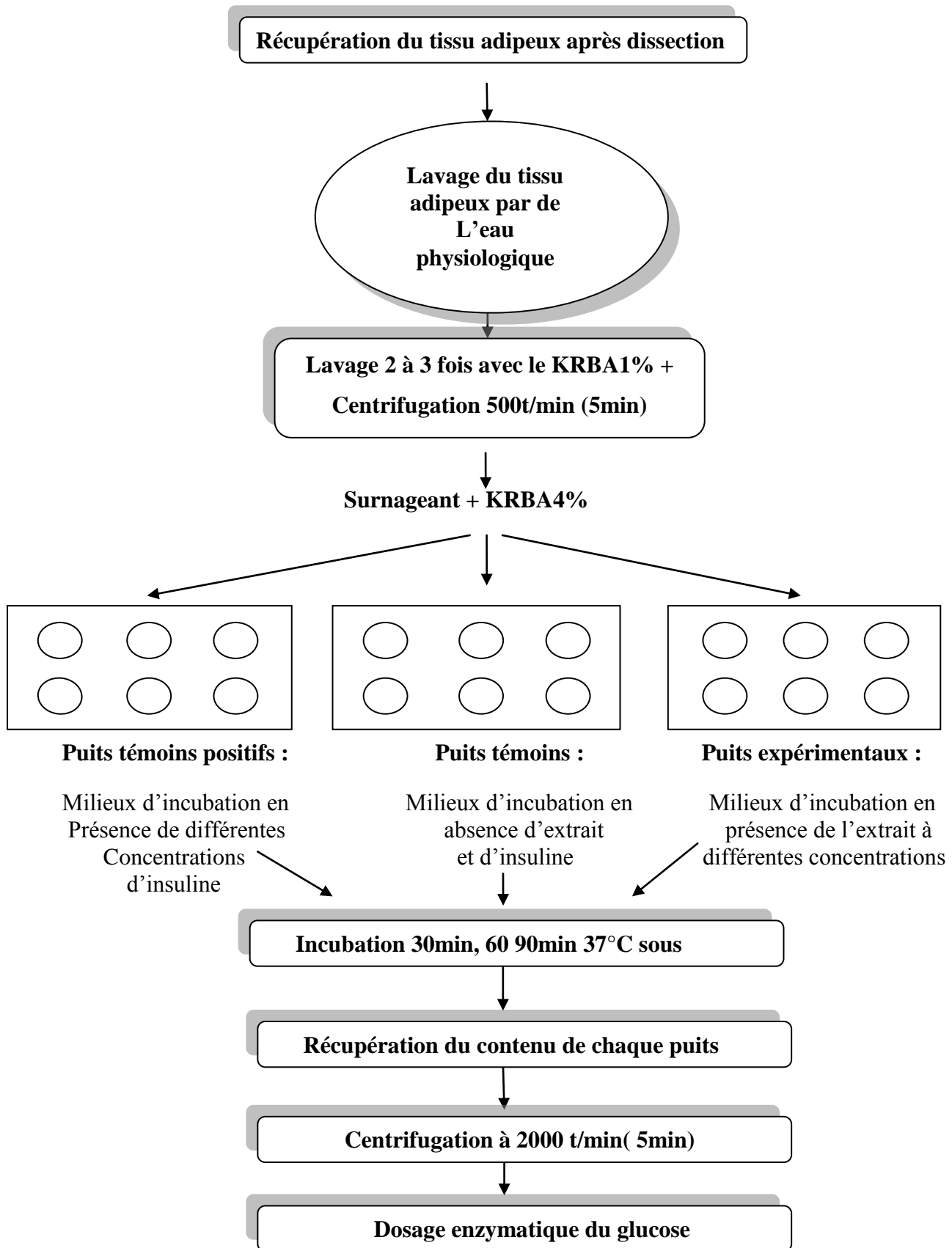


Figure 07: Schéma représentant les étapes de la recherche de l'activité antidiabétique par la mesure de la captation du glucose par le tissu adipeux.

II-Partie statistique :

Quelques paramètres statistiques ont été calculés tels que :

1-La moyenne :

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

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

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

3-Test de student :

Nous avons réalisé une comparaison de moyennes grâce au test de student à un degré de liberté ν qui dépend de la taille de l'échantillon.

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

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

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

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

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

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

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

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

Résultats et interprétation

1. Analyses chromatographiques (CCM) :

Parmi les différents systèmes utilisés pour la séparation de l'extrait brut et l'extrait des flavonoïdes certains ont permis la séparation de quelques composés d'autre n'ont permis aucune séparation. C'est le cas des systèmes BAW (60/15/25) et $\text{CHCl}_3/\text{HCOOH}/\text{CH}_3\text{COOH}/\text{H}_2\text{O}$ (100/11/11/26) qui n'ont séparé aucun composé pour tous les extraits.

Le système $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{EtOAc}/\text{H}_2\text{O}$ (65/25/10/0.2) a révélé de nombreux composés pour l'extrait des flavonoïdes avec différents Rfs dont une tache au $R_f=0.81$ correspondant à la quercétine tandis que pour l'extrait brut ce système n'a révélé qu'un seul composé qui est resté sur la ligne du dépôt.

Le système $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{EtOAc}/\text{CH}_3\text{COOH}/\text{H}_2\text{O}$ (60/25/10/5/0.2) à son tour a séparé plusieurs composés pour l'extrait des flavonoïdes dont une tache au $R_f=0.79$ correspondant à la catéchine et pour l'extrait brut ce système a révélé uniquement deux composés le premier est resté sur la ligne du dépôt et le deuxième avec un R_f de 0.78 correspondant à la catéchine.

Le système $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ avec les proportions (90/10) a révélé 5 composés pour l'extrait des flavonoïdes et 6 composés pour l'extrait brut dont une tache au $R_f=0.69$ correspondant à la quercétine.

Le même système avec les proportions (60/25) a permis la séparation de 7 composés pour l'extrait des flavonoïdes dont une tache au $R_f=0.71$ correspondant à la catéchine et 5 composés pour l'extrait brut avec une tache au $R_f=0.91$ correspondant à la quercétine.

Le système $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$ (75/15/0.1) a révélé 8 composés pour l'extrait des flavonoïdes et 8 composés également pour l'extrait brut avec une tache au $R_f=0.56$ correspondant à la quercétine.

Le système $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{EtOAc}/\text{H}_2\text{O}$ (30/40/30/0.1) a permis la séparation de 9 composés pour l'extrait des flavonoïdes dont une au $R_f=0.91$ correspondant à la quercétine et 6 composés pour l'extrait brut dont une au $R_f=0.79$ correspondant à la catéchine.

Ces deux derniers systèmes sont les mieux adaptés à la séparation de nos extraits.

Le tableau ci-dessous montre les principaux résultats de l'analyse chromatographique de l'extrait brut et l'extrait des flavonoïdes préparés à partir *d'Ammodaucus leucotrichus*.

Tableau07 : Analyses chromatographiques (CCM) de l'extrait brut et l'extrait des flavonoïdes d'*Ammodaucus leucotrichus*.

Systèmes (v/v)		Rf extraits			
		EB	Ef	Quer	Cat
CHCl 3/MeOH/EtOAc/H ₂ O	60/25/10/5/0.2	0	0.29	0	0.8
		0.79	0.59		
			0.79		
			0.84		
CHCl 3/MeOH/EtOAc/H ₂ O	65/25/10/0.2	0	0.37	0.81	0
			0.81		
			0.83		
			0.85		
			0.88		

CHCl₃/MeOH/H₂O	75/15/0.1	0	0	0.56	0
		0.2	0.2		
		0.35	0.31		
		0.56	0.57		
		0.82	0.7		
		0.83	0.78		
		0.86	0.82		
		0.89	0.85		
CHCl₃/MeOH/EtOAc/H₂O	30/40/30/0.1	0.45	0.37	0.91	0.79
		0.49	0.46		
		0.79	0.53		
		0.8	0.71		
		0.82	0.8		
		0.85	0.81		
			0.82		
			0.85		
	0.9				

CHCl ₃ /MeOH	60/25	0.41	0.37	0.91	0.71
		0.49	0.46		
		0.79	0.53		
		0.80	0.71		
		0.9	0.81		
			0.83		
CHCl ₃ /MeOH	90/10	0	0.08	0.69	0
		0.08	0.7		
		0.12	0.72		
		0.69	0.85		
		0.72	0.88		
		0.9			

Rf : Rapport frontal.

CHCl₃ : Chloroforme.

MeOH : Méthanol.

EtOAc : Acétate d'éthyle.

CH₃COOH : Acide acétique.

Cat : Catéchine.

Qu : Quercétine.

EB : Extrait brut.

Ef : Extrait des flavonoïdes.

HCOOH : Acide formique.

II-Analyse biologique :

1. Viabilité et numération cellulaires :

Après observation et numération des adipocytes par la cellule de Thoma à l'aide d'un microscope, nous estimons que 1g de tissu adipeux contient environ 10 millions de cellules vivantes.

2. Captation basale du glucose par les coupes fines de tissu adipeux :

Tableau 08 : Concentrations du glucose restant dans les milieux d'incubation glucosés à 1g/l et 3g/l en présence et en absence des coupes fines de tissu adipeux.

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

La figure 08 et 09 ci-dessous représente la consommation basale du glucose dans le milieu d'incubation (KRBA4%+glucose1g/l) et (KRBA4%+glucose3g/l) en absence et en présence des coupes fines de tissu adipeux pendant différents intervalles de temps (30, 60 et 90 min)

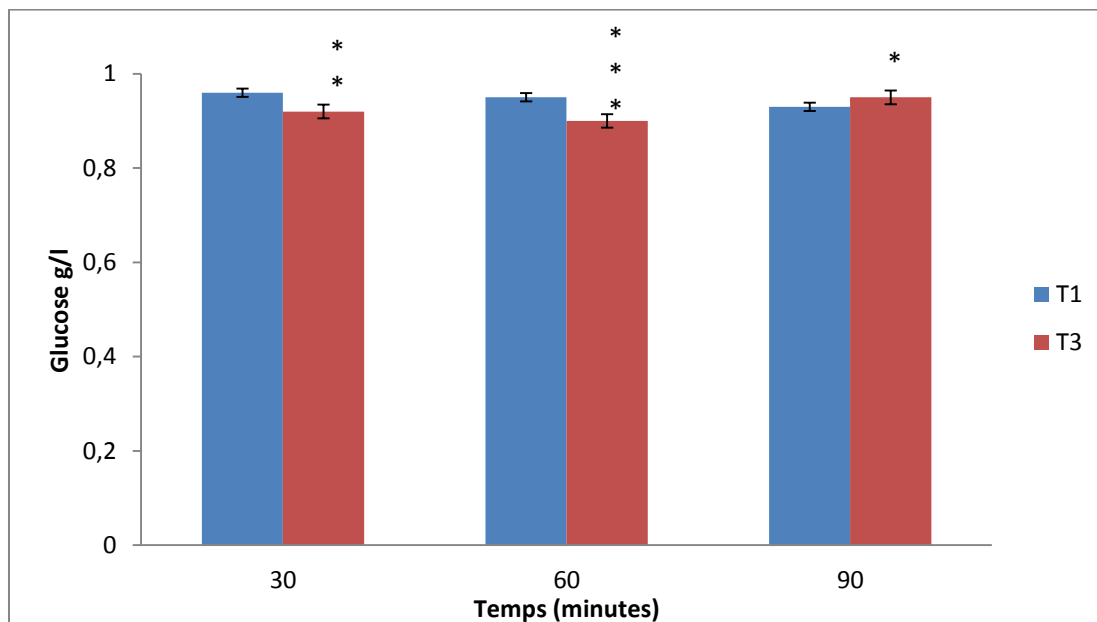


Figure 08 : Concentrations du glucose restant dans le milieu d'incubation avec 1g/l du glucose en absence et en présence des coupes fines de tissu adipeux pendant 30, 60 et 90 min.

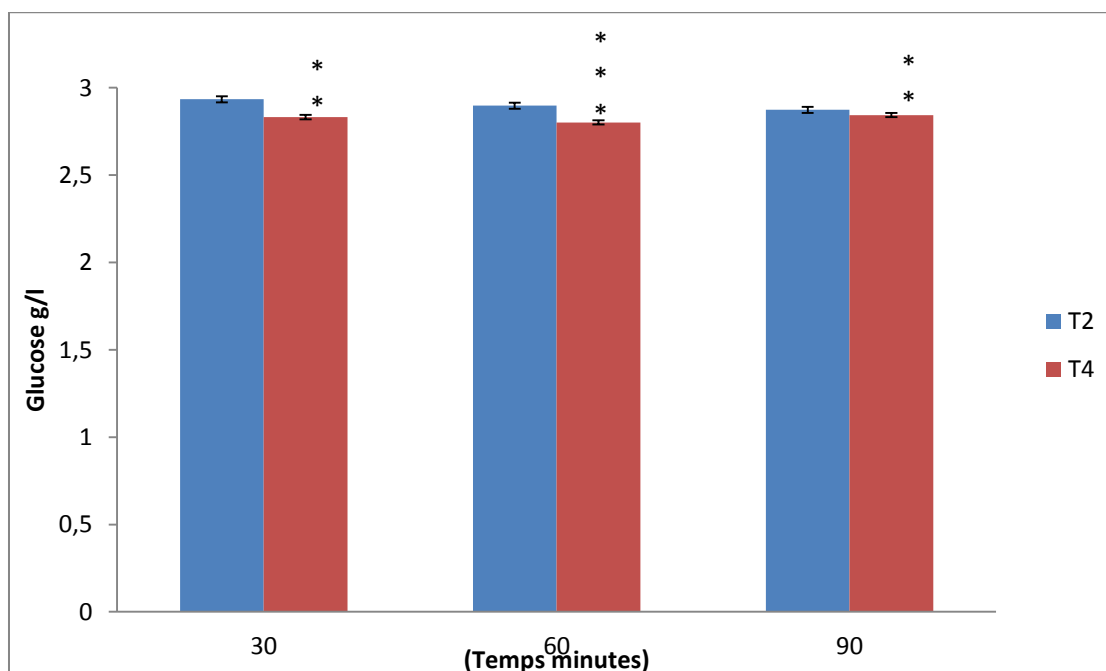


Figure 09 : Concentrations du glucose restant dans le milieu d'incubation avec 3g/l du glucose en absence et en présence des coupes fines de tissu adipeux pendant 30, 60 et 90 min.

Dans le cas de milieu d'incubation (KRBA4%+ Glu 1g/l) ces résultats montrent une diminution significative à t=30 min, très significative à t=60min et peu significative à t=90min par rapport au témoin ce qui montre que nos cellules sont fonctionnelles sur le plan métabolique avec une captation basale maximale à **60 min** de l'ordre de **0.1g/l**.

Dans le cas de milieu d'incubation (KRBA4%+ Glu 3g/l) la diminution du glucose restant est significative à t=30 min et t=90min et très significative à **t=60min** avec une captation de l'ordre de **0.2g/l**.

3. Effet de l'insuline sur la captation du glucose par les coupes fines du tissu adipeux :

Tableau 09: Concentrations de glucose restant dans le milieu d'incubation KRBA4%+ glucosé à 1g/l en présence des différentes concentrations d'insuline et des coupes fines de tissu adipeux pendant 30, 60 et 90min.

Insuline $\mu\text{U/ml}$	Glucose restant dans le milieu après incubation g/l		
	30 min	60 min	90 min
10	0.79	0.7	0.8
50	0.74	0.65 (capté 35%)	0.75
100	0.68	0.61 (capté 39%)	0.7

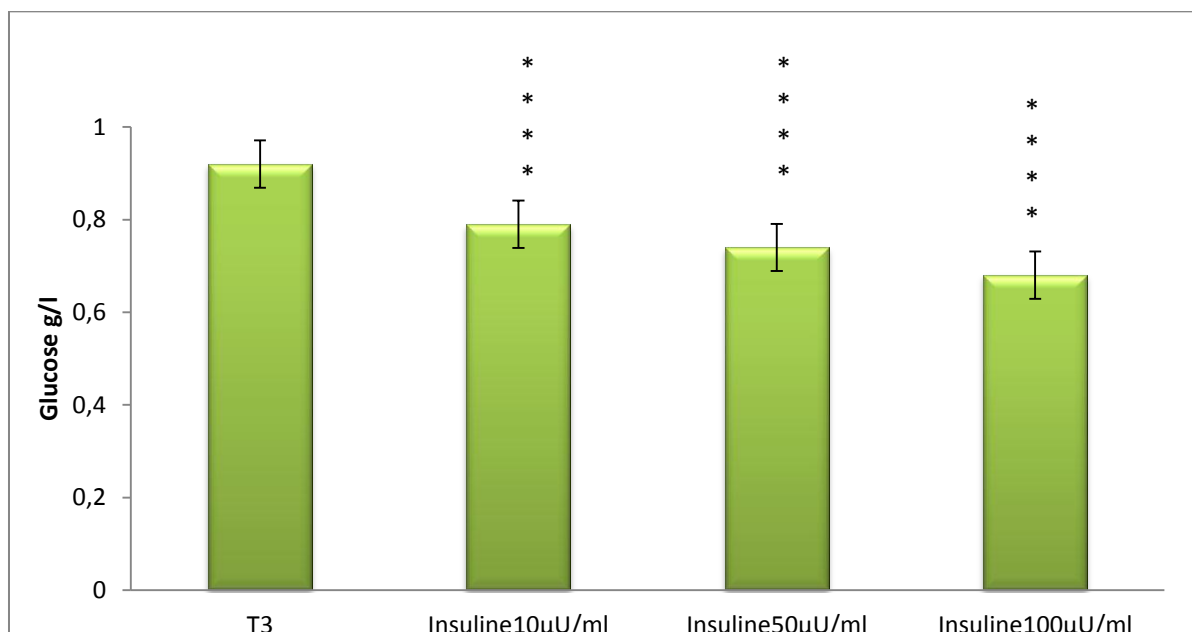


Figure 10 : Concentrations du glucose restant dans le milieu d'incubation avec 1g/l du glucose en présence de différentes concentrations d'insuline pendant 30 minutes.

-Hautement significative $P < 0.0001$ (****) par rapport au témoin.

-T3 : milieu témoin contenant KRBA4% glucosé à 1g/l + les coupes fines de tissu adipeux.

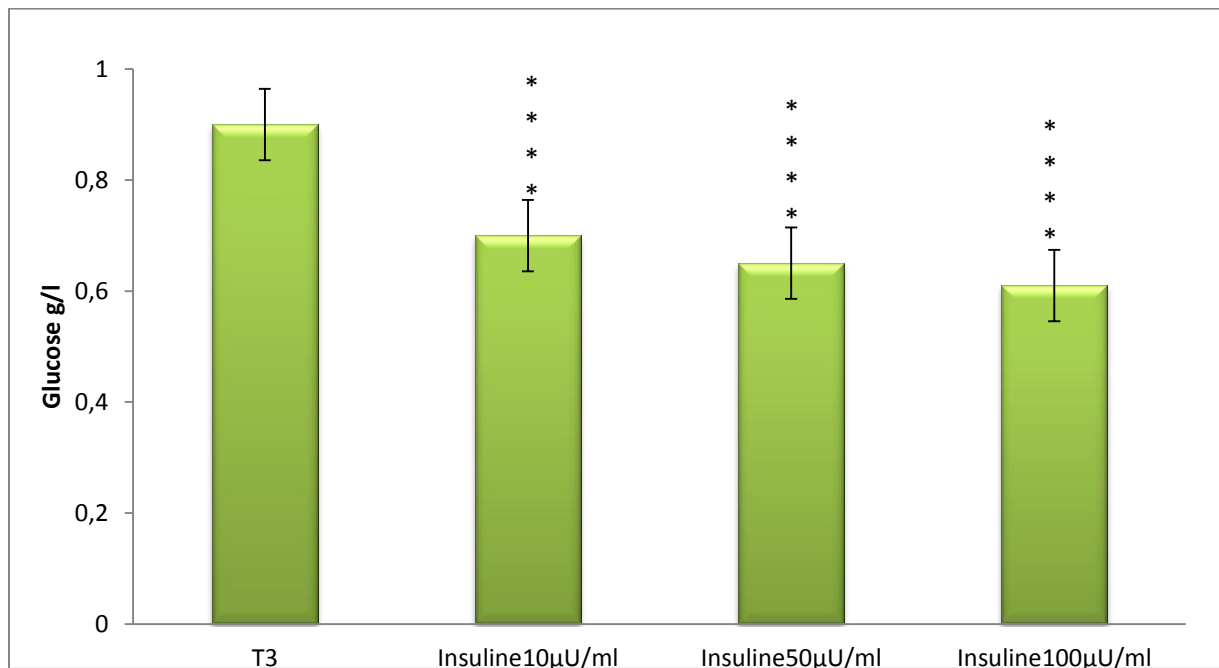


Figure 11 : Concentration du glucose restant dans le milieu d'incubation avec 1g/l du glucose en présence de différentes concentrations d'insuline pendant 60 minutes.

-Hautement significative $P < 0.0001$ (****) par rapport au témoin.

-T3 : milieu témoin contenant KRBA4% glucosé à 1g/l + les coupes fines de tissu adipeux.

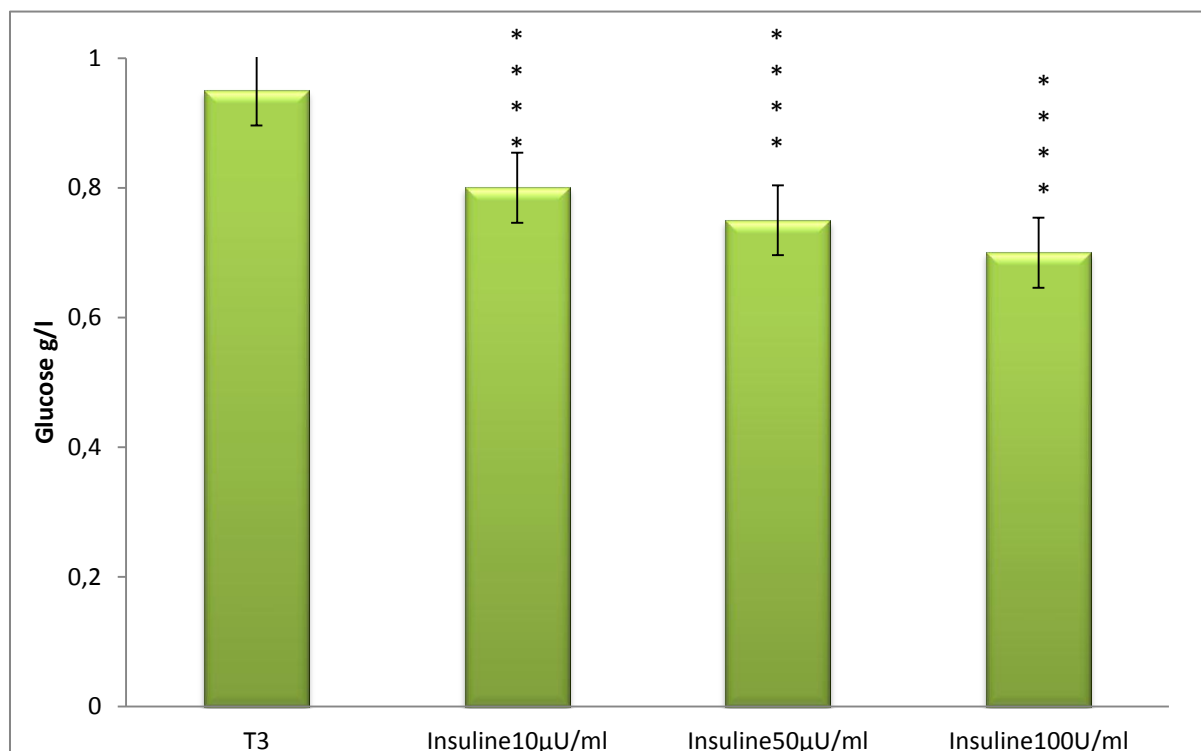


Figure 12 : Concentration du glucose restant dans le milieu d'incubation avec 1g/l du glucose en présence de différentes concentrations d'insuline pendant 90 minutes.

-Haute significativité $P < 0.0001$ (****) par rapport au témoin.

-T3 : milieu témoin contenant KRBA4% glucosé à 1g/l + les coupes fines de tissu adipeux.

Tableau 10: Concentrations de glucose restant dans le milieu d'incubation KRBA4% glucosé à 3g/l en présence de différentes concentrations d'insuline et des coupes fines de tissu adipeux pendant 30, 60 et 90 min.

Insuline μU/ml	Glucose restant dans le milieu après incubation g/l		
	30	60	90
10	2.32	2.24	2.46
50	2.23	2.1 (capté 30%)	2.28
100	2.16	2.04 (capté 32%)	2.19

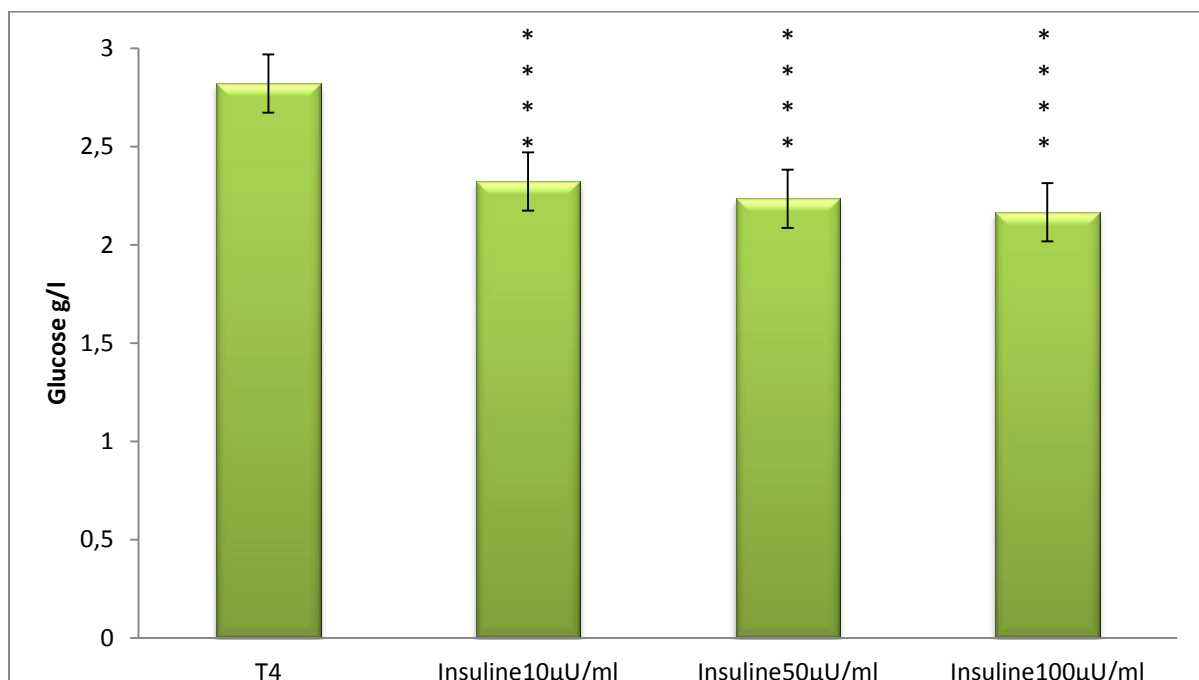


Figure 13 : Concentration du glucose restant dans le milieu d'incubation avec 3g/l du glucose en présence de différentes concentrations d'insuline pendant 30minutes.

-Hautement significative $P < 0.0001$ (****) par rapport au témoin.

-T4 : milieu témoin contenant KRBA4% glucosé à 3g/l + les coupes fines de tissu adipeux.

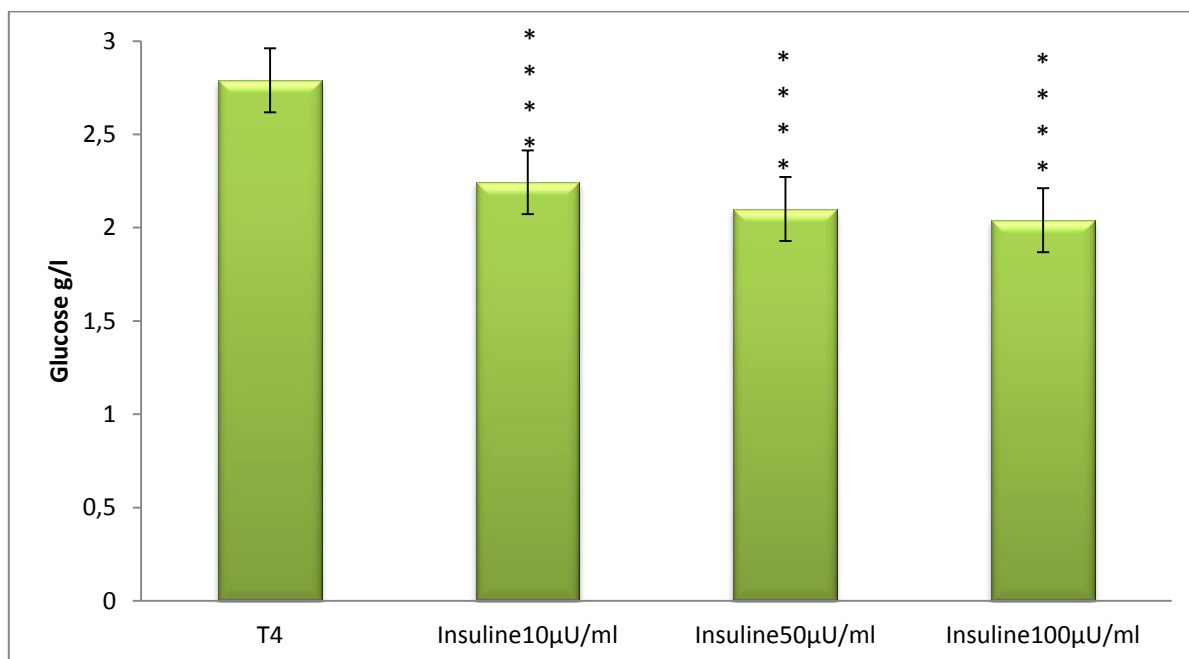


Figure 14 : Concentration du glucose restant dans le milieu d'incubation avec 3g/l du glucose en présence de différentes concentrations d'insuline pendant 60minutes.

-Hautement significative $P < 0.0001$ (****) par rapport au témoin.

-T4 : milieu témoin contenant KRBA4% glucosé à 3g/l + les coupes fines de tissu adipeux.

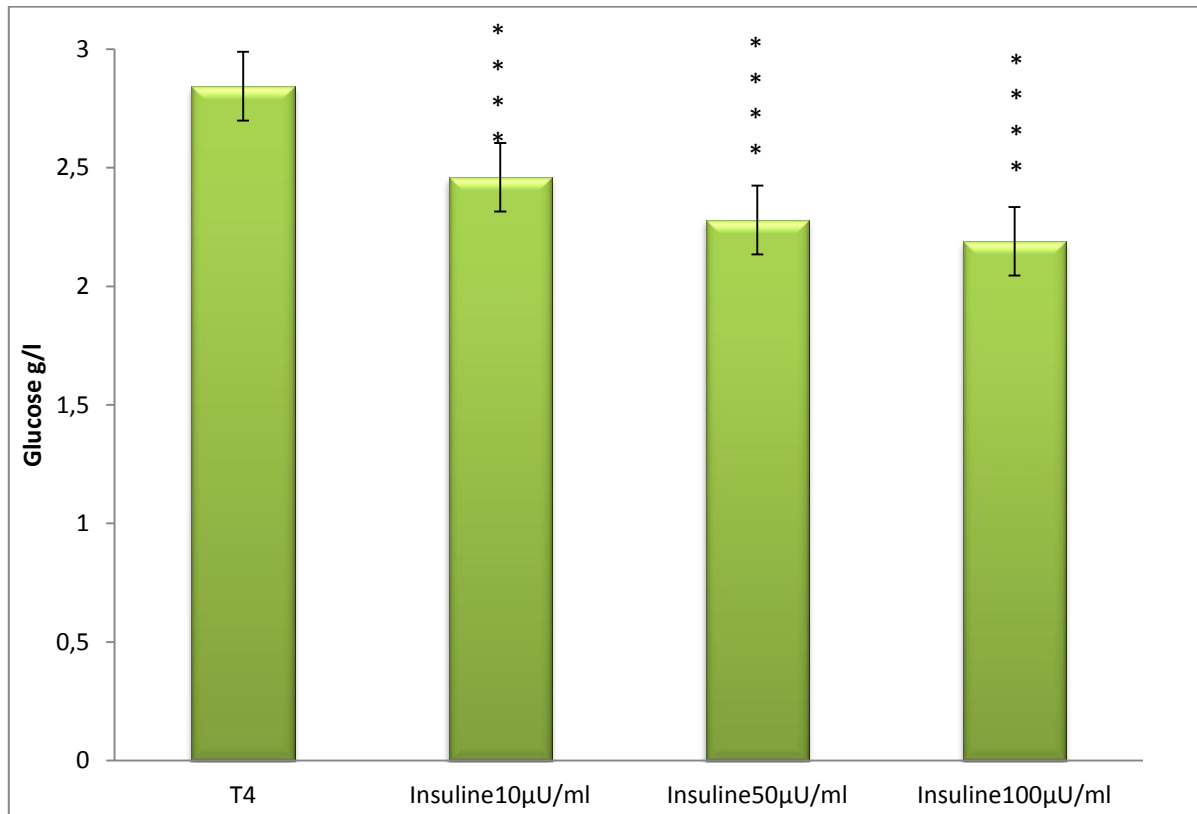


Figure 15: Concentration du glucose restant dans le milieu d'incubation avec 3g/l du glucose en présence de différentes concentrations d'insuline pendant 90minutes.

-Hautement significative $P < 0.0001$ (****) par rapport au témoin.

-T4 : milieu témoin contenant KRBA4% glucosé à 3g/l + les coupes fines de tissu adipeux.

Ces résultats montrent une diminution du glucose restant dans le milieu d'incubation qui est proportionnelle à la concentration d'insuline de 10 à 100 μ U/ml. Ce qui confirme le rôle d'insuline dans la captation du glucose par les adipocytes.

Cette diminution est hautement significative par rapport au témoin avec une consommation de glucose importante à $t=60$ min de l'ordre de 0,3 g/l(39%) et 2.04g/l(32%) à la concentration de 100 μ U/ml d'insuline dans les milieux d'incubation KRBA4%+1g/l et KRBA4%+3g/l respectivement.

Par contre à t=90min la quantité du glucose dans le milieu d'incubation augmente par rapport à t=60min et t=30 min.

4. Effet de l'extrait brut sur la captation du glucose par les coupes fines du tissu adipeux :

Tableau 11: Concentrations de glucose restant dans le milieu d'incubation KRBA4%+ glucose 1g/l pendant 30, 60 et 90min en présence de différentes concentrations d'extrait brut et des coupes fines de tissu adipeux.

Extrait brut µg/ml	Glucose restant dans le milieu après incubation g/l		
	30 min	60 min	90 min
100	0.89	0.83	0.91
200	0.85	0.8 (Capté20%)	0.89
500	0.82	0.78 (Capté22%)	0.86

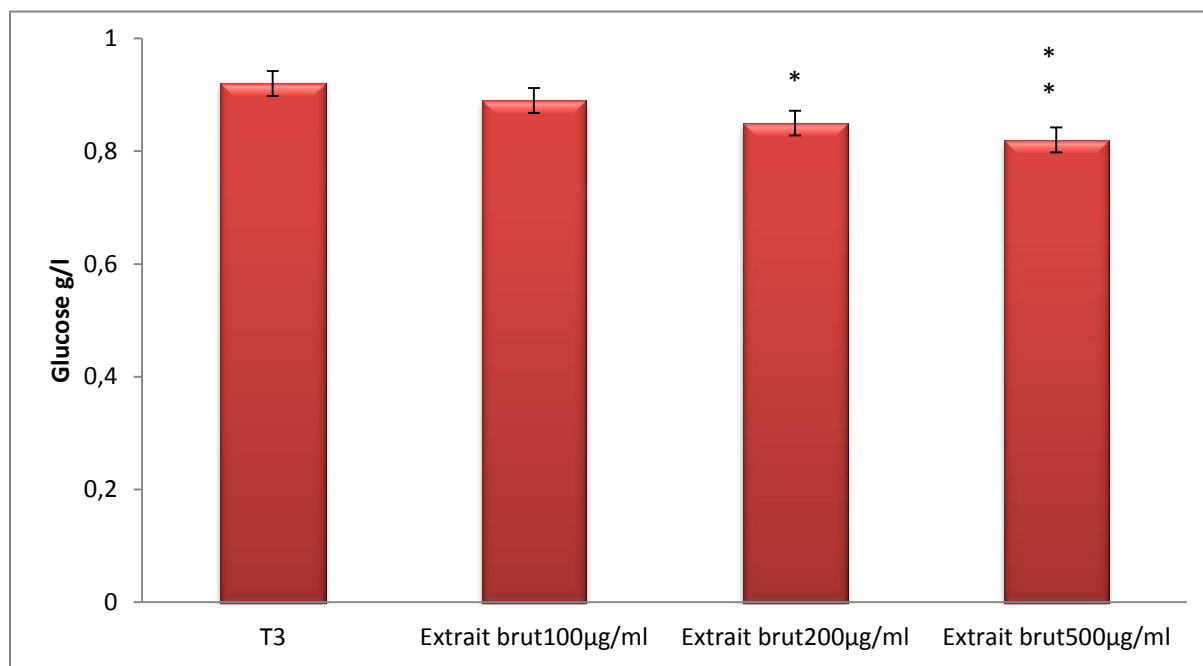


Figure 16 : Concentration du glucose restant dans le milieu d'incubation KRBA4%+1g/l en présence de différentes concentrations d'extrait brut pendant 30min.

-Peu significative $P < 0.05$ (*) par rapport au témoin.

-Significative $P < 0.01$ (**) par rapport au témoin.

T3 : milieu témoin contenant le KRBA4% glucosé à 1g/l et les coupes fines de tissu adipeux.

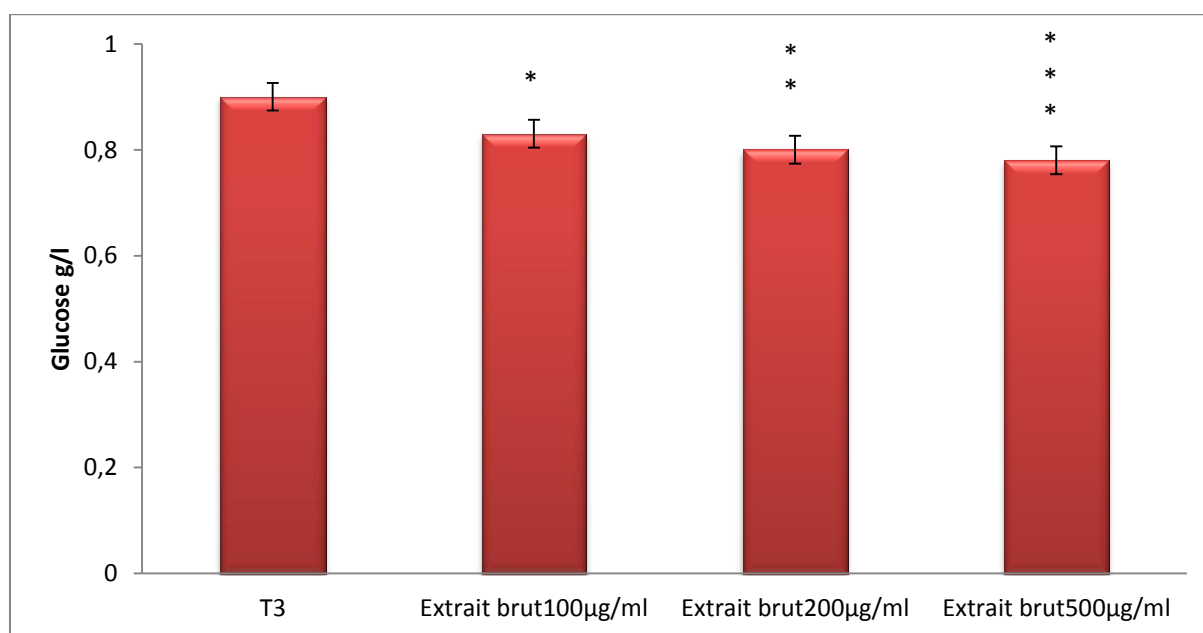


Figure 17 : Concentration du glucose restant dans le milieu d'incubation avec 1g/l du glucose en présence de différents concentrations d'extraits brute pendant 60 minutes.

-Peu significative $P < 0.05$ (*) par rapport au témoin.

-Significative $P < 0.01$ (**) par rapport au témoin.

-très significative $P < 0.001$ (***) par rapport au témoin.

T3 : milieu témoin contenant le KRBA4% glucosé à 1g/l et les coupes fines de tissu adipeux.

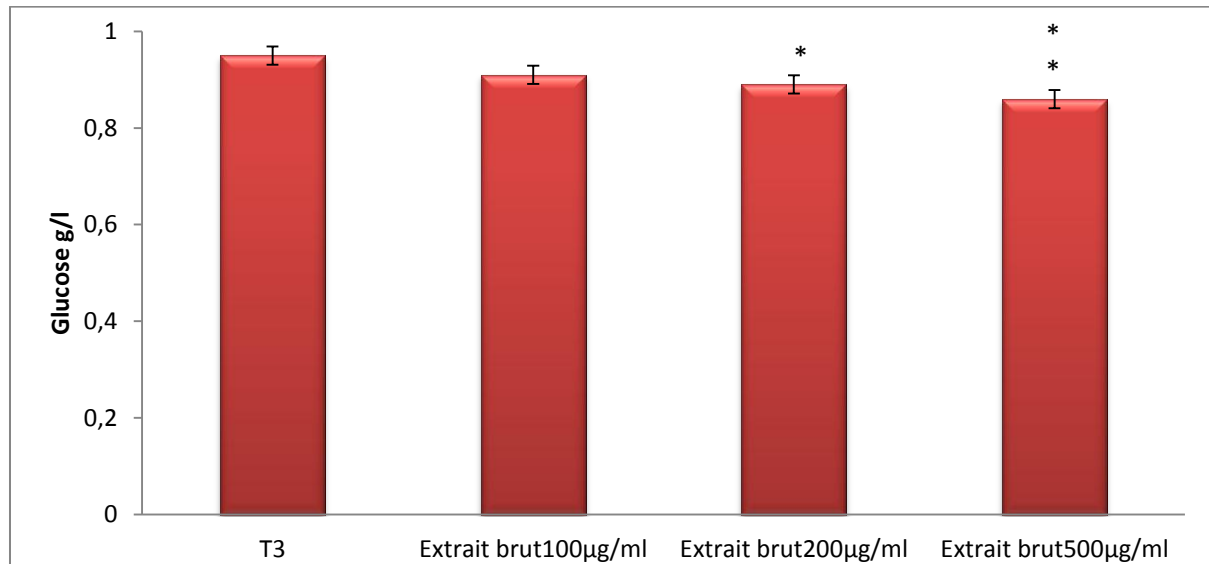


Figure 18 : Concentration du glucose restant dans le milieu d'incubation avec 1g/l du glucose en présence de différentes concentrations d'extrait brut pendant 90 minutes.

-Peu significative $P < 0.05$ (*) par rapport au témoin.

-significative $P < 0.01$ (**) par rapport au témoin.

T3 : milieu témoin contenant le KRBA4% glucosé à 1g/l et les coupes fines de tissu adipeux.

Tableau 12: Concentrations de glucose restant dans le milieu d'incubation KRBA4%+ glucose 3g/l pendant 30, 60 et 90min en présence de différentes concentrations d'extrait brut et des coupes fines de tissu adipeux.

Extrait brut µg/ml	Glucose restant dans le milieu après incubation g/l		
	30	60	90
100	2.79	2.58	2.79
200	2.67	2.49 (Capté 17%)	2.7
500	2.61	2.37 (Capté 21%)	2.64

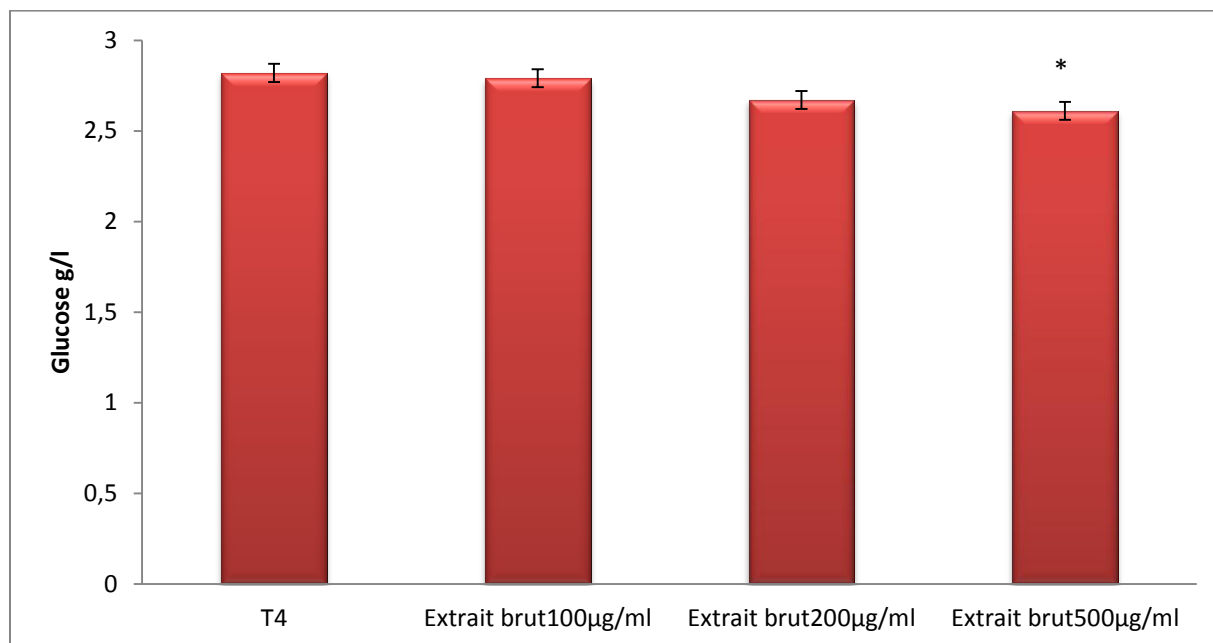


Figure 19 : Concentration du glucose restant dans le milieu d'incubation avec 3g/l du glucose en présence de différentes concentrations d'extrait brut pendant 30 minutes.

-Peu significative $P < 0.05$ (*) par rapport au témoin.

T4 : milieu témoin contenant le KRBA4% glucosé à 3g/l et les coupes fines de tissu adipeux.

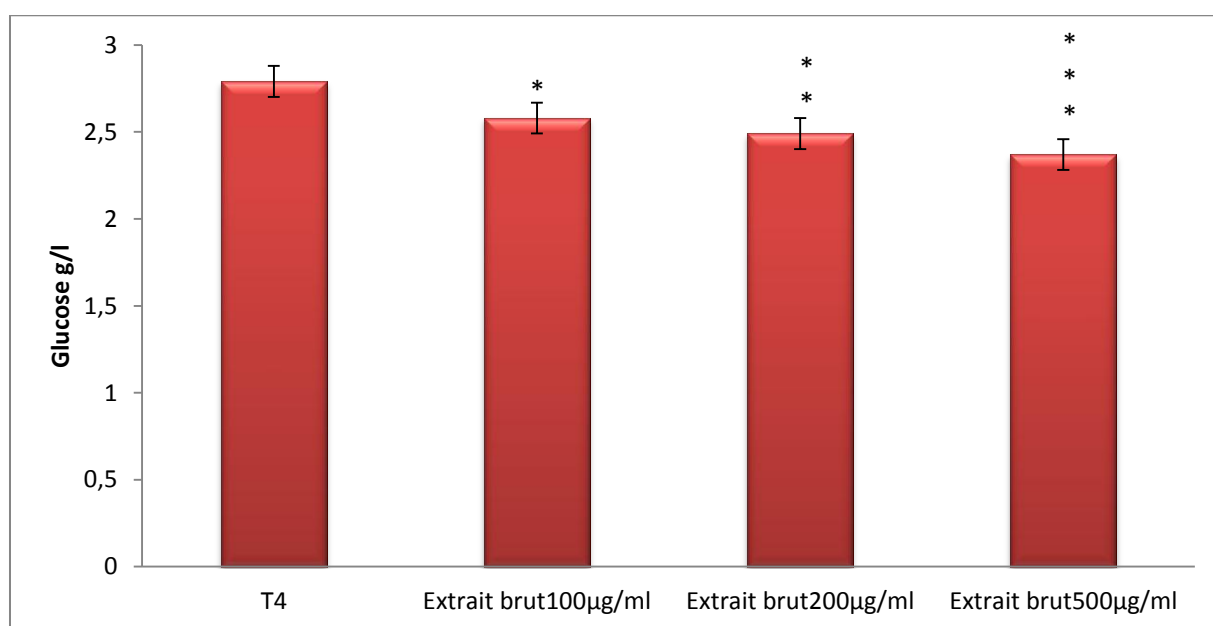


Figure 20 : Concentration du glucose restant dans le milieu d'incubation avec 3g/l du glucose en présence de différentes concentrations d'extrait brut pendant 60 minutes.

-Peu significative $P < 0.05$ (*) par rapport au témoin.

-significative $P < 0.01$ (**) par rapport au témoin.

-Très significative $P < 0.001$ (***) par rapport au témoin.

T4 : milieu témoin contenant le KRBA4% glucosé à 3g/l et les coupes fines de tissu adipeux.

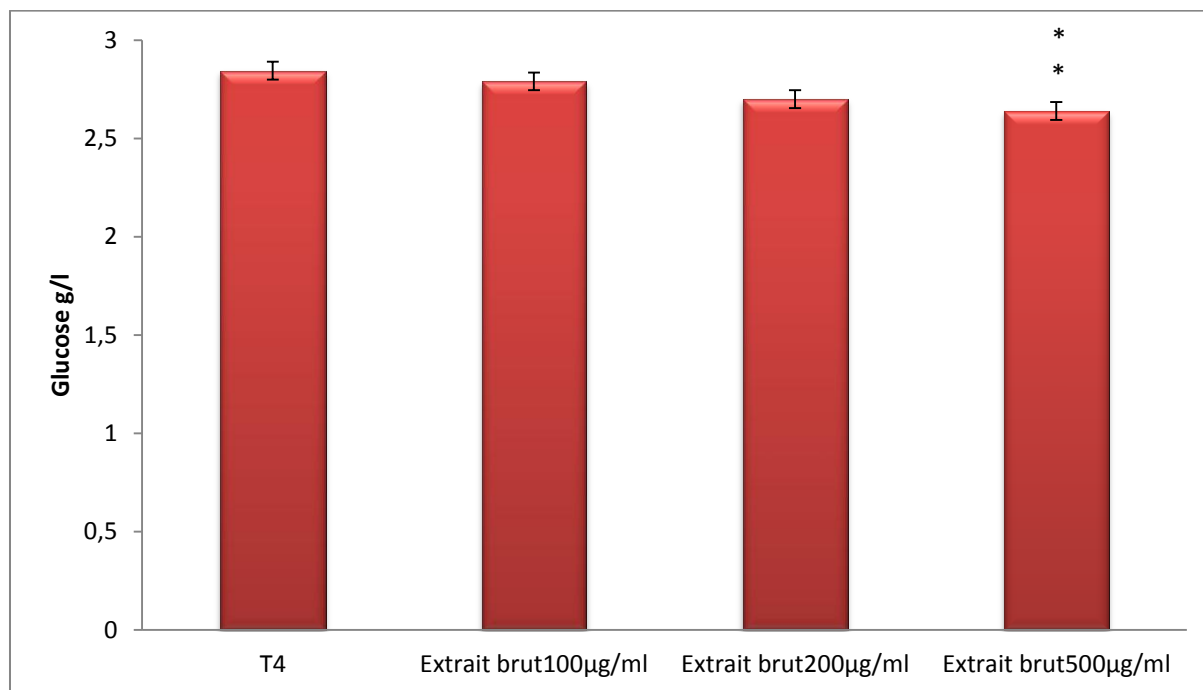


Figure 21 : Concentration du glucose restant dans le milieu d'incubation avec 3g/l du glucose en présence de différentes concentrations d'extrait brut pendant 90 minutes.

Peu significative $P < 0.05$ (*) par rapport à T4.

T4 : milieu témoin contenant le KRBA4% glucosé à 3g/l et les coupes fines de tissu adipeux.

5. Effet de l'extrait des flavonoïdes sur la captation du glucose par les coupes fines du tissu adipeux.

Tableau 13: Concentrations de glucose restant dans le milieu d'incubation KRBA4%+ glucose 1g/l pendant 30, 60 et 90min en présence de différentes concentrations d'extrait des flavonoïdes et des coupes fines de tissu adipeux.

Extrait des flavonoïdes µg/ml	Glucose restant dans le milieu après incubation g/l		
	30	60	90
100	0.89	0.82	0.9
200	0.84	0.8 (20%)	0.88
500	0.81	0.77 (23%)	0.84

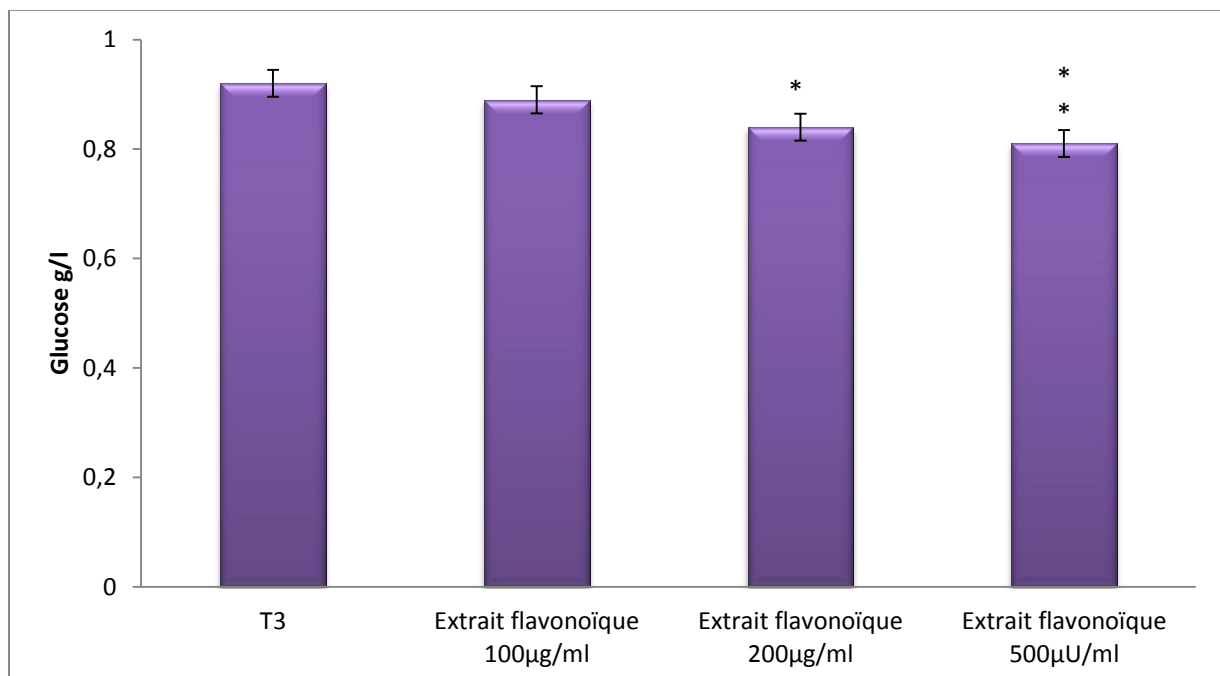


Figure 22 : Concentration du glucose restant dans le milieu d'incubation avec 1g/l du glucose en présence de différentes concentrations d'extrait des flavonoïdes pendant 30 minutes.

-Peu significative $P < 0.05$ (*) par rapport à T3.

-Significative $P < 0.01$ (**) par rapport à T3.

T3: milieu témoin contenant le KRBA4% glucosé à 1g/l et les coupes fines de tissu adipeux.

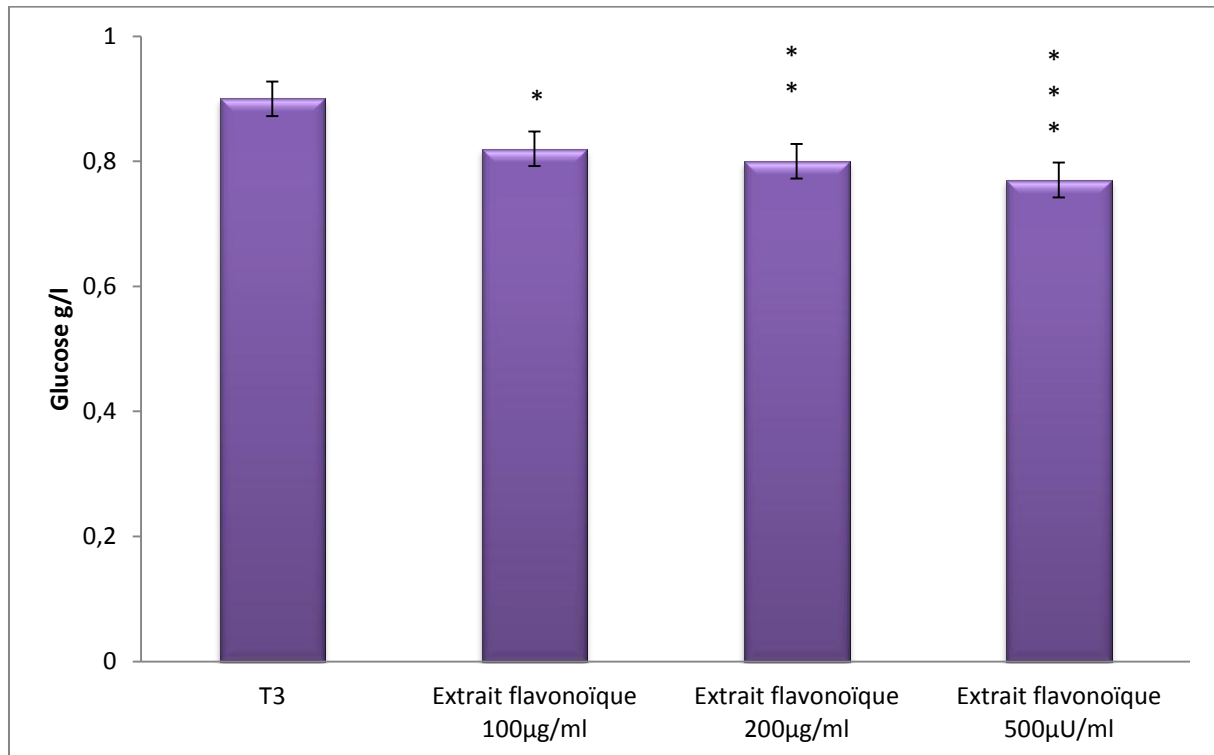


Figure 23 : Concentration du glucose restant dans le milieu d'incubation avec 1g/l du glucose en présence de différentes concentrations d'extraits de flavonoïdes pendant 60 minutes

-Peu significative $P < 0.05$ (*) par rapport à T3

-Significative $P < 0.01$ (**) par rapport à T3

-Très significative $P < 0.001$ (***)

T3: milieu témoin contenant le KRBA4% glucosé à 1g/l et les coupes fines de tissu adipeux.

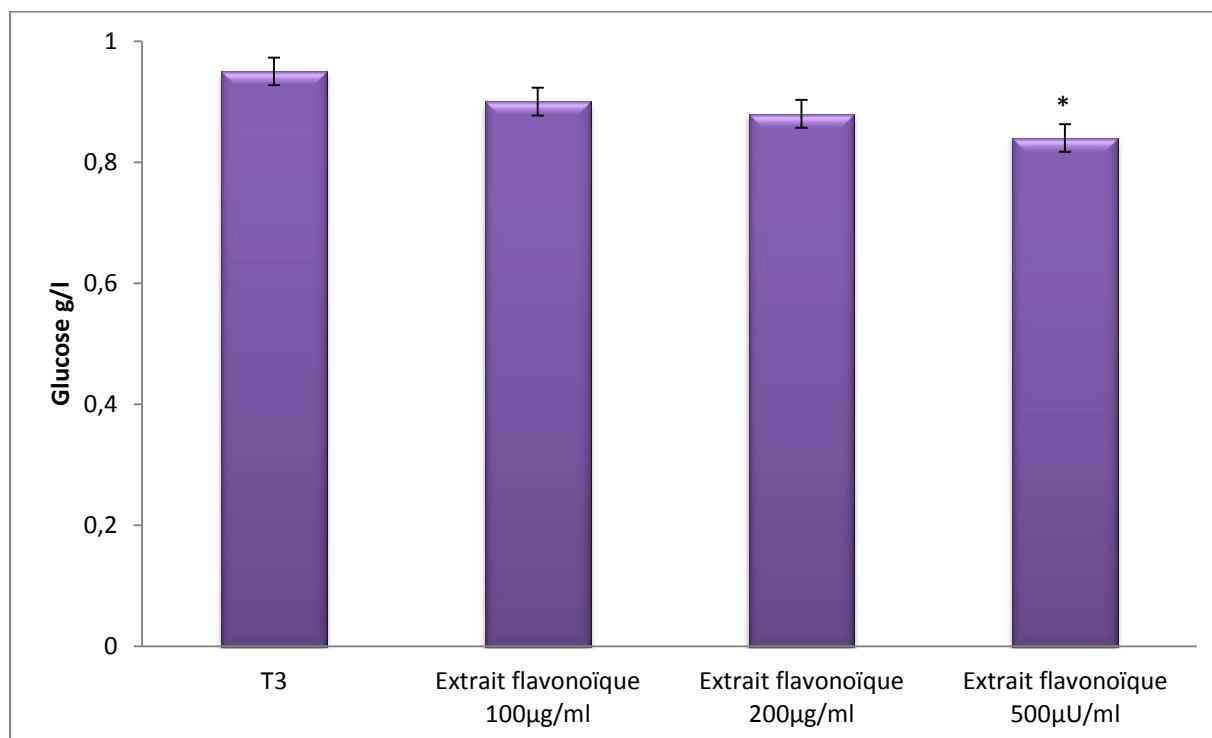


Figure 24 : Concentration du glucose restant dans le milieu d'incubation avec 1g/l du glucose en présence de différentes concentrations d'extraits des flavonoïdes pendant 90 minutes.

-Peu significative $P < 0.05$ (*)

T3: milieu témoin contenant le KRBA4% glucosé à 1g/l et les coupes fines de tissu adipeux.

Tableau 14: Concentrations de glucose restant dans dans le milieu d'incubation KRBA4%+ glucose 3g/l pendant 30, 60 et 90min en présence de différentes concentrations d'extrait des flavonoïdes et des coupes fines de tissu adipeux.

Extrait flavonoïque µg/ml	Glucose restant dans le milieu après incubation g/l		
	30	60	90
100	2.73	2.55	2.76
200	2.64	2.43 (19%)	2.7
500	2.55	2.31 (23%)	2.61

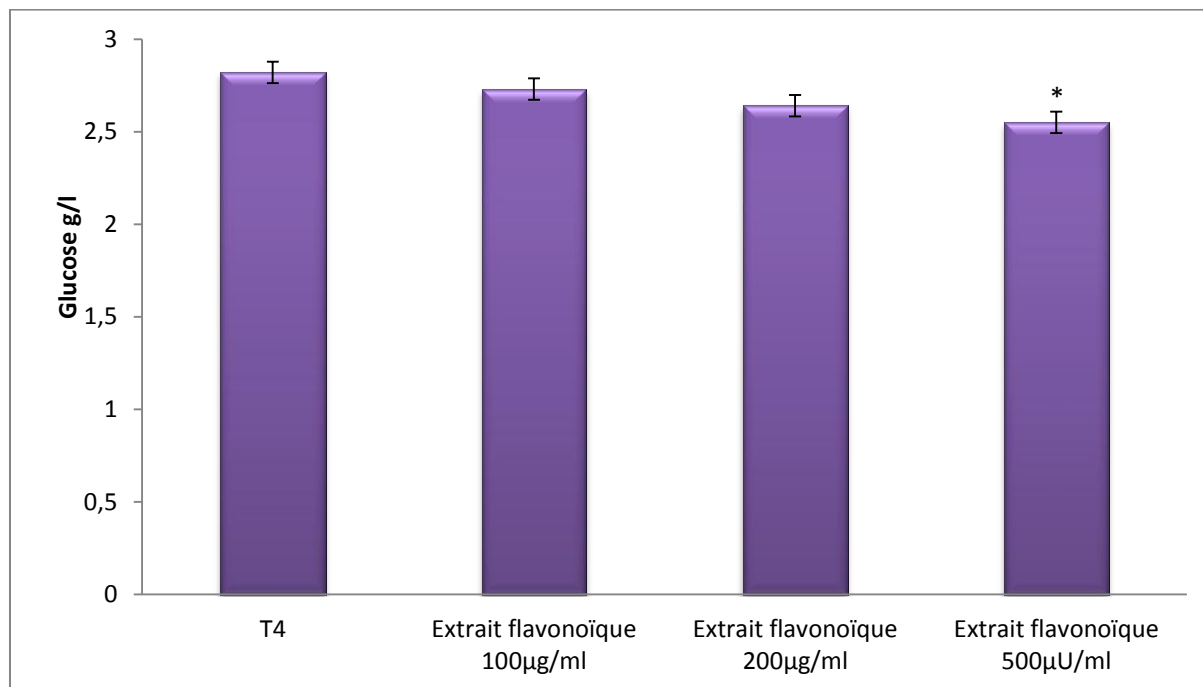


Figure 25 : Concentration du glucose restant dans le milieu d'incubation avec 3g/l du glucose en présence de différentes concentrations d'extrait des flavonoïdes pendant 30 minutes.

-Peu significative $P < 0.05$ (*)

T4: milieu témoin contenant le KRBA4% glucosé à 3g/l et les coupes fines de tissu adipeux.

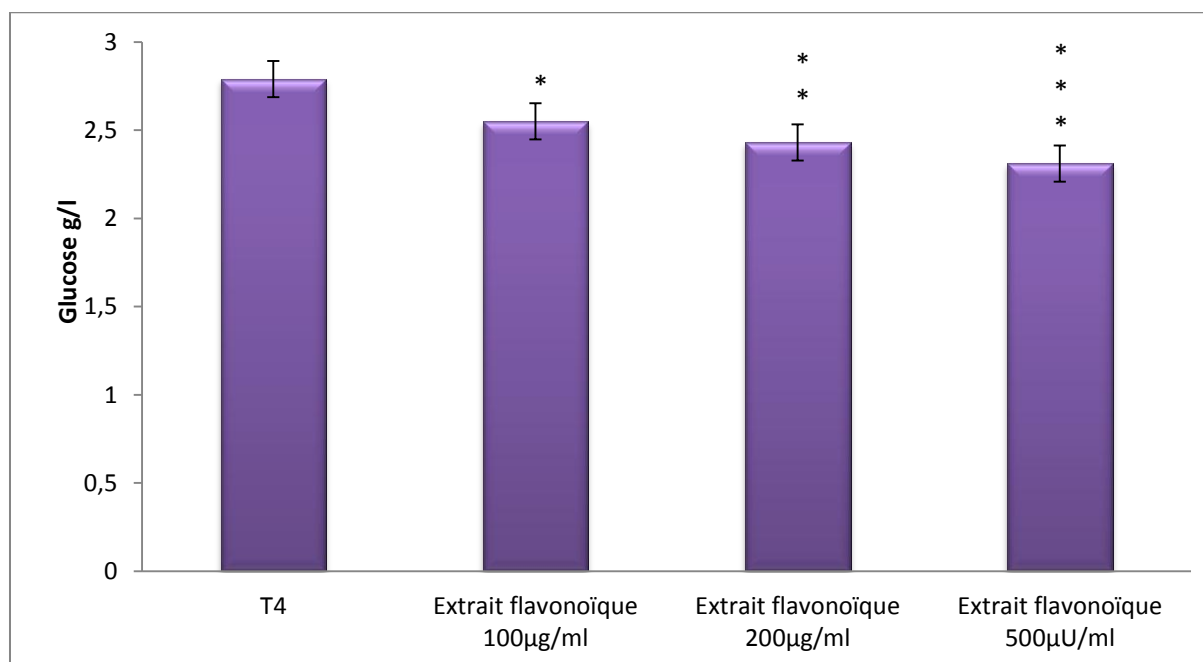


Figure 26: Concentration du glucose restant dans le milieu d'incubation avec 3g/l du glucose en présence de différentes concentrations d'extrait des flavonoïdes pendant 60 minutes.

-Peu significative $P < 0.05$ (*)

-Significative $P < 0.01$ (**)

-Très significative $P < 0.001$ (***)

T4: milieu témoin contenant le KRBA4% glucosé à 3g/l et les coupes fines de tissu adipeux.

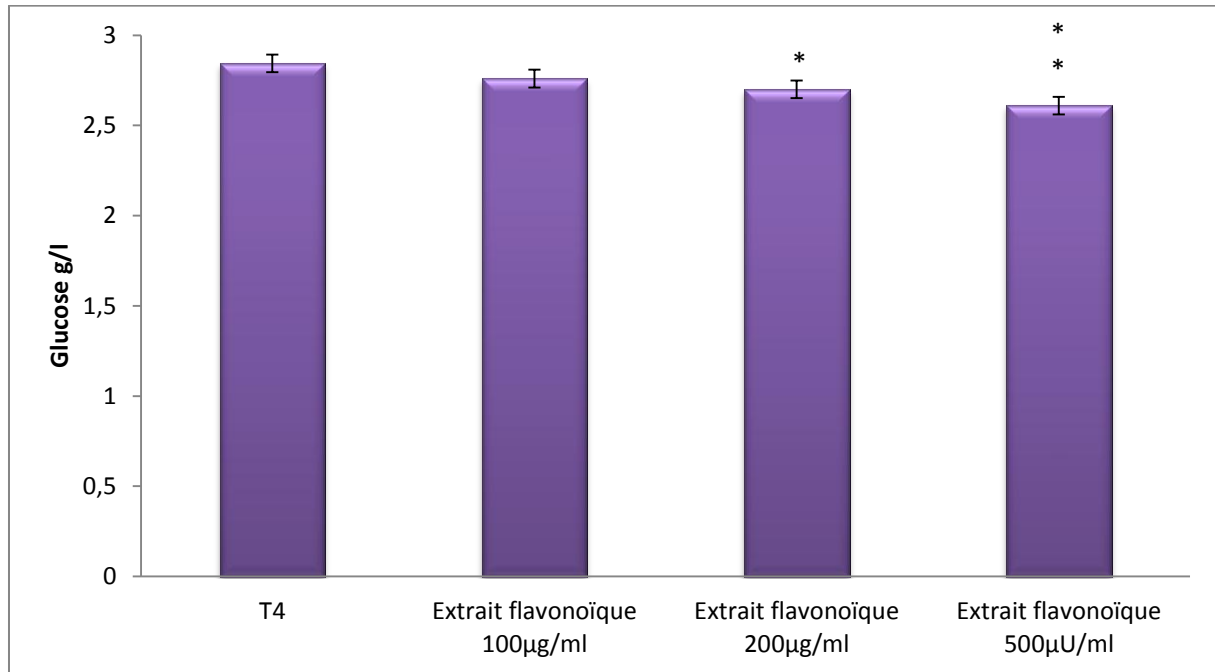


Figure 27 : Concentration du glucose restant dans le milieu d'incubation avec 3g/l du glucose en présence de différentes concentrations d'extraits des flavonoïdes pendant 90 minutes.

-Peu significative $P < 0.05$ (*)

-Significative $P < 0.01$ (**)

T4: milieu témoin contenant le KRBA4% glucosé à 3g/l et les coupes fines de tissu adipeux.

Ces résultats montrent qu'en présence de différentes concentrations d'extrait brut ou d'extrait des flavonoïdes d'*Ammodocus leucotrichus* dans les deux milieux d'incubation (KRBA4%+glucose1g/l et KRBA4%+glucose3g/l) une diminution de taux de glucose restant qui est proportionnelle à la concentration de nos extraits.

La captation de glucose est maximale à la concentration de 500µg/ml pour chaque intervalle de temps et pour les deux milieux d'incubation utilisés (KRBA4% glucosé à 1g/l et KRBA4% glucosé à 3g/l).

A cette concentration la diminution du taux de glucose restant dans le milieu est très significative à $t=60\text{min}$ par rapport au témoin avec une captation du glucose par les coupes fines de tissu adipeux de l'ordre de 22% pour l'extrait brut et 23% (0.23g/l) pour l'extrait des flavonoïdes dans le cas de milieu d'incubation (KRBA4%+glucose1g/l).

De même pour de milieu d'incubation (KRBA4%+glucose3g/l) la diminution du taux de glucose est très significative à $t=60\text{min}$ par rapport au témoin avec une captation de glucose par les coupes fines de tissu adipeux de l'ordre de 21% (0.21g/l) et 23%(2.31g/l) pour l'extrait brut et pour l'extrait de flavonoïdes respectivement.

6. Comparaison entre l'effet de l'extrait brut, l'extrait des flavonoïdes, et l'effet de l'insuline :

Les figures 28 et 29 représentent la comparaison entre l'effet de l'extrait brut, l'extrait des flavonoïdes, et l'insuline dans les deux milieux d'incubations à 1 g/l et 3g/l de glucose pendant 30, 60, et 90 minutes.

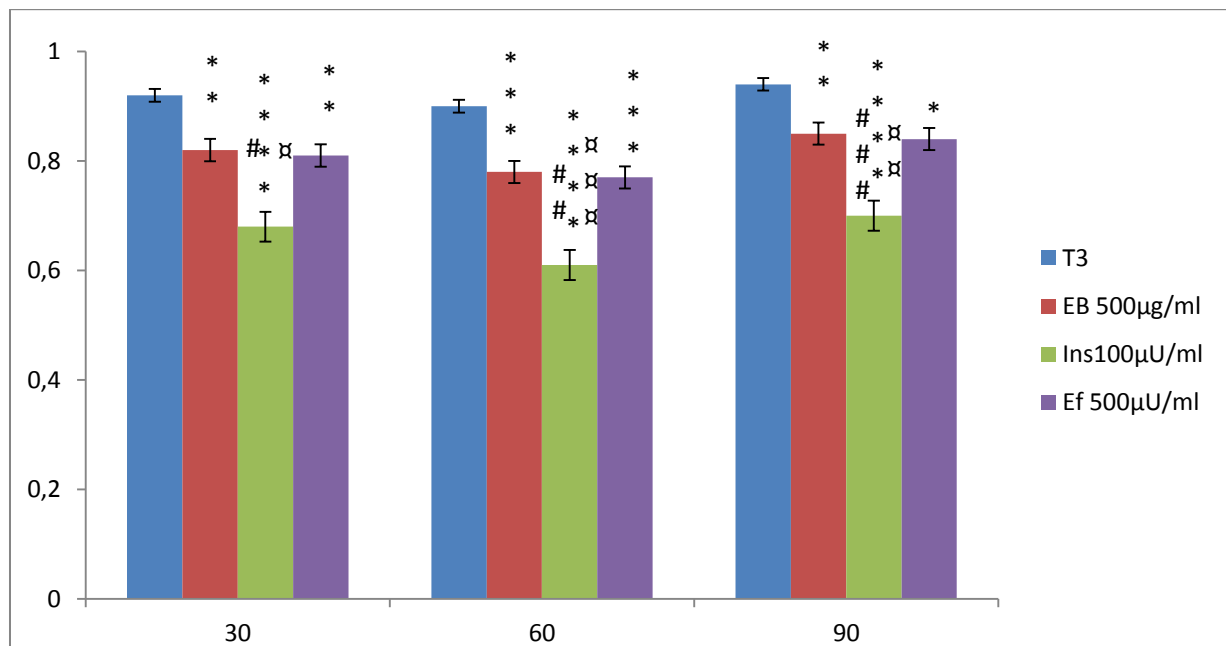


Figure 28 : Comparaison entre l'effet de l'extrait brut, l'extrait des flavonoïdes, et l'effet de l'insuline dans le milieu d'incubation glucosé à 1 g/l à 30, 60, et 90 minutes.

-Peu significative $P<0.05$ (*) par rapport au témoin (#) par rapport à l'extrait brut (α) par rapport à l'extrait des flavonoïdes.

-Significative $P<0.01$ (**) par rapport au témoin (##) par rapport à l'extrait brut (αα) par rapport à l'extrait des flavonoïdes.

-Très significative $P < 0.001$ (***) par rapport au témoin (####) par rapport à l'extrait brut (ααα) par rapport à l'extrait des flavonoïdes.

T3: milieu témoin contenant le KRBA4%glucosé à 1g/l et les coupes fines de tissu adipeux.

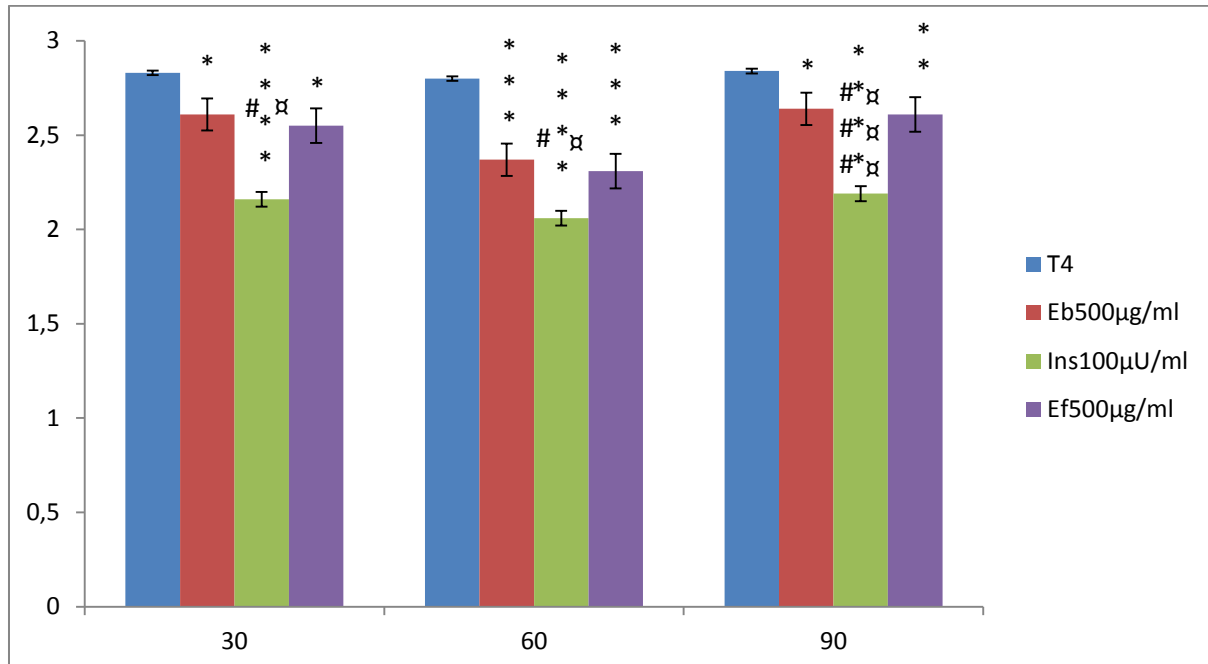


Figure 29 : Comparaison entre l'effet de l'extrait brut, l'extrait des flavonoïdes, et l'effet de l'insuline dans le milieu d'incubation glucosé à 3g/l à 30, 60, et 90 minutes.

-Peu significative $P < 0.05$ (*) par rapport au témoin (#) par rapport à l'extrait brut (α) par rapport à l'extrait des flavonoïdes.

-Significative $P < 0.01$ (**) par rapport au témoin (##) par rapport à l'extrait brut (αα) par rapport à l'extrait des flavonoïdes.

-Très significative $P < 0.001$ (***) par rapport au témoin (###) par rapport à l'extrait brut (ααα) par rapport à l'extrait des flavonoïdes.

T4: milieu témoin contenant le KRBA4%glucosé à 3g/l et les coupes fines de tissu adipeux.

La comparaison de ces résultats montre que chacun de nos extraits bruts ou flavonoïdes provoque la pénétration du glucose du milieu extracellulaire vers le milieu intracellulaire.

nous observons aussi que l'extrait des flavonoïdes a un effet similaire à l'extrait brut, or l'effet de ces deux derniers reste inférieur comparativement à l'insuline car la dose de 100µU/ml d'insuline diminue la concentration du glucose restant dans le milieu d'incubation

de manière hautement significative par rapport au témoin pour chaque intervalle de temps assurant l'entrée de 39% de glucose dans le cas de milieu d'incubation KRBA4%+1g/l et 32% dans le cas de milieu d'incubation KRBA4%+ 3g/l.

Par rapport à nos extrait à t=30 minutes l'insuline diminue peu significativement le taux de glucose restant dans les deux milieux d'incubation, par contre à t=60minutes cette diminution est significative par rapport à l'extrait brut et très significative par rapport à l'extrait des flavonoïdes dans le cas de milieu d'incubation glucosé à 1g/l, et peu significative par rapport au deux extraits dans le cas de milieu d'incubation glucosé à 3g/l.

A t=90min la diminution est très significative par rapport à l'extrait brut et significative par rapport à l'extrait des flavonoïdes dans le cas du milieu KRBA+ glucose 1g/l et très significative par rapport au deux extraits dans le cas de milieu d'incubation glucosé à 3g/l.

Discussion

Discussion :

Ammodaucus leucotrichus est une plante du Sud-Ouest de l'Algérie largement utilisée par les gens de cette région pour le traitement de plusieurs maladies dont le diabète, Bien que la médecine traditionnelle ait fait état de quelques usages thérapeutiques, il n'y a aucune évidence scientifique claire de cette plante encore moins des conditions d'extraction de ses substances bioactives qui ont un effet sur la captation du glucose. Il est nécessaire donc de préparer des extraits de cette plante et de tester leurs effet sur la captation de glucose.

Dans cette étude nous avons préparé des extraits hydrométhanolique et acétate d'éthyle de la partie aérienne d'*Ammodaucus leucotrichus* qui ont été testé *in vitro* sur la captation du glucose au niveau des adipocytes isolées des rats Wistar femelles.

Les résultats obtenus par CCM ont révélés que 2 systèmes à base de $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$ (75/15/0.1) (v/v/v) et $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{EtOAc}/\text{H}_2\text{O}$ (30/40/30/0.1) ont permis une bonne séparation dont quelques taches correspondent à la quercétine et la catéchine. Nous observons que parmi les flavonoïdes présents dans nos extraits nous identifions la quercétine et la catéchine.

Dans une étude phytochimique par CCM de l'extrait d'acétate d'éthyle d'*Ononis angustissima* les mêmes systèmes $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$ (75/15/0.1) et (65/25/10/0.2) $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{EtOAc}/\text{H}_2\text{O}$ ont été utilisé, les résultats de l'analyse chromatographique ont révélés 8 taches pour le système $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$ et 11 taches pour le système $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{EtOAc}/\text{H}_2\text{O}$ avec des taches qui correspond à la catéchine et la quercétine (Adjdir, 2013).

Pour le test de la captation du glucose, parmi les différentes concentrations utilisées dans notre étude, les résultats montrent qu'une dose de 500µg/ml d'extrait brut permet la captation d'environ 22 % et 21% pour les milieux de glucose à 1g/l et 3g/l respectivement à 60 min La même dose d'extrait de flavonoïdes permet la captation d'environ de 23% et 22% pour les milieux KRBA4% glucosés à 1g/l et 3g/l respectivement.

La meilleure captation a été obtenue durant 60min tant pour nos extraits que pour l'insuline. A t=90min on a remarqué qu'il y avait une diminution de taux de glucose capté pour les deux extraits brut et flavonoïque et même pour l'insuline ce cas a été confirmé par une étude faite par Gerald *et al*,1989 sur la résistance à l'absorption de glucose stimulée par l'insuline

dans les adipocytes isolés à partir de rats spontanément hypertendus et normo tendus ils ont remarqués une diminution au cours du temps de la captation de glucose par les adipocytes isolées des deux rats et qui était très importante pour les rats hypertendus cet effet a été expliqué par une perte de sensibilité du système de transport de glucose adipocytaire à l'insuline.

En utilisant le même protocole expérimental et dans les mêmes conditions l'effet de l'extrait d'alcaloïdes totaux d'épicarpe de *Citrullus colocynthis* a été testé *in vitro* sur des coupes fines de tissu adipeux prélevées des rats Wistar et incubées dans des milieux d'incubation KRBA4%+0.54g/l et KRBA4%+2g/l.

Les résultats montrent qu'en présence de différentes concentrations de cet extrait (50µg/ml, 75µg/ml et 100µg/ml) une diminution du taux de glucose restant dans les deux milieux qui est maximale à 75µg/ml avec une captation de l'ordre de 20.3 et 15 à t=30min (Toul, 2009).

Une étude sur l'effet de l'insuline sur la cinétique de consommation du glucose au niveau des coupes fines du tissu adipeux isolées des rats Wistar normaux incubées dans un milieu d'incubation KRBA4%+1g/l. En présence de différentes concentrations (1, 10, 50, 100, 200 300µU/ml) d'insuline durant 90minutes à 37° C les résultats de cette étude révèle une diminution du taux de glucose significative à 100 µU/ml et très significative soit de 0.09 g/L (16.66%) en présence de 200 et 300µU/ml d'insuline pendant 60 minutes d'incubation à 37°C (Ardjani, 2011)

Des études *in vivo* ont été réalisées sur le modèle de souris DIO (diet induced obesity). L'extrait éthanolique du *Rhododendron groenlandicum* a été incorporé à la nourriture grasse (35% d'apport calorique lipidique) à trois doses différentes (125, 250 et 500 mg / kg) sur une période de 8 semaines. Des tissus cibles de l'insuline (foie, muscle squelettique et tissus adipeux) ont été récoltés afin de faire des analyses de type western blot, ces résultats montrent que *Rhododendron groenlandicum* stimule la voie de l'insuline via la phosphorylation de l'Akt et a augmenté le contenu protéique en Glut 4 dans les muscles des souris traitées et une baisse du facteur de transcription, SREBP-1, impliqué dans la lipogénèse de novo, ainsi qu'une diminution de l'inflammation hépatique.

L'étude in vivo a montré que le traitement avec *Rhododendron groenlandicum* chez les souris DIO réduit le gain de poids de 6%, diminue l'hyperglycémie de 13%.

Afin d'identifier les composés actifs responsables de cette activité antidiabétique l'extrait brut (éthanolique) a été Séparé par Chromatographie sur gel de silice, neuf fractions chimiquement distinctes ont été obtenues et l'activité adipogènèse a été trouvée dans le RGE-Fr 5.

L' HPLC a ensuite été utilisée pour isoler Les constituants de la fraction, la quercétine, la catéchine et l'épicatéchine se sont avérées être présentes et leur identité a été confirmée par la spectroscopie UV et de masse.

Les résultats démontrent ainsi que la quercétine, la catéchine et l'épicatéchine représentent les composés actifs responsables de l'adipogènèse (**Ouchfoun, 2011**).

Dans une autre étude des extraits au méthanol et à l'acétate d'éthyle ont été préparé à partir de feuilles de *Gnetum africanum* et de *Gnetum buchholzianum*, les résultats de screening phytochimique montrent que les deux espèces de Gnetum ont en commun les flavonoïdes les tanins et les glycosides. Ensuite l'effet de ces extraits a été testé sur la réduction de l'hyperglycémie provoquée sur des rats

Les résultats révèlent que les extraits au méthanol et à l'acétate d'éthyle réduisent significativement le taux de glucose sanguin des rats normaux et des rats soumis à une hyperglycémie permanente par traitement à la streptozotocine. En effet au bout de 7 jours, la glycémie des rats traités par l'extrait au méthanol est passée de $2,38 \pm 0,70$ g/L à $0,46 \pm 0,42$ g/L et celui de l'extrait à l'acétate d'éthyle, de $2,33 \pm 0,47$ à $0,39 \pm 0,70$ g/L. Dans le même temps, les valeurs obtenues avec l'hypoglycémiant de référence (le glibenclamide) sont passées de $1,90 \pm 0,23$ à $0,70 \pm 0,19$ g/L. Cette action serait liée à leur composition chimique caractérisée par la présence des flavonoïdes, des saponines et des glucosides. L'effet de ces extraits rappelle celui de certains insulinosécréteurs (**Mathieu et al., 2014**).

En utilisant les mêmes doses et dans les mêmes conditions une étude a été tester sur l'effet des extraits bruts et des flavonoïdes de *Traganum nudatum* sur la captation de glucose par des coupes fines de tissu adipeux isolées de rat Wistar. Les résultats que la dose de 500µg/ml des extraits bruts et de flavonoïdes, a donné la meilleure captation du glucose, de l'ordre de 0.23µg/ml (23%) dans le milieu d'incubation (1g/l), et de 0.62µg/ml (20.6%) dans le milieu d'incubation (3g/l) pour l'extrait brut , et pour l'extrait de flavonoïdes la captation est de

l'ordre de 0.24µg/ml (24%) dans le milieu d'incubation (1g/l), et de 0.7µg/ml (23.3%) dans le milieu d'incubation (3g/l), pendant 60 minutes.

Ces résultats sont très proches de celles de notre étude, nous pouvons dire alors que l'effet de cette plante est similaire à l'effet d'*Ammodaucus leucotrichus* sur la captation de glucose par les coupes fines de tissu adipeux (**Bouras, 2017**).

Conclusion

A la lumière de ces résultats nous pouvons dire que l'extrait brut et l'extrait des flavonoïdes d'*Ammodaucus leucotrichus* à une dose de 500µg/ml stimulent de manière très significative la captation du glucose par les coupes fines de tissu adipeux isolées des rats Wistar, et par conséquent, révèlent un effet insuline like sur la captation du glucose.

Or ces résultats restent toujours des résultats préliminaires, car des expériences complémentaires doivent être menées afin de pouvoir modifier l'avenir du traitement du diabète, tels que :

- Identification, caractérisation et séparation des différentes fractions des flavonoïdes par les méthodes d'analyses chimiques : chromatographie sur colonne, HPLC, CPG, RMN,...
- Purification de chaque fraction à part, afin de déterminer la ou les fractions responsables de cet effet.
- Réalisation des études *in vivo* sur des rats normaux et diabétiques.
- Dosage d'autres paramètres plasmatiques : Triglycémie, HDL- cholestérol, l'insulinémie, l'hémoglobine glycosylé....
- Etude sur la toxicité de cette plante.
- Elucidation du mécanisme moléculaire de nos extraits au niveau des cellules adipocytaires.

Références bibliographiques

1. **Adams R.P., 1995.** «Identification of Essential Oils Components by Gas Chromatography-Mass Spectroscopy», Allured Publ., Illinois.
2. **Adjdir Sara, 2013.** Mémoire de master en biochimie appliquée, université de Tlemcen. Etude phytochimique et évaluation de l'activité antiradicalaire des différents extraits d'*Ononis angustissima*.
3. **American Diabetes Association, 2015.**
4. **Andreelli F. et Girard J., 2009.** Métabolisme énergétique et physiologie, régulation de l'homéostasie glucidique coordonné par André Grimaldi ; traité de diabétologie, 2e édition Flammarion médecine-sciences Paris, P 24-32-33.
5. **Ardjani Amina, 2011.** Mémoire de master en biochimie appliquée, université de Tlemcen. Optimisation de l'action de l'insuline sur la captation du glucose des adipocytes en culture.
6. **Association des médecins d'Oran pour la prévention, 2012.** Le diabète et ses complications.
7. **Azzi Rachid, 2013.** Thèse de doctorat en biologie. Contribution à l'étude de plantes médicinales utilisées dans le traitement traditionnel du diabète sucré dans l'Ouest algérien : enquête ethnopharmacologique; Analyse pharmaco-toxicologique de Figuier (*Ficus carica*) et de coloquinte (*Citrullus colocynthis*) chez le rat Wistar.
8. **Bastard J.P., 2004.** Résistance à l'insuline et expression des gènes du tissu adipeux chez l'homme. Ann Biol Clin, (62):25-31.
9. **Belboukhari N., Bourmita Y., Cheriti A., Mir K., 2013.** Profil phytochimique et évaluation médicinale d'une préparation traditionnelle saharienne. PhytoChem & BioSub Journal, (7):2
10. **Beltran E, 1983.** Tejera, Candollea 38 ,132.
11. **Bhowmik A., Khan L.A., Akhter M., Rokeya B., 2009.** Studies on the antidiabetic effects of *Mangifera indica* stem-barks and leaves on nondiabetic, type 1 and type 2 diabetic model rats. Bangladesh J. Pharmacol.; (4):110-114.

- 12. Bouras Farah, 2017.** Mémoire de master en biochimie molécules bioactives, université de Tlemcen. Contribution à la recherche de l'effet d'extrait brut et d'extrait des flavonoïdes de *Traganum nudatum* sur la captation du glucose par des coupes fines de tissu adipeux isolées de rat Wistar.
- 13. Brigitte maynaud-charpentier, 2001.** S'entraîner aux cas concrets en endocrinologie-diabétologie, édition Masson, P 20.
- 14. Burnol A.F., 2009. Mécanisme d'action de l'insuline** coordonné par Andri Grimaldi 2^e édition Flammarion médecine-sciences Paris, P 74-75
- 15. Chondronikola M., Volpi E., Borsheim E., Porter C., Annamalai P., Enerbäck S., Lidell M.E., Saraf M.K., Labbe S.M., Hurren N.M., Yfanti C., Chao T., Andersen C.R., Cesani F., Hawkins H., Sidossis L.S., 2014.** Brown adipose tissue improves whole-body glucose homeostasis and insulin sensitivity in humans. **63(12):4089-99.**
- 16. Cushnie T.P. Tim and Lamb Andrew J., 2005.** Antimicrobial activity of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*, (26): 343-356.
- 17. Doucet Jean., Bauduceau Bernard., Blicklé Jean-Frédéric., 2011.** Les inhibiteurs de la dipeptyl-peptidase-4(DPP-) chez le patient âgé diabétique de type 2. Vol 9(2) : 157-62.
- 18. Dray C., Knauf C., Daviaud D., Buleon M., Boucher J., Cani P.D., Waget A., Guigne C., Carpenne C., Burcelin R., Castan-Laurell I, Valet P., 2008.** L'apeline stimule l'utilisation de glucose chez les souris normales et les souris obèses et insulino-résistantes, volume 34, n° S3.
- 19. El-Haci Imad Abdelhamid, 2015. Thèse de doctorat.** Etude phytochimique et activités biologiques de quelques plantes médicinales endémiques du sud de l'Algérie : *Ammodaucus leucotrichus* Coss & Dur, *anabasis aretioides* Moq Coss & Dur et *limonisastrum feei* (Girard) Batt.
- 20. El-Ouaghli Andrea et Nauck Michael A., 2004.** Le GLP-1 : de nouveaux traitements pour le diabète de type 2. Vol 49(2): 24-26.

- 21. Emerenciano V.P., Barbosa K.O., Scotti M.T et Ferriro M.J.P, 2007.** Self organising maps in chemotaxonomic studies of Asteraceae : a classification of tribes using flavonoid data. *Journal of brazilian chemical society.*, 18(5) : 891-899.
- 22. Erdman J.W., Balentine J. D., Arab L., Beecher G., Dwyer J. T., Folts J., Harnly., Hollman J. P., L –Keen C., Mazza G., Messina M., Scalbert A., Vita J., Williamson G. et Burrowes J., 2007.** Flavonoids and heart health : Proceeding of the ILSI North America flavonoids workshop, may 31-june 1, 2005, Washington. *Journal of Nutrition.*, 137 (3 suppl): 718 -737.
- 23. Farnsworth N.R. et Soejarto D.D., 1985.** Potential consequence of plant extinction in the United States on the current and future availability of prescription drugs. *Economic Botany* (39): 231-240.
- 24. Fontbonne A. et Simon D., 2004.** Epidémiologie du diabète de type 2, coordonné par Grimaldi A. EMC reference, 2^e édition Flammarion médecine-sciences paris, p 23-34.
- 25. Fournier P, 1999.** Les plantes médicinales et vénéneuses de France. *Connaissance et mémoires européennes* : 49-53.
- 26. Gerald M.R, Helen C., Brin B., et Salman A., 1989.** Resistance to Insulin –Stimulated Glucose Uptake in Adipocytes Isolated From Spontaneously hypertensive Rats.,(38):1155-1160.
- 27. Gholap S., Kar A., 2004.** Hypoglycaemic effects of some plant extracts are possibly mediated through inhibition in corticosteroid concentration. *Pharmazie*; (59): 876-8.
- 28. Grignon Georges, 2002.** Précis de cytologie et d’histologie, édition Ellipses Paris, p75.
- 29. Harborne J.B., Williams C., 2000.** Advances in flavonoïdes research since 1992, *Phytochemistry*,(55):481-504.
- 30. Hartemann Agnès et Lozeron Pierre., 2015.** Les neuropathies périphériques chez les diabétiques. P42.

31.Hennen Georges, 2001. Endocrinologie, éditions De Boeck université, sciences médicales série de Claude Bernard P130-145.

32.Hôpital européen Georges Pompidou(HEGP), 2015. Assistance Publique-Hôpitaux de paris Service de diabétologie du Professeur Jean-Jacques ALTMAN.

33.International diabetes federation(IDF), 2015.

34.Iovino A. Scheen A.J., 2010. Moduler l'exposition tissulaire au cortisol, nouvelle perspective pour réduire le risque métabolique associée à l'obésité. 65(3):140-146.

35.Ishikawa A., Yamashita H., Hiemori M., Inagaki E., Kimoto M., Okamoto M., Tsuji H., Memon A.N., Mohammadi A., Natori Y., 2007. Characterization of inhibitors of post prandial hyperglycemia from the leaves of *Nerium indicum*. Journal of Nutritional Science and Vitaminology; 53:16-173.

36.Kamalakkannan N., Prince P.S., 2005. The effect of *Aegle marmelos* fruit extract in streptozotocin diabetes: A histopathological study. Journal of Herbal Pharmacotherapy,(5): 87-98.

37.Kojima I., Umezawa K., 2006. Conophylline: A novel differentiation inducer for pancreatic β cells.The International Journal of Biochemistry & Cell Biology, (38): 923-930.

38.Lamba S.S., Buch K.Y., Lewis H., Lamba H.J., 2000. Phytochemicals as potential hypoglycemic agents. Studies in Natural Products Chemistry, (21): 457- 496.

39.Li Y., Wen S., Kota B.P., Peng G., Li G.Q., Yamahara J., Roufogalis B.D., 2005. *Punica granatum* flower extract, a potent α -glucosidase inhibitor, improves postprandial hyperglycemia in Zucker diabetic fatty rats. J. Ethnopharmacol, 99 (2): 239-244.

40.Lubertzki Jean., Chanson Phillippe., Guillausseau Pierre-Jean., 2000. Livre de l'interne endocrinologie et maladies métabolique,P366.

- 41. Marieb E.N., 1999.** Anatomie et physiologie humaines. Édition du Renouveau Pédagogique Inc. ed, Saint-Laurent: The Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc.
- 42. Marsaudon Eric, 2011.** Le diabète connaître, comprendre, prévenir, les 200 questions clés pour mieux vivre, éditions Ellébore, P19-20-23-33-34-44-45-115-116.
- 43. Monnier Louis, 2014.** Diabétologie, 2^e édition Elsevier Masson, Paris, p254-215-216- 217.
- 44. Marles R.J., Farnsworth N.R., 1995.** Antidiabetic plants and their active constituents. *Phytomedicine* (2): 13-189.
- 45. Mathieu N., Patricia K.D., Moise N.A., Inocent G., Clergé T., 2014.** Evaluation de l'activité antidiabétique des extraits de feuilles de *Gnetum africanum* et *Gnetum bulchozianum* (Gnétacées). Volume 15, 60-65.
- 46. Maurice N., 2004.** De l'herboristerie d'antan à la phytothérapie moléculaire du XXI^e siècle. *le naturel en gros. Quebec.*
- 47. Mohammadi J., Naik P.R., 2008.** Evaluation of Hypoglycemic effect of *Morus alba* in an animal model. *Indian J of Pharmacoly*; 40(1):15-18.
- 48. Mukherjee P.K., Maiti K., Mukherjee K., Houghton P.J., 2006.** Leads from Indian medicinal plants with hypoglycemic potentials. *J. of Ethnopharmacol.*, (106): 1-28.
- 49. Nammi S., Boini M.K., Lodagala S., Behara R.B.S., 2003.** The juice of fresh leaves of *Catharanthus roseus* Linn. reduces blood glucose in normal and alloxan diabetic rabbits. *BMC Compl. Alternative Med.*; 3(4):1-4.
- 50. Nmila R., Gross R., Rchid H., Roye M., Manteghetti M., Petit P., Tijane M., Ribes G., Sauvaire Y., 2000.** Insulinotropic effect of *Citrullus colocynthis* fruit extracts. *Planta Med.*; (66): 418-423.

- 51.Nmila R., Rchid H., Gross R., Manteghetti M., Ribes G., Petit P., Tijane M., Sauvaire Y., 2002.**Mise en évidence d'un effet insulino-stimulant de fractions de graines de coloquinte (*Citrullus colocynthis* L. Schrader). *Biologie & Santé* ; 2 (2) : 88-99.
- 52.Orban J.C. et Lachai C., 2008.** Complication aiguës du diabète (17) :761-767.
- 53.Organisation mondiale de la santé (OMS), 2016.** Aide-mémoire N°312.
- 54.Organisation mondiale de la santé (OMS), 2016.** Profils des pays pour le diabète, Algérie.
- 55.Ouchfoun M, 2010.** Mémoire en vue de l'obtention du grade de maîtrise en pharmacologie. Validation des effets antidiabétiques de *Rhododendron groenlandicum*, une plante médicinale des Cri de la Baie James, dans le modèle *in vitro* et *in vivo*. Elucidation des mécanismes d'action et identification des composés actifs.
- 56.Ouafae Benkhnie., Fatiha Ben Akka., Souad Salhi., Mohamed Fadli., Allal Douira et Lahcen Zidane., 2014.** Catalogue des plantes médicinales utilisées dans le traitement du diabète dans la région d'Al Haouz-Rhamna(Maroc), *Journal of Animal & plant sciences*,vol.23, Issue (1) :3539-3568.
- 57. Ozenda P., 1977.** « Flore de Sahara septentrional et central, Centre national de la recherche scientifique», Paris.
- 58.Poirier J., Catala M., André J.M., Gherardi R., Bernaudin J.F., 2006.** Histologie les tissus ,3^e édition Elsevier-Masson, p76, 77, 80.
- 59.Prudhomme Christophe et Brun Marie-France., 2008.** Diabétologie endocrinologie métabolisme-Soins infirmiers dans le diabète et les affections des glandes hormonales et du métabolisme, édition Maloine 2^e tirage Paris, P 9-12.
- 60.Quezel P.,Santa S.,1963.** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome2.édition centre national de la recherche scientifique, Paris.
- 61.Quilliot Didier, 2011.** Les incrétines: entre insulino-sécrétion et insulino-résistance. Les implications: de la nutrition artificielle à la chirurgie bariatrique. *Diabète et obésité*. Vol6 (53): 331-336

62.Rajnerayanama K., Reddy M., Charluvadi M.R., Krishna D. R., 2001. Bioflavonoids: Classification, pharmacological, biochemical effect and therapeutic potential. Indian Journal of pharmacology, (33):2-16.

63.Raskin I.,Ribnicky D.M.,Komarnytsky S., Ilic N.,Poulev A.,Borisjuk N., Brinker A.,Moreno D.A.,Ripoll C.,Yakoby N.,O’Neal J.M.,Cornwell T., Pastor I., et Fridlender B., (2002). Plants and human health in the twenty-first century.”Trends in Biotechnology, 20(12):522-531.

64.Ritchie S.A., et al., 2004.The role of insulin and the adipocytokines in regulation of vascular endothelial function. Clin Sci Lond.

65.Sanjay M.J., 2002. Herbal Drugs as Antidiabetics: An Overview.CRIPS, 13(2): 9-13.

66.Sharma A.K., Bharti S., Goyal S., Arora S., Nepal S., Kishore K., Joshi S., Kumari S., Arya D.S., 2011. Upregulation of PPAR γ by *Aegle marmelos* ameliorates insulin resistance and β -cell dysfunction in high fat diet fed-streptozotocin induced type 2 diabetic rats. Phytotherapy Research, (25): 1457-1465.

67.Sharma A.K., Bharti S., Goyal S., Arora S., Nepal S., Kishore K., Joshi S., Kumari S., Arya D.S., 2011. Upregulation of PPAR γ by *Aegle marmelos* ameliorates insulin resistance and β -cell dysfunction in high fat diet fed-streptozotocin induced type 2 diabetic rats. Phytotherapy Research, (25): 1457-1465.

68.Shibib B.A., Khan L.A., Rahman R., 1993. Hypoglycemic activity of *Coccinia indica* and *Momordica charantia* in diabetic rats: depression of the hepatic gluconeogenic enzymes glucose-6-phosphatase and fructose-1,6- biphosphatase and elevation of both liver and red-cell shunt enzyme glucose-6-phosphate dehydrogenase. Biochem. J., (292): 267-270.

69.Simon D., Fagot-Campagna A., Eschwege E., Balkau., 2009. Traité de diabétologie. 2^e édition Flammarion Médecine-Sciences, Paris, P3.

70.Soumyanath A., 2006. Traditional Herbal Medicines for Modern Times: Antidiabetic plants. CRC Press (Taylor Francis Group), (6): 19-82.

71.Toul Fethi, 2009. Mémoire de master, université de Tlemcen. Contribution à la recherche des effets antidiabétiques des alcaloïdes extraits de l'épicarpe de coloquinte (*Citrullus colocynthis*) sur des coupes du tissu adipeux isolé de rats Wistar.

72.Velasco-Negueruela A., Pérez-Alonso M.J., Pérez de Paz P.L., Palà-Paül J., Sanz J.,2006. «Analysis by gas chromatography-mass spectrometry of the volatiles from the eruits of *Ammodaucus leucotrichus* subsp. *Leucotrichus* and subsp. *Nanocarpus* grown in NorthAfrica and the Canary Islands, respectively», Elsevier, Journal of chromatography, n°1108, 273-275.

73.Zierath J.R. and Kawano.Y., 2003. The effect of hyperglycaemia on glucose disposal and insulin signal transduction in skeletal muscle. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 17(3): 385-98.