

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique



Université Abou Bakr Belkaid TLEMCEM
Faculté des sciences de la nature et de la vie et des sciences de terre et de l'univers

Département de biologie
Laboratoire Antibiotiques Antifongiques : Physico-chimie, Synthèse et Activité Biologique

MEMOIRE

Présenté par

BENAHMED Nor el Houda

En vue de l'obtention du

Diplôme de MASTER

En Biochimie appliquée

Thème

Contribution à la recherche de l'effet des extraits
d'*Ammodaucus leucotrichus* sur la captation de glucose par les
coupes fines de tissu musculaire isolées à partir des rats
« Wistar »

Soutenu le 18 Juin 2017, devant le jury composé de :

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

Année universitaire : 2016/2017

DÉDICACE

Je dédie ce travail

Aux êtres les plus chers : *Mes parents et ma petite famille.*

Je vous aime énormément

Remerciements

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

En premier lieu, je tiens à remercier profondément Monsieur **LAHFA F.**, Maître de conférence classe A au département de biologie, faculté des sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre et de l'univers, Université Abou Bekr Belkaid (Tlemcen), pour avoir accepté de diriger et de suivre ce travail avec patience et bienveillance, pour ces encouragements et ses conseils judicieux tout le long de la réalisation de ce mémoire.

Je tiens à remercier profondément Monsieur **AZZI R.**, Maîtres de conférences classe A au département de biologie, faculté des sciences de la nature et de la vie et sciences de la terre et de l'univers, Université de Tlemcen Abou Bekr Belkaid, d'avoir accepté d'examiner et discuter ce travail.

J'exprime également mes sincères remerciements à Monsieur **DJAZIRI R.** Professeur au département de biologie, faculté des sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre et de l'univers. Université Abou Bakr Belkaid (Tlemcen), de m'avoir fait l'honneur de présider ce jury.

Je tiens remercier également Monsieur **RAHMOUN M.**, Maître de conférence classe A au département de biologie, faculté des sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre et de l'univers, Université Abou Bekr Belkaid (Tlemcen) directeur du laboratoire Antibiotique Antifongiques : Physico-chimie, Synthèse et Activité biologique pour ses conseils et ses encouragements.

Je tiens à remercier profondément M^{lle} **MEZOUAR D.** pour son aide dans la correction de ce mémoire, je l'ai connue cette dernière année, et elle m'a impressionnée par sa gentillesse et sa bonne humeur.

J'exprime également mes sincères remerciements à Madame **MODERAS F.**, doctorante en biologie pour son aide tout le long de la réalisation de ce mémoire.

Mes vifs remerciements s'adressent aux dirigeants et aux personnels du laboratoire Antibiotiques Antifongiques : Physico-chimie, Synthèse et Activité biologique.

Table des matières

Dédicace	
Remerciement	
Table des matières	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
الملخص	
Résumé	
Abstract	
Introduction Générale.....	1

Synthèse bibliographique

I. Homéostasie glucidique.....	2
1.1. Le pancréas	2
1.2. Le foie.....	2
1.3. Le tissu adipeux	2
1.4. Le muscle squelettique	3
1.4.1. Organisation structurale du muscle squelettique	3
1.4.2. Fonctions métaboliques des muscles squelettiques	4
1.4.3. L'intervention du muscle dans l'homéostasie glucidique.....	5
II. Le diabète.....	7
1. Classification.....	6
1.1. Diabète de type 1.....	6
1.2. Diabète de type 2.....	6
1.3. Diabète gestationnel.....	6
2. Complications.....	7
2.1. Complications aiguës :.....	7
2.2. Complications chroniques :.....	7
3. Traitements	7
3.1. Traitement non médicamenteux.....	7
3.2. Traitement médicamenteux.....	7
3.3. L'insulinothérapie	8

3.4. La phytothérapie	8
III. Phytothérapie.....	10
1. Généralités sur la phytothérapie	9
2. Mécanismes d'actions des plantes antidiabétiques.....	9
3. Principes actifs.....	10
4. Toxicité des plantes	11
5. La plante étudiée.....	11
5.1. Description botanique de la famille des apiacées	12
5.2. Description botanique d' <i>Ammodaucus leucotrichus</i>	12
5.3. Localisation géographique	13
5.4. Etudes chimiques antérieures sur la plante	13

Matériels et méthodes

I. Analyse phytochimique	14
1. Matériel végétal	14
2. L'extraction	14
2.1. Préparation de l'extraits brut.....	14
2.2. Préparation de l' extrait de flavonoïdes	14
3. Séparation des extraits par chromatographie sur couche mince.....	16
II. Evaluation de l'activité antidiabétique	17
1. Les animaux d'expérimentation	17
2. L'effet de l'extrait brut et l'extrait de flavonoïdes sur la captation du glucose par les coupes fines de tissu musculaire	17
2.1. Préparation du milieu d'incubation KRBA :.....	17
2.2. Isolement des coupes fines de tissu musculaire isolées à partir des rats :	18
2.3. Viabilité et numérotation cellulaire.....	19
2.4. Incubation des coupes fines de tissu musculaire.....	19
2.5. Prélèvement à partir des puits	22
2.6. Dosage enzymatique de glucose	22
III. analyse statistique.....	24

Résultats et interprétations

I. Analyse phytochimique	27
1. Extraction et séparation des composés bruts et de flavonoïdes.....	27
II. Activité antidiabétique.....	29

1. Viabilité et numération cellulaire	29
2. Captation de glucose par les coupes fines de tissu musculaire isolées.....	29
2.1. Consommation basale de glucose	29
2.2. Effet de l'insuline sur la captation de glucose par les coupes de tissu musculaire :..	30
2.3. Effet de l'extrait brut sur la captation de glucose par les coupes fines de tissu musculaire :	33
2.4. Effet de l'extrait de flavonoïdes sur la captation de glucose par les coupes fines de tissu musculaire :.....	37
2.5. Comparaison entre l'effet de l'extrait brut et de flavonoïdes et l'effet de l'insuline sur la captation de glucose	41
Discussion	47
Conclusion générale	50
Références bibliographiques	51

Liste des figures

Figure 01 : Structure d'un muscle squelettique	04
Figure 02 : <i>Ammodaucus leucotrichus</i>	13
Figure 03 : la méthode d'extraction des extraits bruts et des flavonoïdes.....	15
Figure 04 : schéma récapitulatif du mode opératoire de l'incubation des coupes de tissu musculaire (Rodbell, 1964).....	24
Figure 05 : Concentration du glucose capté dans un milieu d'incubation à 1 g/l de glucose en absence et en présence des coupes fines de tissu musculaire, pendant des intervalles du temps différent.....	29
Figure 06 : Concentration du glucose capté dans un milieu d'incubation à 3g/l de glucose en absence et en présence des coupes fines de tissu musculaire, Pendant des intervalles de temps différents.....	30
Figure 07 : Concentration du glucose capté par les coupes fines de tissu musculaire à 1g/l du glucose en présence des différentes concentrations d'insuline pendant 30, 60 et 90 minutes.....	31
Figure 08 : Concentration du glucose capté par les coupes fines de tissu musculaire à 3 g/l du glucose en présence des différentes concentrations d'insuline pendant 30, 60 et 90 minutes.	33
Figure 09 : Concentration du glucose capté par les coupes fines de tissu musculaire à 1g/l du glucose en présence de différentes concentrations de l'extrait brut pendant 30, 60 et 90 minutes.....	34
Figure 10 : Concentration du glucose capté par les coupes fines de tissu musculaire à 3 g/l du glucose en présence de différentes concentrations de l'extrait brut pendant 30, 60 et 90 minutes.....	36
Figure 11 : Concentration du glucose capté par les coupes fines de tissu musculaire à 1g/l du glucose en présence de différentes concentrations de l'extrait des flavonoïdes pendant 30, 60 et 90 minutes.....	38
Figure 12 : Concentration du glucose capté par les coupes de tissu à 3g/l du glucose en présence de différentes concentrations de l'extrait de flavonoïde pendant 30, 60 et 90 min.....	40
Figure 13 : Comparaison entre l'effet des extraits et l'effet de l'insuline sur la	

captation de glucose dans un milieu d'incubation à 1 g/l pendant 30 minutes.	41
Figure 14 : Comparaison entre l'effet des extraits et l'effet de l'insuline sur la captation de glucose dans un milieu d'incubation à 1 g/l pendant 60 minutes.....	42
Figure 15 : Comparaison entre l'effet des extraits et l'effet de l'insuline sur la captation de glucose dans un milieu d'incubation à 1 g/l pendant 90 minutes.....	43
Figure 16 : Comparaison entre l'effet des extraits et l'effet de l'insuline sur la captation de glucose dans un milieu d'incubation à 3 g/l pendant 30 minutes.....	44
Figure 17 : Comparaison entre l'effet des extraits et l'effet de l'insuline dans un milieu d'incubation à 3 g/l pendant 60 minutes.....	45
Figure 18 : Comparaison entre l'effet des extraits et l'effet de l'insuline sur la captation de glucose dans un milieu d'incubation à 3 g/l pendant 90 minutes.....	46

Liste des tableaux

Tableau 01 : Mécanismes d'action de quelques plantes réputées antidiabétiques en Algérie.....	9
Tableau 02 : action thérapeutique des métabolites secondaires de quelques plantes antidiabétiques.....	10
Tableau 03 : Préparation du KRB.....	18
Tableau 04 : les milieux témoins utilisés.....	19
Tableau 05 : Concentrations de l'extrait brut ajoutées au milieu d'incubation contenant des coupes fines de tissu musculaire.....	20
Tableau 06 : Concentrations de l'extrait de flavonoïdes ajoutées au milieu d'incubation contenant des coupes fines de tissu musculaire.....	20
Tableau 07 : Concentrations d'insuline ajoutées au milieu d'incubation contenant des coupes fines de tissu musculaire.....	21
Tableau 08 : Analyses phytochimiques des extraits bruts et des flavonoïdes des parties aériennes d' <i>Ammodaucus leucotrichus</i>	27
Tableau 09 : Captation du glucose par les coupes fines en présence de différentes concentrations d'insuline en fonction du temps dans un milieu d'incubation KRBA 4% à 1g/l de glucose.....	30
Tableau 10 : Captation du glucose par les coupes fines de tissu musculaire en présence de différentes concentrations d'insuline en fonction du temps dans un milieu d'incubation KRBA 4% à 3g/l de glucose.....	32
Tableau 11 : Captation du glucose par les coupes de tissu musculaire en présence de différentes concentrations de l'extrait brut en fonction du temps dans un milieu d'incubation KRBA 4% (1 g/l Gluc).....	33
Tableau 12 : Captation de glucose par les coupes fines de tissu musculaire en présence de différentes concentrations de l'extrait brut en fonction du temps dans un milieu d'incubation KRBA 4% (3 g/l Gluc).....	35
Tableau 13 : Captation du glucose par les coupes fines de tissu musculaire en présence de différentes concentrations de l'extrait de flavonoïdes en fonction du temps dans un milieu d'incubation KRBA 4% (1 g/l Gluc).....	37
Tableau 14 : Captation du glucose par les coupes de tissu musculaire en présence de différentes concentrations de l'extrait de flavonoïdes en fonction du temps dans un milieu d'incubation KRBA 4% (3 g/l Gluc).....	39

Liste des abréviations

ANAES : l'Agence Nationale d'Accréditation et d'Evaluation en santé.

CCM : Chromatographie sur couche mince.

CPG : Chromatographie en Phase Gazeuse.

Ct : Coupes fines de tissu musculaire.

EAc : Extrait de flavonoïdes.

EB : Extrait brut.

DMSO : Diméthylsulfoxyde.

DOD : Densité Optique de Dosage.

DOE : Densité Optique d'Etalon.

FID : Fédération Internationale du Diabète.

GLUT : Glucose Transporter.

GOD : Glucose Oxydase.

HPLC : Chromatographie Liquide Haute Performance.

KRBA : Krebs-Ringer Bicarbonaté Albuminé.

L.A.P.S.A.B : Antibiotiques, Antifongiques, Physico-chimie, Synthèse et Activité Biologique.

OMS : Organisation Mondiale de la santé.

POD : Peroxydase.

Rf : Rapport frontal.

RMN : Résonance Magnétique Nucléaire.

SGLT2 : Sodium / Glucose cotransporteur 2.

الملخص

اظهرت الدراسات العلمية ان العديد من النباتات لديها القدرة على منع و تقليل تطور داء السكري من النوع الثاني .تمحورت دراستنا حول البحث عن امكانية الكمون الصوفي لتصحيح نسب السكر في الدم حيث ان هذه النبتة تستعمل بنطاق واسع في الجنوب الجزائري وفي المغرب بطريقة تقليدية لعلاج داء السكري.

تم اختبار المستخلص الخام و مستخلص الفلافونيدات المستخرجة من الاجزاء الهوائية للكمون الصوفي في المختبر بتركيزات مختلفة (200,100 و 500ميكروغرام /مللتر) وفي فترات زمنية مختلفة من اجل تحديد اثارها على امتصاص الجلوكوز من قبل الاجزاء الدقيقة للأنسجة العضلية المعزولة من فئران مخبرية عادية في وسطين الاول عادي و الثاني عالي التركيز (1غرام/ لتر و 3 غرام/ لتر) .

اظهرت الاختبارات ان مستخلصاتنا لديها القدرة على تعزيز امتصاص الجلوكوز من قبل الاجزاء الدقيقة للأنسجة العضلية في الوسطين وهذا ما يدل على قوة خفض نسبة السكر مماثلة للأنسولين.

الكلمات المفتاحية : داء السكري من النوع الثاني، الكمون الصوفي، مستخلص خام، مستخلص الفلافونيدات، اجزاء دقيقة من الانسجة العضلية.

Résumé

Des travaux scientifiques ont montré que plusieurs plantes ont la propriété de prévenir et de diminuer la progression du diabète de type 2. Notre étude porte sur la recherche de l'effet antidiabétique d'*Ammodaucus leucotrichus* qui est largement utilisée au sud Algérien et au Maroc pour traiter de manière traditionnelle le diabète sucré.

L'extrait brut et l'extrait des flavonoïdes des parties aériennes d'*Ammodaucus leucotrichus* sont testés *in vitro* à différentes concentrations (100, 200 et 500 µg/ml) et pendant des intervalles de temps croissants (30, 60 et 90minutes), afin de déterminer leurs effets sur la captation de glucose par les coupes fines de tissu musculaire isolées des rats Wistar dans deux milieux d'incubation normo et hyper glycémique (1 g/l et 3 g/l).

Les tests réalisés montrent que nos extraits augmentent la captation de glucose par les coupes fines de tissu musculaire dans les deux milieux d'incubation, cela révèle un pouvoir hypoglycémiant comparable à celui de l'insuline.

Mots clés : diabète de type 2, *Ammodaucus leucotrichus*, extrait brut, extrait de flavonoïdes, coupes fines de tissu musculaire.

Abstract

Scientific research has shown that several plants have the property of preventing and decreasing the progression of type 2 diabetes. Our study concerns the search for the antidiabetic effect of *Ammodaucus leucotrichus* which is widely used in Southern Algeria and Morocco to treat diabetes in a traditional way

The crude extract and the flavonoid extract of the aerial parts of *Ammodaucus leucotrichus* are tested *in vitro* at different concentrations (100, 200 and 500 $\mu\text{g/ml}$) and for increasing intervals of time (30, 60 and 90 minutes). In order to determine their effects on glucose uptake by thin slices of muscular tissue isolated from Wistar rats in normal and hyperglycemic incubation mediums.

The tests carried out show that our extracts increase the glucose uptake by the thin slices of muscular tissue in two incubation mediums. This result reveals a hypoglycemic effect comparable to that of insulin

Keywords : Type 2 diabetes, *Ammodaucus leucotrichus*, crude extract, flavonoid extract, thin slices of muscular tissue.

Introduction Générale

Le diabète est un désordre métabolique qui modifie la capacité de l'organisme à utiliser convenablement le glucose qui est un carburant majoritaire de nombreuses cellules. Cette maladie se caractérise par une hyperglycémie chronique, diminution de sécrétion d'insuline par le pancréas, une production amoindrie de glycogène au niveau du foie, une diminution de l'absorption au niveau des muscles et un défaut de stockage des acides gras au niveau des tissus adipeux, augmentent le risque de développer le diabète spécialement de type 2 (Bastard et *al.*, 2001).

Aucun traitement actuel ne permet de guérir définitivement le diabète, le but des antidiabétiques est d'équilibrer la glycémie mais aussi de diminuer l'incidence des complications de diabète. Or, des recherches progressent sur plusieurs fronts et les options des traitements ne cessent d'évoluer, dont la chirurgie comme la transplantation du pancréas et l'apparition des nouvelles classes thérapeutiques...

Depuis l'antiquité, l'homme utilise les plantes pour lutter contre diverses pathologies, de nos jours une large couche de la population mondiale notamment celle des pays en voie de développement, utilise les plantes médicinales du fait de son incapacité à bénéficier des vertus de la médecine moderne (Farnsworth et Soejarto, 1985). La médecine traditionnelle est largement répandue en Algérie comme tous les pays en voie de développement, d'où la flore algérienne est riche des milliers d'espèces botaniques qui permettent de soigner diverses pathologies à moindres frais et surtout à moins d'effets secondaires.

La phytothérapie est une alliée précieuse pour lutter contre tous les petits maux du quotidien, mais les découvertes scientifiques récentes montrent également que les plantes peuvent apporter une réponse à des maladies beaucoup plus graves, l'un des domaines où ces avancées ont été les plus importantes concerne la régulation de la glycémie. Devant l'augmentation considérable du nombre de diabétiques dans les pays, de nombreuses recherches ont été entreprises pour évaluer l'action pharmacologique des plantes et donc leurs intérêts contre le diabète. Actuellement, l'OMS encourage l'intensification de la recherche des traitements traditionnels à base des plantes médicinales (OMS, 1995).

I. Homéostasie glucidique

Le glucose est la source d'énergie principale des cellules. Il est métabolisé dans la plupart des cellules du corps pour former de l'énergie nécessaire à leurs fonctionnements, les molécules de glucose sont distribuées aux cellules via la circulation sanguine. Il est donc essentiel que la glycémie soit maintenue à des niveaux relativement constants se situent entre 0.8 et 1.1 g/l. Le maintien de l'homéostasie glucidique est possible par des systèmes hormonaux et par des organes insulinosensibles (foie, le muscle squelettique et le tissu adipeux) ainsi que par le pancréas qui est un organe insulinosécréteur.

1.1. Le pancréas

Le pancréas n'est pas un utilisateur principal de glucose mais il est néanmoins un organe indispensable dans la régulation de la glycémie puisqu'il sécrète diverses hormones régulatrices produites par les îlots de Langerhans (Brissova et *al.*, 2002) comme le glucagon (hormone hyperglycémiant) et l'insuline (hormone hypoglycémiant), Ces hormones permettent aux organes périphériques de stocker le glucose ou inversement.

1.2. Le foie

Lors d'un apport alimentaire, le foie utilise la moitié d'insuline produite par le pancréas, pour stimuler l'utilisation de glucose par les hépatocytes et le stocker sous forme de glycogène, c'est la glycogénogénèse. En effet, en dehors des prises alimentaires lorsque les stocks de glycogène sont épuisés, il constitue la source prédominante de glucose dans l'organisme en produisant du glucose par glycogénolyse, puis par néoglucogénèse, ce qui lui permet d'approvisionner les autres organes en glucose (Palti et *al.*, 1996)

1.3. Le tissu adipeux

Le tissu adipeux est aussi capable de prélever du glucose sanguin après un repas, et de le transformer directement en lipides sous forme de graisses et triglycérides au niveau des adipocytes. Dans les situations où la néoglucogénèse hépatique est nécessaire (épuisement des réserves de glycogène), le tissu adipeux libère des acides gras libres et du glycérol dans la circulation sanguine qui seront utilisés par le foie en tant que substrat pour produire le glucose (Feng et *al.*, 2013)

1.4. Le muscle squelettique

En plus de ses fonctions dans la locomotion, la posture et la constructibilité, Le muscle squelettique participe également dans la régulation de l'homéostasie glucidique du fait qu'il est responsable de 85% de l'absorption de glucose postprandiale et qu'il représente 40 à 60 % de la masse totale du corps humain. Cet organe, peut directement utiliser le glucose capté pour produire de l'énergie, mais également générer des réserves énergétiques sous forme de glycogène (glycogénèse), bien que la capacité de stockage par les myocytes soit largement inférieure à celle des hépatocytes (Lauritzen et Schertzer, 2010)

1.4.1. Organisation structurale du muscle squelettique

D'un point de vue structural, le muscle squelettique est formé d'un grand nombre de cellules allongées, appelées les fibres musculaires. La fibre musculaire a un diamètre variant de 10 à 100 μm et une longueur pouvant dépasser 10 centimètres, chaque fibre est gainée par du tissu conjonctif fin, l'endomycium. Les fibres sont regroupées en faisceaux entourés d'un tissu conjonctif relativement lâche, le périmycium. Enfin, la réunion de ces faisceaux par un tissu plus dense, l'épimycium, constitue le muscle

Les cellules musculaires sont multinucléées, possèdent un sarcoplasme occupé par plusieurs myofibrilles, chaque myofibrille est constituée des myofilaments appelés filaments fins ou épais. Ces derniers sont disposés le long de la myofibrille dont chaque unité s'appelle le sarcomère qui représente l'unité fonctionnelle du muscle strié squelettique. Ce tissu se présente sous forme de muscles qui recouvrent le squelette osseux et s'attachent grâce à des tendons (Maurau, 1961)

L'irrigation des muscles est assurée par un réseau d'artérioles, de capillaires et des veinules. Ce réseau permet l'apport de nutriments et d'oxygène, l'épuration des métabolites et assure aussi l'action des hormones sur les cellules musculaires (Gundersen, 2011)

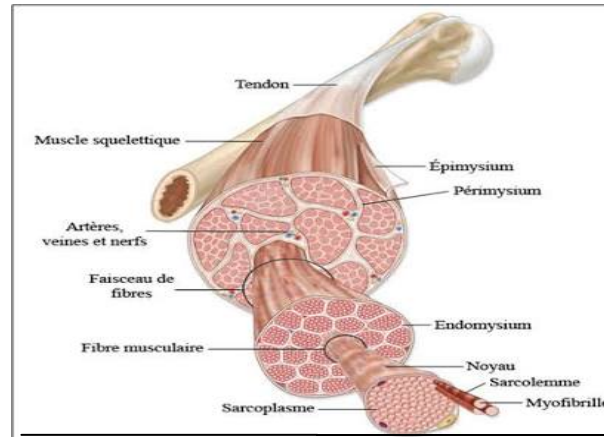


Figure 01 : Structure d'un muscle squelettique (Schiaffino et Reggiani, 2011)

1.4.2. Fonctions métaboliques des muscles squelettiques

Le moteur musculaire utilise trois carburants essentiels qui sont les acides gras, les protéines et essentiellement le glucose.

- **Métabolisme des acides gras :**

Les acides gras présentent une source d'énergie musculaire par excellence, une fois entrés dans le muscle, ils peuvent être stockés sous forme de triglycérides dans des gouttelettes lipidiques ensuite ils vont être oxydés pour fournir de l'énergie (la bêta oxydation) ou transformés en lipides plus complexes comme les sphingolipides (Wennekes et *al.*, 2009)

- **Métabolisme des protéines :**

Le muscle offre la plus grande réserve des protéines, d'où les acides aminés sont regroupés sous forme de protéines. Ces structures sont des usines chimiques de la cellule, ils participent également lors d'effort prolongé lorsque les stocks en glycogène sont fortement épuisés, ainsi dans la contraction musculaire (Rennie et *al.*, 2004)

- **Métabolisme des glucides :**

Le sucre consommé par le muscle squelettique est le glucose qui sera stocké sous forme de glycogène par l'action de glycogène synthase, enzyme activée par l'insuline suivant la voie de glycogénogénèse. Pendant la période post absorptive, l'insuline est à son niveau bas, cela entraîne une forte réduction de l'entrée de glucose dans le muscle squelettique, le métabolisme de glucose dans ces conditions est fortement amoindri. Dans ce cas alors, le glycogène sera

Synthèse bibliographique

Chapitre 1 : Homéostasie glucidique

dégradé par une glycogène phosphorylase, par l'intervention de glucagon. A la différence du foie, les muscles squelettiques ne sont pas capables de libérer le glucose dans la circulation, leurs réserves eux- même sont utilisés comme source d'énergie spécialement dans la locomotion (Spargo et *al.*, 1979, Yang, 2014)

1.4.3. L'intervention du muscle dans l'homéostasie glucidique

. Lors d'un repas, les muscles sont les principaux organes qui permettent de maintenir la glycémie à l'équilibre, la plus grande partie du glucose circulant est pris en charge par les muscles pour y être métabolisée, pour donner immédiatement de l'énergie ou pour être stockée sous forme de glycogène.

Le muscle squelettique constitue le site majeur d'utilisation de glucose en période postprandiale mais également durant la contraction musculaire (DeFronzo et *al.*, 1981). L'entrée de glucose à l'intérieur des myocytes est assurée par un système de transport facilité, les GLUTs (Glucose Transporter). Ces GLUTs exceptionnellement GLUT 1 et 4, permettent aux molécules de glucose hydrosolubles de traverser la bicouche lipidique de la membrane plasmique. Les GLUT 4 constituent les principales transporteurs au niveau du muscle squelettique (Zorzano et *al.*, 2005). A niveau bas d'insuline la majorité des transporteurs GLUT 4 est séquestrée dans des vésicules intracellulaires, lorsque le niveau d'insuline augmente ces vésicules migrent et seront fusionnées à la membrane plasmique, d'où elles deviennent responsables du transport de glucose par gradient de concentration. Ce phénomène est appelé la translocation (Ishiki et Klip, 2005).

La vitesse de transport de glucose augmente par la stimulation d'insuline, par contraction musculaire et lors d'une activité physique (Ishiki et Klip, 2005)

1.4.3.2. Insulinorésistance musculaire

Le muscle, qui intervient pour la plus grande partie dans le captage et l'utilisation du glucose, se trouve au centre de la pathogénie en étant le site principal de l'insulinorésistance périphérique (De Lange et *al.*, 2008 ; Patti et Corvera., 2010). Lorsque la résistance à l'insuline s'installe, le métabolisme du glucose sera fortement perturbé, Or, une diminution de phosphorylation de ce carburant est observée, des défauts de signalisation mènent à une réduction marquée du transport du glucose dans ce tissu, cela s'explique par une diminution de la translocation des GLUTs (Shepherd et Kahn ,1999).

II. Le diabète

Lorsque l'organisme ne parvient pas à utiliser convenablement le glucose qui est un carburant indispensable à son fonctionnement, il sera mal absorbé par les cellules et s'accumule alors dans le sang et est d'ensuite déversé dans l'urine, cette concentration anormalement élevée de glucose dans le sang se nomme l'hyper glycémie (Drouin et *al.*, 1993), Or, une hyper glycémie chronique définit le diabète sucré. Cette maladie est un trouble métabolique, causée par un manque ou un défaut d'utilisation d'une hormone appelée insuline.

Ces dernières années, le diabète est devenu un problème de santé public à l'échelle mondiale, selon la dernière étude de l'organisation mondiale du diabète (OMS), ces 20 dernières années, le nombre de personnes diagnostiquées diabétiques est passé de 108 millions en 1998 à 422 millions en 2014 (OMS, 2016). En Algérie les estimations varient entre 2.5 et 3 millions de personnes souffrant de cette maladie (FID, 2013).

1. Classification

1.1. Diabète de type 1

Le diabète insulino-dépendant qui regroupe 10 à 15% des diabétiques, est une forme de diabète sucré qui apparaît le plus souvent chez l'enfant ou chez les jeunes adultes en raison de la production insuffisante voire nulle de l'insuline (Buysschaert et Hermans, 1998)

1.2. Diabète de type 2

Le diabète non insulino-dépendant est caractérisé par une hyperglycémie chronique, cette maladie survient généralement chez les adultes et regroupe 80 à 85% des diabétiques suite d'un facteur génétique, d'une carence relative de l'insuline, d'une insulino-résistance de certains organes insulinosensibles, d'une alimentation déséquilibrée ou d'obésité (Golditz et *al.*, 1995 ; Fumeron, 2005 ; Young, 2010)

1.3. Diabète gestationnel

Le diabète gestationnel ou gravidique se définit comme tout diabète en intolérance de glucose qui se manifeste durant la grossesse, il n'est que temporaire et disparaît après l'accouchement. (OMS, 2016).

2. Complications

Les personnes diabétiques peuvent présenter des désordres métaboliques graves qui constituent une urgence thérapeutique :

2.1. Complications aiguës :

Telles que l'acidocétose diabétique et l'acidose lactique

2.2. Complications chroniques :

Sont soit micro-angiopathiques et touchent les vaisseaux très fins, telles que la rétinopathie, la neuropathie et la néphropathie diabétique, soit macro-angiopathique et touchent les vaisseaux de gros calibre, comme les vaisseaux du cœur et du cerveau, les maladies cardiovasculaires et l'hypertension artérielle sont les complications majeures (Svensson et *al.*, 2001)

3. Traitements

Il est important de bien comprendre la physiopathologie du diabète afin de développer les traitements

- Dans le cas du diabète de type 1 : Le traitement consiste en l'injection d'une ou plusieurs doses d'insuline quotidiennement ou l'implantation du pancréas ou des îlots de Langerhans par chirurgie (Wang et *al.*, 2012) .
- Dans le cas du diabète de type 2 : le but du traitement est de combattre la progression de la maladie et d'empêcher le développement des complications chroniques, il existe plusieurs possibilités de traitements :

3.1. Traitement non médicamenteux

Le traitement de référence du diabète de type 2 est l'optimisation des habitudes de vie telles que la perte du poids, l'activité physique régulière et l'alimentation équilibrée (ANAES, 2000)

3.2. Traitement médicamenteux

Il existe quatre catégories thérapeutiques reposant sur des mécanismes d'action différents :

3.2.1. Inhibiteurs d' α glucosidase

Ralentissent l'absorption intestinale des glucides et aboutissent ainsi à une baisse de glycémie postprandiale, tels que l'ascarbose (Charbonnel et Cariou, 1997)

3.2.2. Insulinosécréteurs

Agissent en augmentant l'insulinosécrétion par les cellules β du pancréas tels que les sulfamides et les glinides (Blicklé, 2004)

3.2.3. Insulino sensibilisateurs

Tels que la metformine et les glitazones, font diminuer l'insulinorésistance qui est l'incapacité des tissus cibles hépatiques et périphériques musculaires ou adipocytaires à répondre correctement à des concentrations circulantes d'insuline normales (Kirpichnikov et al., 2002).

3.2.4. Inhibiteurs du Co-transporteur rénal :

Une nouvelle classe de molécule thérapeutique apparaît, c'est la classe des gliflozines qui sont des inhibiteurs des SGLT2, Co-transporteurs de sodium et de glucose situés dans les tubules rénaux. Ces molécules diminuent la glycémie en bloquant la réabsorption du glucose par le rein, ainsi son élimination dans les urines (Aude et Lisa, 2013)

3.3. L'insulinothérapie

L'insulinothérapie est prescrite, souvent après l'échec des médicaments oraux, une prise d'insuline est vitale en cas d'une hyper glycémie importante (Bosquet et Harteman-Heurtier, 2004).

3.4. La phytothérapie

Plusieurs plantes peuvent jouer un rôle important dans les traitements antidiabétiques, ces plantes sont caractérisées par des effets positifs avec moins d'effets secondaire graves (Marles et Farnsworth ,1996).

III. Phytothérapie

1. Généralités sur la phytothérapie

Pendant de nombreux siècles, les plantes médicinales ont constitué le principal outil thérapeutique à la disposition de l'homme, leurs propriétés ont été mises en évidence par l'observation des effets qu'elles généraient sur l'organisme. Avec le progrès de la science les chercheurs ont été en mesure d'en isoler des principes actifs qui sont issus des métabolites secondaires (Djeridane, 2008), ces substances chimiques naturelles sont considérées comme responsables de l'action thérapeutique.

Une plante est dite médicinale lorsqu'au moins une de ses parties (feuille, tige, racine...) possède des propriétés médicamenteuses. L'usage empirique des différentes préparations traditionnelles est important pour une sélection efficace des plantes (Gurib- Fakim, 2006).

L'utilisation des plantes dans le traitement du diabète est largement répandue à travers le monde, ainsi en Algérie qui est un pays connu par une importante biodiversité et qui dispose une flore particulièrement riche et variée.

2. Mécanismes d'actions des plantes antidiabétiques

Certains composés anti hyperglycémiantes des plantes agissent comme l'insuline ou les autres médicaments anti hyperglycémiantes en empêchant l'absorption du glucose au niveau intestinal, en augmentant la synthèse et la libération d'insuline ou en accélérant l'absorption de glucose par les cellules.... (Jarald et al., 2008 ; Kashikar et Kotkar, 2011 ; Singh et al., 2012). La variété de ces mécanismes implique une baisse du glucose sanguin.

Tableau 01 : Mécanismes d'actions de quelques plantes réputées antidiabétiques en Algérie

Plantes	Extraits, doses et parties	Mécanismes d'actions
<i>Trigonella foenum graecum</i>	Extrait méthanol des graines à 0,5g/kg	-Augmentation du glycogène hépatique. -Stimulation du transport de glucose dans les adipocytes. (Hannan et al., 2007)
<i>Rosmarinus</i>	Extrait éthanol des feuilles	Inhibition d' α glucosidase (Koga et al.,

<i>officinalis</i>	à 20mg/kg	2006)
<i>Citrullus colocynthis</i>	Extrait aqueux des graines à 5mg/kg	Action Insulinotrope (Benariba et <i>al.</i> , 2009 ;Benariba et <i>al.</i> , 2013)
<i>Artemisia herba-alba Asso.</i>	Extrait eau-éthanol des feuilles à 390mg/kg	Prévention de l'insulinorésistance (Hamza et <i>al.</i> ,2010 ;Awad et <i>al.</i> , 2011)
<i>Nigella sativa</i>	Extrait aqueux des graines à 0.3mg/ml	-Inhibition de la néoglucogénèse. -Amélioration de la structure cellulaire et subcellulaire des cellules β -pancréatiques. (Abdelmeguid et <i>al.</i> , 2010)

3. Principes actifs

Il existe plus de 200 métabolites secondaires, qui présentent une activité antidiabétique (Marles et Farnsworth, 1995 ; Lamba et al., 2000 ; Sanjay, 2002), ce sont principalement des alcaloïdes, flavonoïdes, saponosides, glycosides, ions organiques, polysaccharides et des acides aminés....

Tableau 02 : Action thérapeutique des métabolites secondaires de quelques plantes antidiabétiques

Plantes	Familles	Parties utilisées	Actions thérapeutiques
Flavonoïdes			
<i>Pterocarpus marsupium</i>	Fabacée	Feuilles	Régénération des cellules β (Sheehan et Zemaitis, 1983)
Alcaloïdes			
<i>Trigonella foenum-graecum</i>	Fabacée	Fruits	Stimulation des cellules à l'action de l'insuline (Ajabnnor et Tilimsani, 1988)

Saponosides			
<i>Panax ginseng</i>	Araliacée	Racines	Stimulation des îlots de Langerhans et de glycogène hépatique (Waki et <i>al.</i> , 1982)
Ions organiques			
<i>Atriplex halimus</i>	Amaranthacée	Feuilles	Potentialisation de l'effet de l'insuline sur l'utilisation du glucose par les cellules adipeuses (Olivier et Zahnd, 1979).
Composés sulfurés			
<i>Allium cepa</i>	Amaryllidacées	bulbes	Même action que l'insuline (Olivier et Zahnb, 1979)
Polysaccharides			
<i>Ceratonia siliqua</i>	Fabacée	Graines	Diminution de l'absorption intestinale du glucose (Raghuran et <i>al.</i> , 1994)

4. Toxicité des plantes

Les plantes peuvent contenir des composés chimiques puissants, responsables des effets indésirables et de toxicité hépatiques, digestive, neurologique, cardiaque... (Flesch, 2005), cette toxicité dépend de la dose, des facteurs environnementaux, de l'exposition simultanée à d'autres produits chimiques et à d'autres facteurs liés à l'individu. (Tron et *al.*, 2002).

5. La plante étudiée

Notre sélection se porte sur une plante médicinale *Ammodaucus leucotrichus*. Cette plante est native du Sud Algérien, elle a de multiples utilisations dans la médecine traditionnelle algérienne.

5.1. Description botanique de la famille des apiacées

Les plantes de la famille des apiacées ou des ombellifères ont une grande importance surtout dans la flore Algérienne où elle est présentée par 55 genres. Les apiacées sont généralement des plantes herbacées, dicotylédones, ont des tiges creuses, feuilles alternes divisées, pétioles élargis à leurs bases, ombelles simples ou composées, fleurs de type 5, sépales absents ou réduits et fruits constitués par un diakène couronné (Quézel et Santa, 1963).

5.2. Description botanique d'*Ammodaucus leucotrichus*

D'après Quézel et Santa (1963); Guignard et Dupont (2007), la classification d'*Ammodaucus leucotrichus* est la suivante :

Classification botanique	
Embranchement	Spermaphytes
Sous embranchement	Angiospermes
Classe	Eudicots
Sous classe	Astéridées
Ordre	Apiales
Famille	Apiacées
Genre	<i>Ammodaucus</i>
Espèce	<i>leucotrichus</i>

Noms vernaculaires	
Arabe	El kemoun soufi
Français	Cumin velu, cumin du Sahara

Ammodaucus leucotrichus est un arbuste annuel à tige rameuse, ses fleurs blanches sont disposées selon une ombelle composée, elle a des feuilles pennatiséquées, fruits très odorant et ses côtés latéraux sont ailées (Ozenda et al., 1977)



Figure 02 : *Ammodaucus leucotrichus* (El-Haci, 2015)

5.3. Localisation géographique

Cette plante comprend deux sous espèces : *Ammodaucus leucotrichus* Cosson & Durieu subsp. *leucotrichus* pousse en Afrique du Nord principalement au Sahara Algérienne, Niger, Mauritanie, Libye et s'étend jusqu'à l'Afrique tropicale et l'Égypt. (Bramwell et Branwell, 2001), tandis que *Ammodaucus leucotrichus* Cosson & Durieu subsp. *Nanocarpus* E. Beltran pousse dans l'archipel micronésien (Joulain et. König, 1998).

5.4. Etudes chimiques antérieures sur la plante

Ammodaucus leucotrichus est largement utilisée en phytothérapie traditionnelle (Fleurentin et *al.*, 2002), cette plante a plusieurs vertus antispasmodiques, antiseptiques et carminatives, elle est utilisée également pour traiter la constipation, la toux et le cancer des poumons, ainsi une prise d'une infusion quotidienne prévient le diabète (Ouled el hadj et *al.*, 2003).

Très peu d'études phytochimiques ont été réalisées sur l'espèce *Ammodaucus leucotrichus* : L'étude de Muckensturm et *al.*, 1997 sur la fraction étherée des fruits de cette espèce a révélé la présence de différents composés tels que, l'ammolactone, le limonène, le perillaldéhyde.... ; La caractérisation chimique des huiles essentielles était faite par Velasco-Negueruela et *al.*, 2006 qui a mis en évidence la présence de 22 composés terpéniques. En 2008, Beghalia et ses collaborateurs ont détecté un effet protecteur contre la lithiase urinaire à partir de l'extrait aqueux des fruits. Une inhibition élevée a été rapportée ; Une étude sur les huiles essentielles de cette espèce, a révélé une forte activité antimicrobienne sur *Escherichia coli* (Gherraf et *al.*, 2013).

Notre partie expérimentale est basée sur l'étude phytochimiques ainsi que la recherche d'éventuels effets antidiabétiques de l'extrait brut et l'extrait de flavonoïdes des parties aériennes d'*Ammodaucus leucotrichus* sur des coupes fines de tissu musculaire isolées des rats Wistar en fonction du temps et à différentes concentrations.

I. Analyse phytochimique

1. Matériel végétal

La plante de notre étude (*Ammodaucus leucotrichus*) ; famille des apiacées ; a été récoltée en Mars 2016 à Taghit Wilaya de Bechar-Algérie, Sud-Ouest Algérien.

Au laboratoire, les parties aériennes (feuilles, tiges et graines) ont été récupérées et mises à sécher à l'abri de la lumière et à température ambiante pendant plusieurs jours, ensuite elles ont été broyées en poudre fine à l'aide d'un moulin à café, les poudres végétales ainsi récupérées ont été stockées soigneusement à l'abri de la lumière et à température ambiante.

2. L'extraction

2.1. Préparation de l'extrait brut

2.1.1. Extraction solide-liquide :

L'extraction par macération est réalisée sur de 10g de poudre végétale en présence de 100 ml de la solution aqueuse de méthanol à 80/20 (v/v) à température ambiante pendant 72 heures et sous agitation. Après filtration, les filtrats récupérés et évaporés à l'aide d'un évaporateur rotatif sous pression réduite et à une température de 60°C (Harborne et al., 1998). Les résidus secs obtenus sont conservés à + 4°C.

2.2. Préparation d' extrait de flavonoïdes

2.2.1. Extraction liquide-liquide :

Les résidus obtenus par évaporation des filtrats hydrométhanoliques, sont partagés entre 10 ml d'acétate d'éthyle et 10 ml d'eau distillée dans une ampoule à décanter. Après agitation et décantation des deux phases, la phase organique d'acétate d'éthyle est récupérée. Ensuite, la phase d'acétate d'éthyle est évaporée à sec à l'aide d'un évaporateur rotatif et les résidus secs obtenus sont conservés à + 4°C.

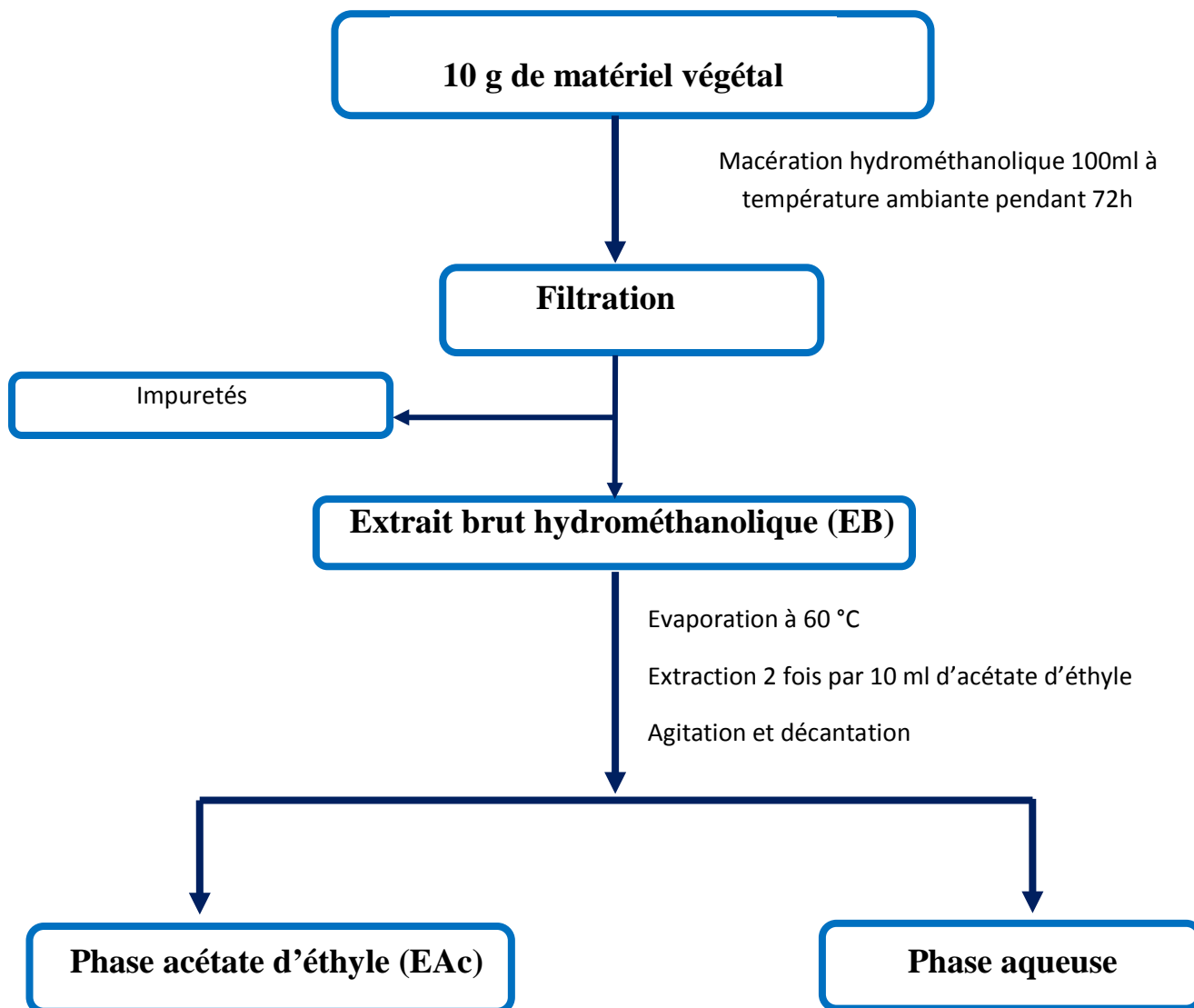


Figure 03 : méthode de préparation de l'extrait brut et de l'extrait de flavonoïdes.

3. Séparation des extraits par chromatographie sur couche mince

Dans la présente étude, les échantillons sont analysés en utilisant des plaques commerciales prêtes à être utilisées, de gel de silice (Merck) 5 x 10cm, ces plaques présentent la phase stationnaire.

La mise en œuvre d'une CCM nécessite les étapes suivantes :

- Activation de la plaque dans l'étuve à 100 °C pendant 30min ;
- Choix de la phase mobile dont plusieurs systèmes ont été essayés :
 - ✚ Système 1 : (CHCl₃ /CH₃OH/ CH₃COOCH₂CH₃/CH₃COOH/ H₂O) Chloroforme/ Méthanol/ Acétate d'éthyle/ Acide acétique/ H₂O (60/25/10/5/0.2)
 - ✚ Système 2 : CHCl₃ /CH₃OH/ CH₃COOCH₂CH₃/H₂O) Chloroforme/méthanol/ Acétate d'éthyle/ H₂O (65/25/10/0.2).
 - ✚ Système 3 : (CHCl₃/CH₃OH/ H₂O) Chloroforme/ Méthanol/ H₂O (75/15/0.1)
 - ✚ Système 4 : (CHCl₃/CH₃OH/ CH₃COOCH₂CH₃/ H₂O) Chloroforme/ Méthanol/ Acétate d'éthyle/ H₂O (30/40/30/0.1)
 - ✚ Système 5 : (CHCl₃ / CH₃OH) Chloroforme / Méthanol (60/25)
 - ✚ Système 6: (CHCl₃ / CH₃OH) Chloroforme / Méthanol (90/10)
- Saturation de la cuve par les solvants d'élution ;
- Préparation de 10 mg de l'échantillon brut et de flavonoïdes dans 100 µl de DMSO ;
- Dépôts d'échantillon et des standards (quercétine et catéchine) en petits spots (3 à 4 fois) sous forme des points ;
- Introduction de la plaque dans la cuve saturée ;
- Suivre le développement du chromatogramme jusqu' à l'arrivée du solvant au front supérieur ;
- Révélation : lampe UV (longueurs d'ondes $\lambda = 254$ nm et 365 nm) ;
- Délimitation des taches colorées à l'aide d'un crayon ;
- Calcul pour chaque constituant le rapport frontal **R_f** :

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

II. Evaluation de l'activité antidiabétique

L'extrait brut et l'extrait de flavonoïdes des parties aériennes d'*Ammodaucus leucotrichus* sont testés pour leurs effets sur la captation du glucose au niveau des coupes fines de tissu musculaire isolées à partir des rats femelles.

1. Les animaux d'expérimentation :

Notre étude a porté sur des rats blancs (*Rattus norvegicus*), de souche Wistar, de sexe femelle âgées de 4 à 6 mois et ayant un poids moyen de 177g,

Les animaux sont maintenus dans des conditions favorables d'élevage (Au niveau de l'animalerie du département de biologie, faculté des sciences, université Abou Bekr Belkaid Tlemcen) ; température (25 à 30°C) et un taux d'humidité entre 60 et 70% avec une photopériode de 12 heures le jour et 12 heures la nuit. Ils reçoivent l'eau et l'aliment quotidiennement.

Les animaux sont nourris avec un aliment complet, supplémenté en complexe minéralo-vitaminique, composé généralement de maïs, tourteaux de soja, issus de meunerie et des glucides, protéines et lipides.

2. L'effet de l'extrait brut et l'extrait de flavonoïdes sur la captation du glucose par les coupes fines de tissu musculaire :

Afin de déterminer l'effet de l'extrait brut et l'extrait de flavonoïdes, à différentes concentrations, comparés à l'effet de l'insuline sur la captation du glucose par des coupes fines de tissu musculaire isolées à partir des rats Wistar femelles, nous avons suivi les étapes suivantes :

2.1. Préparation du milieu d'incubation KRBA :

L'intégrité métabolique des coupes fines de tissu musculaire lors de l'incubation est assurée par le KRBA 4 % (Krebs-Ringer Bicarbonaté Albuminé) qui est constitué des solutions mères salines, permettant de reproduire la composition du milieu extracellulaire.

Ce milieu est préparé à partir du KRB (Krebs-Ringer Bicarbonaté) à pH 7,4 et de l'albumine Bovine.

Tableau 03 : Préparation du KRB

N°	Solutions mères isotoniques au sérum	Concentration [g/l]	Volume nécessaire (ml)
01	Na Cl	7,02	1000
02	Ca Cl ₂	0,19	
03	KCl	0,357	
04	KH ₂ PO ₄	0,162	
05	MgSO ₄	0,295	
06	NaHCO ₃	2,01	

Le pH de la solution KRB est ajusté à 7.4 par l'Hepes (acide 4-(2- hydroxyéthyle)-1-piparazine-éthane sulfonique) tout juste avant leur utilisation.

Après l'ajustement du pH, on prépare à partir du KRB le KRBA 1% et le KRBA 4%.

Le KRBA 4% est utilisé pour préparer deux milieux d'incubation glucosés à deux différentes concentrations, une solution de KRBA 4% glucosée à 1g/l (milieu normo glycémique) et une solution KRBA 4% glucosée à 3 g/l (milieu hyper glycémique).

Remarque :

Le KRBA 1% est utilisé juste pour le lavage des coupes fines de tissu musculaire.

Le KRB est conservé à 4°C.

2.2. Isolement des coupes fines de tissu musculaire isolées à partir des rats :

Sacrifice et dissection

Les rats de notre expérimentation sont maintenus à jeun pendant 16 à 18 heures. Ils sont sacrifiés par dislocation cervicale et disséqués afin de récupérer le tissu musculaire.

Récupération du tissu musculaire et lavage

Le tissu musculaire est rapidement prélevé, déposé dans une boîte de pétri contenant du sérum physiologique (NaCl 0.9%) afin de nettoyer les vaisseaux sanguins et les caillots de sang, à l'aide des lames le tissu musculaire est découpé en petits morceaux le plus finement possible (d'environ 1mm d'épaisseur).

Lavage des coupes fines de tissu musculaire

Les coupes musculaires fines sont lavées 2 à 3 fois avec le KRBA 1%, récupérées dans des tubes coniques, puis centrifugées à une vitesse de 500 tours / min pendant 5 minutes, à la fin de l'opération de lavage et de centrifugation, le culot a été récupéré, pesé et introduit dans une microplaque de culture cellulaire à 24 puits, contenant le KRBA 4% glucosé soit par 1 g/l ou 3 g/l.

2.3. Viabilité et numérotation cellulaire

Le but de cette opération est de dénombrer les cellules vivantes dans une quantité de 1 g de tissu musculaire.

Cette opération est réalisée par comptage au microscope optique, à l'aide d'une cellule de Thoma, avec une suspension diluée et colorée par le bleu de trypan 0,2%. Ce dernier colore les cellules non viables qui se laissent envahir par ce colorant.

2.4. Incubation des coupes fines de tissu musculaire

Les coupes fines de tissu musculaire sont mises à incuber dans des microplaques de culture cellulaire en Polyéthylène dans la solution de KRBA 4% avec différentes concentrations de l'extrait brut et l'extrait de flavonoïdes à différentes doses (100, 200 et 500µg/ml), et à deux concentrations de glucose 1g/l et 3g/l. L'incubation est réalisée dans un incubateur agitateur à 37°C sous agitation de 47 tours/min et pendant des intervalles de temps croissants (30, 60 et 90min). Dans ce test, nous avons utilisé l'insuline humaine commercialisée (100U/ml) à différentes concentrations (10, 50 et 100 µU/ml) comme témoin positif.

Tableau 04 : les milieux témoins utilisés

	01	02	03	04
Témoins	1,5ml de KRBA 4% à 1g/l	1,5ml de KRBA 4% à 3g/l	1,5ml de KRBA 4% à 1g/l + Ct	1,5ml de KRBA 4% à 3g/l + Ct

Ct : coupes fines de tissu musculaire.

Tableau 05 : Concentrations de l'extrait brut ajoutées au milieu d'incubation contenant des coupes fines de tissu musculaire.

<i>Extrait brut</i>									
1,5ml KRBA 4% (1g/l Glucose) + 0,2 g Ct	30 min			60 min			90 min		
	500µg/ ml	200µg/ ml	100µg/ ml	500µg/ ml	200µg/ ml	100µg/ ml	500µg/ ml	200µg/ ml	100µg/ ml
1,5ml KRBA 4% (3g/l Glucose) + 0,2 g Ct	30 min			60 min			90 min		
	500µg/ ml	200µg/ ml	100µg/ ml	500µg/ ml	200µg/ ml	100µg/ ml	500µg/ ml	200µg/ ml	100µg/ ml

Tableau 06 : Concentrations de flavonoïdes ajoutées au milieu d'incubation contenant des coupes fines de tissu musculaire.

<i>Extrait de flavonoïdes</i>									
1,5ml KRBA4% (1g/l Glucose) + 0,2 g Ct	30 min			60 min			90 min		
	500µg /ml	200µg /ml	100µg /ml	500µg /ml	200µg /ml	100µg /ml	500µg /ml	200µg /ml	100µg /ml
1,5ml KRBA4% (3g/l Glucose) + 0,2 g Ct	30 min			60 min			90 min		
	500µg /ml	200µg /ml	100µg /ml	500µg /ml	200µg /ml	100µg /ml	500µg /ml	200µg /ml	100µg /ml

Tableau 07 : Concentrations d'insuline ajoutées au milieu d'incubation contenant des coupes fines de tissu musculaire.

<i>Insuline</i>									
1,5ml KRBA4% (1 g/l Glucose) + 0,2 g Ct	30 min			60 min			90 min		
	100 µU/ml	50 µU/ml	10 µU/ml	100 µU/ml	50 µU/ml	10 µU/ml	100 µU/ml	50 µU/ml	10 µU/ml
1,5ml KRBA4% (3 g/l Glucose) + 0,2 g Ct	30 min			60 min			90 min		
	100 µU/ml	50 µU/ml	10 µU/ml	100 µU/ml	50 µU/ml	10 µU/ml	100 µU/ml	50 µU/ml	10 µU/ml

Ct : coupes fines de tissu musculaire

2.5. Prélèvement à partir des puits

Après 30 minutes, nous avons arrêté l'incubation en mettant notre microplaque sur de la glace pilée pendant une minute pour stopper la réaction. Ensuite nous avons prélevé 500 µl de chaque puits dans des tubes à hémolyse pour effectuer une centrifugation pendant 5 minutes à 500 tour/min. Nous avons récupéré par la suite 10 µl du surnageant dans des tubes à essais.

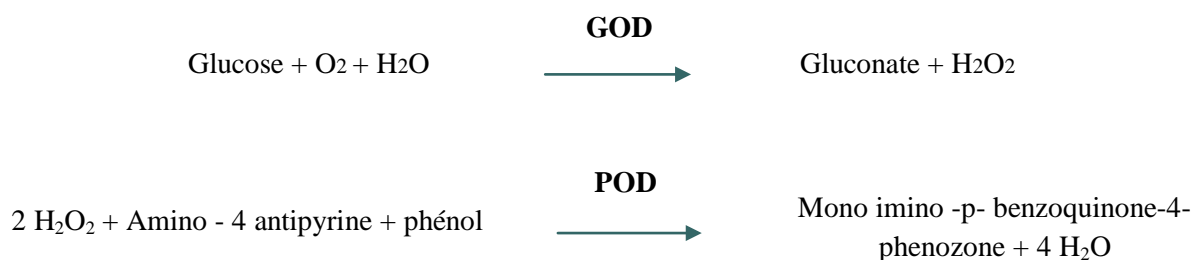
La même procédure est répétée après 60 et 90 minutes d'incubation.

2.6. Dosage enzymatique de glucose

Le dosage de glucose restant dans les milieux d'incubation précédemment prélevés se fait à l'aide d'un kit de dosage enzymatique suivant la méthode de **Trinder, 1969**

Le glucose est déterminé par la méthode colorimétrique enzymatique, dont le glucose en présence de glucose-oxydase (**GOD**), est oxydé en acide gluconique et peroxyde d'hydrogène.

Ce dernier, en présence de peroxydase (**POD**) et phénol, oxyde un chromogène incolore (4-aminoantipyrine) en couleur rouge à structure quinone-imine. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration de glucose.



Méthode de dosage :

	Blanc	Etalon	Dosage
Solution de travail	1.5 ml	1.5 ml	1.5 ml
Réactif		10 µl	
Sérum			10 µl

Les surnageant récupérés sont mélangés avec la solution de travail puis incubés pendant 20 minutes à température ambiante. L'absorbance est ensuite mesurée au spectrophotomètre à 505 nm contre la solution de l'étalon utilisée comme blanc.

Calcul :

$$\text{Taux de glucose} = (\text{DOD}/\text{DOE}) \times 1 \text{ g/l.}$$

Où, DOD : Densité optique de dosage, DOE : Densité optique de l'étalon.

Les teneurs en glucose sont exprimées en g/l et les variations de la glycémie sont exprimées en pourcentage.

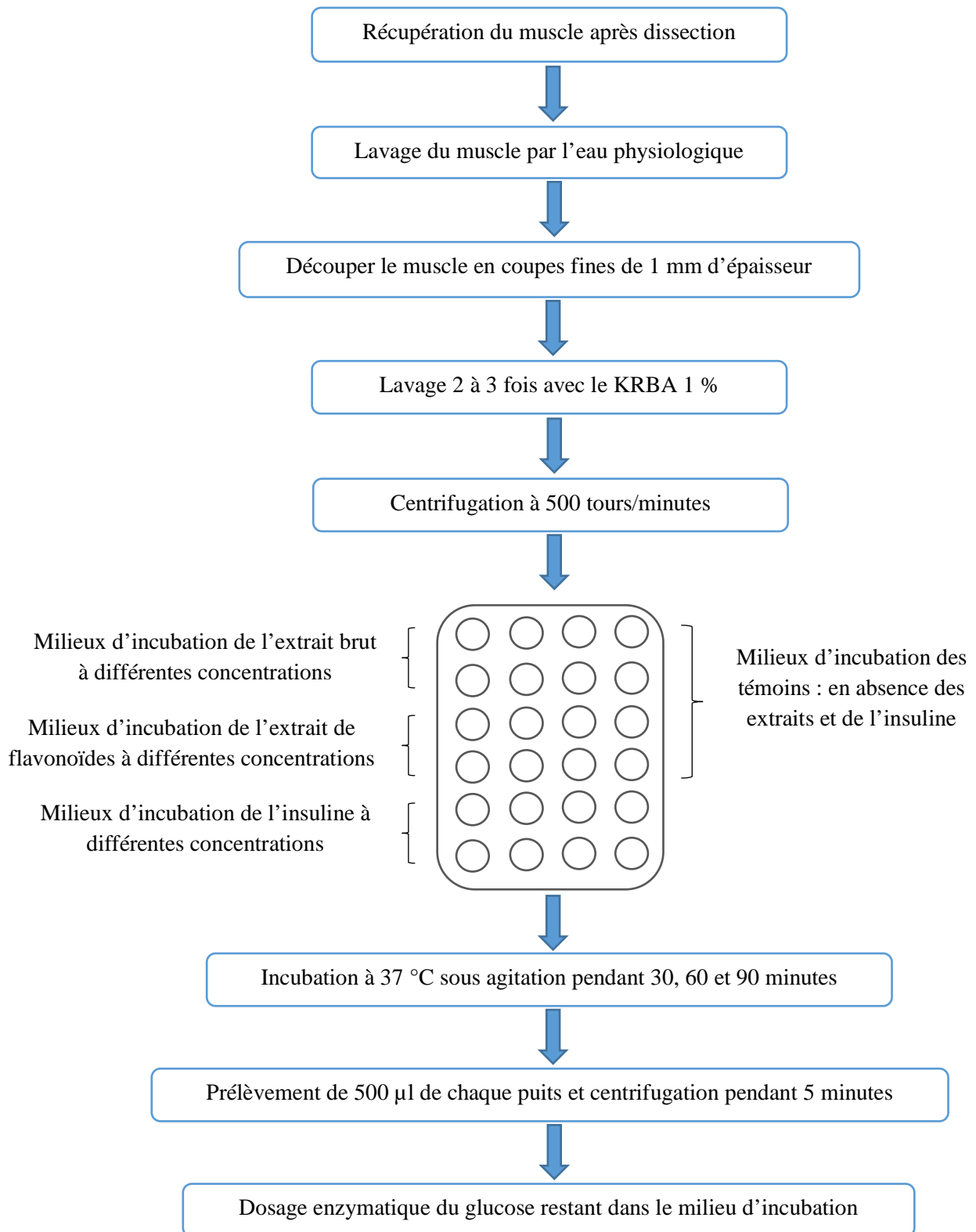


Figure 04 : Schéma récapitulatif du mode opératoire de l'incubation des coupes de tissu musculaire

III. analyse statistique

Les résultats sont exprimés sous forme de moyennes accompagnées de leurs indices de dispersion qui est l'erreur standard de la moyenne.

1. La moyenne :

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

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

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

La signification statistique des différences observées entre les valeurs moyennes obtenues pour chaque expérience est évaluée par le test de Student « te ». Pour comparer deux échantillons indépendants, on applique le test d Student à un degré de liberté qui dépend de la taille de l'échantillon.

$$V = \text{ddl } n_1 + n_2 - 2$$

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

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

I. Analyse phytochimique

1. Extraction et séparation des composés bruts et des flavonoïdes

L'extrait brut et l'extrait de flavonoïdes des parties aériennes d'*Ammodaucus leucotrichus* sont récupérés après évaporation sous forme de pâtes de couleur marron.

Tableau 08 : Analyses phytochimiques de l'extrait brut et l'extrait de flavonoïdes des parties aériennes d'*Ammodaucus leucotrichus* .

Système v/v	Rf extraits		Rf standards	
	EB	EAc	Quer	Cat
<p>1.CHCl 3 /CH3OH/ CH3COOCH2CH3/CH3COOH/H2O</p> <p>60/25/10/5/0.2</p>	0 0,78	0,29 0,59 0,79 0,84		0,8
<p>2.CHCl 3/CH3OH/ CH3COOCH2CH3/H2O</p> <p>65/25/10/0.2</p>	0	0,37 0,81 0,83 0,85 0,88	0,81	
<p>3.CHCl3/CH3OH/H2O</p> <p>75/15/0.1</p>	0 0,2 0,35 0,56 0,82 0,83 0,86 0,89	0 0,2 0,31 0,45 0,7 0,78 0,82 0,85	0,56	

Résultats et interprétation

<p>4. CHCl₃/CH₃OH/ CH₃COOCH₂CH₃/H₂O</p> <p>30/40/30/0.1</p>	0.3	0.3		
	0.4	0.38		
	0.6	0.43		
	0.65	0.58		
	0.67	0.65		0.63
	0.69	0.66		
		0.67		
		0.69		
	0.73	0.74		
<p>5. CHCl₃/CH₃OH</p> <p>60/25</p>	0.41	0.37		
	0.49	0.46		
	0.79	0.53		
	0.80	0.71		
	0.90	0.81		0.78
		0.83		
	0.85	0.91		
<p>6. CHCl₃/ CH₃OH</p> <p>90/10</p>	0	0.7	0.22	
	0.7	0.56		
	1	0.58		
	0.55	0.68		
	0.58	0.71		
	0.72			

Quer : Quercétine

CH₃OH : Méthanol.

EB : Extrait brut.

CH₃COOCH₂CH₃ : Acétate d'éthyle.

EAc : Extrait acétate d'éthyle.

CHCl₃ : Chloroforme.

Cat : Catéchine.

CH₃COOH : Acide acétique.

Le système 03 a révélé une bonne séparation obtenant 8 spots pour les extraits bruts et les extraits des flavonoïdes. Or, le système 04 a permis une bonne séparation des extraits de flavonoïdes permettant l'obtention de 9 spots dont deux taches ont des Rf's qui correspondent à ceux de la catéchine et la quercétine.

II. Activité antidiabétique

1. Viabilité et numération cellulaire

La numération cellulaire nous a confirmé la viabilité des cellules musculaires mises en incubation (plus de cinq million de cellules viables dans 1 g/ml de tissu musculaire).

2. Captation de glucose par les coupes fines de tissu musculaire isolées

L'effet antidiabétique de nos extraits a été évalué par la technique de la captation de glucose par les coupes fines de tissu musculaire en absence ou en présence de l'insuline, qui est utilisé comme témoin positif, de l'extrait brut et l'extrait de flavonoïdes à différentes concentrations (100, 200 et 500 µg/ml) et pendant des intervalles de temps croissants (30, 60 et 90min).

2.1. Consommation basale de glucose

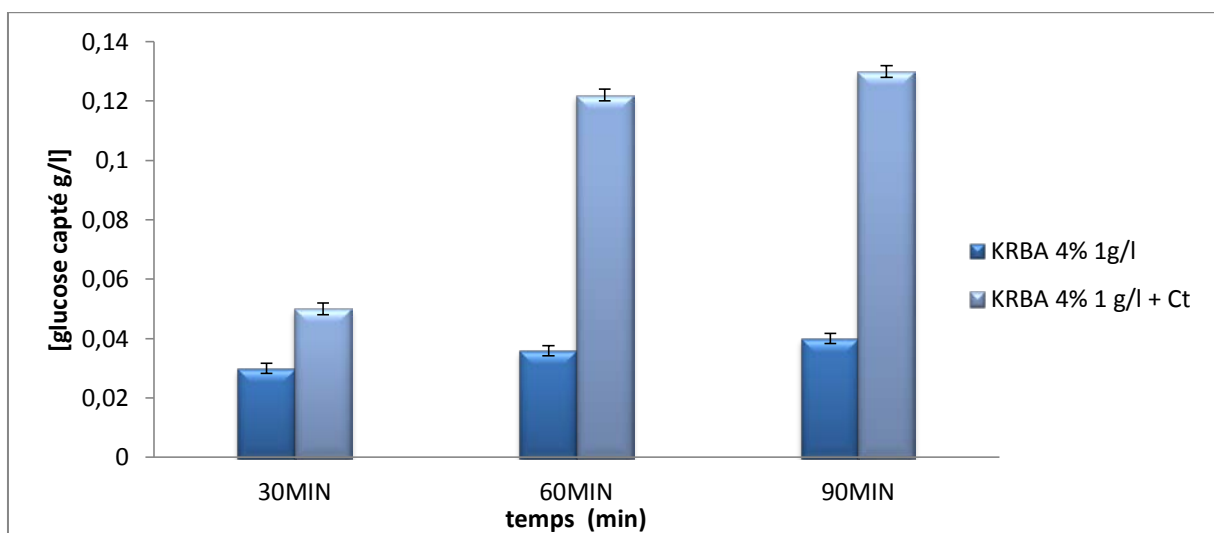


Figure 05 : Concentration de glucose capté dans un milieu d'incubation à 1 g/l de glucose en absence et en présence des coupes fines de tissu musculaire, pendant des intervalles de temps croissants.

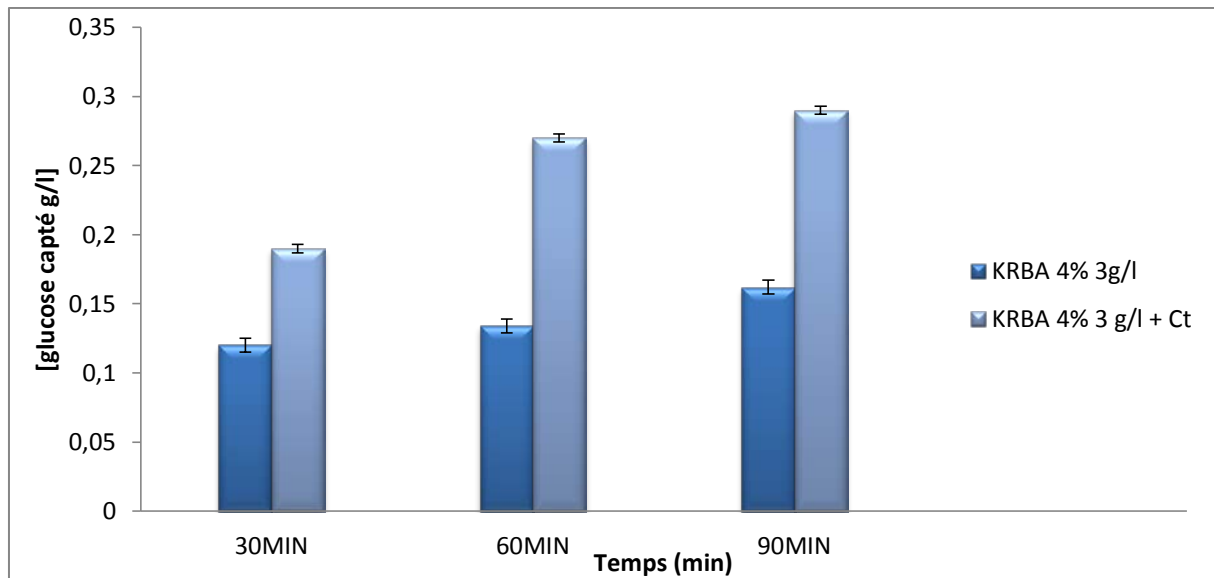


Figure 06 : Concentration de glucose capté dans un milieu d'incubation à 3g/l de glucose en absence et en présence des coupes fines de tissu musculaire, Pendant des intervalles de temps croissant.

Ct : Coupes fines de tissu musculaire.

Les figures 05 et 06 représentent le taux de la concentration de glucose capté dans deux milieux d'incubation (KRBA 4% avec 1 g/l : état physiologique normal ou 3 g/l du glucose : état d'hyperglycémie), en absence et en présence des coupes fines de tissu musculaire incubées à 30, 60 et 90 minutes. Ces essais nous ont permis de vérifier l'état métabolique de nos cellules isolées et leurs bons fonctionnements.

Les résultats obtenus montrent une augmentation de la captation de glucose en présence des coupes de tissu musculaire par rapport aux témoins (milieux d'incubation à 1g/l ou 3g/l de glucose en absence des coupes fines de tissu musculaire), cela montre que les coupes fines de tissu musculaire ont une consommation basale de glucose relativement importante, qui peut se faire en absence d'insuline de l'ordre de **0,02 g/l** de glucose dans le milieu d'incubation à 1g/l et de l'ordre de **0,06 g/l** dans le milieu d'incubation à 3g/l de glucose.

2.2. Effet de l'insuline sur la captation de glucose par les coupes de tissu musculaire :

Tableau 09 : Captation de glucose par les coupes fines de tissu musculaire en présence de différentes concentrations d'insuline en fonction du temps dans un milieu d'incubation KRBA 4% à 1g/l de glucose.

Résultats et interprétation

[Ins μU/ml]	[glucose capté par les Ct g/l]			Taux du glucose captés par Ct (%)		
	30 min	60min	90min	30min	60min	90min
10	30 min	60min	90min	30min	60min	90min
	0,30	0,33	0,41	30,69	31,01	41
50	30 min	60min	90min	30 min	60min	90min
	0,32	0,41	0,43	32	41	43
100	30 min	60min	90min	30 min	60min	90min
	0,35	0,42	0,45	35	42	45

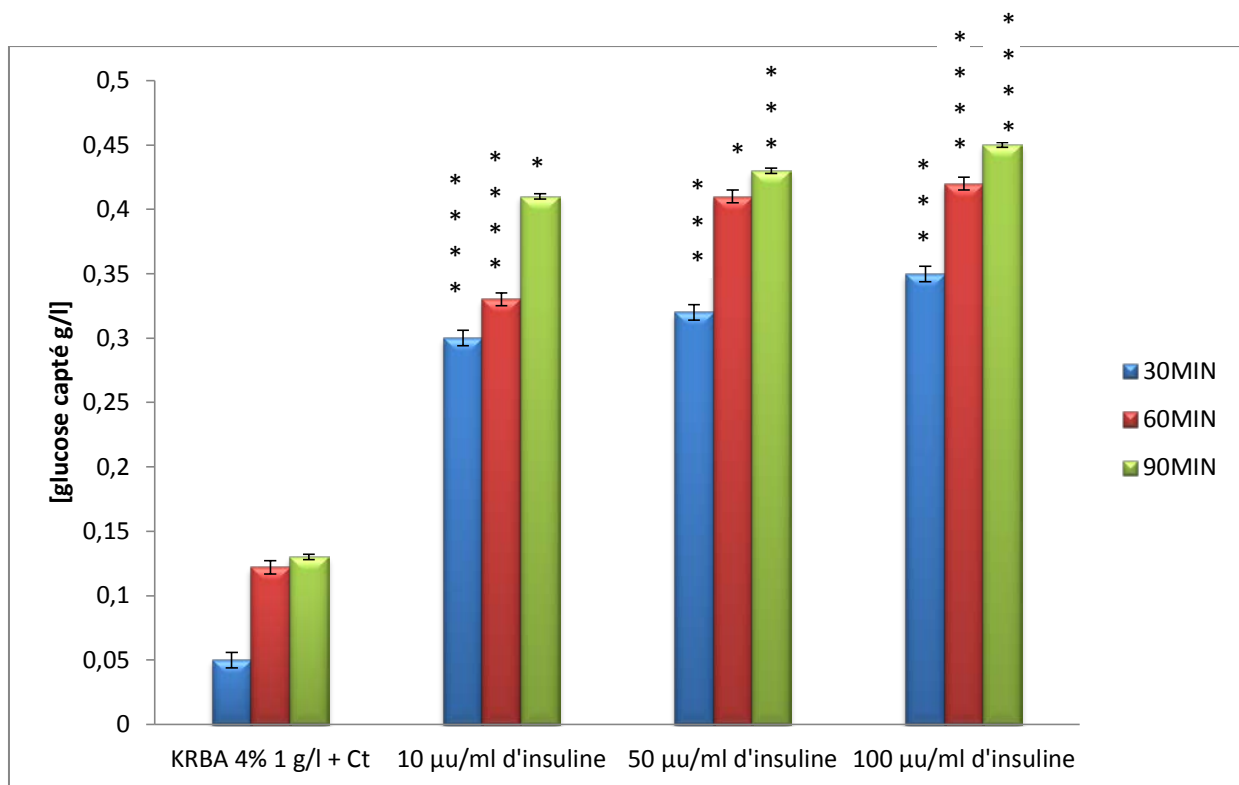


Figure 07: Concentration de glucose capté par les coupes fines de tissu musculaire à 1g/l du glucose en présence des différentes concentrations d'insuline pendant 30, 60 et 90 minutes.

En présence d'insuline, il a été remarqué que la consommation de glucose augmente proportionnellement avec la concentration de l'insuline, ce qui confirme que l'insuline active la pénétration de glucose par les coupes fines de tissu musculaire.

La présence d'insuline à 100 $\mu\text{U/ml}$ a causé une augmentation de la captation de glucose, de manière très significative à hautement significative pendant 30 à 90 minutes respectivement par rapport au milieu d'incubation contenant des coupes fines de tissu musculaire incubées avec 1 g/l du glucose en absence d'insuline, soit un taux de captation allant de 35% à d'environ 41% (**Tableau 09**).

Tableau 10 : Captation de glucose par les coupes fines de tissu musculaire en présence de différentes concentrations d'insuline en fonction du temps dans un milieu d'incubation KRBA 4% à 3g/l de glucose.

[Ins $\mu\text{U/ml}$]	[glucose capté par les Ct g/l]			Taux du glucose captés par Ct (%)		
	30 min	60min	90min	30 min	60min	90min
10	30 min	60min	90min	30 min	60min	90min
	1,006	1,068	1,378	33,59	35,6	45,9
50	30 min	60min	90min	30 min	60min	90min
	1,112	1,158	1,326	37,07	38,6	44,2
100	30 min	60min	90min	30 min	60min	90min
	1,16	1,176	1,204	38,71	39,2	40,2

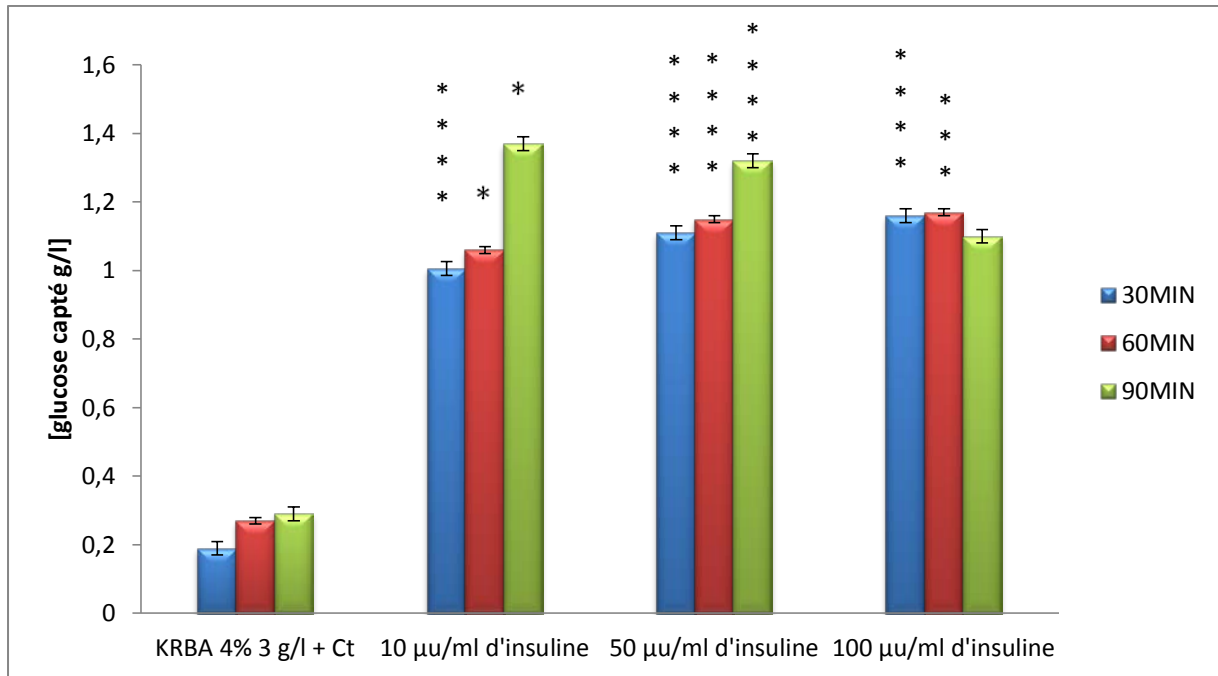


Figure 08 : Concentration de glucose capté par les coupes fines de tissu musculaire à 3 g/l du glucose en présence des différentes concentrations d'insuline pendant 30, 60 et 90 minutes.

Dans le milieu contenant des coupes fines de tissu musculaire incubées dans le KRBA 4% glucosé à 3g/l, on remarque que la dose 100 µU/ml augmente la captation de manière hautement significative, soit un taux de captation d'environ **38,71%** et **39,2%** pendant 30 et 60 minutes respectivement, par rapport aux témoins (milieu d'incubation contenant les coupes de tissu musculaire glucosé à 3 g/l en absence d'insuline).

Par ailleurs, pendant 90 minutes on remarque que la dose 10 µU/ml augmente la captation du glucose de manière significative, soit un taux de **45,9%** par rapport aux témoins (milieu d'incubation contenant des coupes de tissu musculaire glucosé à 3 g/l en absence d'insuline). (**Tableau 10**).

2.3. Effet de l'extrait brut sur la captation de glucose par les coupes fines de tissu musculaire :

Tableau 11 : Captation de glucose par les coupes de tissu musculaire en présence de différentes concentrations de l'extrait brut en fonction du temps dans un milieu d'incubation KRBA 4% (1 g/l Gluc).

Résultats et interprétation

[EB mg/ml]	[glucose capté par les Ct g/l]			Taux du glucose captés par Ct (%)		
	30 min	60min	90min	30 min	60min	90min
100	30 min	60min	90min	30 min	60min	90min
	0,177	0,235	0,318	17,7	23,5	31,8
200	30 min	60min	90min	30 min	60min	90min
	0,185	0,266	0,472	18,5	26,6	47,2
500	30 min	60min	90min	30 min	60min	90min
	0,196	0,3	0,2356	19,6	30	23,56

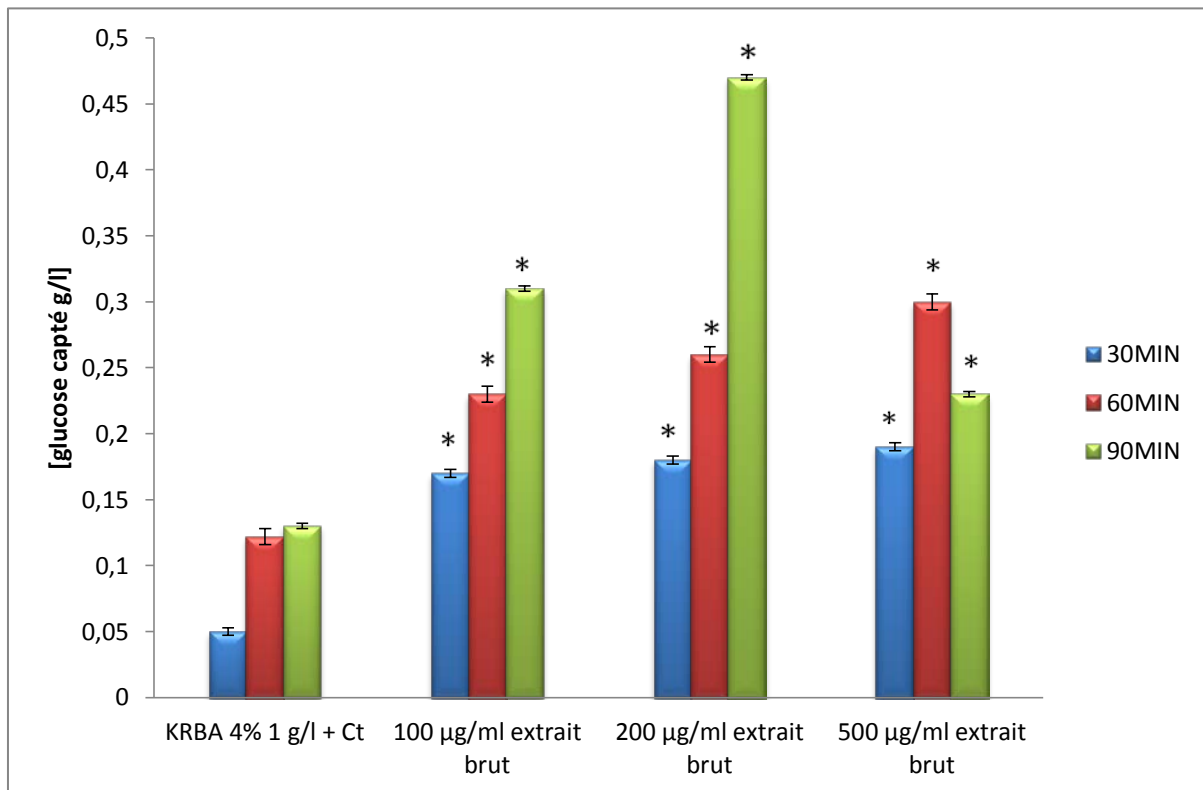


Figure 09 : Concentration de glucose capté par les coupes fines de tissu musculaire à 1g/l du glucose en présence de différentes concentrations de l'extrait brut pendant 30, 60 et 90 minutes.

Résultats et interprétation

Le **tableau 11** représente les résultats obtenus en présence des différentes concentrations de l'extrait brut à des intervalles de temps croissants dans un milieu d'incubation KRBA 4% à 1 g/l. Les résultats montrent que la dose 500 µg/ml de l'extrait brut a causé une augmentation de la captation de manière significative, soit un taux de captation **19,6%** et **30%** pendant 30 et 60 minutes respectivement par rapport aux témoins (milieux d'incubations contenant des coupes de tissu musculaire glucosé à 1 g/l en absence de l'extrait).

Par ailleurs pendant 90 minutes la dose 200 µg/ml provoque une augmentation significative de la captation de glucose par un taux de captation **47,2%** par rapport aux témoins (milieux d'incubations contenant des coupes de tissu musculaire glucosé à 1 g/l en absence de l'extrait).

Tableau 12 : Captation de glucose par les coupes fines de tissu musculaire en présence de différentes concentrations de l'extrait brut en fonction du temps dans un milieu d'incubation KRBA 4% (3 g/l Gluc).

[EB mg/ml]	[glucose capté par les Ct g/l]			Taux du glucose captés par Ct (%)		
	30 min	60min	90min	30 min	60min	90min
100	30 min	60min	90min	30 min	60min	90min
	0,81	0,97	1,14	27,2	32,3	38,1
200	30 min	60min	90min	30 min	60min	90min
	0,90	1,03	1,21	30	34,6	40,5
500	30 min	60min	90min	30 min	60min	90min
	1,39	1,46	1,03	38,2	48,8	34,6

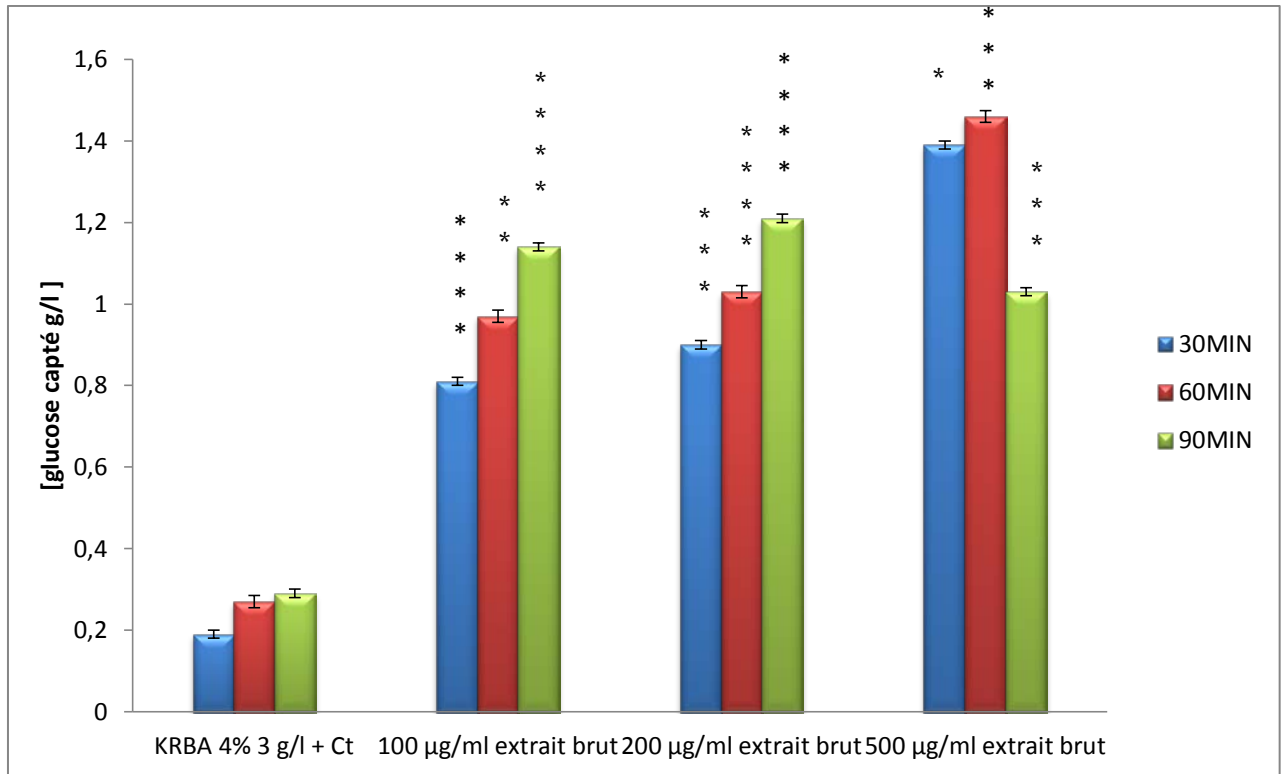


Figure 10 : Concentration du glucose capté par les coupes fines de tissu musculaire à 3 g/l du glucose en présence de différentes concentrations de l'extrait brut pendant 30, 60 et 90 minutes.

Le **tableau 12** représente les résultats obtenus en présence des différentes concentrations de l'extrait brut pendant des intervalles de temps croissants dans le milieu d'incubation KRBA 4% à 3 g/l .

La dose la plus élevée de l'extrait brut 500 µg/ml stimule la captation de glucose par les coupes de tissu musculaire de manière significative à hautement significative pendant 30 et 60 minutes respectivement, soit d'un taux de captation **38,2%** et **48,8%** par rapport aux témoins (coupes de tissu musculaire incubées dans le KRBA 4% avec 3 g/l sans l'extrait).

Pendant 90 minutes, on remarque que la dose 200 µg/ml augmente la captation de manière hautement significative, soit un taux de captation **40,5%** par rapport au milieu d'incubation à 3 g/l sans extrait.

2.4. Effet de l'extrait de flavonoïdes sur la captation de glucose par les coupes fines de tissu musculaire :

Tableau 13 : Captation du glucose par les coupes fines de tissu musculaire en présence de différentes concentrations de l'extrait de flavonoïdes en fonction du temps dans un milieu d'incubation KRBA 4% (1 g/l Gluc).

[EAc mg/ml]	[glucose capté par les Ct g/l]			Taux du glucose captés par Ct (%)		
	30 min	60min	90min	30 min	60min	90min
100	30 min	60min	90min	30 min	60min	90min
	0,19	0,23	0,28	19	23	28
200	30 min	60min	90min	30 min	60min	90min
	0,22	0,28	0,38	22	28	38
500	30 min	60min	90min	30 min	60min	90min
	0,27	0,31	0,36	27	31	36

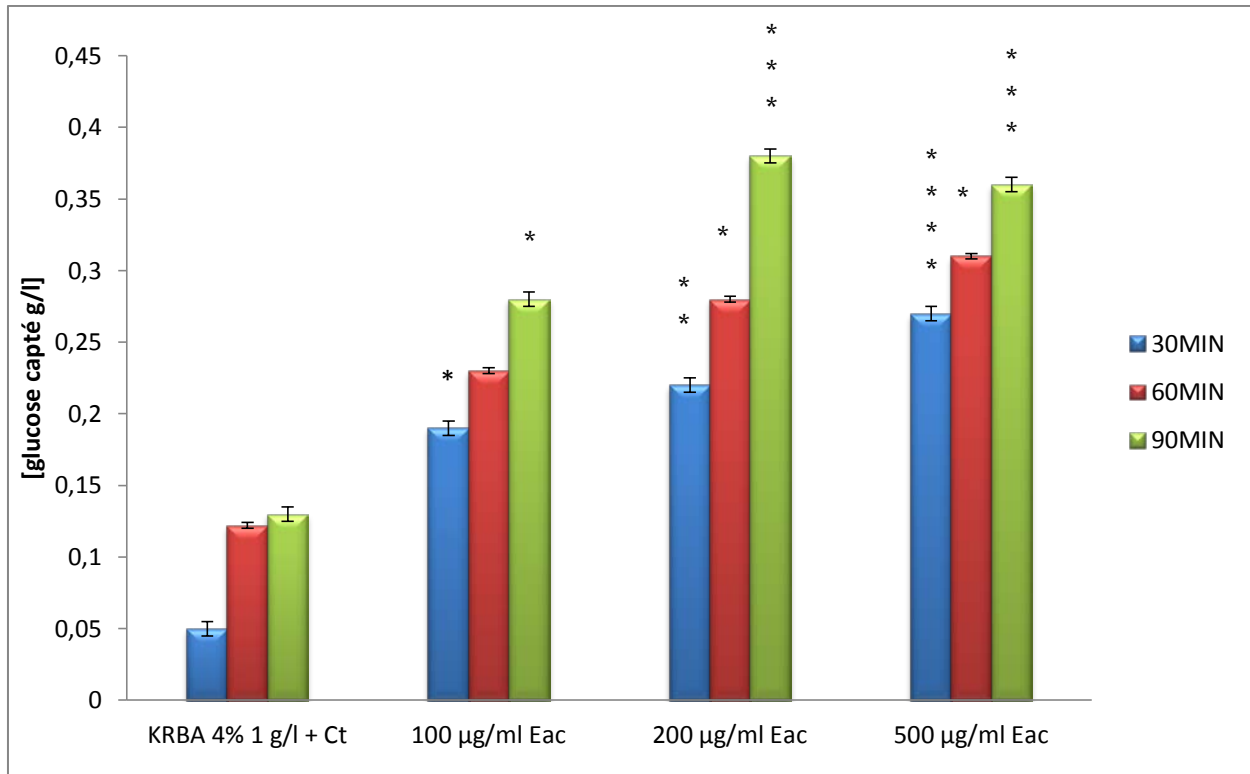


Figure 11: Concentration du glucose capté par les coupes fines de tissu musculaire à 1g/l du glucose en présence de différentes concentrations de l'extrait de flavonoïdes pendant 30, 60 et 90 minutes.

EAc : Extrait de flavonoïdes

Le **tableau 13** représente les résultats obtenus en présence des différentes concentrations de l'extrait de flavonoïdes au cours du temps, dans un milieu d'incubation à 1 g/l.

On remarque que les trois doses de l'extrait de flavonoïdes stimulent la captation de glucose par les coupes fines de tissu musculaire proportionnellement avec le temps, Or la dose 500 µg/ml augmente la captation de manière hautement significative à significative pendant 30 et 60 minutes respectivement, soit un taux de captation **27%** et **31%**.

Après 90 minutes d'incubation, nous avons observé que l'augmentation de la captation de glucose se fait de manière très significative par la dose de 200 µg/ml avec un taux de captation de **38%** par rapport au milieu d'incubation des coupes fines de tissu musculaire à 1 g/l de glucose.

Tableau 14 : Captation de glucose par les coupes de tissu musculaire en présence de différentes concentrations de l'extrait des flavonoïdes en fonction du temps dans un milieu d'incubation KRBA 4% (3 g/l Gluc).

[EAc mg/ml]	[glucose capté par les Ct g/l]			Taux du glucose captés par Ct (%)		
	30 min	60min	90min	30 min	60min	90min
100	30 min	60min	90min	30 min	60min	90min
	0,99	1,08	1,13	33	36,3	37,98
200	30 min	60min	90min	30 min	60min	90min
	1,16	1,19	1,22	38,8	39,7	40,96
500	30 min	60min	90min	30 min	60min	90min
	1,31	1,23	0,65	44	40,97	21,85

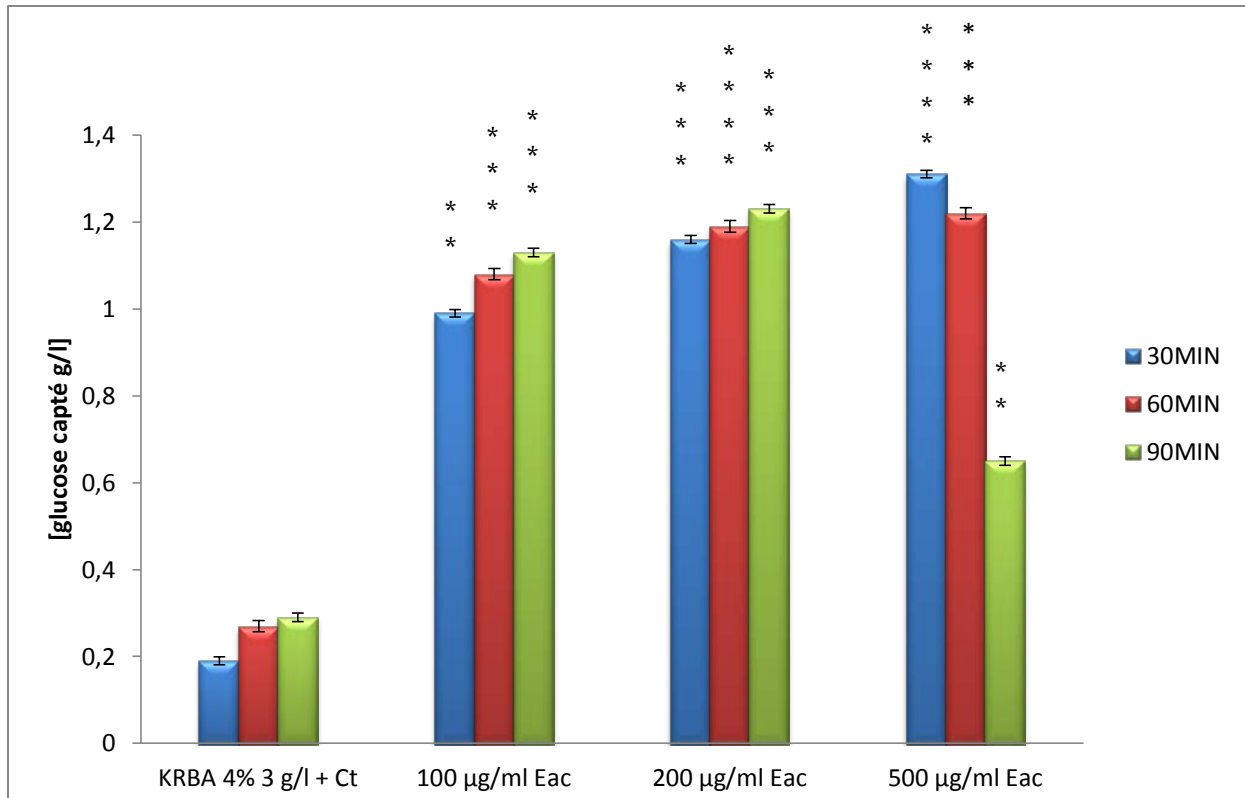


Figure 12: Concentration de glucose capté par les coupes de tissu musculaire à 3g/l du glucose en présence de différentes concentrations de l'extrait de flavonoïdes pendant 30, 60 et 90 min.

EAc : Extrait de flavonoïdes.

Le **tableau 14** représente les résultats obtenus en présence des différentes concentrations d'extrait de flavonoïdes pendant des intervalles de temps croissants dans un milieu d'incubation KRBA 4% à une concentration de 3 g/l. Les résultats montrent que la dose 500 µg/ml de l'extrait augmente la captation de glucose par les coupes de tissu musculaire de manière hautement significative à très significative, soit un taux de captation **44%** et **40,97%** pendant 30 et 60 minutes respectivement par rapport aux témoins qui contiennent les coupes de tissu musculaire incubées dans du KRBA 4% glucosé à 3 g/l en absence de l'extrait.

Pendant 90 minutes, on remarque que la dose 200 µg/ml stimule la pénétration de glucose de manière très significative, soit un taux de captation **40,96%** par rapport au témoin qui contient les coupes de tissu musculaire incubées dans du KRBA 4% glucosé à 3 g/l en absence de l'extrait.

2.5. Comparaison entre l'effet des extraits et l'effet de l'insuline sur la captation de glucose

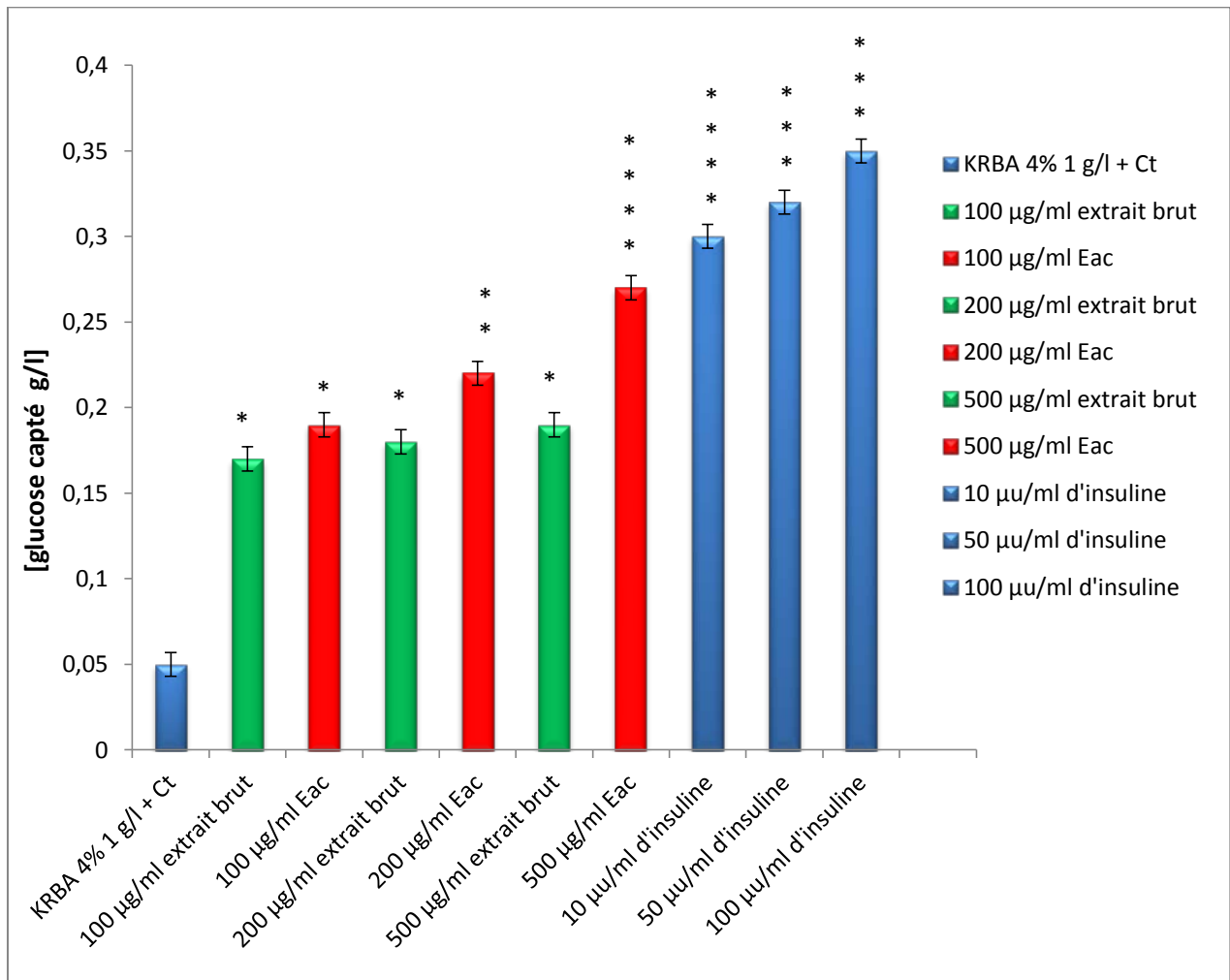


Figure 13: Comparaison entre l'effet des extraits et l'effet de l'insuline sur la captation de glucose dans un milieu d'incubation à 1 g/l pendant 30 minutes.

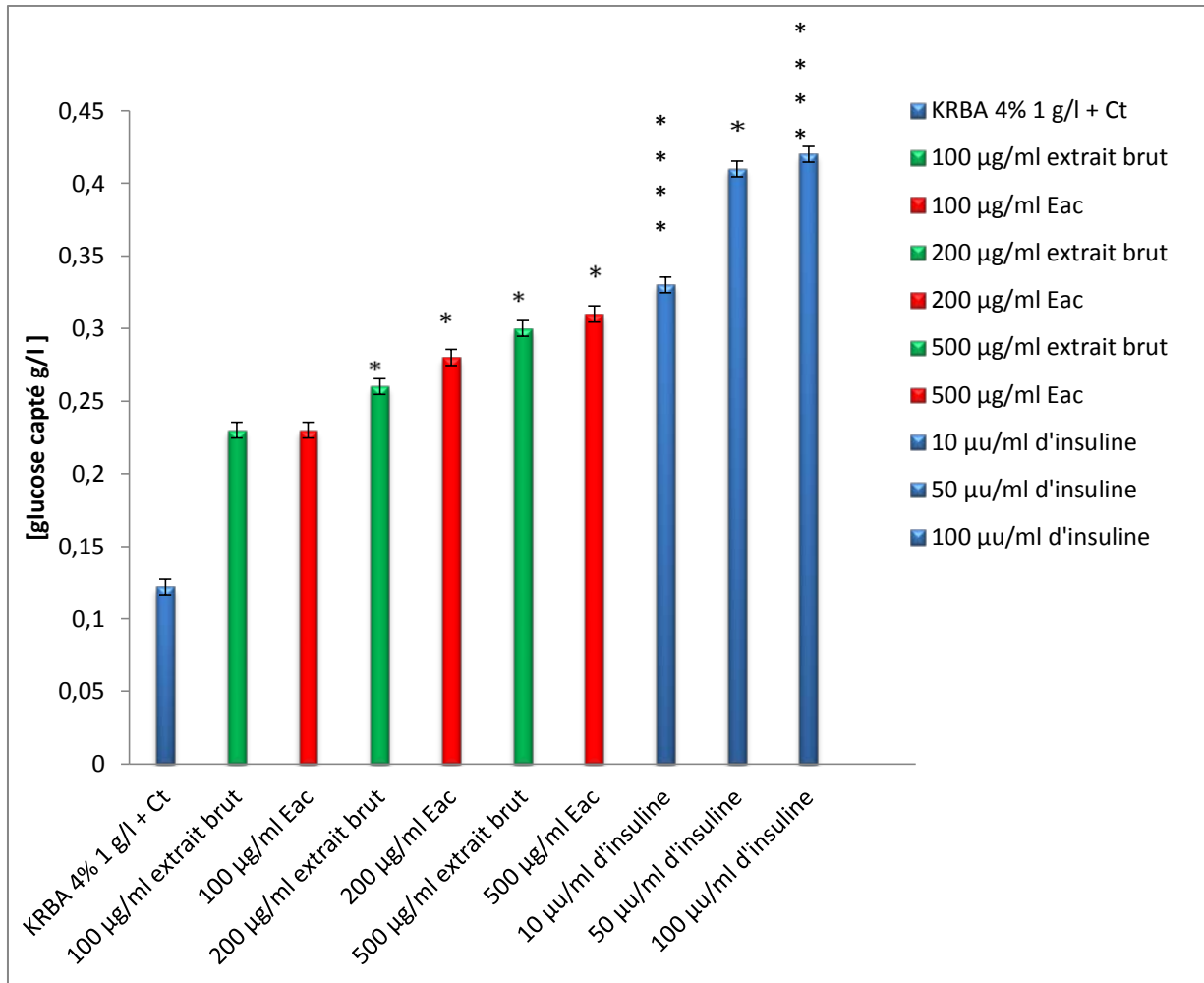


Figure 14 : Comparaison entre l'effet des extraits et l'effet de l'insuline sur la captation de glucose dans un milieu d'incubation à 1 g/l pendant 60 minutes.

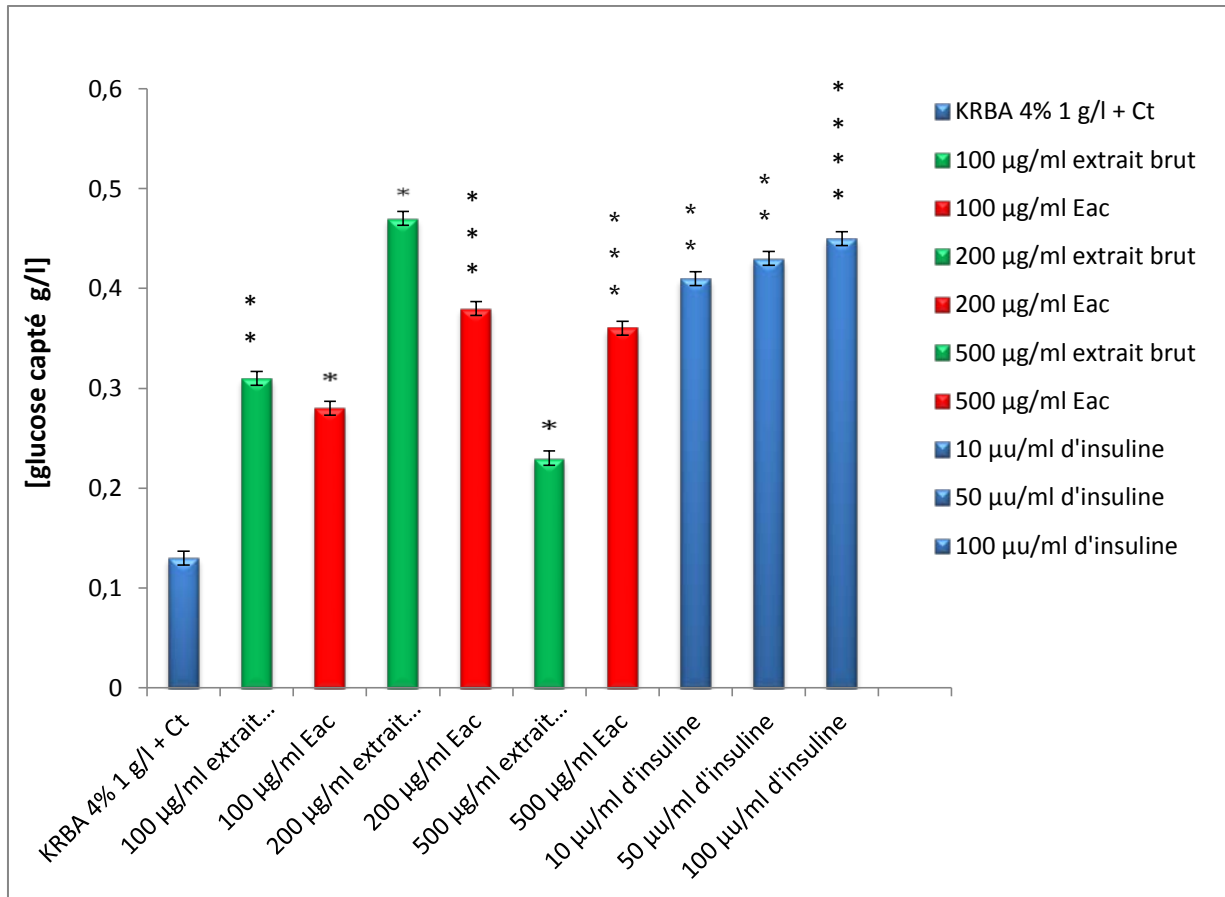


Figure 15 : Comparaison entre l'effet des extraits et l'effet de l'insuline sur la captation de glucose dans un milieu d'incubation à 1 g/l pendant 90 minutes.

Les figures 13, 14 et 15 représentent la comparaison entre le taux de la captation de glucose par les différentes doses de nos extraits brut et de flavonoïdes et le taux de la captation par les différentes doses de l'insuline dans des milieux d'incubation à 1 g/l pendant des intervalles de temps croissants.

Les résultats obtenus nous permettent de noter que l'extrait brut et l'extrait de flavonoïdes activent la captation de glucose par les coupes fines de tissu musculaire dans un milieu normo glycémique (1g/l).

Comparativement à l'insuline, nos extraits ont presque le même taux de captation que l'insuline qui est de l'ordre de **47.2%** pour l'extrait brut et **38%** pour l'extrait des flavonoïdes par rapport à **45%** pour l'insuline

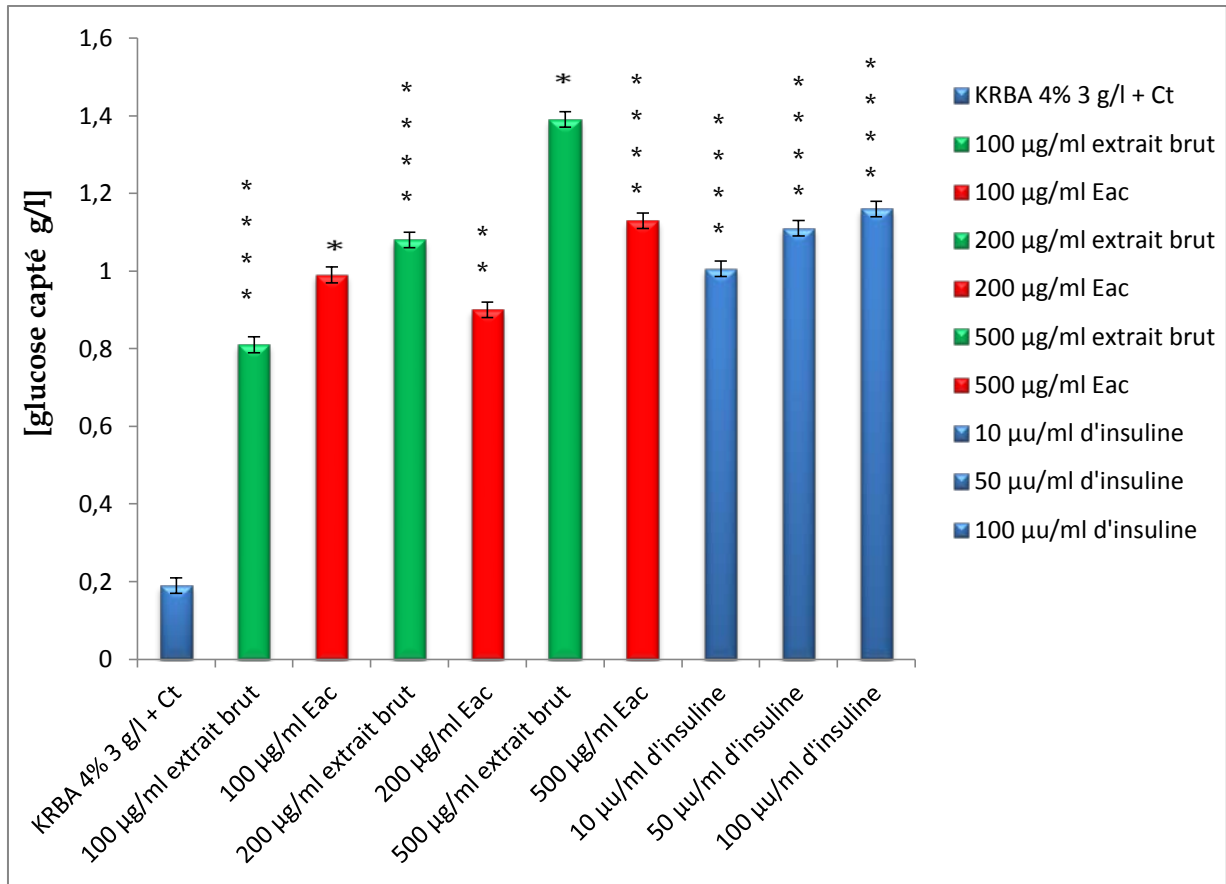


Figure 16 : Comparaison entre l'effet des extraits et l'effet de l'insuline sur la captation de glucose dans un milieu d'incubation à 3 g/l pendant 30 minutes.

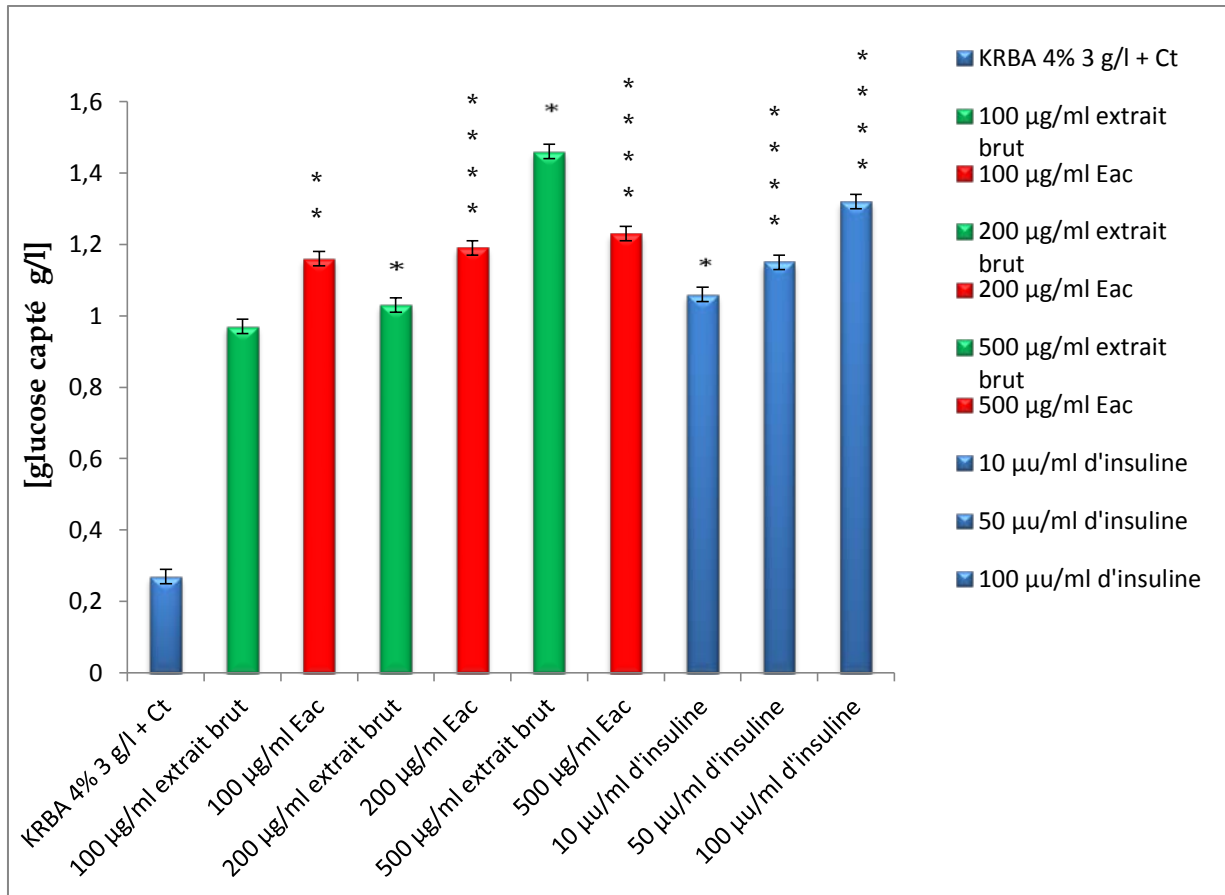


Figure 17 : Comparaison entre l'effet des extraits et l'effet de l'insuline sur la captation de glucose dans un milieu d'incubation à 3 g/l pendant 60 minutes.

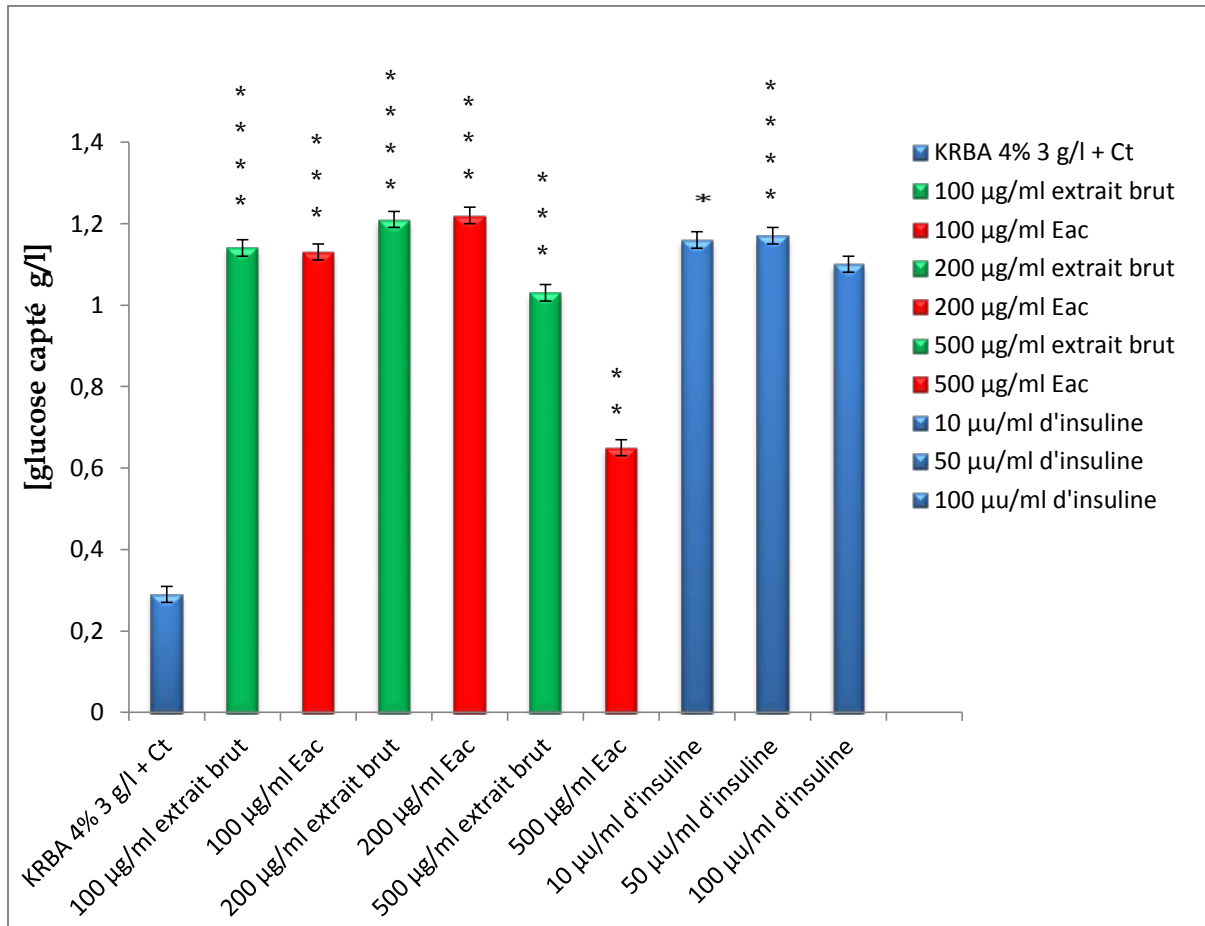


Figure 18: Comparaison entre l'effet des extraits et l'effet de l'insuline dans un milieu d'incubation à 3 g/l pendant 90 minutes.

Les figures 16, 17 et 18 représentent la comparaison entre le taux de la captation de glucose par les différentes doses de l'extrait brut et l'extrait de flavonoïdes et le taux de la captation par les différentes doses de l'insuline dans des milieux d'incubation à 3 g/l pendant des intervalles de temps différents.

Les résultats obtenus nous permettent de noter que le taux de captation de glucose est de l'ordre de 48,8% et 40,9% pour l'extrait brut et l'extrait de flavonoïdes respectivement par rapport à 45,9% pour l'insuline. Nous pouvons conclure que nos extraits et particulièrement l'extrait brut, ont un effet stimulateur de la captation de glucose par rapport à l'insuline.

Discussion :

L'espèce *Ammodaucus leucotrichus* famille des apiacées est connue par son effet antidiabétique dans la médecine traditionnelle. Plusieurs enquêtes ethnobotaniques ont permis de recenser son utilisation pour le traitement du diabète et ses complications (Mohamed et al., 2013 ; Bouallala et al., 2014 ; Orch et al., 2014 ; Alia et al., 2016). Cependant, aucune étude de cette activité n'a été réalisée. Notre travail a pour objectif la recherche et l'évaluation *in vitro* de l'effet antidiabétique de cette plante sur des coupes fines de tissu musculaire isolées à partir des rats de variété Wistar.

Les résultats obtenus dans nos expérimentations sur les extraits de flavonoïdes des parties aériennes d'*Ammodaucus leucotrichus*, nous permettent de noter la présence de 09 spots dont la catéchine et la quercétine révélés par la chromatographie sur couche mince. Ces résultats sont en accord avec ceux de Ting-Ting en 2010, d'où l'analyse par HPLC des parties aériennes des espèces *Bupleurum* (famille des apiacées) révèlent la présence de 12 composés des flavonoïdes dont la catéchine et la quercétine.

Les résultats des analyses biologiques *in vitro* démontrent la capacité de l'insuline, de l'extrait brut et l'extrait de flavonoïdes d'exercer une augmentation de la captation de glucose par les coupes fines de tissu musculaire isolées à partir des rats Wistar, dans deux milieux d'incubation, le premier étant un milieu normo glycémique (1 g/l) et le deuxième étant un milieu hyper glycémique qui reflète l'état diabétique (3 g/l).

En absence de l'insuline, les coupes de tissu musculaire ont une consommation basale qui se situe entre 0,02 et 0,06 g/l dans les deux milieux d'incubation (1g/l et 3 g/l) respectivement. Cette diminution du glucose dans les milieux d'incubation est probablement liée aux transporteurs non insulino-dépendants qui sont les GLUTs 1, car en absence de l'insuline, seuls ces transporteurs assurent l'entrée de glucose dans les cellules musculaires. (Capeau, 2003).

Une diminution très importante du taux de glucose dans les milieux d'incubation lors de l'addition de l'insuline est observée. Cet effet est lié à l'activation et la translocation des transporteurs insulino-sensibles GLUTs 4 (Klip et al., 1996). Ces transporteurs se trouvent abondamment et en grande partie séquestrés dans des vésicules intracellulaires, ils seront transportés vers la surface cellulaire en réponse à l'action de l'insuline (Klip et al., 1996).

Discussion

L'addition des différentes concentrations de l'extrait brut et l'extrait de flavonoïdes aux milieux d'incubation normo et hyper glycémiques provoque une stimulation de la captation de glucose par les coupes fines de tissu musculaire. Après 30 et 60 minutes d'incubation, nous avons remarqué que la concentration la plus élevée de 500 µg/ml des extraits a effet maximal sur la captation de glucose. Après 90 minutes d'incubation, cette concentration provoque une diminution de la captation de glucose, cela peut être dû à la saturation probable des récepteurs de l'insuline.

Ces résultats obtenus dans nos expérimentations sur l'extrait brut et l'extrait de flavonoïdes d'*Ammodaucus leucotrichus*, nous permettent de noter un effet hypoglycémiant qui est probablement de type insuline-like sur les transporteurs de glucose des cellules musculaires.

Le tissu musculaire intervient d'une manière importante dans le métabolisme glucidique, entre autre, dans la régulation de la glycémie. De ce fait, les cellules musculaires représentent un modèle cellulaire de choix pour tester l'effet antidiabétique des différents extraits.

L'incubation des myocytes avec l'extrait aqueux préparé par décoction de *Coriandrum savitum* à 0,25 et 10 mg / ml a induit une stimulation ultérieure de la sécrétion de l'insuline par les cellules β du pancréas (Alison et Peter, 1998).

L'extrait des fruits mûrs de *Punica granatum* à 50 µg/ml a stimulé significativement le transport de glucose et a augmenté l'expression des transporteurs GLUT 4 (123 % ± 8,8) dans les cellules musculaires à des niveaux comparables à ceux de l'insuline (123% ± 4,9). Il a été remarqué que cet effet diminue avec l'augmentation de la concentration de l'extrait à 200 µg/ml (111% ± 6,6) (Ben abdnnebi M., 2012).

Les résultats de l'effet de l'extrait des alcaloïdes des graines de *Citrullus colocynthis* sur la captation du glucose, ont permis de noter un effet probablement de type insuline-like sur les transporteurs de glucose de tissu musculaire, une dose de 75 µg/ml de cet extrait a augmenté la captation de glucose à un niveau comparable à celui de l'insuline à 500 µU/ml (Laissof A., 2009)

Les alcaloïdes extraits de l'épicarpe de *Citrullus colocynthis* ont probablement un effet anti hyperglycémiant qui est à l'origine de l'augmentation de la captation de glucose par les

myocytes, avec un taux de captation de 4% dans le milieu d'incubation à 0,54 g/l de glucose et de 9,32% dans le milieu d'incubation à 2 g/l de glucose (Billem I., 2009).

La famille des apiacées est très abondante et comprend plus de 3000 espèces avec 55 genres représentés en Algérie (Seddik M., 2010), plusieurs travaux ont permis de recenser l'effet antidiabétique des plantes qui appartiennent à cette famille, nous pouvons citer :

En 2010, **Abu –Zaintoun** a remarqué que l'extrait aqueux préparé par décoction de *Ferula assafetida* induit une réduction significative du taux de glucose sérique des rats rendus diabétiques par l'alloxane. Une dose de 0,2 g/ kg a provoqué une diminution du taux du glucose (6,75 mmol/l \pm 0,25) chez les rats traités par cet extrait. Par ailleurs, le taux du glucose sérique chez les rats non traités est de 10,28 mmol/l \pm 0,20. D'après ces résultats, il a été suggéré que le traitement par l'extrait de *Ferula assafetida* exerce un effet protecteur des cellules β pancréatiques.

L'administration de l'huile essentielle à 30 mg/kg de *foeniculum vulgare* aux rats rendus diabétiques a corrigé l'hyperglycémie de 162 mg/dl à 81,97 mg/dl et l'activité de la glutathion peroxydase sérique de 59,72 U/ Hémoglobine à 99,60 U/ Hémoglobine (Neveen et al., 2011).

Kamran et al., en 2012 ont montré l'effet anti hyperglycémiant de l'extrait aqueux des fruits de *Coriandrum savitum* sur des rats rendus diabétiques par la streptozotocine, à des doses de 250 et 500 mg /kg. Ces doses ont provoqué une diminution significative du taux de la glycémie et du cholestérol total, ainsi qu'une augmentation significative du HDL.

En 2016, **Al-Snafi** a montré que l'administration orale de l'extrait brut des graines de *Cuminum cyminum* à une dose de 25 μ g/ml chez des rats diabétiques entraîne une réduction significative de la glycémie. Cet effet est dû à la stimulation de la sécrétion de l'insuline par les cellules β du pancréas avec un taux de 3,34 à 3,85%.

Conclusion générale

L'activité antidiabétique de l'extrait brut et l'extrait de flavonoïdes d'*Ammodaucus leucotrichus* a été évaluée *in vitro* par la mesure du taux de glucose capté par les coupes fines de tissu musculaire isolées à partir des rats Wistar.

Nous avons constaté que l'extrait brut et l'extrait de flavonoïdes testés, induisent une stimulation importante de la captation de glucose par les coupes fines de tissu musculaire dans deux milieux d'incubation normo et hyper glycémiques. Les doses de 500 µg/ml et 200 µg/ml de nos extraits notamment dans le milieu hyper glycémique, stimulent la captation de glucose, ce qui nous permet d'avancer l'hypothèse que nos extraits auraient un effet hypoglycémiant probablement de type insuline-like sur les transporteurs de glucose des cellules musculaires.

Ce travail nous a permis l'obtention des résultats intéressants, mais préliminaires. Des investigations complémentaires seraient nécessaires, tels que :

- Confirmer les résultats obtenus sur un nombre plus important d'échantillon
- Tester d'autres doses des extraits bruts et de flavonoïdes afin de déterminer la dose la plus efficace.
- Rechercher les éventuels effets toxiques de nos extraits.
- Identifier, caractériser et séparer les différentes fractions des extraits bruts et des flavonoïdes par les méthodes d'analyses chimiques : Chromatographie sur colonne, HPLC, CPG, RMN...
- Tester les composés purifiés afin de déterminer la ou les fractions efficaces sur la maladie diabétique.
- Etudier *in vitro* l'action de nos extraits sur les cellules β pancréatiques isolées et sur des tissus périphériques insulinosensibles (foie et tissu adipeux)
- Evaluer l'effet antidiabétique de nos extraits *in vivo* et rechercher leurs mécanismes d'action au niveau tissulaire et moléculaire.
- Dosage d'autres paramètres plasmatiques impliqués dans le syndrome diabétique tels que : triglycérides, HDL, LDL, cholestérol, l'insulinémie, hémoglobine glyquée....

Références bibliographiques

1. **Abdelmeguid N. E., Fakhoury, R., Kamal, S. M., et Al Wafai, R. J., 2010.** Effects of *nigella sativa* and thymoquinone on biochemical and subcellular changes in pancreatic β -cells of streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal Of Diabetes* ; 2 :256-266.
2. **Abu- Zaintoun A., 2010.** Anti-diabetic activity of *Ferula assafetida* extract in normal and alloxan-induced diabetic rats. *Pakistan journal of biological sciences*, 13(2) : 97-100.
3. **Aerts J.M., 2009.** Glycosphingolipids-nature, function, and pharmacological modulation. *Angew. Chem. Int. Ed Engl* ; 48 :8848-8869.
4. **Ajabnoor M.A. et Tilimsani A.K., 1988.** Effect of *trigonella foenum graecum* on blood glucose levels in normal and alloxan diabetic mice. *Journal of ethnopharmacol* ; 22 :45-49.
5. **Al-Snafi A., 2016.** The pharmacological activities of *Cuminum cyminum*. *IOSR. Journal of pharmacy*. 6 :46-65.
6. **Alia T., Esnault M. et Ouled el hadj K., 2016.** An ethnopharmacological survey of plants used in traditional diabetes treatment in south- eastern Algeria (Ouargla province). *Journal of arid environments*. 127 :82-92.
7. **Alison M. et Peter R., 1998.** Insulin-releasing and insulin-like of the traditional antidiabetic plant *Coriandrum savitum* (coriander). *British journal of nutrition*, 81 :203-209.
8. **Amotte M., 1971.** Initiation aux méthodes statistiques en biologie 2^{ème} edit. Paris ; Masson et Cie.
9. **ANAES (Agence Nationale d'Accréditation et d'Evaluation En Santé) ,2000.** stratégies de prise en charge des complications, service des recommandations et des références professionnelles. Paris ; ISBN : 2-910653-73-0
10. **Aude L. et Lisa N., 2013.**Diabète : la canagliflozine, inhibiteur du SGLT2. Medscape

11. **Awad N. E., Seida, A., Shaffie Z. et El-Aziz A., 2011.** Hypoglycemic activity of *Artemisia herba-alba* (asso.) Used in egyptian traditional medicine as hypoglycemic remedy. *Journal of Applied Pharmaceutical Sciences* ; 2 : 30-39.
12. **Bahrour T., Gressier B., Trotin F., Brunet C., Dine T., Luycks M., Vasseur J., Cazin M., Cazin J. et Pinkas M., 1996.** Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arznei. Forschung* ; 46: 1086-1089.
13. **Bastard J.P., Vigouroux C. et Capeau J., 2001.** Syndrome métabolique ou syndrome d'insulinorésistance. *Encycl Méd Chir, Endocrinologie-Nutrition*; 10: 1-7 .
14. **Beghalia M., Ghalem S., Allali H., Belouatek A. et Marouf A., 2008.** Inhibition of calcium oxalate monohydrate crystal growth using.
15. **Ben abdnnebi M., 2012.** Mémoire présenté en vue de l'obtention du grade de Maitrise en pharmacologie. Le grenadier tunisien (*Punica granatum*) stimule le transport de glucose dans les cellules musculaires C2C12 via la voie insulino- dépendante de l'Akt et la voie insulino- indépendante de l'AMPK. Université de Montréal.
16. **Benariba N., Djaziri R., Hupkens E., Louchami K., Malaisse W. J. et Sener A., 2013.** Insulinotropic action of *Citrullus colocynthis* seed extracts in rat pancreatic islets. *Molecular Medicine Reports* ; 7 : 233-236.
17. **Benariba N., Djaziri, R., Zerriouh, B. H., Boucherit K., Louchami K., Sener A. et Malaisse W., 2009.** Antihyperglycemic effect of *Citrullus colocynthis* seed aqueous extracts in streptocotocin-induced diabetic rats. *Metabolic and Functional Research on Diabetes* ; 2 : 71-76.
18. **Bilem I., 2009.** Mémoire de Master. Contribution à la recherche de l'effet antidiabétique des alcaloïdes extraits de l'épicarpe de la coloquinte (*citrullus colocynthis*) sur la captation de glucose par les myocytes isolées de rat « Wistar ». Université Abou-Bakr Belkaid – Tlemcen-.

Références bibliographiques

19. **Blicklé J.F., 2004.** Actualités sur les traitements oraux du diabète, coordonné par Grimaldi A. EMC référence ; Elsevier. (Paris) ; 1 : 209-221.
20. **Bosquet F. et Hartemann-Heurtier A., 2004.** Insulinothérapie dans le diabète de type 2. EMC-Endocrinologie ; 1 : 55-65.
21. **Bouallala M., Bradai L. et Abid M., 2014.** Diversité et utilisation des plantes spontanées du Sahara septentrional algérien dans la pharmacopée saharienne. Cas de la région du Souf. Revue ElWahat pour les recherches et les études ; 6:18-26.
22. **Bramwell D. et Branwell Z., 2001.** «Flores Silvestres de las Islas Canarias », Madrid.
23. **Brissova M., Shiota M., Nicholson W., Gannon M., Knobel M., Piston D.W., Wright V. et Powers A., 2002.** Reduction in pancreatic transcription factor PDX-1 impairs glucose-stimulated insulin secretion. J. Biol. Chem ; 277 : 11225-11232.
24. **Buysschaert M. et Hermans M., 1998.** Critères révisés et nouvelle classification des diabètes sucrés. Louvin Med ; 117: 1-6.
25. **Capeau J., 2003.** Insulin signaling : mechanisms altered in insulin resistance. Elsevier, 19 (8) : 834-839.
26. **Charbonnel B. et Cariou B., 1997.** Diabète non insulino-dépendant : indications thérapeutiques. Médecine thérapeutique ; 3 : 11-103.
27. **DeFronzo R., Jacot E., Jequier E., Maeder E., Wahren J. et Felber J., 1981.** The effect of insulin on the disposal of intravenous glucose. Results from indirect calorimetry and hepatic and femoral venous catheterization. Diabetes ; 30 : 1000-1007.

Références bibliographiques

- 28. De Lange P., Lombardi A., Silvestri E., Goglia F., Lanni A. et MorenoM., 2008.** Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Delta: A Conserved Director of Lipid Homeostasis through Regulation of the Oxidative Capacity of Muscle..
- 29. Djeridane A., 2008.** Thèse de doctorat en sciences : Evaluation du pouvoir antioxydant et de l'inhibition d'enzymes (la Carboxylestérase et l'Acylase) par des extraits phénoliques de dix-neuf plantes médicinales locales. École Normale Supérieure de Kouba, Alger.
- 30. Drouin P., Blickle F., Charbonnel B., Eschwege E., Guillausseau P., Plouin F., Danious M., Balarac N. et Sauvanet J., 1993.** Diagnostic et classification du diabète sucré .Diabète et métabolisme ; 25 :72-83.
- 31. El-Haci I., 2015.** Thèse de doctorat : étude phytochimique et activités biologiques de quelques plantes médicinales endémiques du Sud de l'Algérie : *Ammodaucus leucotrichus* Coss.& Dur., *Anabasis aretioides* Moq. & Coss. Et *Limoniastrum feei* (Girard) Batt.Université Abou-Bakr Belkaid –Tlemcen-.
- 32. Farnsworth N., et Soejarto D., 1985.** Potentiel consequence of plant extinction in the united states on the current and future availability of prescription drugs. *Economicbotany* ; 39 :231-240.
- 33. Feng B., Zhang T. et Xu H., 2013.** Human adipose dynamics and metabolic health. *Ann N Y Acad Sci* ; 1281 : 160-177.
- 34. FID (Fédération Internationale du Diabète), 2013.** 6e édition. Bruxelles, Belgique.
- 35. Flesch F., 2005.** Intoxication d'origine végétal (praticien hospitalier), centre antipoison, hôpitaux universitaires de Strasbourg.
- 36. Fleurentin J., Pelt J. et Mazars G., 2002.** Des sources du savoir aux médicaments du futur. 4ème congrès européen d'ethnopharmacologie, Edition IRD.

Références bibliographiques

- 37. Fumeron F., 2005.** De l'obésité au diabète de type2 : épidémiologie et physiopathologie. Cholé-doc ; N°88.
- 38. Gherraf N., Zellagui A., Kabouche A., Lahoual M., Salhi R. et Rhouati S., 2013.** Chemical constituents and antimicrobial activity of essential oils of *Ammodaucus leucotricus*. Arabian Journal of Chemistry ; 1 :1 -3.
- 39. Golditz G., Willett W., Rotnizky A. et Manson E., 1995.** Weight gain as a risk factor for clinical diabetes mellitus in women. Ann. Intern. Med.; 122: 481-486.
- 40. Guignard J. et Dupont F.,2007.** Botanique: Systématique moléculaire. 14^{ème} édition.Masson.
- 41. Gundersen K., 2011.** Excitation transcription coupling in skeletal muscle. The molecular pathways of exercise. Biol Revcaub Philos Soc ; 86 :564-600.
- 42. Gurib-Fakim A., 2006.** Medicinal plants:Traditions of yesterday and drugs of tomorrow, Mol Aspects Med ; 27 : 01-93.
- 43. Hamza N., Berke B., Cheze C., Agli A., Robinson P., Gin H. et Moore N,2010.** Prevention of type 2 diabetes induced by high fat diet in the c57bl/6j mouse by two medicinal plants used in traditional treatment of diabetes in the east of Algeria. Journal Of Ethnopharmacology ; 128 : 513-518.
- 44. Hannan J., Ali, L., Rokeya, B., Khalequ J., Akhter M., Flatt, P. et Abdel-Wahab Y., 2007.** Soluble dietary fibre fraction of *Trigonella foenum-graecum* (fenugreek) seed improves glucose homeostasis in animal models of type 1 and type 2 diabetes by delaying carbohydrate digestion and absorption, and enhancing insulin action. british Journal Of Nutrition ; 97 : 514-521.
- 45. Harbone J.B., 1998.** Phytochemical Methods. Chapman Hall, London, 60-66.

Références bibliographiques

- 46. Ishiki M. et Klip A., 2005.** Minireview: recent developments in the regulation of glucose transporter-4 traffic: new signals, locations, and partners. *Endocrinology* ; 146 :8-5071.
- 47. Jarald E., Joshi S. et Jain D., 2008.** Diabetes and herbal medicine. *Iranian Journal of Pharmacology and therapeutics*; 7: 97-106.
- 48. Joulain D. et König A., 1998.** «The Atlas of Spectral Data of Sesquiterpe Hydrocarbons», E. B.-Verlag, Hamburg.
- 49. Kamran J., Mohd A., et Javed A., 2012.** Antidiabetic activity of aqueous extract of *Coriandrum savitum* L., fruits in streptozotocin induced rats. *International journal of pharmacy and pharmaceutical sciences*. 4 :0975-1491.
- 50. Kashikar V. et Kotkar T., 2011.** Indigenous remedies for diabetes mellitus. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*; 3: 22-29.
- 51. Kirpichnikov D., McFarlane S. et Sowers J , 2002.** Metformin: an update. *Ann Intern Med* ; 137:25-33.
- 52. Klip A., Volchuk A., Lijing H., et Theodoros T., 1996.** The glucose transporters of skeletal muscle. *ScienceDirect*, 7 :229-237.
- 53. Koga K., Shibata, H., Yoshino, K. et Nomoto, K., 2006.** Effects of 50% ethanol extract from rosemary (*Rosmarinus officinalis*) on α -glucosidase inhibitory activity and the elevation of plasma glucose level in rats, and its active compound. *Journal Of Food Science* ; 71 : 507-512.
- 54. Laissouf A., 2009.** Mémoire de Master. Contribution à l'étude de l'effet antidiabétique de l'extrait d'alcaloïdes de *citrullus colocynthis* sur des coupes de tissu de muscle isolées de rats « Wistar ». Université Abou-Bakr Belkaid –Tlemcen-.

- 55. Lauritzen H. et Schertzer J., 2010.** Measuring GLUT4 translocation in mature muscle fibers. *Am J Physiol Endocrinol Metab* ; 299:169-79.
- 56. Lamba S., Buch K., Lewis H. et Lamba H., 2000.** Phytochemicals as potential hypoglycemic agents. *Studies in Natural Products Chemistry*; 21: 457- 496.
- 57. Mauro A., 1961.** Satellite cell of skeletal muscle fibres .*J. Biophys. Biochem. Cytol* ; 9 :493-495.
- 58. Mohamed G., Lahcen Z., et Allal D., 2013.** Usage des plantes médicinales dans le traitement du diabète au Sahara marocain (Tan- Tan). *Journal of Animal&Plant Siences*. V 17.
- 59. Muckenstrum B., Diyani F., Le Nouen D., Fkih-Tetouani S. et Reduran J., 1997.** Ammolactone, a guaianolide from a medicinal plant, *Ammodaucus leucotrichus*. *Phytochemistry* ; 44: 907–910.
- 60. Nevven A., El laithy N., El said G., Salah M., Mona K., Morsy F. et Shaffine N., 2011.** Antidiabetic activities of *Foeniculum vulgare* Mill. Essential oil instreptozotocin-induced diabetic rats. *Macedonian journal of medical sciences*, 4(2) : 139-146.
- 61. Olivier B. et Zahnd G., 1979.** Plants with oral hypoglycemic action. *Quarterly journal of crude drug research* ; 17:139-196.
- 62. OMS (Organisation Mondiale de la Santé) ,1995.** Centrafrique, coup d’œil sur la santé. Profil pays, Bangui. RCA.

Références bibliographiques

- 63. OMS (Organisation Mondiale de la Santé) ,2016.** Rapport mondial sur le diabète, Aide mémoire N° 312. Genève.
- 64. Orch H., Allal D. et al., 2014.** Etude ethnobotanique des plantes médicinales utilisées dans le traitement du diabète, et des maladies cardiaques dans la région d'Izaréne (Nord du Maroc). Journal of Applied Biosciences 86 :7640- 7956.
- 65. Ould El Hadj M. D., Hadj-Mahammed M. et Zabeirou H., 2003.** Place des plantes spontanées dans la médecine traditionnelle de la région de Ouargla (Sahara Septentrional Est).Courrier du savoir ; 3 : 47-51.
- 66. Ozenda P., 1977.** Flore de Sahara septentrional et central, Centre national de la recherche scientifique, Paris.
- 67. Palti Y., David E., Lachov., et Schatzberger R., 1996.** Islets of Langerhans generate wavelake electric activity modulated by glucose concentration. Diabetes ; 45 :495-601.
- 68. Patti M.E. et Corvera S., 2010.** The role of mitochondria in the pathogenesis of type 2 diabetes. Endocr. Rev ; 31 :364-395.
- 69. Quézel P. et Santa S., 1963.** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. CNRS ; 2: 677.
- 70. Raghuran T., Sharma R., et Sivakumar B., 1994.** Effet of fenugreek seedes on intravenous dlucose disposition in non-insuline dependent diabetic patient. Phytotherapy research ; 8:83-86.
- 71. Rodbell M., 1964.** Metabolism of isolated fat cells, effects of hormones on glucose metabolism ans lipolysis. Journal of biological chemistry, 239 :375-380.
- 72. Sanjay M., 2002.** Herbal Drugs as Antidiabetics : An Overview.CRIPS ; 13: 9-13.

Références bibliographiques

- 73. Schiaffino S., et Reggiani C., 2011.** Fiber types in mammalian skeletal muscles. *Physiol rev* ; 1447-531.
- 74. Schwartz D., 1992.** Méthodes statistiques à l'usage des médecins et des biologistes. 3^{ème} edit. Paris ;Flammation medecine-sciences.
- 75. Seddik M., 2010.** Mémoire de Magister : Analyse physico-chimique, chromatographique et spectroscopique de l'huile essentielle d'*Ammoides Verticillata* de la région d'Adrar. Université d'Oran Es- Senia –Oran-.
- 76. Sheehan W. et Zemaitis M., 1983.** A constituent of *Pterocarpus marsupium*, as a potentiel antidiabetic agent *J. Nat. Prod* ; 46 :232-234.
- 77. Shepherd P. et Kahn B., 1999.** Glucose transporters and insulin action-implications for insulin resistance and diabetes mellitus. *N Eng J Med* ; 341 :248-257.
- 78. Singh U., Singh S. et Kochhar A., 2012.** Therapeutic potential of antidiabetic nutraceuticals *Phytopharmacology*; 2 : 144-169.
- 79. Spargo E., Pratt O. et Daniel P., 1979.** Metabolic functions of skeletal muscles of man, mammals, birds and fishes : a review. *J R Soc Med* ; 72 :921-925.
- 80. Svensson P., De faire O. et Sleight P., 2001.** Comparative effects of rami pril on ambulatory and office blood pressuring : A hope sub-study hypertention ; 38 :28-32.
- 81. Ting-Ting Z., Jin-Song Z., et Qiang W., 2010.** HPLC analysis of flavonoids from the aerial parts of *Bupleurum* species. *Chinese .Journal of natural medicines*. 8(2) : 107-113.
- 82. Trinder P., 1969.** Determination of glucose in blood using glucose oxidase with an alternative oxygen acceptor. *Ann clin Biochem*. 6 :24-27.

- 83. Tron I., Piquet O. et Baert A., 2002.** Toxon : manuel de toxicologie, Agence de l'environnement et de la maitrise de l'énergie ; 32-34 ; 26-27.
- 84. Velasco-Negueruela A., Pérez-Alonso M., Pérez de Paz P., Palá-Paúl J. et Sanz J., 2006.** Analysis by gas chromatography-mass spectrometry of the volatiles from the fruits of *Ammodaucus leucotrichus* subsp. *Leucotrichus* and subsp. *nanocarpus* grown in North Africa and the Canary Islands, respectively, *J Chromatogr A* ; 1108 :273-275.
- 85. Waki I., Kyo H., Yasuda M. et Kimura M., 1982.** Effect of a hypoglycemic component of ginseng radix on insulin biosynthesis in normal and diabetic animals. *Journal of pharmacodynamics* ; 5:544-557.
- 86. Wang M., Racine J, Song X., Li X., Nair I., Liu H., Avakian-Mansoorian A., Johnston H., Liu C., Shen C., Atkinson M., Todorov I., Kandeel F., Forman S., Wilson B. et Zeng D., 2012.** Mixed Chimerism and Growth Factors Augment β Cell Regeneration and Reserve Late- Stage Type 1 Diabetes. *Sci Transl Med* ; 4 : 59-133
- 87. Wennekes T., Van den Berg,R., Boot R., Van der Marel G., Overkleeft H.S., Renni M., Wackerhage H., Spangenburg E., et Booth F., 2004.** Control of the size of the human muscle mass. *Annu. Rev. Physiol* ; 66 :799-828.
- 88. Yang J., 2014.** Enhanced skeletal muscle for effective glucose homeostasis. *Prog Mol Biol Transl Sci* ; 121: 133 – 163.
- 89. Young J., 2010.** Diabetes, obesity, and heart failure: The new pandemic. *Methodist DeBakey Cardiovascular Journal* ; 6: 20-26.
- 90. Zorzano A., Palacin M., Guma A., 2005.** Mechanisms regulating GLUT4 glucose transporter expression and glucose transport in skeletal muscle. *Acta Physiol Scand* ; 183:43-58.

المخلص

اظهرت الدراسات العلمية ان العديد من النباتات لديها القدرة على منع و تقليل تطور داء السكري من النوع الثاني. تمحورت دراساتنا حول البحث عن امكانية الكمون الصوفي لتصحيح نسب السكر في الدم حيث ان هذه النبتة تستعمل بنطاق واسع في الجنوب الجزائري وفي المغرب بطريقة تقليدية لعلاج داء السكري.

تم اختبار المستخلص الخام و مستخلص الفلافونيدات المستخرجة من الاجزاء الهوائية للكمون الصوفي في المختبر بتركيزات مختلفة (200,100 و 500ميكروغرام /مللتر) وفي فترات زمنية مختلفة من اجل تحديد اثارها على امتصاص الجلوكوز من قبل الاجزاء الدقيقة للانسجة العضلية المعزولة من فئران مخبرية عادية في وسطين الاول عادي و الثاني عالي التركيز (1غرام/ لتر و 3 غرام/ لتر) .

اظهرت الاختبارات ان مستخلصاتنا لديها القدرة على تعزيز امتصاص الجلوكوز من قبل الاجزاء الدقيقة للانسجة العضلية في الوسطين وهذا ما يدل على قوة خفض نسبة السكر مماثلة للانسولين.

الكلمات المفتاحية : داء السكري من النوع الثاني، الكمون الصوفي، مستخلص خام، مستخلص الفلافونيدات، اجزاء دقيقة من الانسجة العضلية.

Résumé

Des travaux scientifiques ont montré que plusieurs plantes ont la propriété de prévenir et de diminuer la progression du diabète de type 2. Notre étude porte sur la recherche de l'effet antidiabétique d'*Ammodaucus leucotrichus* qui est largement utilisée au sud Algérien et au Maroc pour traiter de manière traditionnelle le diabète sucré.

L'extrait brut et l'extrait des flavonoïdes des parties aériennes d'*Ammodaucus leucotrichus* sont testés *in vitro* à différentes concentrations (100, 200 et 500 µg/ml) et pendant des intervalles de temps croissants (30, 60 et 90minutes), afin de déterminer leurs effets sur la captation de glucose par les coupes fines de tissu musculaire isolées des rats Wistar dans deux milieux d'incubation normo et hyperglycémique (1 g/l et 3 g/l).

Les tests réalisés montrent que nos extraits augmentent la captation de glucose par les coupes fines de tissu musculaire dans les deux milieux d'incubation, cela révèle un pouvoir hypoglycémiant comparable à celui de l'insuline.

Mots clés : diabète de type 2, *Ammodaucus leucotrichus*, extrait brut, extrait de flavonoïdes, coupes fines de tissu musculaire.

Abstract

Scientific reserch has shown that several plants have the property of preventing and decreasing the progression of type 2 diabetes. Our study concerns the search for the antidiabetic effect of *Ammodaucus leucotrichus* which is widely used in Southern Algeria and Morocco to treat diabetes in a traditional way

The crude extract and the flavonoid extract of the aerial parts of *Ammodaucus leucotrichus* are tested *in vitro* at different concentrations (100, 200 and 500 µg/ml) and for increasing intervals of time (30, 60 and 90 minutes). In order to determine their effects on glucose uptake by thin slices of muscular tissue isolated from Wistar rats in normal and hyperglycemic incubation meduims.

The tests carried out show that our extracts increase the glucose uptake by the thin slices of muscular tissue in two incubation medium. This result reveals a hypoglycemic effect comparable to that of insulin

Keywords : Type 2 diabetes, *Ammodaucus leucotrichus*, crude extract, flavonoid extract, thin slices of muscular tiss