

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de L'enseignement Supérieur et de La Recherche Scientifique
جامعة 8 ماي 1945 قالمة

Université 8 Mai 1945 Guelma
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et de L'univers



Mémoire En Vue De L'obtention Du Diplôme De Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie
Filière : Sciences Biologiques
Spécialité/Option : Biologie Moléculaire et Cellulaire
Département : Biologie

Thème :

Screening Phytochimique Et Evaluation De Quelques Activités Biologiques De Deux Plantes Médicinales

Présenté par :

- ❖ Amara Nardjis
- ❖ Friane Heythem
- ❖ Hamdi Marwa
- ❖ Touahri Raid Abdennour

Devant le jury composé de :

Président (e) : AYAD H	M.C.B	Université de Guelma
Examinatrice : BOUMAAZA A	M.C.A	Université de Guelma
Encadreur : HAMDIKEN M	M.C.B	Université de Guelma
Invité : GRARA. N	Pr	Université de Guelma

Juin 2022

Remerciements

Avant tous nos plus sincères remerciements à notre Dieu « الله » qui nous a donné la force et le courage pour réaliser ce travail.

On tient à exprimer nos gratitudees à Mme. AYED Hayet et à. Mme.

BOUMAAZA Awatif Maitre-assistant à l'université de 08 Mai 1945 de Guelma pour avoir accepté de juger ce travail.

On voudrait remercier notre directeur du mémoire Mme. HAMDIKEN Malika

Maitre conférence à l'université de Guelma pour avoir acceptée de nous encadrer et pour la confiance, le suivie, l'aide, le soutien et les conseils qu'elle nous a accordé toute au long de notre travail du projet de fin d'étude.

Les travaux de notre projet de fin d'étude ont été réalisés au sein des laboratoires de département des sciences de la nature et de la vie, à l'université 08 Mai 1945 à Guelma.

Nos remerciements les plus sincères s'adressent à Mme Grara N professeur à l'université de Guelma 8 Mai 1945, pour son aide pratique et son soutien moral ainsi que pour ses judicieux conseils.

On remercie donc le Mr H Tarek professeur botaniste à l'université d'Annaba pour son aide à réaliser cette étude.

Un très grand merci à Melle. BOUZITOUNA Amina maitre assistante à l'université d'Annaba pour ses orientations, son aide à fin de réaliser cette étude.

Nos sentiments de reconnaissance et nos remerciements vont aux personnels du service d'anatomie Hôpital Ibn Zohr à Guelma Dr KRAIMIA Randa et chef de service d'anatomie pathologie et toutes les laborantines pour la réalisation des coupes histologiques.

On remercie très chaleureusement Mr. ADJABI Mahmoud chef service à la polyclinique de Fojrol 'les frères Oumedour' ainsi les laborantin (Samia, Asma, Bicha, Meriem, Sihem et Radja) pour sa contribution et son aide concernant la réalisation des analyses biochimiques.

On tient à remercier maintenant très respectueusement Mme. Himer Ratiba technicienne du laboratoire de biochimie, université de Guelma pour nous avoir soutenus durant notre période de travail au laboratoire ainsi les techniciennes des laboratoires (Mehdi, Asma, Louisa, Hayet, Ghania et Houria) qui nous ont facilité notre travail.

Un grand merci à nos parents, pour tout l'amour et le soutien qu'ils nous ont apporté à tous les moments de notre vie. Ils sont toujours été une source de tendresse et un modèle de travail, de sagesse et d'humilité.

Nos sincères remerciements aussi :

- A nos frères.*
- A nos sœurs.*
- A nos amies et camarades.*

Dédicace

Je dédie ce travail :

A ma mère Ouahiba , ma raison de réussite, l'exemple parfait de la femme idéale, le symbole de l'amour, la tendresse, la sympathie et le sacrifice, qui m'a toujours orienté pour acquérir le bonheur dans cette vie.

A mon père Abd El Ghani , qui ma donnée toujours le courage, l'espoir et la chance d'atteindre mes butes, qui m'a toujours et d'un grand secours par son soutien et son encouragement pendant les moments difficiles.

« Je vous aime mes parents »

A mes frères : Rabeh et Sammy

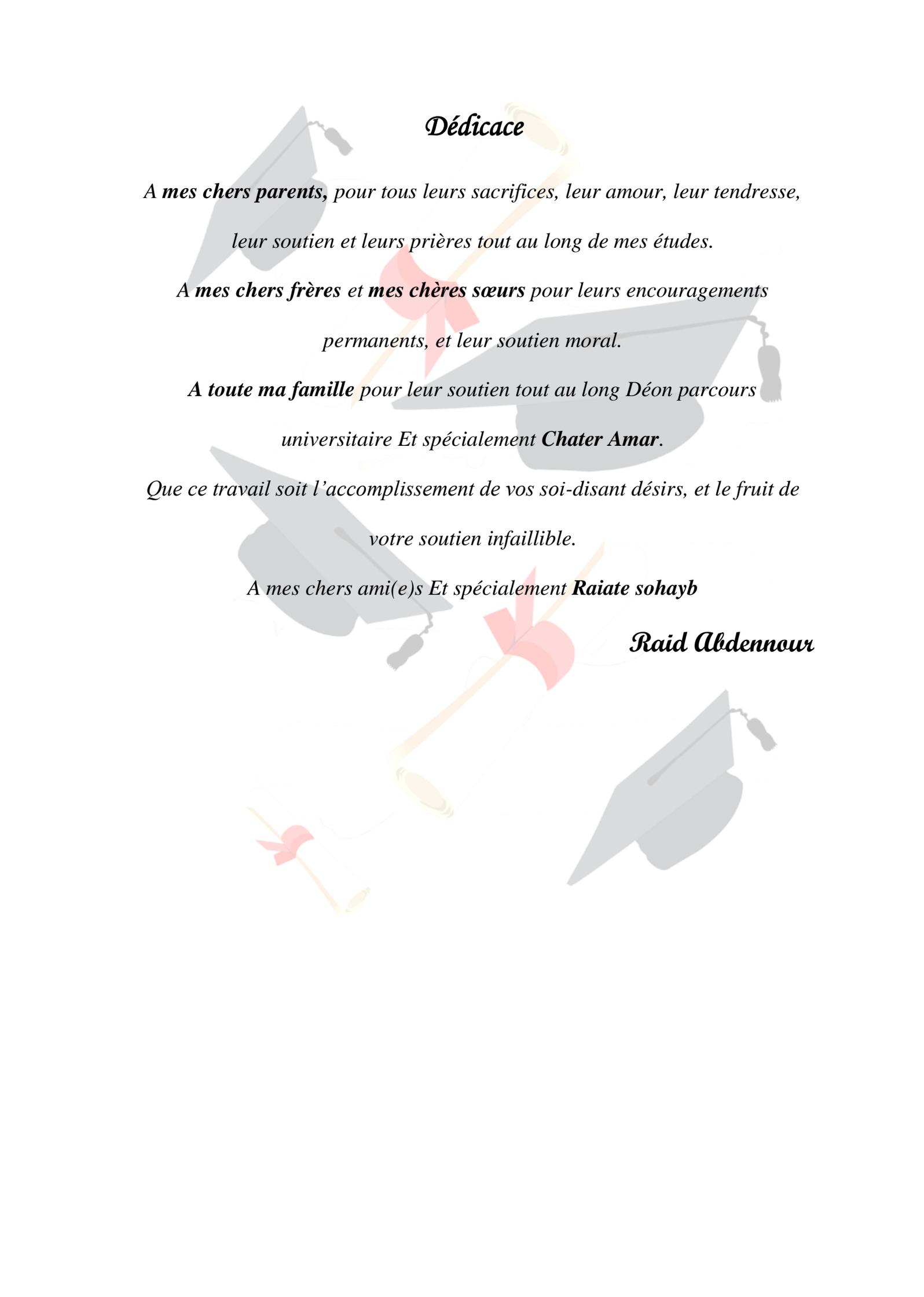
« Que j'aime de tout mon coeur »

A mes chères proches amies qui ont vécu avec moi les meilleurs moments ainsi que les mauvais durant ma vie et surtout qui sont près de moi

A mes collègues en master

À tous ceux qui me sont chers.

NARDJIS



Dédicace

*A mes chers parents, pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse,
leur soutien et leurs prières tout au long de mes études.*

*A mes chers frères et mes chères sœurs pour leurs encouragements
permanents, et leur soutien moral.*

*A toute ma famille pour leur soutien tout au long Déon parcours
universitaire Et spécialement Chater Amar.*

*Que ce travail soit l'accomplissement de vos soi-disant désirs, et le fruit de
votre soutien infaillible.*

A mes chers ami(e)s Et spécialement Raiate sohayb

Raid Abdennour

Dédicace

En premier, je remercie ALLAH, le tout puissant de m'avoir accordé la force, le courage et les moyens pour la réalisation de ce travail.

A MES TRES CHERS PARENTS

Ce travail représente le fruit de votre soutien, vos sacrifices, et vos encouragements. Jamais il n'aurait vu le jour sans les conseils que vous avez consentis pour mon éducation. Je voudrais vous remercier pour votre amour que vous ma porter depuis toujours et surtout pour tous les sacrifices que vous avez consentis pour nous. Que Dieu vous protège et vous accorde une longue vie pleine de santé et de bonheur.

A MA SŒUR Soumia et MES FRERES Haroun et Zaki

Merci d'être toujours à mes côtés. Puissent nos liens fraternels se consolider et se pérenniser encore plus.

A Manel, qui est toujours à mes côtés, qui m'a aidée, encouragée, soutenue et surtout m'a supportée pendant les moments difficiles.

A MES TRES CHERES AMIES

Chouayb, Sami, Yahia et Hassna. Je vous dédie ce travail et je vous souhaite une vie pleine de santé et de bonheur.

Et au final à tous ceux qui me sont chers, et à toutes personnes qui m'ont aidé de Près ou de loin.

Merci...

Haythem

Résumé

L'objectif de cette étude est d'évaluer l'effet antidiabétique et antioxydant de l'extrait méthanolique de deux plantes algériennes *Calendula suffruticosa subsp .foliosa* (Batt.) et *Drimia anthericoides* (Poir.). À cet effet, une étude phytochimique et un test de l'activité antioxydante in vitro ont été réalisés pour estimer ces effets attendus.

Les résultats ont montré la richesse des plantes étudiées en composés phénoliques. Un effet scavenger significatif et une activité antioxydante élevée sont également signalés chez les deux plantes.

L'étude biologique s'agit d'une étude expérimentale menée au laboratoire sur trente rats répartis en six lots de cinq rats chacun dont trois lots sont rendus diabétiques par l'injection intrapéritonéale de 150 mg/kg d'Alloxane L'extrait méthanolique de *Calendula suffruticosa subsp .foliosa* (Batt.) et de *Drimia anthericoides* (Poir.) sont administré chaque jour par gavage avec une dose de 400 et 50 mg/kg respectivement. Deux lots recevant de l'eau physiologique sont utilisés comme témoins et diabétiques non traités. Après quatre semaines du traitement, les rats sont sacrifiés et les différents paramètres sont déterminés.

Les résultats obtenus dans la présente étude ont montré clairement que l'Alloxane a induit chez l'animal un diabète caractérisé par des perturbations métaboliques (glucidiques, protéiques et lipidiques), une élévation des marqueurs du stress oxydant avec une diminution du système de défense antioxydant et des altérations histologique du pancréas et du foie.

Les extraits méthanoliques lyophilisés de *Calendula suffruticosa subsp .foliosa* (Batt.) et *Drimia anthericoides* (Poir.) exercent des effets antidiabétique et antioxydants qui seraient probablement liés à leur richesse en composé phénoliques. Par ailleurs, ces extraits pourraient protéger contre l'attaque radicalaire en réduisant la peroxydation lipidique, et en stimulant les systèmes de défense antioxydante (enzymatiques et non enzymatiques), chez le rat rendu diabétique par injection de l'Alloxane.

Mots Clés : Diabète - phytothérapie - *Calendula suffruticosa subsp .foliosa* (Batt.) - *Drimia anthericoides* (Poir.) – Stress oxydant.

Abstract:

The objective of this study is to evaluate the antidiabetic and antioxidant effect of the extract methanol from two Algerian plants *Calendula suffruticosa subsp foliosa* (Batt.) and *Drimia anthericoides* (poir.). For this purpose, a phytochemical study and an in vitro antioxidant activity test were carried out to estimate its expected effects.

The results showed the richness of the plants studied in phenolic compounds. A significant scavenger effect and high antioxidant activity are also reported in both plants.

The biological study is an experimental study carried out in the laboratory on thirty rats divided into six batches of five rats each of which 3 batches are rendered diabetic by intraperitoneal injection of 150 mg/kg of alloxan, the methanolic extract of *Calendula suffruticosa subsp foliosa* (Batt.) and *Drimia anthericoides* (poir.) are administered each day by force-feeding with a dose of 400 and 50 mg/kg respectively. Two batches receiving physiological saline are used as controls and untreated diabetics. Simultaneously, the remaining batch is treated with a drug of reference: glibenclamide. After four weeks of treatment, the rats are sacrificed and the different parameters are determined.

The results obtained in the present study clearly showed that alloxan induced diabetes in animals characterized by metabolic disturbances (carbohydrates, proteins and lipids), an elevation of oxidative stress markers with a decrease in the antioxidant defense system. And histological alterations of the pancreas and liver.

In conclusion, freeze-dried methanolic extracts of *Calendula suffruticosa subsp foliosa* (Batt.) and *Drimia anthericoides* (poir.) exert antioxidant and antidiabetic effects that would probably be related to their richness in phenolic compound. Furthermore, these extracts could protect against free radical attack by reducing lipid peroxidation, and by stimulating antioxidant defense systems (enzymatic and non-enzymatic), in rats rendered diabetic by injection of Alloxan.

Key words : diabetes - phytotherapy - *Calendula suffruticosa subsp foliosa* (Batt.) -*Drimia anthericoides* (poir.) - oxydant stress.

المخلص:

الهدف من هذه الدراسة هو تقييم التأثير المضاد لمرض السكر ومضادات الأكسدة للمستخلص الميثانول من نبتتين جزائريتين (*Calendula suffruticosa subsp. foliosa* (Batt.) و (*Drimia anthericoides* (poir.) تحقيقا لهذه الغاية، تم إجراء دراسة كيميائية نباتية واختبار نشاط مضادات الأكسدة في المختبر لتقدير الآثار المتوقعة.

أظهرت النتائج ثراء النباتات المدروسة في المركبات الفينولية. تم الإبلاغ أيضًا عن تأثير تحفيزي كبير ونشاط عالي مضاد للأكسدة في كلا النباتين.

الدراسة البيولوجية التالية هي دراسة تجريبية أجريت في المختبر على ثلاثون جردًا تنقسم الجردان إلى ست مجموعات من خمس جردان منها ثلاث دفعات أصيبت بمرض السكري عن طريق حقن داخل الصفاق من 150 ملجم / كجم من مستخلص ميثانول (Alloxane) ألوكسان. أما بالنسبة للنبتتين (*Calendula suffruticosa subsp. foliosa* (Batt.) و (*Drimia anthericoide* (poir.) يتم إعطاؤها كل يوم عن طريق التغذية القسرية بجرعة 400 و 50 مغ / كغ على التوالي. تستخدم دفتين تتلقى المحلول الملحي الفسيولوجي كعناصر تحكم وشواهد وكذلك بالنسبة لمرضى السكر غير المعالجين. في نفس الوقت، يتم التعامل مع الدفعة المتبقية بدواء المرجع: (la glibenclamide) غليبينكلاميد. بعد أربعة أسابيع من العلاج، يتم التضحية بالجردان و يتم تحديد المعلومات المختلفة والمطلوبة.

أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها في هذه الدراسة بوضوح أن (Alloxane) الألوكسان يسبب مرض السكري عند الحيوانات التي تتميز باضطرابات التمثيل الغذائي (الكربوهيدرات والبروتينات والدهون) ، وارتفاع علامات الإجهاد التأكسدي مع انخفاض في نظام الدفاع المضاد للأكسدة. والتغيرات النسيجية للبنكرياس والكبد.

وفي الاخير، المستخلصات الميثانولية المجففة بالتجميد من *Calendula suffruticosa* و (*Drimia anthericoides subsp. foliosa* (Batt.) لديها تأثيرات مضادة للسكري ومضادة للأكسدة والتي من المحتمل أن تكون مرتبطة بغناها بمركب الفينول. علاوة على ذلك، يمكن أن تحمي هذه المستخلصات من هجوم الجذور الحرة عن طريق تقليل بيروكسيد الدهون، ومن خلال تحفيز أنظمة الدفاع المضادة للأكسدة (الأنزيمية وغير الأنزيمية)، عند الجردان المصابة بمرض السكري عن طريق حقن (Alloxane) الألوكسان.

الكلمات الدالة: السكري - (*Calendula suffruticosa subsp foliosa* (Batt.)

Drimia anthericoides (poir) - الأكسدة - طب الاعشاب.

Sommaire

Remercîments	
Dédicace	
Résumé	
liste des figures	
liste des tableaux	
liste des abréviation	
Introduction	1
Chapitre I : Phytothérapie et plantes médicinales	
1. Historique de la phytothérapie	4
2. Définition de La phytothérapie	4
3. Plantes médicinales	5
4. Principes actifs	6
4.1. Quelques exemples des principes actifs	6
4.1.1. Les alcaloïdes	6
4.1.2. Les saponosides	6
4.1.3. Flavonoïdes	6
4.1.4. Tannins.....	7
4.1.5. Coumarines	7
4.1.6. Stérols	7
5. Différents types de la phytothérapie.....	7
5.1. L'aromathérapie.....	8
5.2. La gemmothérapie	8
5.3. L'Herboristerie	8
5.4. L'homéopathie.....	8
5.5. La phytothérapie chinoise.....	8
5.6. Phytothérapie pharmaceutique	8
6. Les modes de préparation en phytothérapie	9
6.1. Les tisanes : Utilisation des plantes sèches	9
6.1.1. Infusion	9
6.1.2. Décoction	9

6.1.3.	Macération	9
6.1.4.	Digestion	9
6.2.	Poudre	10
6.3.	Extrait	10
6.4.	Les teintures.....	10
6.5.	Les alcoolés	10
6.5.1.	Les alcoolatures	10
6.5.2.	Les alcoolats	10
6.6.	Les huiles essentielles (HE).....	11
6.7.	Hydrolats	11
7.	Les voies d'administration	11
7.1.	Usage interne	11
7.1.1.	Tisane.....	11
7.1.2.	Fumigation	11
7.2.	Usage externe	12
7.2.1.	Au niveau de la peau.....	12
7.2.2.	Au niveau des muqueuses.....	13
8.	Les avantages de la phytothérapie.....	13
9.	Les inconvénients de la phytothérapie	13
10.	Les plantes sélectionnées.....	14
10.1.1	Généralités sur la famille des <i>Astéracées</i>	14
10.1.2.	Étymologie de <i>Calendula suffruticosa</i> :	14
10.1.3.	Le genre <i>Calendula</i> :.....	15
10.1.4.	Description botanique :	15
10.1.5.	Synonym(s) homotypic.....	15
10.1.6.	Systématique	15
10.2.	<i>Drimia anthericoides</i> (Poir.) 'la Scilla'	16
10.2.1.	Généralités sur la famille des <i>Asparagaceae</i> :	16
10.2.2.	Description botanique	16
10.2.3.	Synonym(s) Homotypic	17
10.2.4.	Systématique	17

Chapitre II : Diabète sucré

1.	Définition	19
----	------------------	----

2. Symptômes	19
3. Epidémiologie	19
4. Classification.....	20
4.1. Diabète primaire	20
4.1.1. Diabète de type 1 (DT 1)	20
4.1.2. Diabète de type 2 (DT 2)	20
4.1.3. Diabète gestationnel.....	20
4.2. Diabète secondaire.....	20
5. Physiopathologie et équilibre physiologique du diabète.....	22
6. Facteurs de risques	25
6.1. Facteurs environnementaux	25
6.2. Facteurs génétiques.....	25
6.3. Facteurs immunologiques.....	25
7. Complications liées au diabète.....	26
7.1. Complications Aigues	26
7.1.1. L'hyperglycémie	26
7.1.2. L'hypoglycémie	26
7.2. Complications Chroniques	26
7.2.1. Micro-angiopathiques ou microvasculaires	26
7.2.2. Macro-angiopathiques ou macrovasculaires.....	27
7.2.3. Autres types de complication.....	27
8. Diabète expérimental.....	27
8.1. Diabète induit par l'Alloxane	28
Chapitre III : Stress oxydant et activité antioxydantes	
1. Stress oxydant	30
2. Définition d'un radical libre.....	30
3. Types des radicaux libres	31
3.1. Espèces réactives de l'oxygène (ERO).....	31
3.1.1 Espèces radicalaires.....	31
3.1.2. Espèces non radicalaires	31
3.2. Espèces réactives de L'azote (RNS).....	32
3.2.1. Monoxyde d'azote (NO·).....	32
3.3. Source des radicaux libre.....	32

3.3.1.	Source externe.....	32
3.3.2.	Source interne	32
4.	Rôles des radicaux libres.....	32
5.	Cibles biologiques de stress oxydant	33
5.1.	Lipides	33
5.2.	ADN	33
5.3.	Protéines	33
5.4.	Lipoprotéines	34
5.5.	Sucres	34
6.	Les Antioxydant	34
6.1.	Définition.....	34
6.2.	Classification des antioxydants	35
6.2.1.	Antioxydants enzymatique.....	35
6.2.2.	Antioxydants non enzymatique.....	36
6.2.3.	Antioxydants synthétiques	38
7.	Maladies liées au stress oxydatif	39
8.	Implication du stress oxydant dans le diabète (Glutotoxicité liée à l'hyperglycémie)	40
8.1.	L'activation de la voie des polyols :	40
8.2.	La production de produits terminaux de glycation (AGE)	40
8.3.	L'auto-oxydation du glucose	41
8.4.	L'activation de la protéine kinase C (PKC)	41

Matériel et méthodes

1.	Matériel végétal.....	43
2.	Les animaux	43
3.	Etude phytochimique.....	43
3.1.	Préparation de l'extrait méthanolique.....	43
3.2.	Tests préliminaires de la composition chimique	45
3.2.1.	Tanin	45
3.2.2.	Flavonoïdes	45
3.2.3.	Alcaloïdes	45
3.2.4.	Stérols et triterpènes.....	45
3.2.5.	Saponosides	46
3.2.6.	Composés réducteurs	46

3.2.7.	Coumarines	46
3.2.8.	Mucilages.....	46
3.2.9.	Terpénoïdes.....	46
4.	Analyse de l'extrait méthanolique.....	46
4.1.	Dosage des polyphénols	46
4.2.	Dosage des flavonoïdes	47
4.3.	L'évaluation de l'activité anti-oxydante	47
5.	Etude sur les rats diabétiques	48
5.1.	Induction du diabète sucré chez les rats	48
5.2.	Traitement des animaux.....	49
5.3.	Prélèvement sanguin.....	49
5.4.	Prélèvement des organes	49
5.5.	L'analyse des paramètres sériques	51
5.6.	Analyse des paramètres tissulaires	51
5.6.1.	Dosage des protéines	51
5.6.2.	Evaluation de l'activité enzymatique du superoxyde dismutase	51
5.6.3.	Dosage du malondialdéhyde (MDA)	52
5.6.4.	Dosage du glutathion réduit (GSH)	53
5.6.5.	Dosage de l'activité enzymatique du glutathion peroxydase (GSH-Px)	54
5.7.	Etude histologique	54
5.7.1.	Fixation des organes	55
5.7.2.	Préparation des cassettes.....	55
5.7.3.	Déshydratation	55
5.7.4.	Réalisation des blocs (inclusion)	55
5.7.5.	Coupe des organes	56
5.7.6.	Coloration	56
5.7.7.	Montage	57
5.7.8.	Observation au microscope.....	57
6.	L'étude statistique	57
RESULTATS ET DISCUSSION		
1.	Etude phytochimique.....	60
1.1.	Rendement d'extraction.....	60
1.2.	Tests phytochimiques :	60

1.3. Dosage des polyphénols et des flavonoïdes	61
2. L'évaluation de l'activité anti-oxydante (DPPH).....	62
3. Etude sur les rats diabétiques	63
3.1. Etude de la croissance corporelle des rats pendant le traitement	63
3.2. Les paramètres biochimiques	64
3.3. Paramètres tissulaires	66
3.3.1. MDA	66
3.3.2. Glutathion GSH	68
3.3.3. Les antioxydants enzymatique (GSH-PX / SOD).....	71
3.3.4. Analyse des coupes histologiques.....	75
Discussion.....	80
Conclusion perspectives	91
Références bibliographiques.....	95
Annexes	119

Liste des figures

Figure 1. <i>Calendula suffruticosa</i> (Prise personnelle, 2022)	16
Figure 2. <i>Drimia Anthericoides</i> (Prise personnelle, 2022).....	17
Figure 3. la destruction auto-immune des cellules bêta-pancréatiques dans le DT1.....	23
Figure 4. Facteurs contribuant à l'apoptose des cellules β	25
Figure 5. Balance entre les espèces réactives oxygénées(ERO) et les antioxydants	30
Figure 6. Relation entre diabète et stress oxydative	41
Figure 7. Protocole de préparation de l'extrait méthanolique.	44
Figure 8. Schéma récapitulatif du Protocole expérimental.....	50
Figure 9. Réaction du malondialdéhyde avec l'acide thiobarbiturique	52
Figure 10. Teneur des polyphénols et des flavonoïdes dans les deux extraits	62
Figure 11. Effet antiradicalaire de l'EMCS et l'EMDA sur le radical DPPH°.	62
Figure 12. Gain ou perte du poids des rats à la fin du traitement.	63
Figure 13. Variation des concentrations sériques de glucose, triglycérides, cholestérol, urée, créatinine chez les lots expérimentaux.	66
Figure 14. Taux d'MDA pulmonaire, rénale, hépatique, testiculaire et cardiaque chez les lots (N), (D), (NTC), (NTD), (DTC) et (DTD)	68
Figure 15 : Taux du GSH pulmonaire, rénale, hépatique, testiculaire et cardiaque chez les lots (N), (D), (NTC), (NTD), (DTC) et (DTD)	70
Figure 16. l'activité du glutathion peroxydase (GSH-Px)	72
Figure 17. Superoxyde dismutase (SOD) pulmonaire, rénale, hépatique, testiculaire et cardiaque chez les lots (N), (D), (NTC), (NTD), (DTC) et (DTD)	74
Figure 18. Coupe histologique des pancréas.	78
Figure 19. Coupe histologique de foie.	79

Liste des tableaux

Tableau 1 : Classification étiologique du diabète secondaires	21
Tableau 2 : Couleurs, poids et rendement des extraits des deux plantes.....	60
Tableau 3: Résultats de screening phytochimique.	61
Tableau 4: Concentration inhibitrice de 50% pour les deux extraits et l'acide ascorbique.	63

Liste Des Abréviations

Abréviation	Signification
DT1	Diabète de type 1.
HNF-1	Facteur nucléaire hépatocytaire 1.
HNF-4	Facteur nucléaire hépatocytaire 4.
HLA	Humain leukocyte antigen.
DT2	Diabète de type 2.
Th1	Cellule T helper.
GLUT2 :	Transporteur de glucose 2.
ERO	Espèce réactive d'oxygène.
O^{•-}	Radical superoxyde
OH[•]	Radical hydroxyle
NOXs	NADPH oxydase.
NO[•]	Monoxyde d'azote.
RNS	Espèces réactives de L'azote.
Ng-OH-L-arginine	N-omega-Hydroxyl-L-arginine.
EOA	Espèces oxygénées actives.
8-OHdG	8-hydroxy-2déoxyguanosine.
LDL	Low density lipoprotein.
HDL	High-densitylipoprotein.
SOD	Superoxide distumase.

Cat	Catalase.
GSH-Px	Gluthation peroxydases.
GSSG	Disulfure de gluthation.
GR	Gluthation réductase.
Trx	Thioridoxine peroxydases.
NADP	Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate.
GSH	Gluthation.
BHA	Butylhydroxyanisole.
BHT	Butylhydroxytoluène.
PG	Gallate propylée.
TBHQ	Tétra-butylhydroquinone.
NAD	Nicotinamide adénine dinucléotide.
AGE	Advanced glycationendoproduits.
NADPH	Nicotinamide dinucléotide phosphate réduit.
CML	Carboxyméthylllysine.
PKC	Protéine kinase C.
DA	Drimiaanthericoide (poir.).
CS	Calendula suffruticosasubsp. foliosa.
End	Endemic.
Hem	Hemicryptophyte.

Geo	Geophyte.
R	Rare.
KI	Iodure de potassium.
HgCl2	Chlorure de mercure.
H2SO4	Acide sulfurique.
NH4OH	Ammoniaque.
WO₄⁻²	Phosphotungestic.
MoO₄⁻²	Phosphomolybdic.
AlCl3	Chlorure d'aluminium.
DPPH	2,2-diphényle-1-picrylhydrazyl.
Abs	Absorbance.
EM	Extrait méthanolique.
IC50	Concentration inhibitrice de 50 %.
EC50	Efficient concentration 50.
N	Normaux.
D	Diabétiques.
DTD	Diabétiques traités par <i>Drimia</i> .
DTC	Diabétiques traités par <i>Calendula</i> .
NTD	Normaux traités par <i>Drimia</i> .
NTC	Normaux traités par <i>Calendula</i> .
GOD	Glucose oxydase.
POD	Peroxydase.
4-AP	4-aminophénazone.
PIPES	Acide pipérazine-N,N'-bis(2-éthanesulfonique).

CHE	Cholestérol estérase.
CHOD	Cholestérol oxydase.
R1	Réactif 1.
R2	Réactif 2
RT	Réactif de travail.
LPL	Lipoprotéïnlipase.
GPO	Glycérophosphate déshydrogénase.
ATP	Adénine triphosphate.
GK	Glycérol kinase.
G3P	Glycérol-3-phosphate.
ADP	Adénosine-5-diphosphate.
DAP	Dihydroxiacétone phosphate.
4-AF	4-aminophénazone.
GLDH	Glutamine déshydrogénase.
A1	Lecture 1.
A2	Lecture 2.
DEA	Diéthanolamine.
Pnpp	P-nitrophénylphosphate.
Pal	Phosphatase alcaline.
UI	Unité internationale.
Ukat	Unité du système international de l'activité enzymatique.
BBC	Bleu de coomassie.
NBT	Bleu nitré-tétrazolium.
MDA	Di-aldéhyde malonique ou malone-dialdéhyde.
TBA	Thiobarbiturique.

TCA	Trichloracétique.
DTNB	Acide 5,5 dithio-bis-2-nitrobenzoïque.
EDTA	Ethylenediamine tetraacetic acid.
TBS	Tampon phosphate salin.
TCA	Temps de céphaline active.
DO	Densité optique.
DTNB	Acide 5-5'-dithiobis-(acide 2-nitrobenzoïque), réactif d'Elman.
LCD	Liquid-crystal display.
EAG	Equivalent d'acide gallique.
EQ	Equivalent quercétine.
EMCS	Extrait méthanolique de calendula suffruticosa.
EMDA	Extrait méthanolique de drimiaanthericoide.

Introduction

Introduction

Le diabète est aujourd'hui une maladie métabolique grave menaçant, d'une manière croissante, la santé publique dans le monde (**Kebieche *et al.*, 2011**). Le diabète sucré n'est pas une maladie homogène. Il s'agit en fait d'un ensemble hétérogène de désordres métaboliques caractérisé par la présence d'une hyperglycémie chronique accompagnée d'une perturbation du métabolisme glucidique, lipidique et protéique (**American Diabète Association, 2017**).

Le diabète touche 693 millions de la population du monde (**Monnier, 2014**). L'Algérie comptait plus d'un million de diabétiques en 1993, ce chiffre a doublé en 2007(**Dali *et al.*, 2013**).

Dans plusieurs maladies graves, ainsi le développement du diabète, du cancer, des maladies neuro dégénératives et des maladies cardio-vasculaires le stress oxydant est le facteur déclenchant originel (**Wang *et al.*, 2012**).

Le stress oxydant résulte d'un déséquilibre entre des systèmes producteurs d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) et des systèmes antioxydants, enzymatiques (superoxyde dismutases [SOD], glutathion peroxydases (GPx), etc.) ou non (glutathion, vitamines, etc.). Par sa nature même, le stress oxydant reste un phénomène physiopathologique difficile à appréhender (**Zbadi *et al.*, 2018**).

Les patients diabétiques ont un risque accru de développer des maladies cardiovasculaires, première cause de mortalité dans la population générale. Un des facteurs reliant diabète et maladie cardiovasculaire est le stress oxydant. Le diabète est caractérisé par une hyperglycémie chronique, source d'un stress oxydant accru et de dommages oxydatifs tissulaires. Notamment l'hyperglycémie favorise la glycation des protéines aboutissant à la formation de produits avancés de glycation (AGE). Bien que l'action délétère des AGE soit reconnue dans le diabète, leurs rôles au niveau cardiaque et adipeux restent encore assez méconnus (**Sebbagh *et al.*, 2007**).

En général, tous les agents antidiabétiques (antidiabétiques oraux, insuline) ne répondent pas aux besoins des patients en tant qu'un traitement efficace et éventuellement, plusieurs accidents risquent d'être à l'origine d'un état indésirable (**Loumpangou *et al.*, 2016**). Au cours du diabète le stress oxydant peut être partiellement réduit par les

antioxydants. Une supplémentation par des antioxydants, tel que la vitamine C et E, a été proposée comme un traitement complémentaire (**Bonnefont-Rousselot et al., 2000**). Ainsi, plusieurs métabolites secondaires isolés de plantes ont montré une activité antioxydante et une capacité de prévenir les effets toxiques du stress oxydant au cours du diabète (**Azzi et al., 2012**).

En effet, il existe environ 500.000 espèces de plantes sur terre, dont 80.000 possèdent des propriétés médicinales (**Benkhiguel et al., 2016**), aujourd'hui largement reconnu que le monde végétal constitue la source majeure de médicament grâce à la richesse en composés bioactifs (**Eddouks et al., 2007**).

L'Algérie et grâce sa richesse et diversité floristique, détient un énorme réservoir phylogénétique avec plus de 3000 espèces végétales appartenant à plusieurs familles botaniques ce qui pousse l'homme à profiter de cette richesse en ayant recours à la médecine traditionnelle (**Bouzi et al., 2016**). Ces plantes représentent un réservoir immense de composés potentiels attribués aux métabolites secondaires qui ont l'avantage d'être d'une grande diversité de structure chimique et ils possèdent un très large éventail d'activités biologiques (**Aberkane, 2006**).

Dans ce contexte, et dans le but de la valorisation de la flore algérienne, nous nous sommes intéressés à évaluer l'activité antioxydante et antidiabétique de l'extrait méthanolique lyophilisé de deux plantes algériennes : *Drimia anthericoides* (Poir.) et *Calendula suffruticosa subsp. foliosa* (Batt.).

La première partie de ce travail s'attachera à donner quelques rappels bibliographiques sur le diabète sucré, la phytothérapie et les plantes médicinales ainsi que le stress oxydatif.

Dans la partie expérimentale, nous développerons dans le premier chapitre le matériel et les méthodes analytiques utilisées pour le screening phytochimique, l'extraction, le dosage colorimétrique des polyphénols et des flavonoïdes et finalement l'activité antioxydante et antidiabétique. Le deuxième chapitre sera consacré aux résultats obtenus dans notre étude et leur discussion. Puis nous terminerons par une conclusion.

Chapitre I : Phytothérapie et plantes médicinales

1. Historique de la phytothérapie

La s existe depuis la nuit des temps. Au début, les hommes utilisaient toujours les plantes pour se nourrir, puis pour un traitement empirique (**Moatti, 1990**). Les Néandertaliens ont été enterrés avec des plantes dont on sait maintenant qu'elles ont des caractéristiques médicinales. les peuples dans l'antiquité ont probablement découvert ces propriétés de manière empirique au cours des siècles, et à chaque génération ils ont accumulé des connaissances sur les plantes médicinales (**Farnsworth *et al.*, 1985**).

Plus tard, les Grecs avec Hippocrate, Aristote, Théophraste, Galien, Dioscoride et les Romains ont enseigné l'art de guérir avec les plantes en acquérant des connaissances avec plus de 500 espèces végétales répertoriées. En 529, le pape Grégoire le Grand interdit l'enseignement de la phytothérapie en France. Au début du IXe siècle l'Afrique du Nord, le Moyen-Orient et l'Espagne avec l'Université de Cordoue reprennent l'enseignement de ces connaissances, ensuit Avicenne (980-1037) distilla les huiles essentielles pour la première fois.

Au départ du XIXe siècle, la morphine a été isolée de l'opium, la strychnine de la noix vomique, la quinine de l'écorce de la plante quinquina. Maintenant, certaines civilisations (chinoises, arabes, tibétaines, indiennes...ect) sont encore basées sur ces systèmes thérapeutiques ancestraux, moins coûteux (**Létard *et al.*, 2015**).

Cette connaissance continue de croître aujourd'hui dans les régions du monde où les cultures indigènes ont échappé à l'influence destructrice de la société moderne. Dans d'autres pays, les informations sur les plantes étaient notées et organisées dans de longs textes appelés pharmacopées, qui expliquaient comment chaque plante était préparée et utilisée pour un traitement donné (**Farnsworth *et al.*, 1985**).

2. Définition de La phytothérapie

Le terme « Phytothérapie », provient du grec « phyton » qui signifie « plante » et «therapein» qui signifie « soigner » (**Chemer, 2016**).

La Phytothérapie peut se définir comme étant une discipline allopathique destinée à prévenir et à traiter certains troubles fonctionnels et/ou certains états pathologiques au moyen de plantes, de parties de plantes ou de préparations à base de plantes (**Catier et Roux, 2007**).

On peut la distinguer en trois (3) types de pratiques :

- ✚ **Une pratique traditionnelle**, parfois très ancienne basée sur l'utilisation de plantes selon les vertus découvertes empiriquement. Selon l'OMS¹, cette phytothérapie est considérée comme une médecine traditionnelle et encore massivement employée dans certains pays dont les pays en voie de développement. C'est le plus souvent une médecine non conventionnelle du fait de l'absence d'étude clinique.
- ✚ **Une pratique basée sur les avancées et les preuves scientifiques**, qui recherchent des principes actifs extraits des plantes. On parle alors de pharmacognosie ou de biologie pharmaceutique.
- ✚ **Une pratique de prophylaxie** déjà utilisée dans l'antiquité. Nous sommes tous phytothérapeutes sans le savoir : c'est notamment le cas dans la cuisine, avec l'usage de l'ail, du thym, du gingembre ou simplement du thé vert ... Une alimentation équilibrée et contenant certains éléments actifs étant une phytothérapie prophylactique (**Catier et Roux, 2007**).

3. Plantes médicinales

Une plante est dite médicinale lorsqu'elle est inscrite à la pharmacopée et que son usage est exclusivement médicinal, c'est-à-dire qu'elle est présentée pour ces propriétés préventives ou curatives à l'égard des maladies humaines ou animales (**Moreau, 2008 ; Ghabrier, 2010**).

Une plante médicinale est une plante dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses (**Khireddine, 2013**).

Environ 35 000 espèces de plantes sont employées par le monde à des fins médicinales, ce qui constitue le plus large éventail de biodiversité utilisé par les êtres humains. Les plantes médicinales continuent de répondre à un besoin important malgré l'influence croissante du système sanitaire moderne (**Boumediou et Addoun, 2017**).

La plupart des plantes qui poussent dans le monde contient des vertus thérapeutiques, a cause des principes actifs qui agissent directement sur l'être vivant. On les utilise aussi en médecine classique qu'en phytothérapie (**Larousse, 2001**).

4. Principes actifs

Le principe actif c'est une molécule contenu dans une drogue végétale ou dans une préparation à base de drogue végétale et utilisé pour la fabrication des médicaments (Pelt, 1980). Cette molécule présentant un intérêt thérapeutique curatif ou préventif pour l'homme ou l'animale, elle est issue des plantes fraîches ou bien séchées (Benghanou, 2012).

4.1. Quelques exemples des principes actifs

4.1.1. Les alcaloïdes

Les alcaloïdes figurent parmi les principes actifs les plus importants en pharmacologie et en médecine (Guignard, 2000). Ce sont des substances organiques azotées, à propriétés basiques ou amers et ayant des propriétés thérapeutiques ou toxiques (Dellile, 2007). Ils ont des structures très diverses et dérivent de différents acides aminés ou de l'acide mévalonique en passant par différentes voies biosynthétiques (Judd *et al.*, 2002). Les alcaloïdes sont caractérisés par leurs propriétés sédatives, analgésique, antipaludique, anticancéreuse (Iserin *et al.*, 2007).

4.1.2. Les saponosides

Les saponines sont généralement connues comme des composés non-volatils, tensioactifs qui sont principalement distribués dans le règne végétal. Le nom «saponine» est dérivé du mot latin *sapo*, qui signifie «savon». En effet, les molécules de saponines dans l'eau forment une solution moussante.

Ils sont des glycosides naturels de triterpènes ou de stéroïdes qui présentent des activités biologiques et pharmacologiques. Sont connues pour leurs Activités anti tumorales, anti-inflammatoires, immunostimulants, antimicrobiennes, insecticide (Djahra, 2015).

4.1.3. Flavonoïdes

Ce sont des pigments végétaux, notamment, jaune et orange. Les flavonoïdes présents dans nombreuse plantes sont des anti-inflammatoires qui assurent une bonne circulation sanguine. Ce sont aussi des antiagrégants plaquettaires non toxiques et

empêchent l'adhésion du thrombus à la paroi vasculaire « prévention des infarctus » (Wichtl et Anton, 2003).

4.1.4. Tannins

Ce sont des substances de saveur astringente ayant la propriété de tanner la peau et de se combiner aux protéines animales par des liaisons hydrogènes (Pousset, 1989). Sont des composés poly-phénoliques qui permettent de stopper les hémorragies et de lutter contre les infections.

Les plantes riches en tanins sont utilisées pour retendre les tissus souples comme dans le cas des veines variqueuses, pour drainer les sécrétions excessives, comme dans la diarrhée et pour réparer les tissus endommagés par un eczéma ou une brûlure (Nowitz et Bottet, 2000)

4.1.5. Coumarines

Les coumarines sont des esters internes des acides composés. Ce sont des lactones phénoliques, qu'on trouve dans de nombreuses espèces végétales. Les coumarines du marronnier d'inde par exemple ont un effet anti-hémorroïdaire, les chromons d'*Angelica archangelica* ont une action apéritive (Iserin, 2001 ; Max *et al.*, 2003).

4.1.6. Stérols

Les stérols sont des graisses végétales. Ils existent chez presque toutes les plantes, mais leur concentration est variable. On les trouve en concentration assez élevée dans les huiles de graines et de noix non transformées et dans une moindre mesure dans les fruits et légumes. Ces graisses végétales ont une structure semblable à celle du cholestérol, il se peut qu'elles ralentissent son absorption et réduisent la quantité de cette substance dans l'organisme. Elles pourraient aussi jouer un rôle important sur le système immunitaire. Ils ont montré une activité anticancéreuse très importante (cancer du sein et de la prostate) (Eberhard *et al.*, 2005).

5. Différents types de la phytothérapie

De nos jours, il existe plusieurs spécialités, éventuellement combinées entre elles, qui utilisent les plantes à des fins médicales.

5.1. L'aromathérapie

Comme l'indique son nom, l'aromathérapie est avant tout une méthode de soin, une thérapie par les aromes (Nelly,2016), c'est l'utilisation contrôlée d'essence végétale à des fins thérapeutiques (Edzard et Pittler, 2005), les huiles essentielles sont les substances volatiles excrétées des plantes aromatiques par distillation à la vapeur, expression, macération ou extraction au solvant (Vicki,2004).

5.2. La gemmothérapie

Consiste à utiliser les tissus embryonnaires (bourgeons et jeunes pousses) (Roger, 2011).

5.3. L'Herboristerie

Correspond à la méthode de phytothérapie classique et la plus ancienne. L'herboristerie se sert de la plante fraîche ou séchée ; elle utilise soit la plante, soit une partie de celle-ci (Écorce, fruits et fleurs) (Martine, 2012).

5.4. L'homéopathie

L'homéopathie repose sur le principe de la similitude. C'est de ce principe que lui vient son nom, en grec homois signifie semblable. L'homéopathie consiste à donner au patient une dose infinitésimale d'une substance qui provoque les mêmes symptômes. Les principes actifs utilisés proviennent de trois sources naturelles (minérale, animal et végétale) mais peuvent aussi être puisés dans la chimie organique (Sandrine et Pascale, 2011).

5.5. La phytothérapie chinoise

Fondée sur une vision du monde et du corps humain très particulière, ou l'énergie vitale, est l'élément fondamentale, pour prévenir et soigner les problèmes de santé, ses praticiens font appel à des techniques ou des disciplines aussi diverses que la pharmacopée chinoise, la diététique, l'acupuncture ou encore des exercices énergétiques (François, 2013).

5.6. Phytothérapie pharmaceutique

Elle consiste à utiliser des produits d'origine végétale obtenus par extraction et

dilués dans de l'éthanol ou d'autres solvants. Les doses de ces extraits sont suffisantes pour produire une action soutenue et rapide. Ils se présentent sous forme de sirops, gouttes, gélules, lyophilisats (Strang, 2006).

6. Les modes de préparation en phytothérapie

La méthode de préparation du produit à base de plantes peut avoir un impact sur la quantité d'ingrédient actif présent. Pour produire la préparation, il existe plusieurs méthodes, en fonction de l'effet thérapeutique recherché (Lori et Devan, 2005).

6.1. Les tisanes : Utilisation des plantes sèches

Les tisanes sont obtenues par macération, digestion, infusion ou décoction en utilisant de l'eau.

6.1.1. Infusion

Elle consiste à verser sur la plante de l'eau bouillante, couvrir et laisser refroidir 2 à 15 minutes. Elle convient aux plantes fragiles (fleurs et feuilles) (Wichtl et Anton, 1999).

6.1.2. Décoction

Elle consiste à maintenir la plante avec de l'eau potable à ébullition pendant une durée de 15 à 30 minutes. Elle convient aux plantes "dures " (écorces, racines, fruits et certaines feuilles) (Wichtl et Anton, 1999).

6.1.3. Macération

La chaleur détruit les principes actifs de certaines plantes, une macération à froid est parfois plus indiquée. Il s'agit de maintenir la plante en contact avec l'eau (température ambiante) pendant plusieurs jours à semaines puis la filtrer (Grunwald et Janick, 2006). Ce mode de préparation s'applique tout particulièrement mentaux plantes mucilagineuses (racines de guimauve) (Haudret, 2004).

6.1.4. Digestion

Elle consiste à mettre la plante en contact avec l'eau (température inférieure à celle de l'ébullition, mais supérieure à la température ambiante) pendant 1 à 5 heures (Wichtl, Anton, 1999).

6.2. Poudre

Elles sont préparées par pulvérisation et tamisage, et elles entrent directement dans les ingrédients des gélules, mais entrent également dans la fabrication d'autres préparations galéniques comme les extraits et les teintures (**Lori et Devan, 2005**).

6.3. Extrait

Les extraits sont obtenus en traitant les plantes par divers procédés d'extraction (macération, digestion, infusion, digestion, lessivage) dans des solutions évaporables (éther, eau, alcool, etc.) puis en évaporant ces solutions jusqu'à l'obtention d'une consistance liquide, molle ou sèche. Par conséquent, ils sont classés en fonction de leur consistance (**Salle, 1991**).

6.4. Les teintures

Sont des préparations alcooliques résultant d'un traitement extractif exercé par alcool éthylique sur les drogues sèches. On les prépare par macération (drogue+ solvant à froid) ; par lixiviation (passage plus ou moins rapide du solvant froid ou chaud à travers la poudre végétale) (**Odile, 2004**). Il peut être à 60° (principes actifs très solubles), à 70 ou 90° à 80° (ex. Produits résineux et huiles volatiles) (**Lori et Devan, 2005**).

6.5. Les alcoolés

6.5.1. Les alcoolatures

Ce sont des préparations résultant de l'épuisement par l'alcool des drogues fraîches. Les proportions employées sont à parties égales en poids de plantes fraîches et d'alcool à titre élevé. Les plantes fraîches sont mises à macérer pendant huit jours avec l'alcool dans un récipient clos. Après une compression on passe à une filtration (**Fouchet et al., 2000**).

6.5.2. Les alcoolats

Ils sont obtenus par distillation des composants volatils des matières végétales au contact de l'alcool varié de 60° à 80°. Ils sont toujours incolores et immuables, mais ils doivent être conservés dans un flacon bouché (**Jean Raynaud, 2006**).

6.6. Les huiles essentielles (HE)

Ce sont des molécules à noyau aromatique et caractère volatil offrant à la plante une odeur caractéristique et on les trouve dans les organes sécréteurs (**Iserin *et al*, 2001**). Jouent un rôle de protection des plantes contre un excès de lumière et attirer les insectes pollinisateurs (**Dunstan *et al*, 2010**).

Elles sont utilisées pour soigner des maladies inflammatoires telles que les allergies, eczéma, favorise l'expulsion des gaz intestinales comme les fleurs frais ou séchées de plante « camomille » (**Iserin *et al*., 2001**).

6.7. Hydrolats

Ce sont des préparations aqueuses renfermant la plupart des principes volatils, solubles dans l'eau. Ils sont obtenus par distillation d'une drogue fraîche à l'aide d'un alambic, ce sont en fait les produits secondaires recueillies après hydro-distillation lors de la préparation des huiles essentielles (**Jean Raynaud, 2006**).

7. Les voies d'administration

Pour ces modes de préparation, il existe plusieurs méthodes d'utilisation :

7.1. Usage interne

7.1.1. Tisane

Préparation aqueuse buvable, obtenue à partir d'une ou plusieurs matériels végétaux (fleurs fraîches ou séchées, feuilles, tiges et racines). Les tisanes sont obtenues par macération, infusion ou décoction en utilisant de l'eau chaude ou froide (**Pharmacopée Française, 2013**).

7.1.2. Fumigation

C'est l'utilisation de vapeurs chargées de principes actifs d'une plante donnée, en faisant bouillir cette dernière : on utilise soit l'inhalateur, soit la technique de la tête recouverte d'une serviette éponge ; le visage étant placé au-dessus du bol d'eau fumante, contenant les plantes (**Ben hamza, 2008**).

7.2. Usage externe

7.2.1. Au niveau de la peau

❖ Compresse

C'est l'application sur les parties à traiter par une gaze imbibée de décocté, d'infusé ou de macéré. Lors de la préparation de compresses, on utilise une infusion ou une décoction végétale, on y trempe un linge propre et on le place sur la zone douloureuse. Vous pouvez l'attacher avec une serviette ou une sangle (**Anne-Sophie,2003**).

❖ Cataplasme

C'est la préparation d'une pâte végétale suffisamment bonne pour être étalée sur la peau à des fins thérapeutiques. La plante peut être broyée, coupée à chaud ou à froid, ou mélangée avec la farine de lin pour obtenir la bonne consistance (**Ghedabnia, 2008**).Le cataplasme soulage les douleurs musculaires et les névralgies, soulage les entorses et les fractures, et aide à extraire le pus des plaies infectées.

❖ Lotions

Les lotions sont des préparations à base d'eau et de plantes en infusions, décoctions ou teintures diluées. Elles s'utilisent en friction, en massage ou on tamponne l'épiderme aux endroits irrités ou enflammés (**Iserin ,2001 ; Haudret ,2004**).

❖ les Bains

Dans le bain, il suffit de verser l'eau, l'infusion ou la décoction végétale dans la baignoire. Il peut s'agir de bains complets ou de bains partiels.

- **Bain complet** : Il peut être tonique ou au contraire, calmant.
- **Bain partiel**:on distingue :
 - **Le bain desîège** ou un bain anal pour les hémorroïdes et les fissures anales.Un bain desîège froid a un effet décongestionnant sur le petit bassin.
 - **Le bain de pieds** (pédiluve) et le bain de mains sont indiqués en cas de transpiration excessive des pieds ou des mains (**Ghedabnia, 2008**).

7.2.2. Au niveau des muqueuses

❖ Gargarisme

Consistante une infusion ou un décocté aussi chaud que possible, pour le rinçage du fond de la bouche, de la gorge, du pharynx, des amygdales et des muqueuses. Dans le but de la désinfection ou la sédation, le gargarisme ne doit jamais être avalé (Delille, 2007).

❖ Bain de bouche

C'est l'infusé, le décocté ou le macéré utilisé dans les affections buccales (aphtes, par exemple) (Ghedabnia, 2008).

❖ Bain des yeux

Il se pratique à l'aide d'une œillère remplie d'un infusé ou d'un décocté, la solution doit filtrée avant utilisation. (Iserin *et al.*, 2001).

8. Les avantages de la phytothérapie

- ✚ La phytothérapie couvre un large éventail de maladies, et l'industrie pharmaceutique utilise de nombreux principes actifs végétaux pour traiter diverses maladies. Par exemple le taxol (une molécule utilisée pour traiter le cancer) extrait de l'écorce de l'if (Iserin, 2001 ; Gayet et Michel, 2013).
- ✚ Les plantes médicinales sont beaucoup moins chères que les médicaments de synthèse.
- ✚ La phytothérapie peut être utilisée à titre préventif.
- ✚ La phytothérapie est accessible à tous sans ordonnance (Grunwald et Janick, 2006).
- ✚ Le corps humain est mieux adapté à un traitement à base de plantes qu'à une thérapie essentiellement chimique.
- ✚ La production des plantes est très peu polluante contrairement aux médicaments chimiques (Iserin, 2001 ; Hilinaruthnadia, 2018).

9. Les inconvénients de la phytothérapie

- ✚ Il est particulièrement difficile d'apporter la preuve de l'efficacité des plantes.

✚ Il existe également de nombreux remèdes à base de plantes qui ne sont pas recommandés pour les enfants et qui sont dangereux pour eux ainsi que pour les femmes enceintes (**Hilinaruthnadia, 2018**).

✚ Certaines plantes contiennent des toxines si puissantes que même la plus petite quantité ingérée peut être mortelle.

✚ La toxicité peut également être due à un surdosage ou à une erreur identifiez les plantes en raison de deux plantes qui sont botaniquement similaires, l'une peut être toxique (**Media centre ,2018**).

✚ Les malentendus sur les symptômes peuvent être très dangereux car les médicaments à base de plantes sont souvent basés sur l'automédication. Les préparations domestiques ne peuvent pas être conservées longtemps. Si elles ne sont pas conservées correctement, elles seront empoisonnées et ne pourront pas être guéries (**Baba-Aissa, 1991**).

✚ Les plantes contiennent des fois des substances allergisantes.

10. Les plantes sélectionnées

Nous avons axé notre travail sur deux plantes rares en Algérie : *Calendula suffruticosa subsp. foliosa* (Batt.) (**Figure 1**) et *Drimia anthericoides* (Poir.)(**Figure 2**).

10.1. *Calendula suffruticosasubsp. foliosa* (Batt.) ‘ Le souci ‘

10.1.1 Généralités sur la famille des *Astéracées*

L'Astéracée appelée aussi l'aster, marguerite ou la famille de tournesol, est l'une des familles les plus courantes qui ont une très grande valeur médicinale. Elle constitue la plus grande famille des plantes vasculaires, avec plus de 22.750 espèces réparties en 12 sous-familles et 1620 genres (**Nasir et Ali, 1982 in Shaheen et al.,2012**).

10.1.2. Etymologie de *Calendula suffruticosa*:

Le nom du genre « *Calendula* » date du Moyen Age. Il provient du latin « *Calendae* » : les calendes étant, dans le calendrier romain le premier jour du mois, probablement avec un sens analogue à calendrier, indicateur métrologique en raison de sa longue période de floraison car les capitules s'ouvrent et se ferment avec l'apparition du soleil (**Couplan, 2012**). Tandis que *suffruticosa*, dérivé du latin « frutex » veut dire

buisson ; car cette espèce ligneuse se rapproche des sous-arbrisseaux (**Beniston et Beniston, 1984**).

10.1.3. Le genre *Calendula* :

Calendula est relativement un petit genre d'environ 12 à 20 espèces originaires de la Micronésie et de la Méditerranée (**Coste, 1937 in Paolini, 2010**). Ce sont des Herbes annuelles ou vivaces, parfois ligneuses à la base ; souvent glandulaires et aromatiques. Les feuilles sont alternes et simples. L'inflorescence est parfois ramifiée. Les fleurons extérieurs ligulés, jaune ou orange. Tandis que les fleurons internes sont tubulaires, jaunes ou oranges. Le fruit est toujours un akène (**Tutin et Heywood, 1976**).

10.1.4. Description botanique :

Plante glanduleuse-visqueuse, Tiges ligneuses, Rameaux florifères rigides et dressés, grêles. Les Feuilles sont plus grandes et plus larges que dans le type, lancéolées-oblongues, aiguës, sinuées-dentées. Les racines sont longuement atténuées en pétiole. Capitules plus grands (**Quézel et Santa 1963**).

10.1.5. Synonym(s) homotypic

✚ *Calendula fulgida* var. *foliosa* (Batt.)

✚ *Calendula foliosa* (Batt.)

(CJB-African Plant Data base, 2022)

10.1.6. Systématique

✚ Règne : *Plantae*

✚ Famille : *Asteraceae*

✚ Genre : *Calendula*

✚ Espèce : *Calendula suffruticosasubsp .foliosa* (Batt.)

✚ Nom français : Souci

✚ Nom vernaculaire : دجمير



Figure 1. *Calendula suffruticosa* (Prise personnelle, 2022)

10.2. *Drimia anthericoides* (Poir.) ‘la Scilla’

10.2.1. Généralités sur la famille des Asparagaceae :

Selon la classification phylogénétique (APG III, 2009). Cette famille compte également tous les genres des anciennes familles *Asparagaceae*, *Agavaceae*, *Phyllanthaceae*, *Hesperocallidaceae*, *Hyacinthaceae*, *Laxmanniaceae*, *Ruscaceae*, et *Themidaceae*. Elle comprend plus de 115 genres dispersés dans les régions tempérées et tropicales

10.2.2. Description botanique

Ce sont des herbes vivaces, des lianes ou des plantes à port arborescent, avec une partie aérienne annuelle, parfois épineuse ou ligneuse, émergeant d'un rhizome sympodial. La tige se développe parfois en « cladodes », qui portent des fleurs ; les feuilles proprement dites sont alors réduites à des écailles (*Ruscus*). Les feuilles, sont insérées à la base, ou sur l'axe de façon alterne, opposée (*Maianthemum*), ou verticillée (*Polygonatum verticillatum* L.). Les fleurs sont en grappes, ou parfois solitaires (*Ruscus*), elles sont régulières, hypogynes, bisexuées, parfois unisexuées (espèce dioïque comme dans le genre *Ruscus*), Le périanthe est composé de trois pétales et trois sépales, indissociables. Les fleurs sont trimères, les six tépales sont soit pétaloïdes ou sépaloïdes, et l'androcée contient 6 étamines disposées sur deux verticilles (diplostémones). Le gynécée est formé de trois carpelles soudés. Les ovaires, triloculaires, sont supères. Chaque fleur n'a qu'un style mais avec deux à douze ovules par loge, qui ont une placentation axile. Le fruit est

habituellement une baie rouge à maturité (sur un fond vert persistant) ou parfois bleu-noir, dont les graines sont plus ou moins globuleuses, non ailées (Botineau, 2010).

10.2.3. Synonym(s) Homotypic (CJB-l'African Plant Data base, 2022)

- ✚ *Urginea anthericoides* (Poir.)
- ✚ *Urginea maritima* var. *anthericoides* (Poir.)
- ✚ *Charybdis anthericoides* (Poir.)
- ✚ *Scilla anthericoides* Poir.
- ✚ *Squilla anthericoides* (Poir.)

10.2.4. Systématique

- ✚ Règne : *Plantae*
- ✚ Famille : *Asparagaceae*
- ✚ Genre : *Drimia*
- ✚ Espèce : *Anthericoides*
- ✚ Nom français : *Scilla*
- ✚ Nom vernaculaire : العنصل



Figure 2. *Drimia Anthericoides* (Prise personnelle, 2022)

Chapitre II : Diabète sucré

1. Définition

Le terme diabète vient du grec « dia-baino » qui signifie traverser. L'histoire du diabète commence au XVIIème siècle notamment avec Thomas Willis qui fut l'un des premiers à décrire la présence de sucre dans l'urine des patients diabétiques (**Vivot, 2012**).

Le Diabète sucré est un groupe de maladies métaboliques hétérogènes caractérisées par un état d'hyperglycémie chronique (taux de sucre dans le sang trop élevé) (**Monnier, 2019**), liée soit à un trouble de la sécrétion de l'insuline, soit à un trouble de l'action de l'insuline, soit les deux (**Raccah, 2004**).

2. Symptômes

Typiquement le diabète se caractérise par des signes et des symptômes associés à une hyperglycémie, et se manifeste par :

- ❖ une polyurie, une polydipsie, un amaigrissement, et parfois par une polyphagie et des troubles de la vision (**American Diabètes Association, 2014**).
- ❖ Si aucun traitement n'est administré, la situation peut se développer vers l'acidocétose, l'hyper osmolarité ou l'acidose lactique (**American Diabètes Association, 2014**).
- ❖ Perturbations progressives au niveau des vaisseaux capillaires, ainsi qu'à l'apparition de complications à long terme, qui touchent en particulier l'œil, les reins, les systèmes nerveux et cardiovasculaires (**Alberti et Zimmet, 1998**).

3. Epidémiologie

Selon les derniers chiffres de la Fédération internationale du diabète, cette maladie touche aujourd'hui 371 millions de personnes dans le monde. Ce chiffre devrait atteindre 522 millions personnes d'ici 2030 (**Wens et al., 2007**).

D'après le registre national du Diabète de l'année 2005, l'incidence du diabète type I chez les enfants et les adolescents est de 9 pour 100 000 et des cas de diabète type II commencent à être recensés chez les enfants (**Boudiba et al., 2008**).

Le diabète est la cause de décès de 3 à 4 millions de personne chaque année dans le monde (**Whiting et al., 2011**).

4. Classification

La grande majorité des cas de diabète se répartissent selon l'étiologie et la gravité de l'hyperglycémie en deux catégories : diabète primaire (le diabète de type 1, le diabète de type 2 et le diabète gestationnel), et diabète secondaire (des types plus spécifiques liés à des défauts génétiques).

4.1. Diabète primaire

4.1.1. Diabète de type 1 (DT 1)

Le diabète type 1 (DI) «diabète insulino-dépendant » en effet il survient essentiellement chez les enfants et les jeunes adultes et représente de 5 à 10% du total des cas (OMS, 2002). Causé par la destruction des cellules bêta des îlots de Langerhans par un mécanisme auto-immunit cessent ainsi de produire de l'insuline (Fischer *et al.*, 2017).

4.1.2. Diabète de type 2 (DT 2)

Le diabète type 2 «diabète non insulino-dépendant » ou diabète de l'adulte touche environ 90% des patients diabétiques à l'échelle mondiale (OMS, 2015).Le diabète de type 2 est caractérisé par une résistance à l'insuline et une carence relative de la sécrétion d'insuline. (OMS, 2002), et peut aller a des atteintes organiques et fonctionnelles dans de nombreux tissus mais sans symptôme clinique (Monnier, 2010).

4.1.3. Diabète gestationnel

Le diabète gestationnel est observé chez 3% des femmes enceintes, il peut être considéré comme transitoire mais sans traitement, il représente une menace tant pour la mère que pour l'enfant de développer un diabète de type 2 au cours de leur vie. Il s'agit d'une intolérance au glucose conduisant à une hyperglycémie de sévérité variable (Rodier, 2001).

4.2. Diabète secondaire

Les types de diabètes secondaires sont regroupés dans le tableau selon la classification étiologique du diabète sucré (American Diabetes Association, 2014).

Tableau 1 : Classification étiologique du diabète secondaires (American Diabètes Association, 2014).

Origine	Types
Défauts génétiques de la fonction des cellules B.	<ul style="list-style-type: none"> - Chromosome 12, HNF-1 (anciennement MODY3) - Chromosome 7, glucokinase (anciennement MODY2) - Chromosome 20, HNF-4 (anciennement MODY1) - Mutation de l'ADN mitochondrial
Défaut génétique de l'action de l'insuline	<ul style="list-style-type: none"> - Insulinorésistance de type A. - Le préchaunisme - Syndrome de Rabson- Mendenhall - Diabète lipoathrophique
Diabètes pancréatiques (exocrines)	<ul style="list-style-type: none"> - Pancréatites - Traumatisme/ pancréatectomie - Cancer du pancréas - Mucoviscidose - Hémochromatose - Pancréatite fibrocalculeuse
Endocrinopathies	<ul style="list-style-type: none"> - Acromégalie - Syndrome de Cushing - Glucagonome - Phéochromocytome - Hyperthyroïdie - Somatostatine - Hyperaldostéronisme primaire

<p>Diabètes induits par des médicaments ou des toxiques</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Vacor (raticide) - Pentamidine - Acide nicotinique - Glucocorticoïdes - Hormones thyroïdiennes - Diazoscide - Agoniste B- adrénergiques - Diurétiques thiazidiques - Diphenylhydantoïne - Interféron α
<p>Diabète d'origine infectieuse</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Rubéole congénitale - Cytomégalovirus
<p>Formes rares d'origine auto- immune</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Syndrome de l'homme raide - Anticorps anti-récepteur de l'insuline
<p>Autres syndromes d'origines génétiques parfois associés au diabète</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Trisomie 21. - Dystrophie myotonique - Syndrome de klinefelter - Syndrome de Prader-Willi. - Syndrome de Turner - Syndrome de Wolfram - Ataxie de Friedreich - Chorée de Huntington. - Porphyrurie

5. Physiopathologie et équilibre physiologique du diabète

Le diabète de type 1 (DT1), anciennement appelé diabète insulino-dépendant, représente environ 10% des cas de diabète. Est une maladie :

- ✚ Auto-immune caractérisée par un déficit de production d'insuline (insulinopénie).
- ✚ Habituellement découverte chez les sujets jeunes : enfants, adolescents ou jeunes adultes (essentiellement avant 20 ans) (**Patternson *et al.*,2008**).

- ✚ Les patients développent une réaction inflammatoire locale, appelée insulite, dans et autour des îlots de Langerhans du pancréas, ce qui entraîne la destruction des cellules β sécrétrices d'insuline (**Noble et Erlich ,2012**).
- ✚ Malgré l'augmentation des connaissances sur les mécanismes immunitaires conduisant à la destruction des cellules β , le facteur déclenchant du DT1 n'est pas connu et son apparition reste aujourd'hui inévitable (**Philips, 2012**).

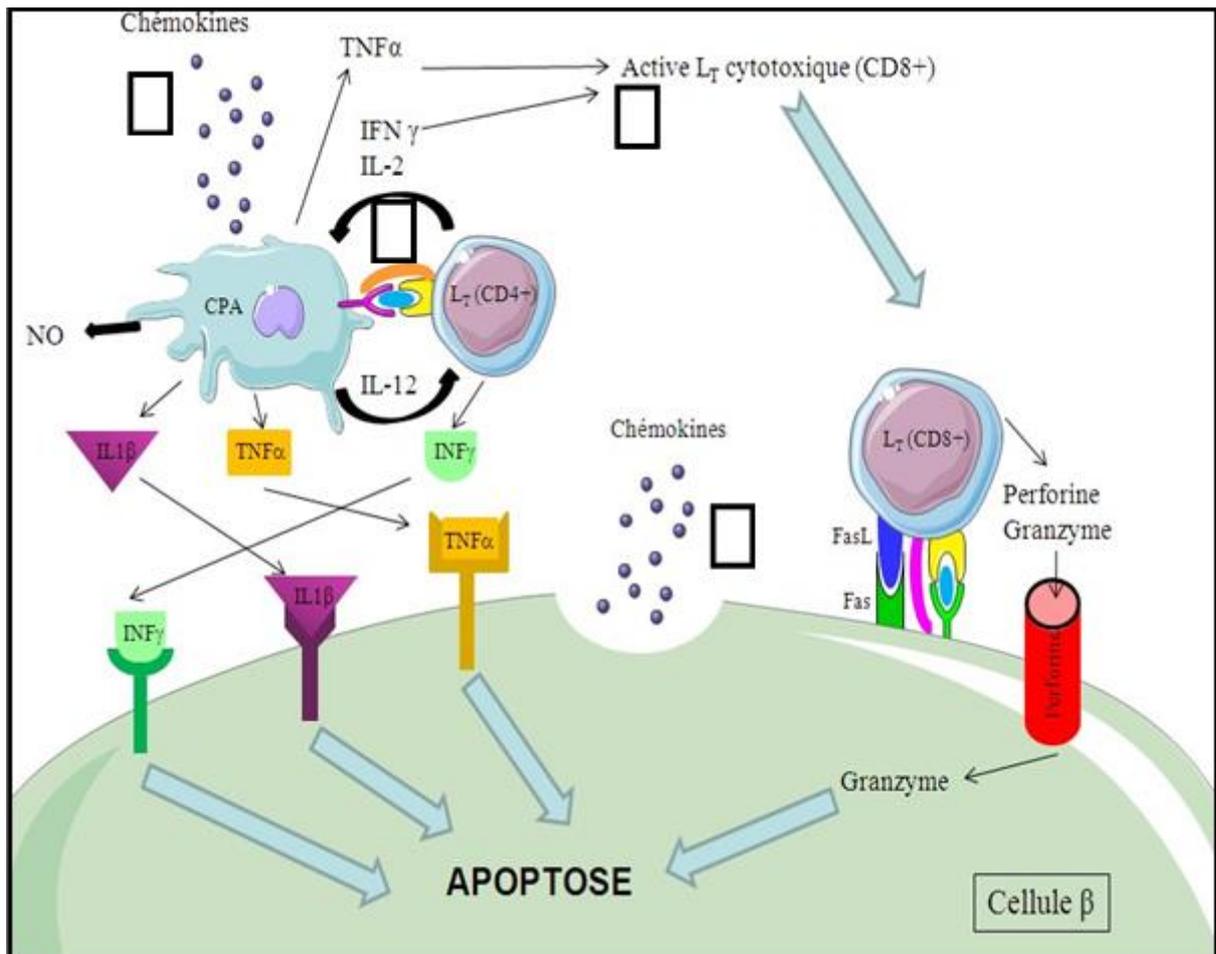


Figure 3. la destruction auto-immune des cellules bêta-pancréatiques dans le DT1 (**Pirot et al., 2008**).

Dans le cas du DT1, l'apparition de la réaction auto-immune serait liée à l'association de plusieurs gènes de prédisposition et de facteurs environnementaux (**Noble et Erlich ; Philips, 2012**). Les variantes génétiques associées à cette forme de diabète sont multiples. Le plus important d'entre eux découvert à ce jour est localisé dans le système d'histocompatibilité HLA, impliqué dans la tolérance immunitaire vis à vis des cellules du "soi" par l'activation des lymphocytes T (**Noble et Valdes, 2011**)

Contrario, au DT2 qui est :

- ✚ Un problème majeur de santé publique puisqu'il représente près de 90% des cas dans le monde.
 - ✚ Résulte de l'utilisation inadéquate de l'insuline par l'organisme et la pathogénèse du DT2 est plus complexe que celle du DT1 car elle implique de nombreux tissus et mécanismes physiopathologiques.
 - ✚ Présente deux anomalies du métabolisme glucidique, une insulino-résistance des tissus périphériques et un défaut sécrétoire qualitatif et quantitatif de la cellule β des îlots de Langerhans (**Wémeau *et al.*, 2014**).
- **L'obésité et la dysfonction des cellules β -pancréatiques**

De nombreuses études montrent aussi une perte de fonction des cellules β et de la sécrétion d'insuline avec l'âge (**Chang et Halter, 2003**) et l'obésité est caractérisée par l'augmentation de la concentration de glucose dans le sang en parallèle, une élévation de la production de glucose par le foie (gluconéogenèse et glycogénolyse) (**Wellen et Hotamisligil, 2005**). La glucotoxicité et la lipotoxicité sont les deux principaux facteurs acquis causant le dommage des cellules β -pancréatiques (**Chang-Chen *et al.*, 2008**).

Les mécanismes impliqués dans la « glucotoxicité » comprennent une altération certaine de l'expression du gène de l'insuline, du stress oxydatif et une apoptose massive des cellules β (**Poitout et Robertson, 2002**).

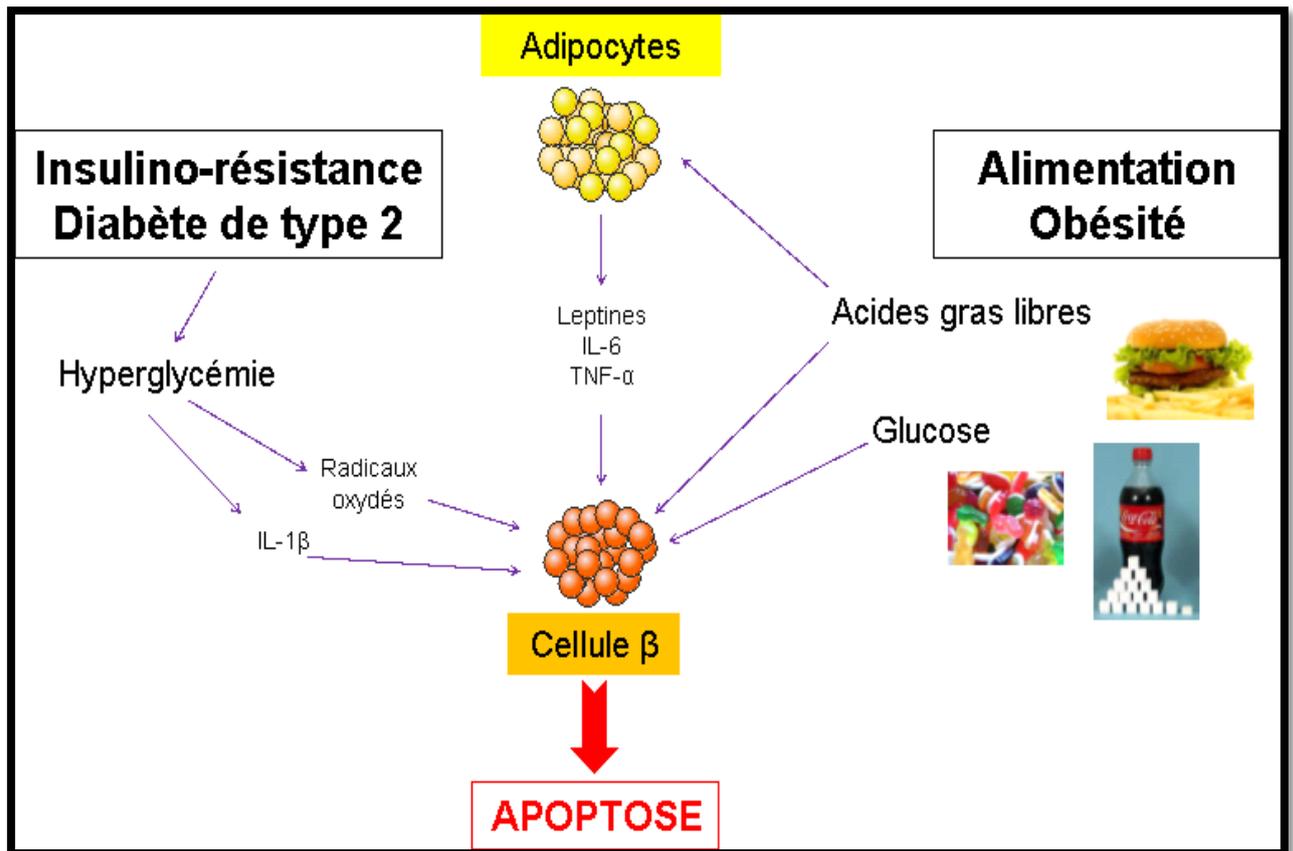


Figure 4. Facteurs contribuant à l'apoptose des cellules β . (Poitout et Robertson, 2002).

6. Facteurs de risques

6.1. Facteurs environnementaux

Il a été démontré que l'absence d'exposition à des organismes pathogènes au cours de la période d'enfance, limite la maturation du système immunitaire et augmente la susceptibilité à développer une maladie auto-immune (Kukreja et Maclaren, 2002).

6.2. Facteurs génétiques

Plus de 20 régions différentes du génome humain représentent une relation avec le diabète de type 1, telles que la région codant pour le HLA sur le chromosome 6p21 et la région codant pour le gène de l'insuline sur le chromosome 11p 15 (DSID2) (Nepom et Kwok, 1998).

6.3. Facteurs immunologiques

Le diabète de type 1 est une maladie auto-immune lente médiée par les lymphocytes de type Th1 (Cellule T helper type 1). Plusieurs études, ont prouvé que la

destruction des cellules β par le système immunitaire, par des auto-anticorps dirigés contre le pancréas ainsi qu'un certain nombre d'autres anticorps non spécifiques des cellules β , se fait sur plusieurs années (**Langlois, 2008**).

7. Complications liées au diabète

Les complications du diabète se classent en deux types en fonction du diamètre des vaisseaux atteints.

7.1. Complications Aigues

7.1.1. L'hyperglycémie

C'est une complication qui se manifeste chez les diabétiques de type 2 utilisant l'insuline ou traités par des antidiabétiques sulfosylurée (**William et al., 2005**). Se traduit par :

-  Dessèchement de la bouche.
-  Une soif extrême.
-  Un besoin fréquent d'uriner.
-  Une somnolence accrue.
-  Des nausées et vomissement associés avec une perte de poids (**Buyschaert, 2012**).

7.1.2. L'hypoglycémie

C'est la baisse de la concentration de glucose définie par 0,6 g/l (3,3 mmol/l) (**Brue, 2005**). Il s'agit de la principale complication du traitement par insuline et par sulfamides hypoglycémiantes (**Grimaldi, 2000**).

7.2. Complications Chroniques

Les complications à long terme sont classiquement divisées en deux catégories :

7.2.1. Micro-angiopathiques ou microvasculaires

Touche les petits vaisseaux (artérioles, veinules et capillaires de diamètre inférieur à 30 μm) (**Duron et Heurtier, 2005**) sont les plus spécifiques du diabète. Elle englobe :

➤ **Neuropathie**

Est la complication la plus fréquente et la plus précoce du diabète sucré, touche plus de 50 % des patients. (Tesfaye *et al.*, 2005 ; Monnier, 2010)

➤ **Néphropathie**

Touche actuellement 20 à 40% des patients diabétiques et est la première cause d'insuffisance rénale terminale conduisant à la dialyse (Couchoud *et al.*, 2006).

➤ **Rétinopathie**

La rétinopathie diabétique touche tous les composants de la structure de l'œil, et en particulier la rétine touchant plus de 50% des diabétiques après 15 ans d'évolution du diabète (Elman, 1959).

7.2.2. Macro-angiopathiques ou macrovasculaires

Maladies cardiovasculaires, concerne le cœur, le cerveau et les membres inférieurs avec l'artérite (Chevenne, 2001).

7.2.3. Autres types de complication

Troubles de l'érection, Augmentation du risque infectieux, Retard de cicatrisation, Pied du diabétique, Cancers.

8. Diabète expérimental

L'utilisation de modèles expérimentaux est indispensable pour produire chez l'animal, un état comparable au diabète sucré, en vue de le mieux comprendre chez l'homme. Ainsi, étudier l'étiologie et les mécanismes impliqués dans cette pathologie et pour trouver de nouveaux traitements (Wright et Klee, 1980).

L'installation du DT1 se fait soit spontanément par sélection génétique, soit par induction expérimentale (régime alimentaire, chirurgie (Chen et Wang, 1997 ; Chatzigeorgiou *et al.*, 2009) ou toxicité chimique : comme : Alloxane, streptozocine, styrylquinoline, di-ethyl-di-thiocarbonate de sodium, acide urique, ...etc. Sont quelques-uns d'entre eux, ou par la chirurgie du pancréas (ablation partielle) (Sudha, 2012). Chaque modèle expérimental permet d'étudier un aspect particulier de la pathologie humaine.

8.1. Diabète induit par l'Alloxane

L'Alloxane est largement utilisée pour induire le diabète chez les animaux expérimentaux de laboratoire tel que les rats Wistar dans ce présent travail (**Roep *et al.*, 2004**). Ainsi que, sélectivement toxique pour les cellules β du pancréas. C'est un dérivé de l'urée qui provoque sélectivement une nécrose pancréatique des cellules β des îlots de Langerhans (**Etuk, 2010**).

L'Alloxane, par une analogie structurale au glucose, pénètre à travers les transporteurs de glucose GLUT2 des cellules β pancréatiques (**Lenzen *et al.*, 1996**).

La dose intra-péritonéale inférieure à 150 mg / kg en poids brut peut être insuffisante pour induire un diabète chez le rat. Les animaux à jeun sont plus sensibles à l'Alloxane, alors que l'augmentation du glucose dans le sang fournit une protection partielle (**Szkudelski, 2001**).

Chapitre III : Stress oxydant et activité antioxydantes

1. Stress oxydant

Le stress oxydant résulte d'un déséquilibre entre des systèmes producteurs d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) et des systèmes antioxydants, enzymatiques (superoxyde dismutase, glutathion peroxydase, etc.) ou non (glutathion, vitamines, etc.). Par sa nature même, le stress oxydant reste un phénomène physiopathologique difficile à appréhender (Zbadi *et al.*, 2018).

Ce dernier peut causer plusieurs pathologies tels que : le cancer, les maladies cardio-vasculaires ainsi qu'un vieillissement anticipé (Belaich et Boujraf, 2016).

En effet, tous les organismes vivants qui consomment de l'oxygène produisent des radicaux libres qui sont de petites substances chimiques très oxydées par le contact avec l'oxygène, et dont nos cellules savent normalement très bien se débarrasser. Le stress oxydatif devient anormal lorsque les cellules sont soit dépassées par la quantité de radicaux libres à éliminer, soit ne disposent pas de ressources antioxydantes (vitamine E et C, oligoéléments, enzymes) suffisantes pour les éliminer (Pincemail, 1999).

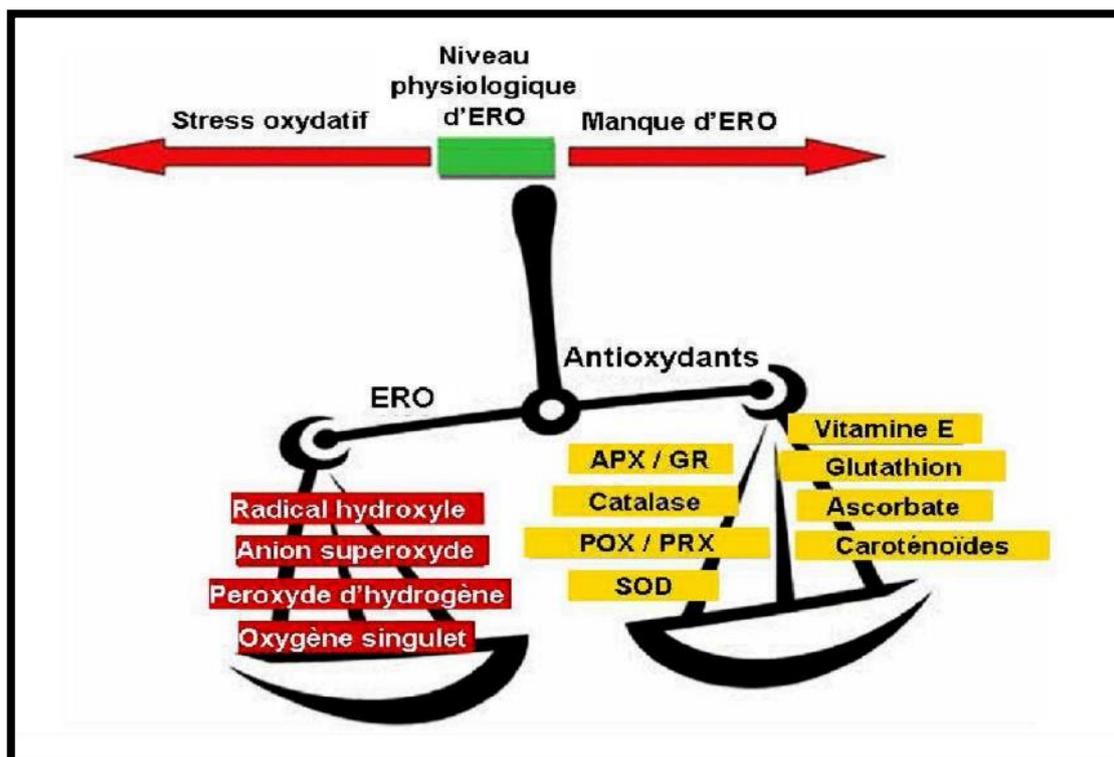


Figure 5. Balance entre les espèces réactives oxygénées(ERO) et les antioxydants (Pourrut, 2008).

2. Définition d'un radical libre

Un radical libre est une molécule très réactif et instable possède au moins un électron célibataire sur l'orbitale externe, Il ne cherche qu'à récupérer un électron dans leur

environnement pour retrouver l'état plus stable (**Kroonenberg, 2000**). Du fait de leurs instabilités énergétiques, les radicaux libres ont tendance à revenir immédiatement à un état stable en donnant un électron ou en prenant un à une autre molécule ce qui induit l'apparition des réactions d'oxydation (**Asmus et Bonifacic, 2000**). Les radicaux libres apparaissent soit au cours de la rupture symétrique d'une liaison covalente (fission homolytique) pendant laquelle chaque atome conserve son électron soit au cours d'une réaction redox avec perte ou gain d'un électron à partir d'un composé non radical (**Kocchilin-Ramonatxo, 2006**).

3. Types des radicaux libres

Dans les systèmes biologiques, les radicaux libres les plus importants sont les espèces Réactives de l'oxygène (ROS pour « réactive oxygène species ») et les espèces réactives de l'azote (RNS pour « réactive nitrogène species ») (**Ré et al., 2005**).

3.1. Espèces réactives de l'oxygène (ERO)

Les espèces réactives de l'oxygène (ERO) sont des radicaux libres issus de l'oxygène moléculaire. Elles représentent la plus importante classe d'espèces réactives générées dans les organismes vivants à cause de l'importance du métabolisme aérobie (**Valko et al., 2007**).

3.1.1 Espèces radicalaires

➤ Radical superoxyde ($O^{\bullet-}$)

Ils sont produits lors de réactions métaboliques cellulaires, soit par auto-oxydation, soit par l'action d'enzymes telles que les oxydases (**Rosen et al., 1995**).

➤ Radical hydroxyle (OH^{\bullet})

Se forment lors de différentes réactions chimiques cellulaires impliquant l'hydrogène. Ce sont les radicaux libres les plus réactifs (**ward, 1988**).

3.1.2. Espèces non radicalaires

Selon la classification de (**Haton, 2005**) ne sont pas des radicaux à proprement parler mais qui sont tout de même toxiques et capables de réagir pour former d'autres radicaux libres :

- Oxygène singulier 1O_2
- Peroxyle (ROO°)
- Peroxyde d'hydrogène (H_2O_2)
- Hypochloreux ($HOCl$)
- L'hydro peroxyde organique ($ROOH$)

3.2. Espèces réactives de L'azote (RNS)

3.2.1. Monoxyde d'azote (NO[•])

C'est un radical très diffusible, liposoluble et dont la durée de vie est courte (**Haton, 2005**). Le monoxyde d'azote (NO[•]) représente une espèce oxydante biatomique de type radicalaire ayant un électron non apparié sur l'une de ses orbitales externes. Cette petite molécule détient une réactivité comparée à celle de l'anion superoxyde O[•]₂ (**Valko et al., 2007**). Il est produit chez les organismes supérieurs par l'oxydation d'un des atomes N-terminaux de la L arginine, selon une réaction catalysée par l'enzyme 'nitric oxide synthase' (**Sorg, 2004**).

3.3. Source des radicaux libre

3.3.1. Source externe

Il existe plusieurs facteurs qui contribuent à la production de radicaux libres tel que la pollution de l'air, la fumée de cigarette, la consommation d'alcool, un taux de sucre élevé dans le sang, une consommation élevée en acides gras polyinsaturés, les rayonnements, trop ou trop peu d'oxygène dans le corps, l'exercice intense et prolongé, une consommation excessive d'antioxydants ou un déficit en antioxydants (**Favier, 2003**).

3.3.2. Source interne

les ROS sont produits par différentes enzymes telles que la NADPH oxydase (NOXs), la xanthine oxydase, les cyclo oxygénases, les lipoxygénases, le cytochrome P450, la NO synthase endothéliale et les enzymes de la chaîne mitochondriale (**Drummond et al., 2000**). (Environ 2 % de l'oxygène consommé au niveau mitochondrial sont transformés en ERO particulièrement réactionnelle) (**Puppo et Halliwell, 1988**).

La production de (NO[•]) est obtenue par transformation de la L-arginine en L-citrulline en deux étapes : L'hydroxylation d'un azote du groupement guanidine de la L-arginine pour former un composé intermédiaire instable la Ng-OH-Larginine qui se dégrade ensuite en L-citrulline et(NO[•]) (**Darblade et al., 2000**).

4. Rôles des radicaux libres

Les espèces radicalaires jouent un rôle essentiel dans un grand nombre de fonctions physiologiques, comme la phagocytose ou la régulation de la croissance (**Fridovich, 1999**), à la fonctionnement de certaines enzymes, à la défense immunitaire contre les agents pathogènes, à la destruction par apoptose des cellules tumorales, à la régulation de la dilatation capillaire, au fonctionnement de certains neurones et notamment ceux de la

mémoire, à la fécondation de l'ovule, à la régulation des gènes (**Favier, 2003**), à la production énergétique, au à la signalisation intracellulaire. Mais la production peut devenir excessives que ce soit par déficit en antioxydants ou par suite d'une surproduction énormes de ces radicaux, cette déséquilibre est appelée «stress oxydant» (**Ardestani et Yazdanparast, 2007**).

Certains radicaux libres ciblent les mitochondries et entravent leur capacité à produire de l'énergie. D'autres radicaux libres ciblent l'ADN (**bechan et al., 2014**).

5. Cibles biologiques de stress oxydant

La production excessive de radicaux libres provoque des lésions directes de molécules biologiques (oxydation de l'ADN, des protéines, des lipides, des glucides), mais aussi des lésions secondaires dues au caractère cytotoxique et mutagène des métabolites libérés notamment lors de l'oxydation des lipides. L'organisme peut aussi réagir contre ces composés anormaux par production d'anticorps, qui malheureusement peuvent aussi être des auto-anticorps créant une troisième vague d'attaque chimique (**Favier, 2003**).

5.1. Lipides

Les cibles des ROS sont principalement les acides gras polyinsaturés, en raison de la présence de nombreuses doubles liaisons, comme l'acide linoléique ou l'acide icosapenténoïque. Les réactions radicalaires sont à l'origine de la peroxydation lipidique qui se traduit in vitro par le rancissement. Le mécanisme radicalaire comporte trois étapes : l'initiation, la propagation et la terminaison (**Halliwell et Gutteridge, 1989**).

5.2. ADN

La guanosine, une des quatre bases qui constituent l'ADN, est sensible à l'attaque des EOA et se transforme en 8-hydroxy-2' déoxyguanosine (8-OHdG) Lors de la réplication de l'ADN, la 8-OHdG se couple avec l'adénine, ce qui provoque une mutation G-T dans le brin fille de l'ADN (**Pincemail et al., 2009**).

5.3. Protéines

Les acides aminés possèdent des susceptibilités différentes vis-à-vis des EOA. Les plus réactifs sont l'histidine, la proline, le tryptophane, la cystéine et la tyrosine. Toute attaque radicalaire d'un acide aminé provoquera l'oxydation de certains résidus avec, pour conséquences, l'apparition de groupements carbonylés, des clivages de chaînes peptidiques et des ponts bi-tyrosine intra- et inter-chaînes. La plupart des dommages sont irréparables et peuvent entraîner des modifications fonctionnelles importantes (non reconnaissance d'un récepteur par un ligand, perte d'activité enzymatique). Certaines protéines oxydées

sont peu dégradées et forment des agrégats qui s'accumulent dans les cellules et dans le compartiment extracellulaire (**Haleng et al., 2007**).

5.4. Lipoprotéines

L'attaque radicalaire des lipoprotéines circulantes aboutit à la formation de LDL oxydées, qui seront captées par des récepteurs spécifiques des macrophages. L'activité de ces récepteurs n'étant pas régulée par la concentration intracellulaire en cholestérol, les macrophages se transforment petit à petit en cellules spumeuses (rôle important dans les premières étapes de l'athérosclérose). En outre, ces LDL oxydées sont immunogènes et les immuns complexes formés peuvent activer la voie classique du complément et générer la sécrétion de cytokines pro inflammatoires par les macrophages (**Haleng et al., 2007**).

5.5. Sucres

En présence de métaux, l'oxydation du glucose peut libérer des céto-aldéhydes, du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et des anions superoxydes (OH^{\cdot}), et entraîner la coupure de protéines et leur glycation par attachement du céto-aldéhyde (**Wolff et al., 1989**).

6. Les Antioxydant

6.1. Définition

De nombreuses espèces oxydantes sont produites et bien qu'elles soient souvent indispensables à l'organisme, elles sont également responsables de dégâts importants. Afin de faire face à ces produits oxydants délétères, le corps humain dispose de tout un ensemble de défenses que l'on qualifie d'antioxydants. Alors que le terme « antioxydant » soit fréquemment utilisé, il est difficilement définissable car il couvre un large nombre des molécules et des domaines très divers comme l'alimentation, l'industrie chimique et l'industrie pharmaceutique (**Halliwell et Gutteridge, 1999**).

Les composés antioxydants sont définis comme toutes les substances qui, à faible concentration, retardent ou inhibent significativement l'oxydation d'un substrat oxydable par rapport à ce substrat (**Halliwell, 1990**). Cette définition fonctionnelle s'applique à un large éventail de substances, y compris les enzymes aux propriétés catalytiques spécifiques et les petites molécules hydrosolubles ou liposolubles (**Carocho et Ferreira, 2013 ; Godic et al., 2014**).

6.2. Classification des antioxydants

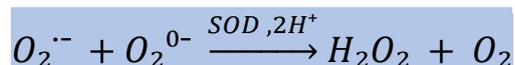
Les principales sources des antioxydants sont :

6.2.1. Antioxydants enzymatique

Ce sont des antioxydants endogènes qui représentent la première barrière de défense contre les RL (Baba et Mc-Grath, 2008 ; Bensakhria, 2018) qui comprennent les enzymes suivantes (la superoxyde dismutase, la catalase, la glutathion peroxydase et la glutathion réductase) sont considérées comme la première ligne de défense de notre organisme contre les ROS. Les enzymes existant à l'état endogène (cytoplasme, cytosol ou mitochondrie) permettent de protéger les cellules contre les radicaux libres produits de manière physiologique au cours du métabolisme cellulaire normal (Menon et Goswami, 2007).

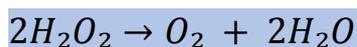
➤ Superoxyde dismutase (SOD)

Le radical superoxyde qui présente une certaine toxicité est éliminé ou tout au moins maintenu à un niveau de concentration assez bas par des enzymes appelées superoxyde dismutases (SOD) qui catalysent sa disparition par dismutation (Gardès *et al.*, 2003).



➤ Catalase (CAT)

Est une protéine hémique qui catalyse la transformation du peroxyde d'hydrogène en eau et oxygène moléculaire selon la réaction suivante (Blondeau *et al.*, 1987).



➤ Glutathion peroxydases (GPx)

Les glutathion peroxydases présentes dans la plupart des tissus de mammifères, catalysent la réduction par le glutathion du peroxyde d'hydrogène et de divers hydroperoxydes lipidiques produits (Ghyselinck *et al.*, 1990).



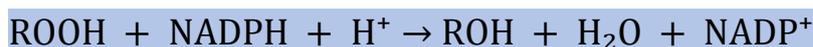
➤ **Glutathion réductase (GR)**

La glutathion réductase participe de façon indirecte dans la défense antioxydante, quant à elle, a pour rôle de régénérer le GSH à partir du GSSG grâce au NADPH qui est utilisé comme donneur d'électrons. En effet, la concentration cellulaire en glutathion étant limitée, il est nécessaire de le réduire constamment pour que la GPx maintienne sa fonction (**Garait, 2006**).



➤ **Thioridoxine peroxydases (Trx)**

Il s'agit une sélénoenzyme NADPH dépendante, responsable de l'élimination de l' H_2O_2 , ROOH, ONOO⁻ par une réaction de réduction (**Bensakhria, 2018**).



6.2.2. Antioxydants non enzymatique

➤ **Glutathion (GSH)**

Le glutathion est un tripeptide dont la fonction thiol lui confère un rôle d'antioxydant, voire, de réducteur (donneur d'électron ou d'atome H) (**Gardès *et al.*, 2003**). Il joue un rôle de réducteur des protéines oxydées par alliance avec d'autres espèces électrophiles (**Atti, 2014 ,Bensakhria, 2018**).



➤ **Protéine chélatrices des métaux**

Comme le transferrine, l'haptoglobine, la ferritine, l'albumine et la céruloplasmine agissent en diminuant la disponibilité d'agents pro-oxydants, comme les ions Fe^{2+} / Fe^{3+} ou Cu^{2+} / Cu^+ permettant par ce biais de prévenir la production des radicaux libres par la réaction de Fenton (**Martínez, 1995**).

➤ Acide urique

Produit terminal majeur du métabolisme des purines chez l'homme, il est à pH physiologique majoritairement ionisé sous forme d'urate, un piègeur puissant de radicaux (OH^\cdot , ROO^\cdot , NOO^\cdot ...). Ces réactions conduisent à des espèces radicalaires qui seront à leur tour réduites (notamment par la vitamine C). Les propriétés antioxydantes de l'urate in vivo peuvent être appréciées indirectement par le fait qu'un produit de réaction de l'urate avec les EOA, l'allantoïne, est présent à des taux élevés lors d'un stress oxydant (**Haleng et al., 2007**).

➤ Bilirubine

La bilirubine est un produit terminal de la dégradation de l'hème et résulte essentiellement du catabolisme de l'hémoglobine par les cellules réticuloendothéliales. Composé non hydrosoluble, elle se lie à l'albumine dans un rapport stœchiométrique 1/1, ce qui empêche sa pénétration dans des tissus riches en lipides tels que le cerveau. La bilirubine est capable de piéger ROO^\cdot et l'oxygène singulet. Ainsi, elle protège l'albumine et les acides gras liés à l'albumine des attaques radicalaires (**Haleng et al., 2007**).

➤ β -carotène

Parmi les photo-protecteurs actifs, le β -carotène apparaît comme un piègeur efficace. Sa constitution polyénique lui confère une capacité de piégeage de l'oxygène par formation d'un dioxétane (addition d'une oléfine et d'une molécule d'oxygène) ou par production d'hydroperoxydes (insertion d'oxygène dans toutes liaisons C-H conjuguées d'une double liaison) susceptibles d'être réduits à leur tour. Il est présent dans les légumes verts, la salade, les carottes, l'abricot, le melon, les épinards, la papaye (**Bossokpi, 2002**).

➤ Oligo-éléments

Cu, Zn, Mg, Se et Fe des cofacteurs qui jouent le rôle d'un barrage contre le stress oxydant. Ils maintiennent l'activité catalytique des enzymes antioxydantes (**Garait, 2006**). Aussi le zinc et le cuivre jouent un très grand rôle dans l'activité des SOD (**Bouldjadj, 2009**).

➤ Vitamine E

La vitamine E étant liposoluble, elle se fixe aux membranes et peut ainsi séquestrer les radicaux libres en empêchant la propagation des réactions de peroxydation lipidique (Evans *et al.*, 2002).

➤ Vitamine C

La vitamine C ou acide ascorbique est l'antioxydant hydrosoluble majeur. Elle se trouve dans le cytosol et dans le fluide extracellulaire ; elle peut capter directement l'O₂^{•-} et l'OH[•]. A côté de son rôle dans la régénération de vitamine E, la vitamine C est capable de réduire d'autres biomolécules oxydées et d'agir comme un piègeur direct de radicaux libres (Evans *et al.*, 2002).

➤ Polyphénols

Ils constituent une famille importante d'antioxydants présents dans les végétaux. L'alimentation fournit environ 1g de polyphénols par jour principalement par l'apport en fruits et, dans une moindre mesure, en légumes et en céréales. Ils sont présents sous forme d'anthocyanine dans les fruits rouges et le vin rouge, sous forme de flavonoïdes dans les agrumes, l'huile de lin et sous forme d'épicatéchine dans le vin, le thé, le chocolat, les pommes, les oignons et les algues brunes. Globalement, ce sont d'excellents piègeurs des EOA et de très bons chélateurs des métaux de transition comme le fer et le cuivre (Haleng *et al.*, 2007).

6.2.3. Antioxydants synthétiques

Les antioxydants synthétiques, tel que le butylhydroxyanisole (BHA), butylhydroxytoluène (BHT), gallate propylée (PG) et le tétrabutylhydroquinone (TBHQ), sont largement utilisés dans l'industrie alimentaire, parce qu'ils sont efficaces et moins chers que les antioxydants naturels. Cependant, leur sécurité est très discutée car ils génèrent un besoin de recherche comme matière de substitution d'après des sources naturelles comme les antioxydants de la nourriture (Lisu *et al.*, 2003). Cependant, il a été montré que ces antioxydants de synthèse pouvaient être toxiques (Yu *et al.*, 2000).

Ce sont les plus utilisés à cause de leurs efficacités et ils coutent moins cher comparés aux antioxydants naturels. D'une autre part il y a une possibilité qu'ils deviennent toxiques s'ils sont consommés d'une façon excessive (**Pieta, 2000**).

Il existe plusieurs types d'antioxydants synthétiques, parmi eux on trouve :

➤ **Butylhydroxytoluène (BHT)**

BHT est un produit net de couleur blanche, il est sous forme d'une matière cristallisée qui n'a pas d'odeur, il ne se dissout pas dans l'eau, il se dissout dans d'autres solvants organiques (**Hammerich et Svensmark, 1990**).

➤ **Butylhydroxyanisole (BHA)**

Parmi les importants caractéristiques de ces produits est la possibilité de résister même à la chaleur, par exemple le cas des friture, c'est pour cette cause, certains pays permettent son ajout avec une concentration ne dépassant pas 200 ppm (**Gunckel et al., 1998**).

7. Maladies liées au stress oxydatif

Le stress oxydant est impliqué dans de très nombreuses maladies comme facteur déclenchant ou associé à des complications de leur évolution. La plupart des maladie induites par le stress oxydant apparaissent avec l'âge car le vieillissement diminue les défenses antioxydantes (**Sohal et al., 2002**).

Le stress oxydant est aussi un des facteurs potentialisant l'apparition de maladies plurifactorielles tels le diabète, la maladie d'Alzheimer, les rhumatismes et les maladies cardiovasculaires (**Montagnier et al., 1998**).

Les causes essentielles de ce stress oxydant sont soit d'origine nutritionnelle dans les cas de carences en vitamines et oligo-éléments, ou inversement de surcharges en facteurs pro oxydants (fer, acides gras), soit d'origine accidentelle (l'inflammation, exposition à des xénobiotiques pro-oxydants...), soit d'origine génétique. Le plus souvent, l'association de ces différents facteurs aboutira au mécanisme pathogène (**Berger, 2006**).

8. Implication du stress oxydant dans le diabète (Glutotoxicité liée à l'hyperglycémie)

De nombreuses pathologies, impliquant le stress oxydant dans leur développement, ont été recensées. Outre les maladies cardio-vasculaires (oxydation des lipides) et le cancer (oxydation de l'ADN), c'est certainement dans le cadre du diabète (obésité, syndrome métabolique) que des avancées spectaculaires ont été réalisées au cours des dernières années (**Haleng et al., 2007**).

Plusieurs mécanismes pathogéniques conduisent à une augmentation du stress oxydant et semblent impliqués dans l'apparition des complications du diabète (**Haleng et al., 2007**).

8.1.L'activation de la voie des polyols :

En situation d'hyperglycémie, l'hexokinase qui permet la phosphorylation du glucose et son utilisation dans les voies de la glycolyse et des pentoses phosphates est saturée. En conséquence, le glucose est transformé en sorbitol puis en fructose, respectivement sous l'action de l'aldose réductase et du sorbitol déshydrogénase. Suite à ces réactions, le rapport NADH/ NAD⁺ s'élève, entraînant une inhibition de la glyceraldéhyde-3-phosphate déshydrogénase et une accentuation de la formation de produits terminaux de glycation (AGE). En outre, les taux cellulaires de NADPH (Nicotinamide Dinucléotide Phosphate réduit), coenzyme nécessaire à l'activité de la glutathion réductase (régénération du GSH) ainsi qu'à l'activité de l'ascorbate réductase et de la NO-synthase, diminuent, avec pour conséquence une diminution des capacités antioxydantes (**Haleng et al., 2007**).

8.2.La production de produits terminaux de glycation (AGE)

Le glucose réagit facilement avec les groupements amines libres des protéines pour former des «produits d'Amadori». Ces derniers sont relativement instables et se dégradent en produits avancés de la glycation (AGE) ou produits de Maillard. Des recherches récentes ont montré que les AGE, retrouvés en concentrations élevées dans la rétine et les glomérules rénaux, jouent un rôle important dans le développement des complications du diabète (**Haleng et al., 2007**).

8.3.L'auto-oxydation du glucose

En présence de fer, le glucose s'oxyde, entraînant la génération d'EOA, mais aussi la production de la forme aldéhyde du glucose, le glyoxal. Cette molécule se fixe rapidement sur les protéines dans lesquelles apparaît un résidu carboxyméthyllysine (CML). Ce groupement capte facilement le cuivre, ce qui provoque le déclenchement de réactions de type Fenton avec production de radicaux libres : il s'ensuit une augmentation de la peroxydation lipidique. Ce mécanisme pourrait expliquer pourquoi le diabète est souvent associé à des complications cardio-vasculaires (Haleng *et al.*, 2007).

8.4.L'activation de la protéine kinase C (PKC)

L'hyperglycémie intracellulaire entraîne l'activation de la PKC, contribuant ainsi aux anomalies des flux sanguins locaux, consécutives à la diminution de NO[•] et/ou la libération d'endothéline-1(Haleng *et al.*, 2007).

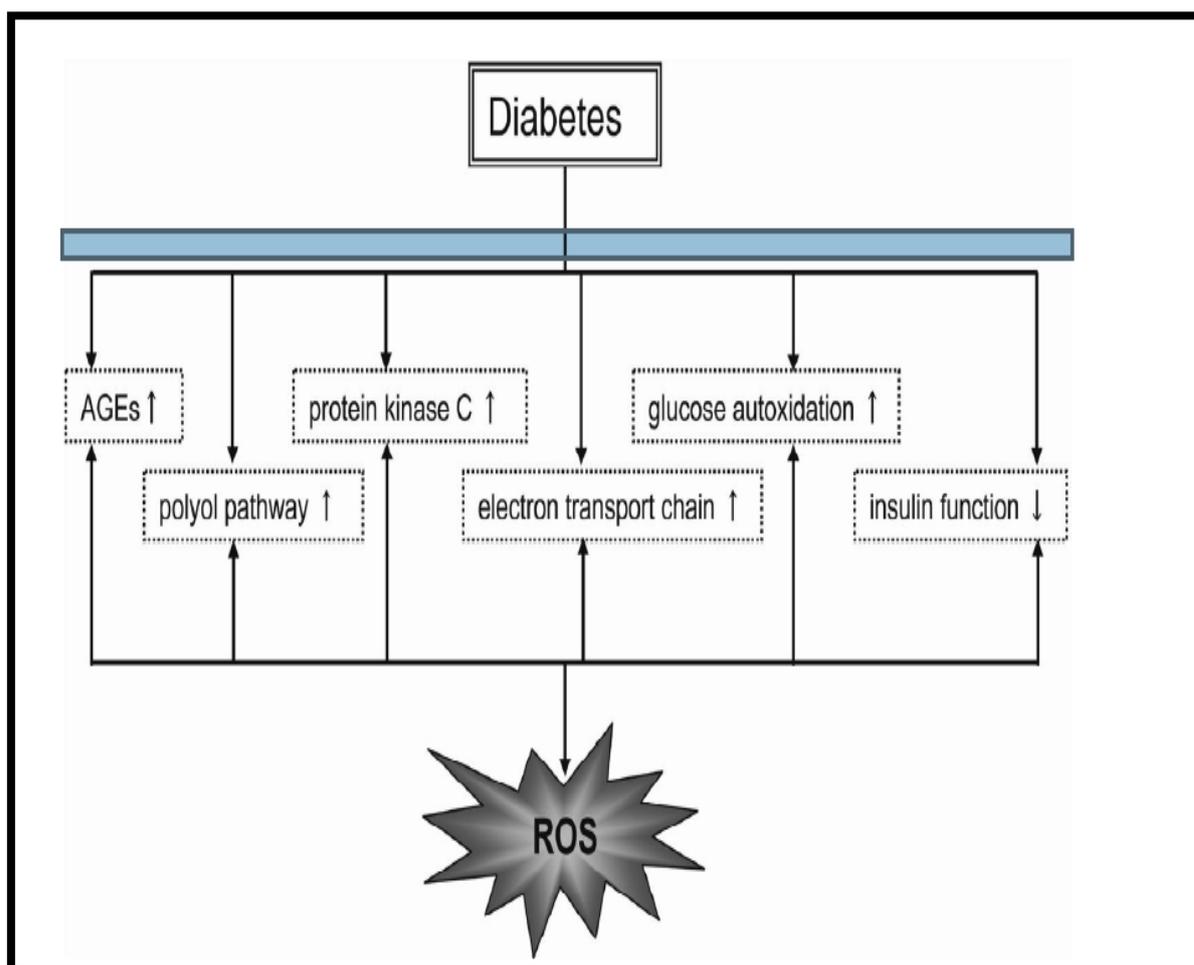


Figure 6. Relation entre diabète et stress oxydant (Yasuhiro *et al.*, 2009).

Matériel et méthodes

1. Matériel végétal

Les espèces sélectionnées *Drimia anthericoides* et *Calendula suffruticosa* ont été récoltées le mois de février 2022 au niveau de la région d'Annaba (Cap de Garde).

Après une identification botanique par Mr Hamel.T, professeur botaniste au laboratoire de biologie végétale et environnement (LBVE) (faculté des sciences, département de biologie - Université Badji Mokhtar, Annaba). Les deux plantes ont été nettoyées puis mise à sécher à température ambiante dans un endroit aéré à l'ombre. Le broyat va constituer la matière sèche qui va servir à la préparation de l'extrait méthanolique.

2. Les animaux

Notre étude a été réalisée sur 30 rats males de la souche *Albino Wistar*, adultes, âgés de 12 semaines, pesant 140 - 200 gramme, provenant de l'animalerie du laboratoire d'élevage LEKMOUTA Nour El Houda de Guemar, El Oued.

Les rats sont placés dans des cages en plastique et soumis à une période d'adaptation d'un mois environ, aux conditions de notre animalerie (faculté SNV-STU de l'université 08 mai 1945 – Guelma). Avec accès libre d'eau et de la nourriture.

3. Etude phytochimique

3.1. Préparation de l'extrait méthanolique

L'extrait méthanolique est préparé par macération selon la méthode de **Markhan (1982)**. 250 g de la poudre est macéré dans du méthanol 80% à raison de 25% (P/V) pendant plusieurs jours avec agitation de temps en temps. Après filtration, le filtrat est évaporé dans un rotavapor à 45° puis lyophilisé, le lyophilisat est pesé pour calculer le rendement de l'extraction.

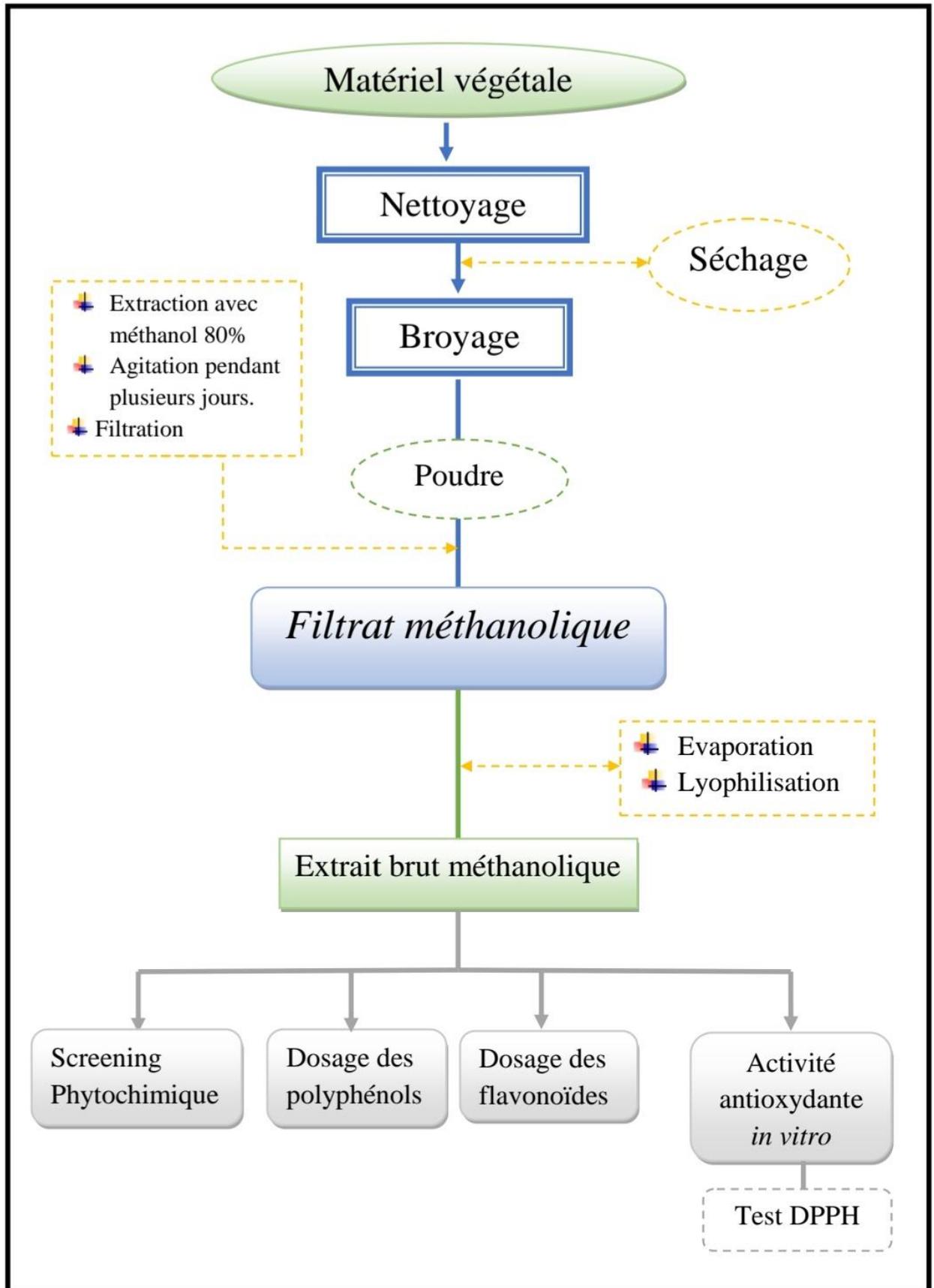


Figure 7. Protocole de préparation de l'extrait méthanolique.

3.2. Tests préliminaires de la composition chimique

Les tests phytochimiques sont réalisés sur une solution de l'extrait méthanolique dissout dans du méthanol selon les méthodes décrites par **Trease et Evans (1983)**.

3.2.1. Tanin

Agiter 2 ml de la solution à tester avec 2ml eau distillée, ajouter 2 à 3 gouttes de solution de FeCl₃ à 2%. Un test positif est révélé par l'apparition d'une coloration bleu-noire ou verdâtre.

3.2.2. Flavonoïdes

Traiter 5 ml de l'extrait avec quelques gouttes d'HCl concentré. Ajouter une quantité de tournures de magnésium (laisser agir). La présence des flavones aglycone est confirmée par l'apparition d'une couleur rouge ou rose.

3.2.3. Alcaloïdes

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

- **Réactif de Mayer:** 5g de KI et 1,358g de HgCl₂ solubilisés dans 100 ml d'eau distillée.
- **Réactif de Wagner:** 2g de KI et 1,27g d'I₂ solubilisé dans 100 ml d'eau distillée. Evaporer 20 ml de l'extrait méthanolique de chaque plante à sec, ajouter 5 ml d'HCl (2N) au résidu et chauffer dans un bain marie. Filtrer le mélange et réaliser les tests avec le réactif de Mayer ou de Wagner.

Introduire 1 ml de filtrat dans un tube à essais puis ajouter 5 gouttes de réactif. La présence d'alcaloïdes est indiquée par la formation d'un précipité blanc jaunâtre.

3.2.4. Stérols et triterpènes

Dans un bécher, introduire 5ml de l'extrait à analyser, ajouter 5ml d'anhydride acétique, 5ml de chloroforme et 1 ml d'acide sulfurique (H₂SO₄) concentré dans la paroi de bécher sans agiter. Laisser reposer 20 min. La formation d'un anneau rouge brunâtre à la zone de contact des deux liquides et une coloration violette de la couche surnageant révèlent la présence de stérols et triterpènes.

3.2.5. Saponosides

5 ml de la solution à tester sont bien mélangés avec 10 ml d'eau distillée pendant 2 min. La formation d'une mousse persistante après 15 min confirme la présence des saponosides.

3.2.6. Composés réducteurs

Dans un tube à essai, ajouter 1ml de liqueur de Fehling (0,5ml réactif A et 0,5ml réactif B) à 1ml d'extrait à analyser et incuber l'ensemble 08 min dans un bain marie bouillant. L'apparition d'un précipité rouge brique indique la présence des composés réducteurs.

3.2.7. Coumarines

Introduire 1 ml d'extrait dans un tube, ajouter 0,5 ml de NH_4OH à 25 %, mélanger et observer sous UV à 366 nm. Une fluorescence intense indique la présence des coumarines.

3.2.8. Mucilages

Introduire 1 ml d'extrait dans un tube à essai et ajouté 5 ml d'éthanol absolu. Après une dizaine de minutes, l'obtention d'un précipité floconneux par mélange, indique la présence de mucilages.

3.2.9. Terpénoïdes

Dans un tube à essai, ajouter à 2 ml d'extrait, 2ml de chloroforme et 2 ml d'acide sulfurique concentré. La formation d'un anneau marron-rouge à l'interphase indique la présence des terpénoïdes.

4. Analyse de l'extrait méthanolique

4.1. Dosage des polyphénols

La teneur en composés phénoliques des deux extraits a été estimée par la méthode de Folin-ciocalteu selon (Li *et al.*, 2007). Cette méthode est basée sur la réduction en milieu alcalin de la mixture phosphotungstic (WO_4^{2-}) phosphomolybdic (MoO_4^{2-}) du réactif de Folin par le groupement oxydable des composés polyphénoliques, conduisant à la formation de produits de réduction de couleur bleue. Ces derniers présentent un

maximum d'absorption dont l'intensité est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans l'échantillon (**Georgé *et al.*, 2005**). Brièvement, 1 ml de réactif de Folin (dilué 10 fois) est ajouté à 200 µl d'échantillon ou de standard (préparés dans le méthanol) avec des dilutions convenables. Après 4 min, 800 µl d'une solution de carbonate de sodium (0,75%) sont additionnés au milieu réactionnel. Après 2 heures d'incubation à température ambiante l'absorbance est mesurée à 765nm.

La concentration des polyphénols totaux est calculée à partir de la droite d'étalonnage établie avec l'acide gallique (0-200 µg/ml) et est exprimée en mg d'équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait.

4.2. Dosage des flavonoïdes

L'évaluation quantitative des flavonoïdes dans les deux extraits a été réalisée selon la méthode du trichlorure d'aluminium (**Bahorun *et al.*, 1996**). Brièvement, les échantillons sont préparés par la dissolution de 1mg (extrait) / 1 ml (méthanol). 1 ml de chaque échantillon est ajouté à 1 ml de la solution d'AlCl₃ (2%, dans le méthanol). Dix minutes après le début de la réaction, l'absorbance est lue à 430 nm.

Une gamme étalon est établie séparément avec la quercétine (0-40 µg/ml) pour calculer la concentration des flavonoïdes dans chaque extrait. Les résultats du dosage sont exprimés en milligramme équivalent de quercétine par gramme de lyophilisat.

4.3. L'évaluation de l'activité anti-oxydante : Piégeage du radical libre 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH)

Pour étudier l'activité anti-radicalaire des deux extraits, nous avons opté pour la méthode qui utilise le DPPH comme un radical libre relativement instable qui absorbe dans le visible à la longueur d'onde de 515 à 520 nm. Le test consiste à mettre le radical DPPH (de couleur violette), en présence des molécules dites antioxydantes afin de mesurer leur capacité à le réduire. La forme réduite (diphénylpicryl-hydrazine: de couleur jaune) n'absorbe plus à 515 nm, ce qui se traduit par une diminution de l'absorbance (**Sanchez-moreno, 2002**).

Selon le protocole décrit par **Mansouri *et al.* (2005)**, la solution de DPPH est préparée par solubilisation de 2,4 mg de DPPH dans 100 ml de méthanol (6×10^{-5} M). 25 µl des solutions d'extraits ou standard (acide ascorbique) sont ajoutés à 975 µl DPPH, le

mélange est laissé à l'obscurité pendant 30 min et la décoloration par rapport au contrôle négatif contenant la solution de DPPH et du méthanol est mesurée à 517 nm. L'activité anti radicalaire est estimée selon l'équation ci-dessous :

$$\% \text{ d'activité antiradicalaire} = \frac{(\text{abs contrôle}) - (\text{abs échantillon})}{(\text{abs controle})}$$

Pour l'évaluation de cette activité, on a préparé une gamme de dilutions allant de 0 à 2 mg/ml pour l'acide ascorbique et les deux extraits.

Les différentes densités optiques ont permis de tracer pour chaque extrait, une courbe d'allure exponentielle, ce qui signifie l'existence d'une relation proportionnelle entre le pourcentage de réduction du radical libre et la concentration de l'extrait dans le milieu réactionnel.

❖ Calcul des IC₅₀

IC₅₀ (concentration inhibitrice de 50 %), aussi appelée EC₅₀ (*Efficient concentration 50*), est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50% de radical DPPH.

Les IC₅₀ sont calculées graphiquement par des pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des extraits testées (**Torres et al, 2006**).

N.B : L'acide ascorbique est utilisé comme contrôle positif.

5. Etude sur les rats diabétiques

5.1. Induction du diabète sucré chez les rats

Le diabète sucré est induit chez des rats maintenus à jeun pendant une nuit par une injection intra péritonéale unique d'une solution d'Alloxane à raison de 150 mg/kg. La solution de l'Alloxane est fraîchement préparée dans l'eau distillée.

L'Alloxane a été proposé d'agir comme un agent diabéto-gène en raison de sa capacité à détruire les cellules des îlots de Langerhans éventuellement par le biais de la formation excessive des radicaux libres. Les cellules β du pancréas sont susceptibles d'être altérées par les dommages oxydatifs générés par les radicaux libres, en raison d'un faible niveau des enzymes piègeurs de radicaux libres (**Kebieche et al., 2011**).

5.2. Traitement des animaux

Les 30 rats sont répartis en 6 lots égaux (05 rats /lot) :

- ❖ Lots 1 : Groupe normale contrôle (N) reçoit l'eau distillée.
- ❖ Lots 2 : Groupe diabétique contrôle (D) reçoit l'eau distillée.
- ❖ Lots 3 : Groupe normal traité (NTC) reçoit 400 mg de l'extrait méthanolique de *Calendula suffruticosa*
- ❖ Lots 4 : Groupe normal traités (NTD) reçoit 50mg de l'extrait méthanolique de *Drimia anthericoides*
- ❖ Lots 5 : Groupe diabétique traité (DTC) reçoit 400mg De l'extrait méthanolique de *Calendula suffruticosa*
- ❖ Lots 6 : Groupe diabétique traité (DTD) reçoit 50mg de l'extrait méthanolique de *Drimia anthericoides*

Le traitement a été effectué par gavage pendant 28 jours.

5.3. Prélèvement sanguin

Au 29^{ème} jours, et après 12 heures à jeun, les rats sont sacrifiés par décapitation, le sang est récupéré, centrifugé à 3000 tours/minute pendant 10 minutes. Le sérum est séparé en deux ou trois fractions dans des tubes Eppendorf, conservé à (-20°C) jusqu' au moment du dosage des paramètres biochimiques.

5.4. Prélèvement des organes

Après dissection des rats, le pancréas, le foie, les poumons, les reins, les testicules, et le muscle cardiaque sont rapidement prélevés et bien rincés avec une solution de chlorure de sodium (NaCl) à 0,9%.

Le pancréas et un fragment de foie sont fixés dans du formol à 10% pour l'analyse histologique.

Une partie du foie, du poumon, des reins, des testicules, et du muscle cardiaque est homogénéisée dans le tampon phosphate 0.1 mol/l (pH = 7.4), ensuite centrifugée à 9000 tours /minute pendant 30 minutes, le surnageant est récupéré et conservé à (- 20C°) pour le dosage des protéines et des paramètres de statut antioxydant (GSH, GSH-Px, SOD).

Une 2eme partie de chaque organe est homogénéisée dans un tampon KCl 1.15% pour le dosage de l'MDA.

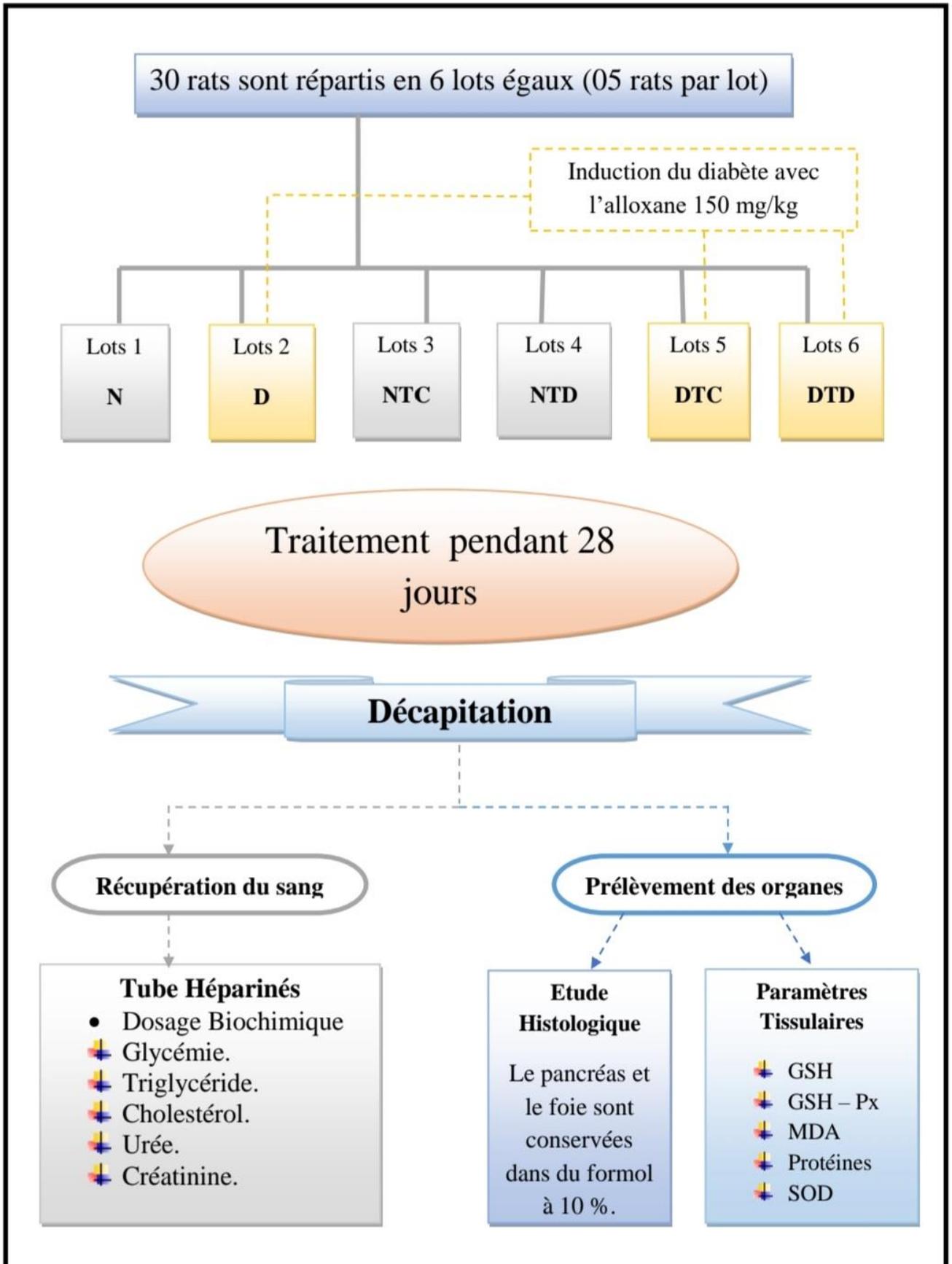


Figure 8. Schéma récapitulatif du Protocole expérimental

5.5. L'analyse des paramètres sériques

- a. **Dosage de glucose** : selon la fiche technique **Spinreact**
- b. **Dosage de cholestérol** : selon la fiche technique **DiaScan**
- c. **Dosage des triglycérides** : selon la fiche technique **DiaScan**
- d. **Dosage de l'urée** : selon la fiche technique **DiaScan**
- e. **Dosage de la créatinine** : selon la fiche technique **DiaScan**

5.6. Analyse des paramètres tissulaires

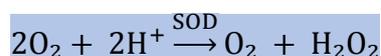
5.6.1. Dosage des protéines

La concentration des protéines est déterminée selon la méthode de **Bradford (1976)**. Les protéines réagissent avec un réactif coloré contenant de l'acide orthophosphorique, de l'éthanol ainsi que le bleu de coomassie (BBC). Ce réactif réagit avec le groupement (-NH₂) des protéines.

L'intensité de la couleur reflète la concentration des protéines. 50 µl de l'homogénat sont ajoutés à 2.5 ml de réactif de Bradford. Agitation, incubation 5 minutes à température ambiante puis lecture de l'absorbance à λ= 595 nm contre un blanc réactif. Les densités optiques obtenues sont rapportées sur la courbe d'étalonnage de sérum albumine de bovin préalablement tracée.

5.6.2. Evaluation de l'activité enzymatique du superoxyde dismutase

La SOD est une enzyme antioxydante très importante dans le maintien d'une basse concentration de l'anion superoxyde. Elle catalyse la dismutation de l'O₂^{•-} en peroxyde d'hydrogène et en oxygène selon la réaction suivante :



La procédure expérimentale du dosage est la suivante :

- ✚ Prélever 0.1ml de solution A (Met 13mM. 0.1Mm EDTANA2)
- ✚ Ajouter 0.8922 ml de la solution tampon phosphate 50 Mm (pH 7.8)
- ✚ Prélever 0.05 ml de surnagent
- ✚ Ajouter 0.95 ml de la solution tampon phosphate
- ✚ Ajouter 0.0852 ml de NBT 2.64 mM et 0.0226 ml de riboflavine 0.26 Mm
- ✚ Mélanger et incuber au bain marie a une température de 80°C pendant 10 minutes

La densité optique a été enregistrée à $\lambda=580$ nm

L'activité enzymatique du SOD est déterminée selon la formule suivante :

$$Y = \left[\frac{DO \text{ étalon} - DO \text{ échant}}{DO \text{ étalon}} \right] \times \frac{20}{C}$$

5.6.3. Dosage du malondialdéhyde (MDA)

❖ Principe

Le MDA est l'un des produits terminaux formés lors de la décomposition des acides gras polyinsaturés médies par les radicaux libres libérés au cours de stress.

Dans notre étude, les taux du MDA des tissus étudiés (foie, poumon, rein, testicule et muscle cardiaque). ont été évalués selon la méthode **d'Ohkawahawa *et al.*, (1979)**. Le dosage repose sur la condensation en milieu acide et chaud (pH 2 à 3, 100°C) entre une molécule de MDA et deux molécules de thiobarbituriques (TBA) pour former un pigment coloré en rose absorbant à 530nm, extractible par les solvants organiques comme le butanol. Le principe de cette méthode est résumé dans la Figure 9 :

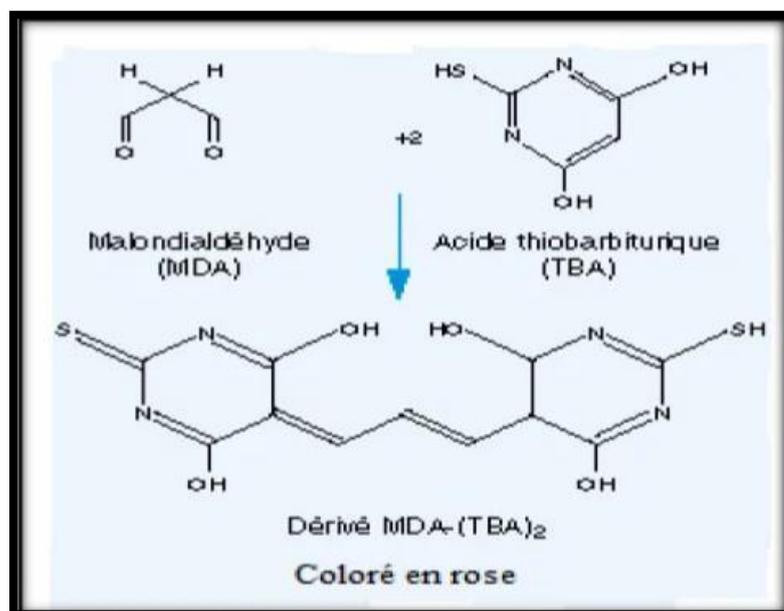


Figure 9. Réaction du malondialdéhyde avec l'acide thiobarbiturique (Lefèvre *et al.*, 1998)

A 0.5ml de la fraction cytosolique 10% (KCl 1,15M) nous avons additionné 0.5 ml d'acide trichloracétique (TCA) 20% et 1 ml d'acide thiobarbiturique (TBA) 0.67%. Le mélange est chauffé à 100°C pendant 20 minutes, refroidi puis additionné de 4 ml de *n*-butanol. Après centrifugation de 15 minutes à 3000 tours/min, la densité optique est

déterminée sur le surnageant au spectrophotomètre à 530 nm. La concentration de MDA est calculée à partir d'une gamme étalon établie dans les mêmes conditions avec 1, 1, 3,3 tétraétoxypropane qui donne le MDA après son hydrolyse en solution (Annexe 1). Les résultats du dosage sont exprimés en nmol/gramme de tissu.

5.6.4. Dosage du glutathion réduit (GSH)

Le dosage du glutathion est réalisé selon la méthode d'**Ellman (1959)** modifié par **Jollow *et al* (1974)**. Le principe de ce dosage repose sur la mesure de l'absorbance optique de l'acide 2-nitro-5-mercaptopurique qui résulte de la réduction de l'acide 5,5 dithio-bis-2-nitrobenzoïque (DTNB) par les groupements (-SH) du glutathion. Pour cela on réalise une déprotéinisation afin de garder uniquement les groupements (-SH) spécifique du glutathion. La procédure expérimentale de dosage du glutathion réduit est la suivante :

- ✚ Prélever 0.8 ml de l'homogénat
- ✚ Ajouter 0.2 ml de solution d'acide salicylique (0.25%)
- ✚ Agiter et laisser pendant 15 minutes dans un bain de glace
- ✚ Centrifuger à 1000 tours/min pendant 5 min
- ✚ Prélever 0.5 ml du surnageant
- ✚ Ajouter 1 ml de tampon Tris-EDTA, pH 9.6
- ✚ Mélanger et ajouter 0.025 ml d'acide 5,5 dithio-bis-2-nitrobenzoïque (DTNB) à 0.01M.
- ✚ Laisser pendant 5 min à une température ambiante et lire les densités optiques à 412 nm contre le blanc réactif. La concentration du glutathion réduit est obtenue par la formule suivante :

$$GSH(n \text{ mol/mg protéine}) = \frac{DO \times 1 \times 1.525}{13100 \times 0,8 \times 0,5 \times \text{mg protéine}}$$

- D0 : Densité optique.
- 1 : Volume total des solutions utilisées dans la déprotéinisation (0.8 ml homogénat + 0.2 ml de l'acide salicylique).
- 1.525 : Volume total des solutions utilisées dans le dosage du GSH au niveau de surnageant (0.5 ml surnageant + 1 ml Tris + 0.025 ml DTNB).
- 13100 : Coefficient d'absorbance du groupement (-SH) à 412 nm.
- 0.8 : Volume de l'homogénat.
- 0.5 : Volume de surnageant

5.6.5. Dosage de l'activité enzymatique du glutathion peroxydase (GSH-Px)

L'activité enzymatique du glutathion peroxydase (GSH-Px) a été mesurée par la méthode de **Flohe et Gunzler (1984)**. Cette méthode est basée sur la réduction de peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) en présence de glutathion réduit (GSH), ce dernier est transformé en (GSSG) sous l'influence de la GSH-Px selon la réaction suivante :



Pour cela que, nous avons procédé aux étapes suivantes :

- ✚ Prélever 0.2 ml de l'homogénat (surnageant).
- ✚ Ajouter 0.4 ml de GSH (0.1 mM).
- ✚ Ajouter 0.2 ml de la solution tampon TBS (Tris 50 mM, NaCl 150 mM pH 7.4).
- ✚ Incuber au bain marie à 25°C, pendant 5 min.
- ✚ Ajouter 0.2ml de H₂O₂ (1.3 mM) pour initier la réaction, laisser agir pendant 10 minutes.
- ✚ Ajouter 1 ml de TCA (1%) pour arrêter la réaction.
- ✚ Mettre le mélange dans la glace pendant 30 minutes.
- ✚ Centrifuger durant 10 minutes à 3000 tours /minutes.
- ✚ Prélever 0.48 ml du surnageant.
- ✚ Ajouter 2.2 ml de la solution tampon TBS.
- ✚ Ajouter 0.32 ml de DTNB (1.0 mM)
- ✚ Mélanger et après 5 minutes lire les densités optiques à 412 nm.

La détermination de l'activité enzymatique de la GSH-Px se fait à l'aide de la formule suivante :

$$GSH - Px = \frac{DO_{ec} * DO_{et} * 5}{DO_{et} * cp} 0,04$$

0.04 : Concentration de substrat GSH.

5.7. Etude histologique

Les coupes histologiques ont été réalisées au niveau de laboratoire de service d'anatomie pathologie de l'hôpital Ibn-Zohr, Guelma, en suivant les étapes suivantes :

5.7.1. Fixation des organes

La fixation est réalisée immédiatement après le prélèvement de l'échantillon à observer par un liquide fixateur ou par congélation. Elle permet de l'immobiliser et le conserver dans le temps, dans un état proche du vivant respectant la structure tissulaire.

C'est l'étape la plus importante pour produire de bonnes coupes histologiques. Les liquides fixateurs sont très nombreux, nous avons utilisé le Formol ; il est communément employé pour la conservation des tissus animaux ou végétaux.

5.7.2. Préparation des cassettes

Avant de commencer le processus de déshydratation des pièces devant mettre l'organe en intégrale prélevé dans des cassettes (LEICA) en polyacétal avec couvercle incorporé.

5.7.3. Déshydratation

Il est nécessaire de déshydrater au préalable l'échantillon en remplaçant l'eau qu'il contient par de l'éthanol pour que les pièces soient soigneusement déshydratées avant leur inclusion dans la paraffine. Ces étapes sont réalisées par un système de préparation d'échantillons automatique par remplissage.

- ✚ Mettez les cassettes dans un automate (le SLEE MTP) assure la rapidité du traitement, la flexibilité, la protection de l'environnement et d'économies.
- ✚ Facile à l'utiliser comprend 12 stations : dix béciers en plastique ou en verre pour réactifs et solvants de traitement (xylène, éthanol, formol) et deux pots de paraffine en aluminium, il peut transporter jusqu'à 240 cassettes (standard : 120).
- ✚ Entièrement programmable grâce à l'écran LCD, et cette technique repose sur le système de rotation des bains durant presque 16h : 40min.

5.7.4. Réalisation des blocs (inclusion)

Le but de cette opération est de faire pénétrer dans les pièces une substance semi dure : la paraffine, de façon à créer une homogénéité de consistance favorable pour la coupe tout en respectant l'intégrité des tissus et à rigidifier l'échantillon.

Le paraffinage a lieu grâce à une station de paraffinage (SLEE MPS/P1) composé d'un bac thermostaté, une zone d'inclusion et une plaque chauffante.

- ❖ Déposer l'organe dans un moule métallique en inox et le remplir avec de la paraffine en appuyant sur le pédale de distribution de paraffine incluse déjà fondue à $T \geq 65\text{ C}^\circ$ dans la zone d'inclusion qui est sous forme d'un réservoir principal de 6 Litres , puis le fixer à l'aide d'une pince métallique en travaillant sur la surface refroidie de $T = -10\text{ C}^\circ$.
- ❖ Couvrir le moule avec le couvercle de la cassette et le laisser refroidir quelques instants sur la platine réfrigérée dédié à la finalisation d'inclusion à $T = [0 \text{ à } 20\text{ C}^\circ]$ donc on obtient des blocs.
- ❖ Les blocs sont conservés au froid jusqu'à la coupe des pièces.

5.7.5. Coupe des organes

Pour la réalisation de fines coupes histologiques, il faut d'abord dégrosser les cassettes pour éliminer l'excès de paraffine avec une épaisseur de $10\mu\text{m}$.

- 1) Après le dégrossissage on doit régler l'épaisseur du microtome (LEICA RM 2125RTS) entre $0,5$ et $0,1\ \mu\text{m}$ puis plaçant la cassette dans l'endroit et l'orientation convenable avec le rasoir.
- 2) Le mouvement remis en marche, à chaque passage de la pièce, il se fait des coupes ($0,1- 0,5\ \mu\text{m}$ d'épaisseur) qui se collent automatiquement entre autres. On obtient ainsi un ruban de coupe.
- 3) Le ruban fractionné est posé à la surface d'une lame contenant des gouttes d'eau tiède chauffée sur une plaque chauffante ou $T = 60^\circ\text{C}$. Laisser la coupe à la surface de l'eau juste le temps nécessaire pour l'aplanir.

Avant de placer les lames à l'étuve, égoutter les brièvement verticalement pour retirer l'excédent d'eau, puis sécher les lames à plat sur la plaque chauffante (SLEE MPS/P1), et finalement les lames peuvent être rangées dans des portoirs pour lames en positions droite, puis séchées à l'étuve.

- 4) Généralement, les lames ont été toutes marquées sur leur bord par un stylo à diamant.

5.7.6. Coloration

Les colorations sont réalisées à l'aide de colorants donc ne fonctionnant que sur des tissus hydratés. Les lames doivent donc être déparaffinées avant leur réhydratation dans des bains décroissant de l'alcool.

+ Déparaffinage des coupes

Mettre le portoir dans une étuve à [80 – 100 C°] pendant 20min.

+ Réhydratation des coupes

Mettre le portoir sorti de l'étuve directement dans un cristalliseur de Xylène entre 10 et 60 secondes.

➤ Réaliser un rinçage dans 2 bains : d'éthanol et l'eau de robinet pour éliminer la trace de paraffine.

+ Coloration au Mayer

Plonger le portoir dans un bain contenant l'hématoxyline de Mayer 8min puis rincez sous l'eau de robinet.

+ Coloration à l'éosine : faire plonger le portoir des lames dans le cristalliseur de l'éosine 8 minutes.

➤ **Déshydratation :** réaliser un 2^{ème} rinçage avec de l'éthanol, xylène-acétone, xylène comme suit : 4 cristalliseur d'éthanol, 2 xylène-acétone (50% 50%) et 2 xylène.

5.7.7. Montage

Déposer une goutte d'une solution (Baume d'inclusion) permettant l'adhésion (EUKITT) sur la lame, et recouvrir d'une lamelle couvre-objet propre et sèche en l'inclinant progressivement de façon que la solution s'étende peu à peu et recouvre la coupe sans emprisonner les bulles d'aires.

La solution ne doit pas déborder, la lamelle est adhérente et la préparation prête pour l'observation microscopique.

5.7.8. Observation au microscope

Les coupes sont observées au microscope optique équipé d'un appareil Photographique à différents grossissement.

6. L'étude statistique

Les calculs ont été effectués à l'aide du logiciel MINITAB d'analyse et de traitement statistique des données (Version13, 31). Les résultats sont représentés sous la forme : moyenne \pm écart type moyenne, Les données ont été analysées par l'analyse de la variance à un critère de classification(ANOVA) et a l'aide du test de Turkey, nous avons comparé les moyennes. Les différences sont considérées comme :

- ❖ Significatives lorsque ($p < 0.05$).
- ❖ Hautement significative lorsque ($p < 0.01$).
- ❖ Très hautement significative lorsque ($p < 0.001$).
- ❖ Avec p : Seuil de signification

RESULTATS ET DISCUSSION

1. Etude phytochimique

1.1. Rendement d'extraction

L'opération de l'extraction réalisée à l'aide de méthanol (80%) et à partir de 250g du la poudre, nous a permis d'obtenir pour chaque plante un extrait brut sec. Chaque extrait est caractérisé par sa couleur et son rendement par rapport à la poudre sèche de notre plante. Ces éléments sont présentés dans le (Tableau 2).

Pour calculer le rendement on va appliquer l'équation suivante :

$$R\% = m (\text{de résidu d'extrait}) / m (\text{initiale du végétal}) \times 100$$

Tableau 2 : Couleurs, poids et rendement des extraits des deux plantes.

Plante	Couleur	Poids d'extrais sec	Rendement (g, %)
<i>Drimia anthericoides</i>	Marron	43 g	17,2%
<i>calendula suffruticosa</i>	Vert foncé	26,08 g	10,43%

Les rendements en extraits des deux plantes sont différents, le plus élevé étant celui de l'extrait brut de *Calendula suffruticosa* avec un pourcentage de 10,43%.

Cependant, le rendement d'extraction le plus faible a été enregistré pour l'extrait méthanolique de *Drimia anthericoides* avec un pourcentage de 17,2%.

1.2. Tests phytochimiques :

Les résultats des études phytochimiques effectuées sur les deux plantes : *Drimia anthericoides* et *Calendula suffruticosa* sont reportés dans le Tableau 3. Les résultats révèlent la présence des flavonoïdes, des composés réducteurs et des tanins (réaction FeCl₃) avec l'absence des alcaloïdes les saponosides dans les deux extraits.

Nous étant que les mucilages les terpénoïdes et les stérols et triterpène sont présents uniquement chez *Drimia anthericoides* par contre les coumarines sont présent uniquement chez *Calendula suffruticosa*.

Tableau 3: Résultats de screening phytochimique.

Composé	<i>Drimia anthericoides</i>	<i>Calendula suffruticosa</i>
Tanin	Positive (+)	Positive (+)
Saponoside	Négative (-)	Négative (-)
Composé réducteur	Positive (+)	positive (+)
Mucilage	Positive (+)	Négative (-)
Terpénoïde	Positive (+)	Négative (-)
Coumarine	Négative (-)	Positive (+)
Stérols et triterpène	Positive (+)	Négative (-)
Flavonoïde	Positive (+)	Positive (+)
Alcaloïdes	Négative (-)	Négative (-)

(+) présence, (-) Absence

1.3. Dosage des polyphénols et des flavonoïdes

La quantification des composés phénoliques a été faite en fonction d'une courbe d'étalonnage linéaire ($y=ax+b$), réalisée par une solution étalant (l'acide gallique) à différentes concentrations (Annexe). La teneur en polyphénols totaux (Figure 10) est exprimée en milligramme équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG/g).

Nos résultats montrent que *Calendula suffruticosa* et *Drimia anthericoides* contiennent respectivement (196.14 mg EAG/g) et (124.05 mg EAG/g) (Figure 10).

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode d' $AlCl_3$ en fonction d'une courbe d'étalonnage linéaire ($y=ax+b$) en utilisant comme standard la quercétine à différentes concentrations (Annexe).

La teneur en flavonoïde (Figure 10) est exprimée en milligramme équivalent quercétine par gramme d'extrait (mg EQ/g).

Les résultats montrent la richesse des deux plants en flavonoïdes avec une teneur de (62.54 mg EQ/g) pour *Calendula suffruticosa* et (46.35 mg EQ/g) pour *Drimia anthericoides*.

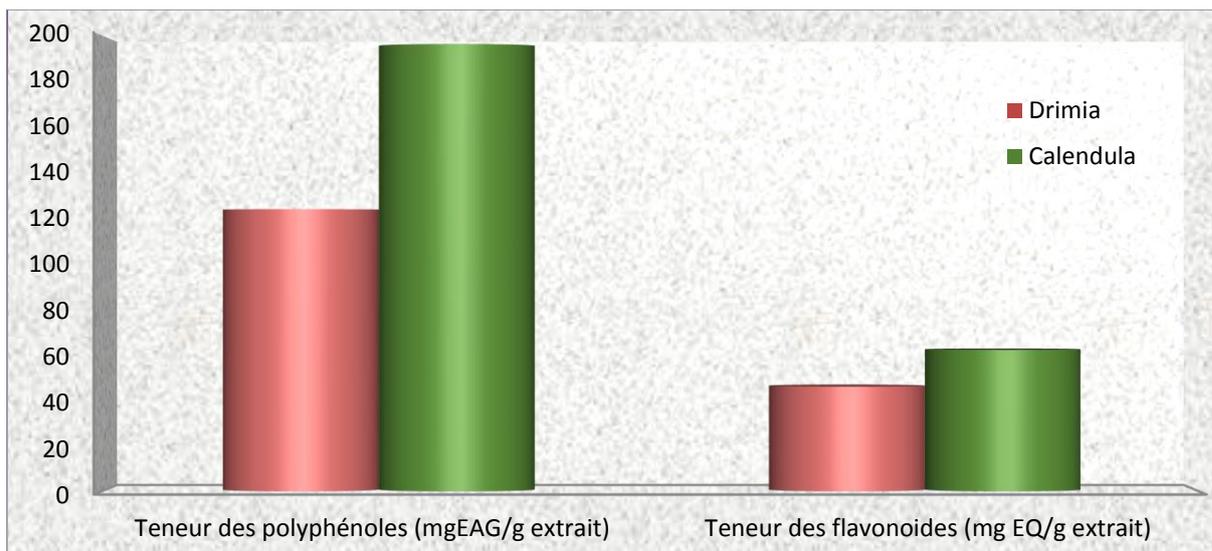


Figure 10. Teneur des polyphénols et des flavonoïdes dans les deux extraits

2. L'évaluation de l'activité anti-oxydante (DPPH)

L'activité antioxydante des deux plantes *Calendula suffruticosa* et *Drimia anthericoides* : vis-à-vis du radical DPPH à été évaluée spectrophotométriquement en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage de la couleur violette à la couleur jaune mesurable à une longueur d'onde entre [515 et 520 nm]. Dans notre cas le pouvoir antiradicalaire le plus élevé est observé pour *Calendula suffruticosa* (82,05%) contre (69,44%) pour *Drimia anthericoides*, mais il reste un pouvoir inférieur que celui qu'exerce l'acide ascorbique (95,39%)(Figure 11) .

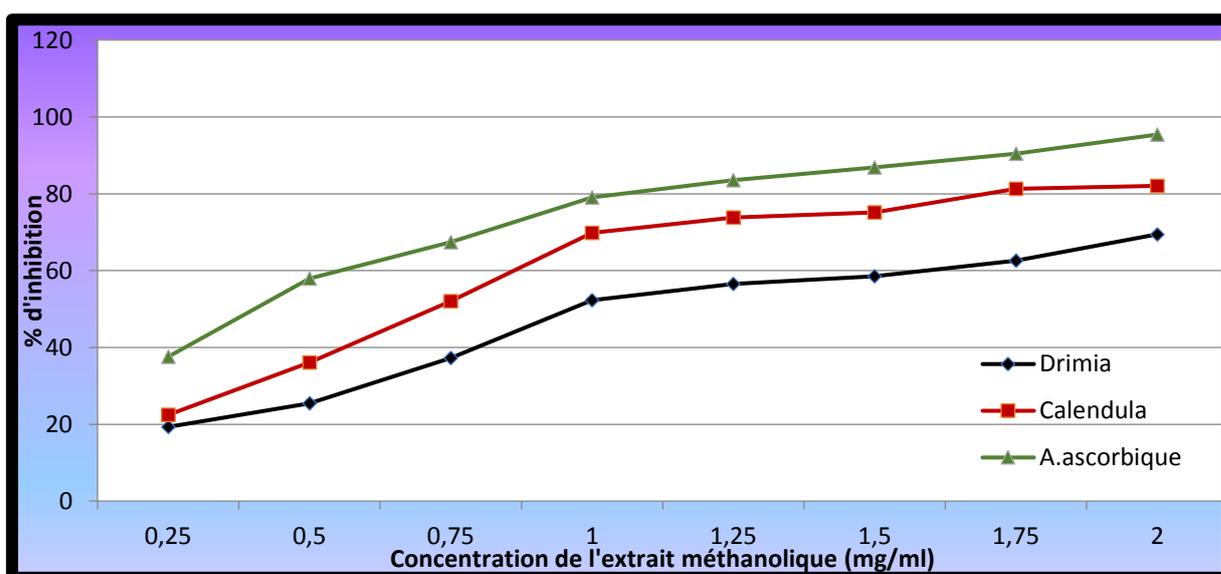


Figure 11. Effet antiradicalaire de l'EMCS et l'EMDA sur le radical DPPH°.

La valeur d'IC50 (concentration inhibitrice de 50%) est déterminées graphiquement a partir de la courbe (%I=fC) dont une valeur faible d'IC50 indique une activité anti-radicalaire puissante.

Les résultats d'IC50 pour les deux extraits ainsi que pour l'acide ascorbique son mentionnée dans le tableau 5.

Tableau 4: Concentration inhibitrice de 50% pour les deux extraits et l'acide ascorbique.

	<i>Calendula suffruticosa</i>	<i>Drimia anthericoides</i>	Acide Ascorbique
IC50 (mg/ml)	0.65 mg/ml	0.80 mg/ml	0.12 mg/ml

3. Etude sur les rats diabétiques

3.1. Etude de la croissance corporelle des rats pendant le traitement

L'injection d'Alloxane par voie intra-péritonéal à dose de 150 mg/kg chez les rats entraîne une diminution significative du poids corporels de ces rats par rapport au rat normaux.

Tout fois, chez les rats diabétiques traités, en constat qui il y a une augmentation de poids corporel par rapport au rats diabétiques non traités, cette augmentation est significative pour les diabétiques traités par *Calendula suffruticosa* et non significative pour ceux traités par *Drimia anthericoides*.

a* : P ≤ 0.05; a^{NS} : P ≥ 0. b* : b^{NS} : P ≥ 0.05 .

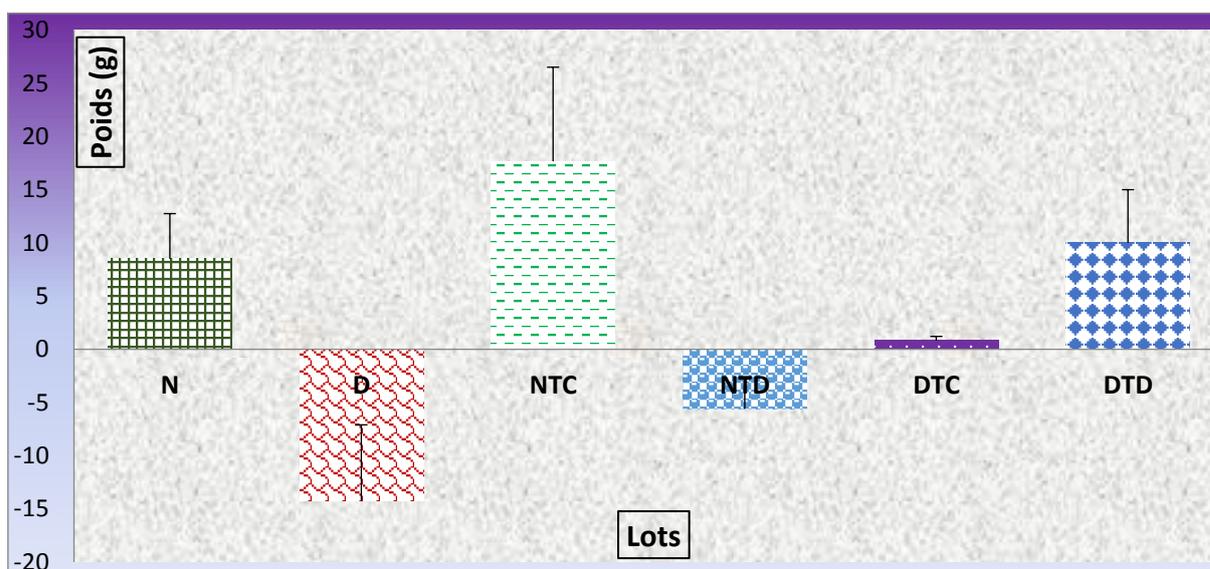


Figure 12. Gain ou perte du poids des rats à la fin du traitement.

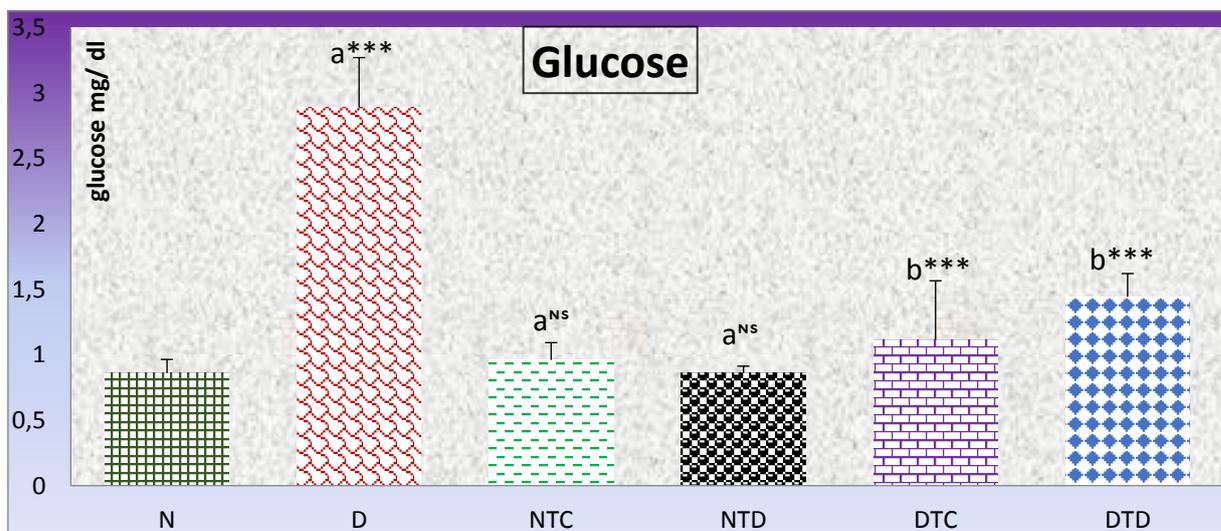
3.2. Les paramètres biochimiques

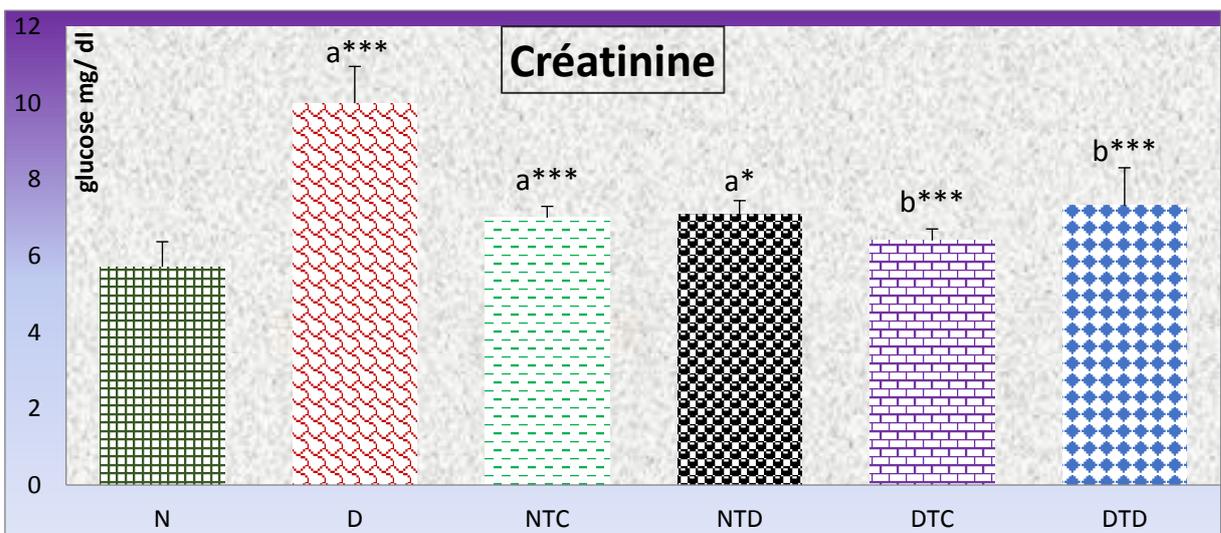
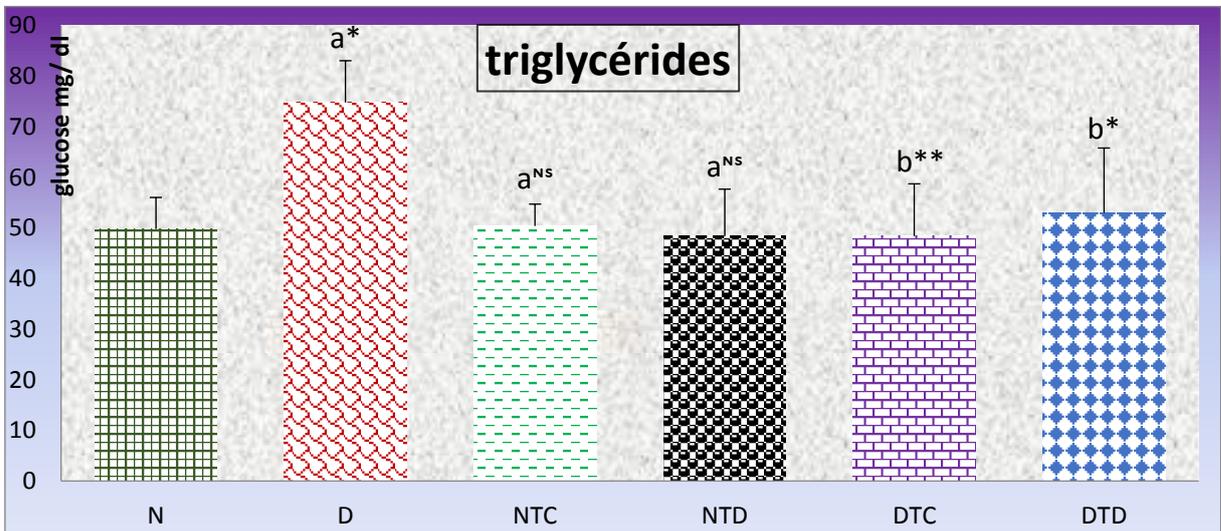
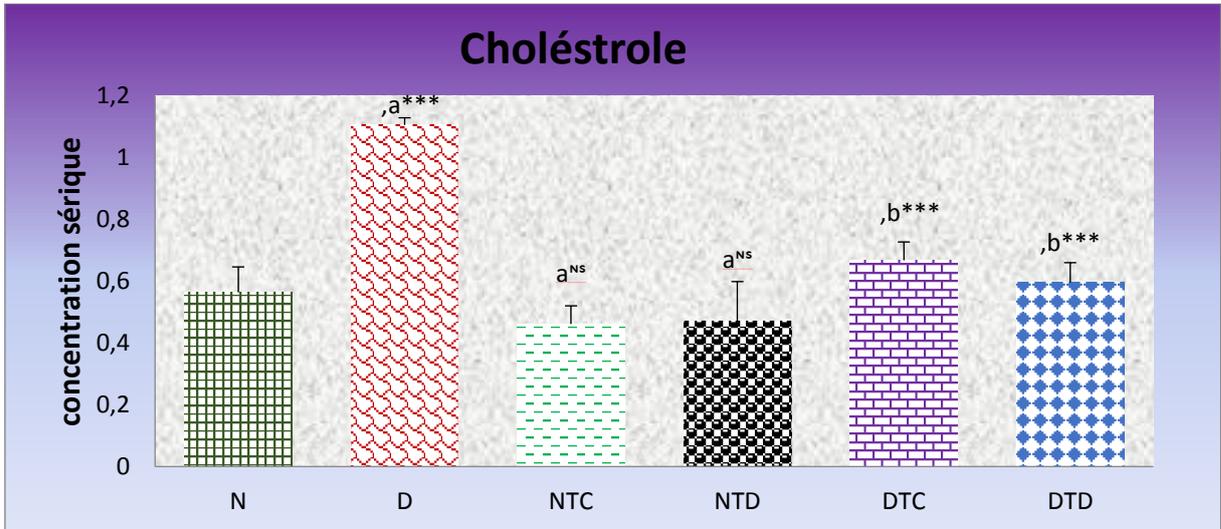
Les résultats de l'effet des extraits sur les concentrations sériques des paramètres biochimiques (glucose, cholestérol, triglycérides, créatinine, urée) sont représenté dans la tableau 7 et figure 13.

Les résultats sont exprimés en: (M±SEM), a* : P≤ 0.05; a** : P≤ 0.01, a*** : P≤ 0.001, a^{NS} : P≥ 0.05 la comparaison avec le lot des normaux et b* : P ≤ 0.05; b** : P≤ 0.01, b*** : P ≤ 0.001, b^{NS} : P≥ 0.05 la comparaison avec le lot des diabétiques.

D'après les résultat obtenis dans le tableau 6 et la figure 6, en constat qu'il y a une augmentation de la concentration sérique du glucose, de choléstrole, des tréglycérides, de créatinine et du l'urée ches le groupe diabétique par rapport au groupe normal, cette augmontation est très hautmo significative (P≤ 0.001) pour le glucose, le cholestérol, la créatinine et l'urée et significative pour les triglycérides (P≤ 0.05). Le traitement des rats diabétiques par les deux extrait engendre une diminution très hautement significative (P≤ 0.001) des concentrations sériques du glyucose, choléstrole, créatinine et du l'urée par rapport aux rats diabétiques non traités. Noton que la diminution des tréglycérides est hautment significative (P≤ 0.01) chez le groupe diabétique traités par *Calendula suffruticosa* et uniquement significative (P≤ 0.05) chez le groupe chez celui traité par *Drimia anthericoides*.

D'autre part, le traitement des rats normaux par les deux extrait n'a aucun effet sur les paramètres biochimiques.





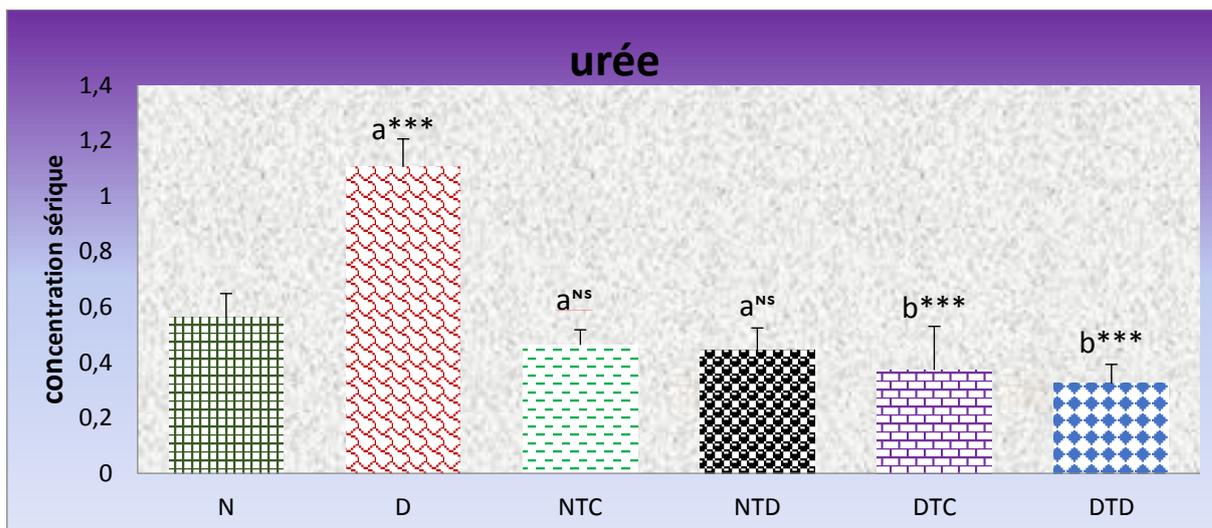


Figure 13. Variation des concentrations sériques de glucose, triglycérides, cholestérol, urée, créatinine chez les lots expérimentaux.

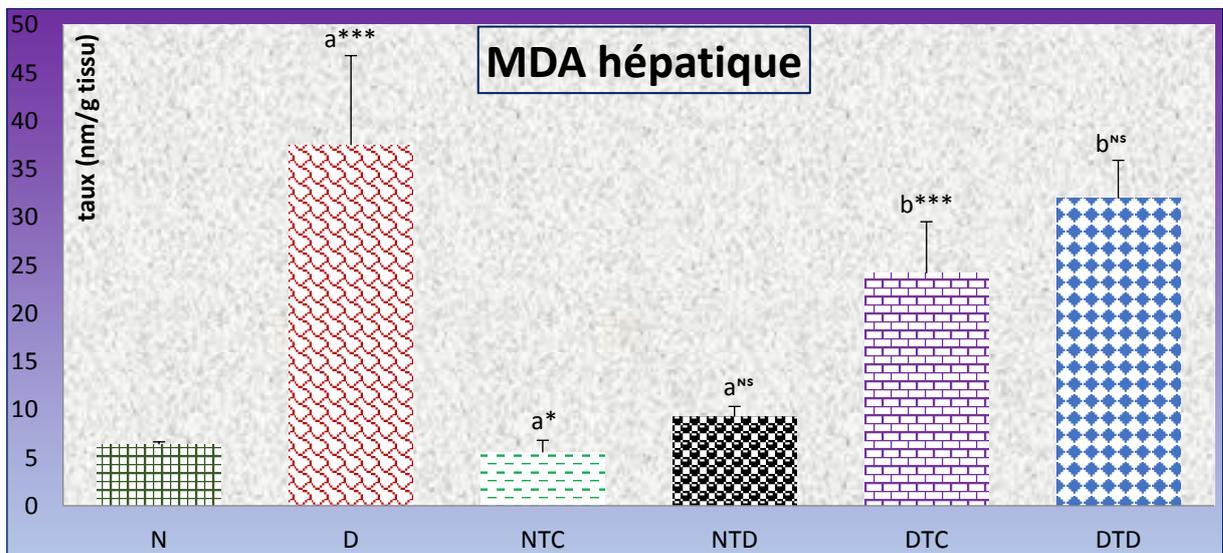
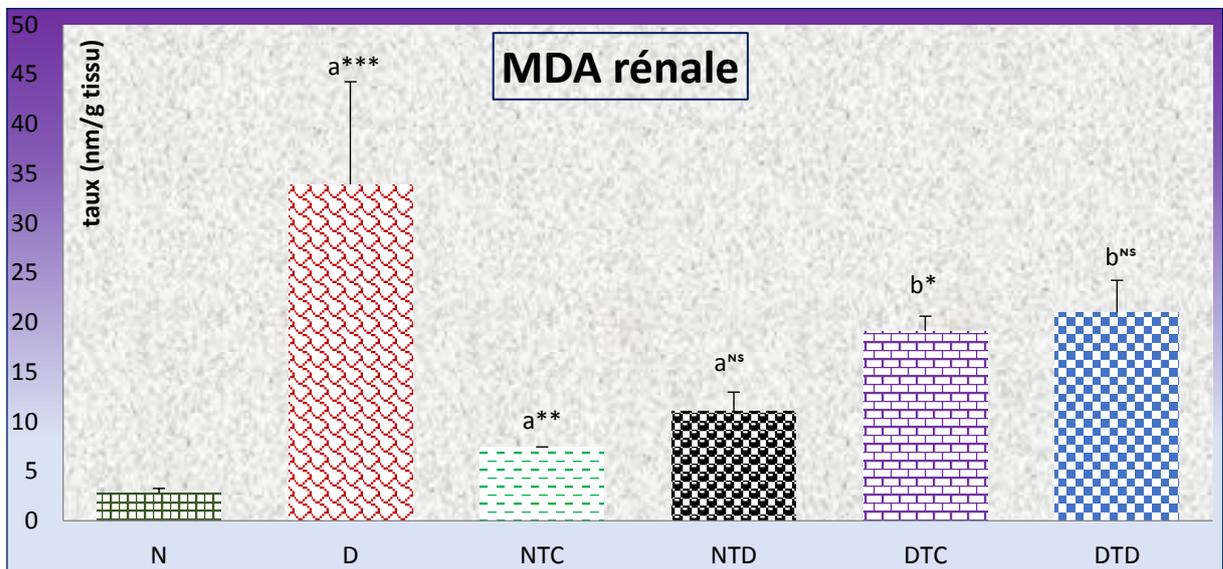
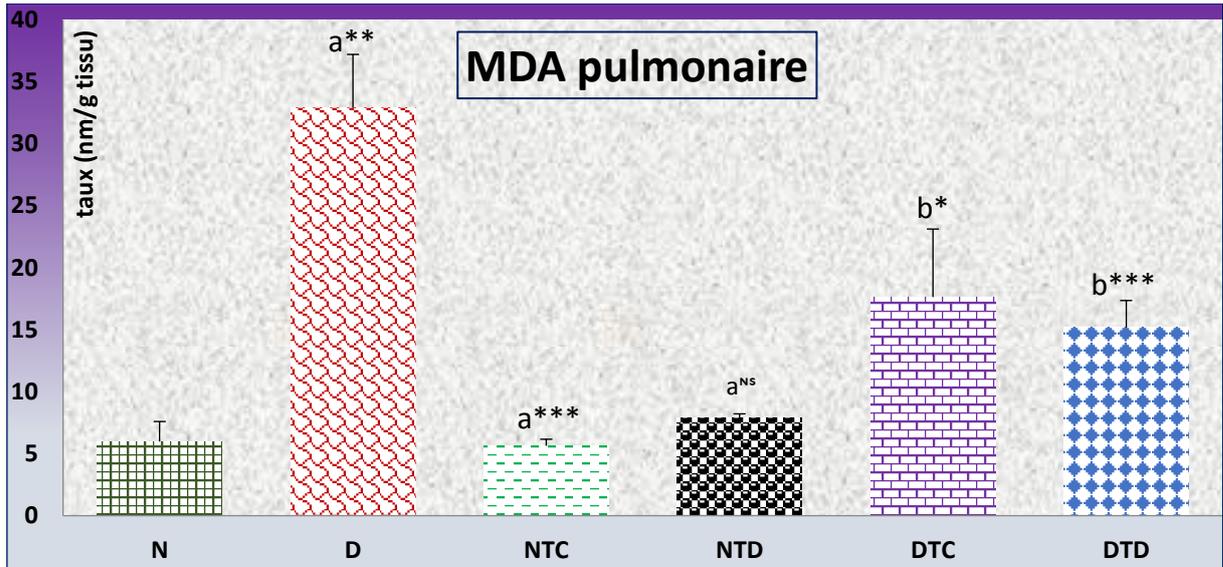
Les résultats sont exprimés en: (M±SEM), a* : P ≤ 0.05; a** : P ≤ 0.01, a*** : P ≤ 0.001, a^{NS} : P ≥ 0.05 la comparaison avec le lot des normaux et b* : P ≤ 0.05; b** : P ≤ 0.01, b*** : P ≤ 0.001, b^{NS} : P ≥ 0.05 la comparaison avec le lot des diabétiques.

3.3. Paramètres tissulaires

3.3.1. MDA

Le dosage de MDA à montrer qu'il a subit une augmentation très hautement significative (P ≤ 0,001). Au niveau de foie, rein et testicule et significative (P ≤ 0,05) au niveau de cœur et non significative au niveau de poumon chez les rats diabétiques par rapport aux rats non diabétiques.

Les deux extraits méthanoliques ont un effet très important sur le taux de MDA traduisant par une diminution généralement significative dans la plus part des organes étudiés (tableau 8) (figure 14).



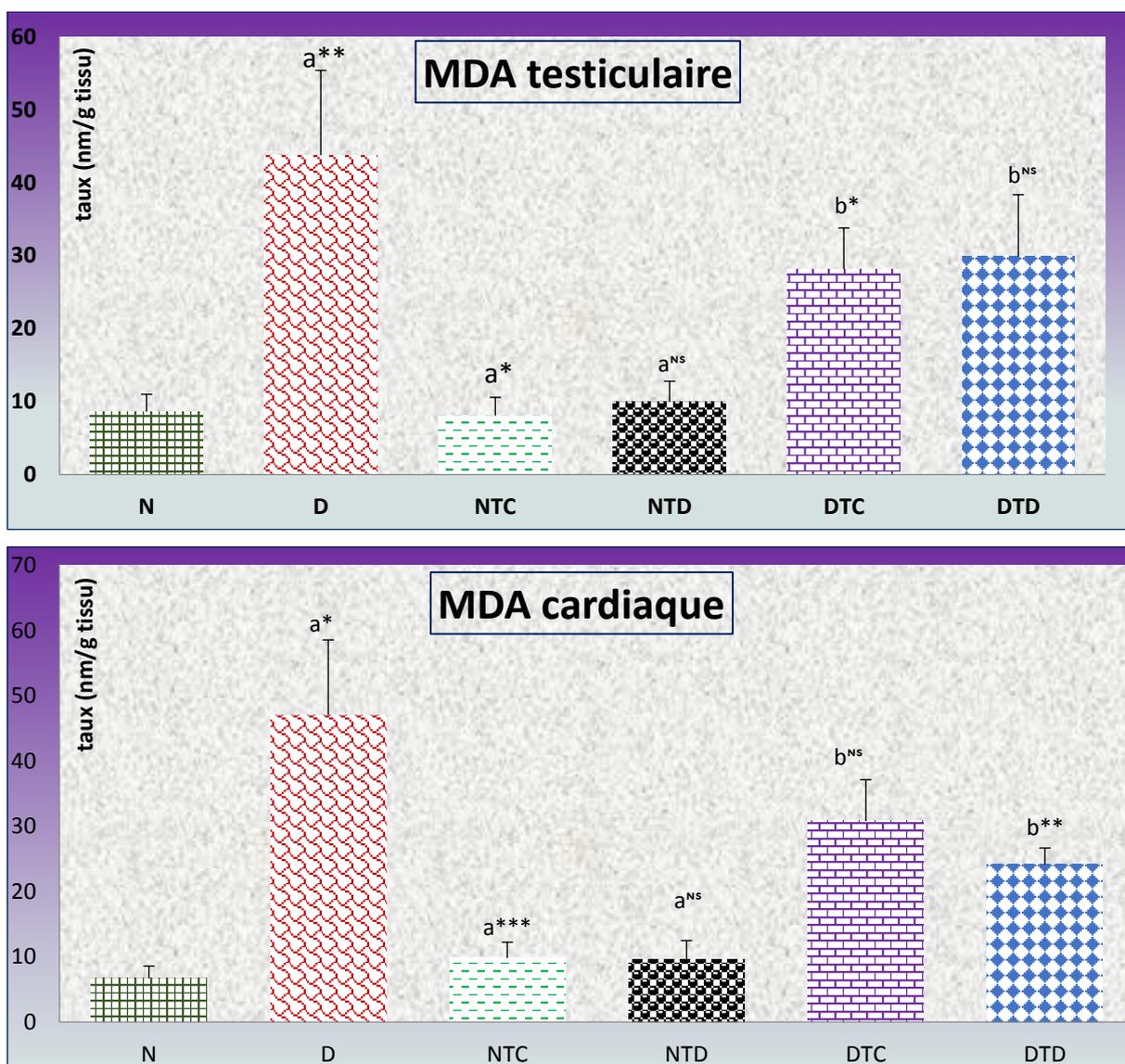


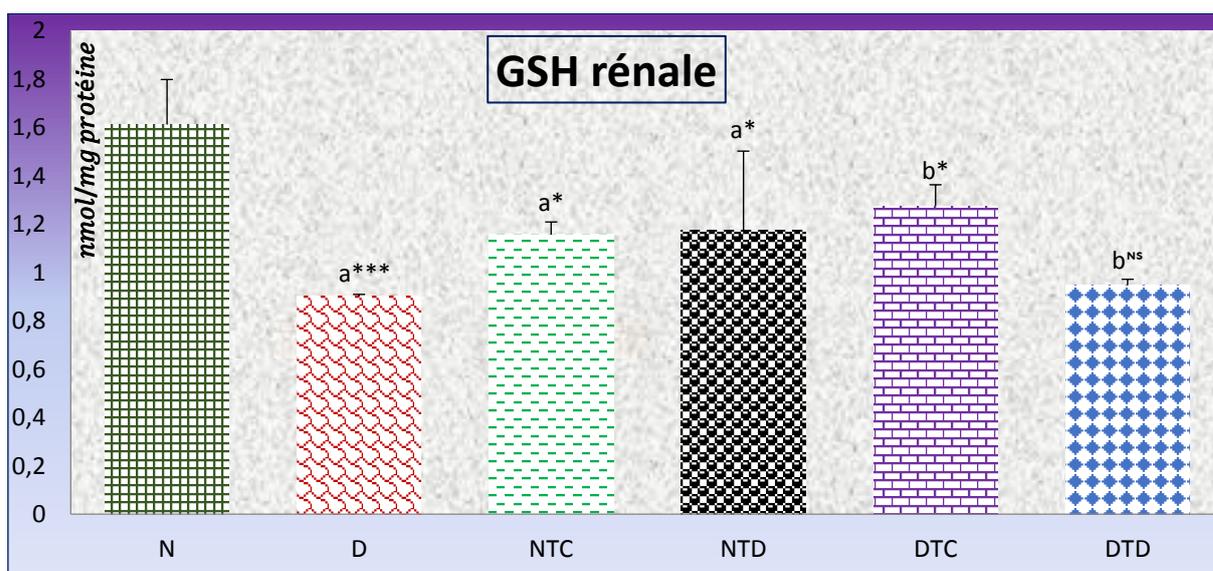
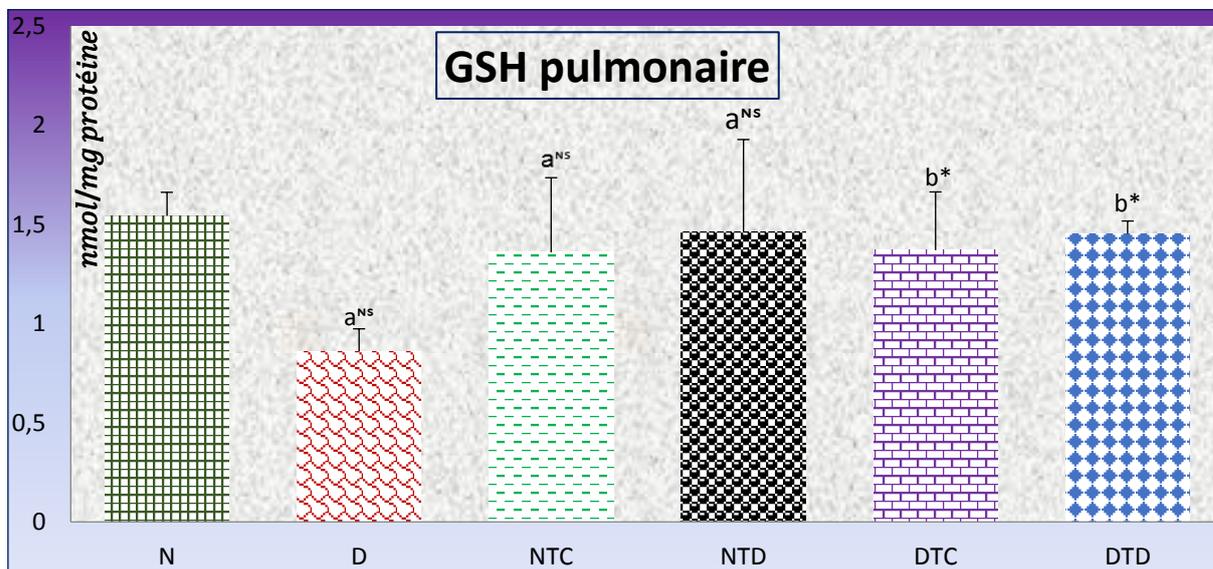
Figure 14. Taux d'MDA pulmonaire, rénale, hépatique, testiculaire et cardiaque chez les lots (N), (D), (NTC), (NTD), (DTC) et (DTD) après 28 jours de traitement.

Les résultats sont exprimés en: (M±SEM), a* : P ≤ 0.05; a** : P ≤ 0.01, a*** : P ≤ 0.001, a^{NS} : P ≥ 0.05 la comparaison avec le lot des normaux et b* : P ≤ 0.05; b** : P ≤ 0.01, b*** : P ≤ 0.001, b^{NS} : P ≥ 0.05 la comparaison avec le lot des diabétiques.

3.3.2. Glutathion GSH

La concentration tissulaire du glutathion est représentée dans le tableau 9 et la figure 15. Le résultat obtenu montre une diminution statistiquement significative dans tous les organes étudiés chez le groupe diabétique non traité par rapport au groupe témoin.

Cette diminution est rétablie d'une façon significative après le traitement des rats diabétiques par *Calendula suffruticosa* et d'une façon non significative après le traitement des rats diabétiques par *Drimia anthericoides*.



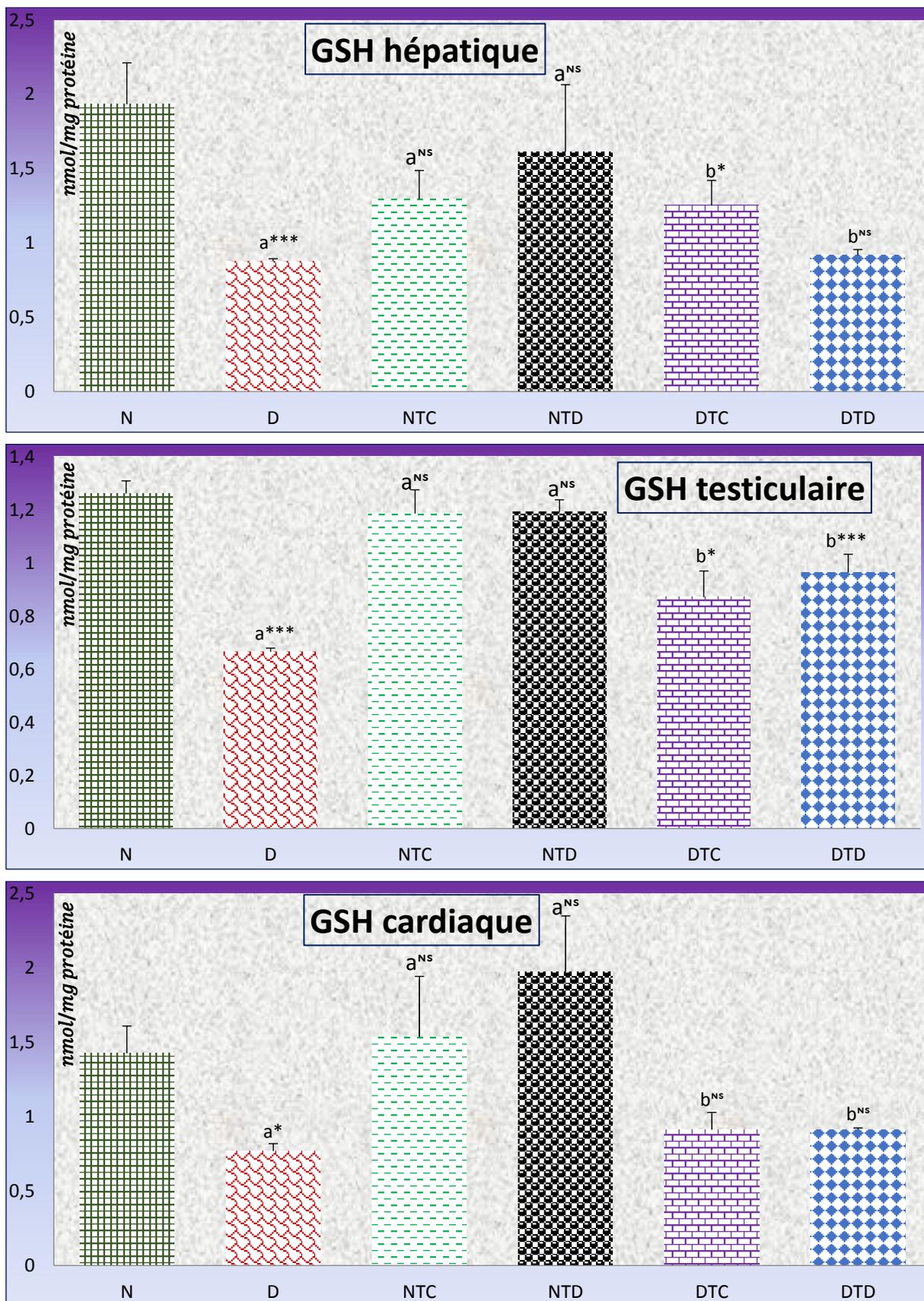
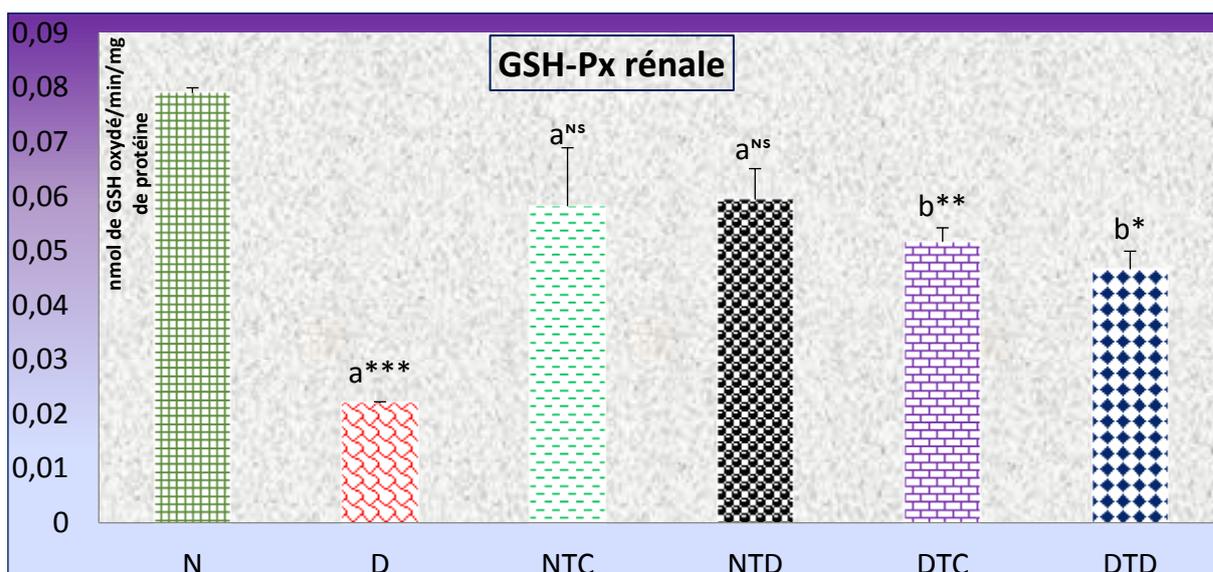
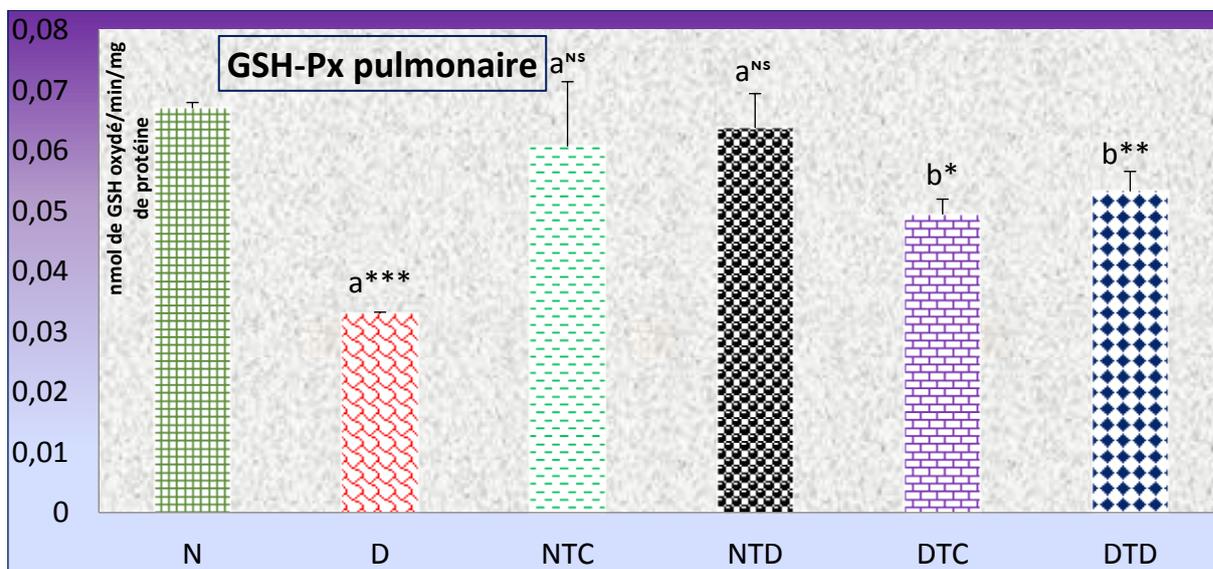


Figure 15 : Taux du GSH pulmonaire, rénale, hépatique, testiculaire et cardiaque chez les lots (N), (D), (NTC), (NTD), (DTC) et (DTD) après 28 jours de traitement.

3.3.3. Les antioxydants enzymatique (GSH-PX / SOD)

Les résultats de l'effet des extraits sur les enzymes antioxydantes : activité de glutathion peroxydase (GSH-Px) et du superoxyde dismutase (SOD) pulmonaires, rénales, hépatiques, testiculaires et cardiaques chez les groupes expérimentaux son représentés dans les **Figures 16** et **17** et les **tableaux 10** et **11**.

Les résultats sont exprimés en: (M ±SEM), a* : P ≤ 0.05; a** :P ≤ 0.01, a*** :P ≤ 0.001, a^{ns} : P ≥ 0.05 comparaison avec le lot des normaux et b* : P ≤ 0.05; b** :P ≤ 0.01, b*** :P ≤ 0.001, b^{ns} : P ≥ 0.05 comparaison avec le lot des diabétiques.



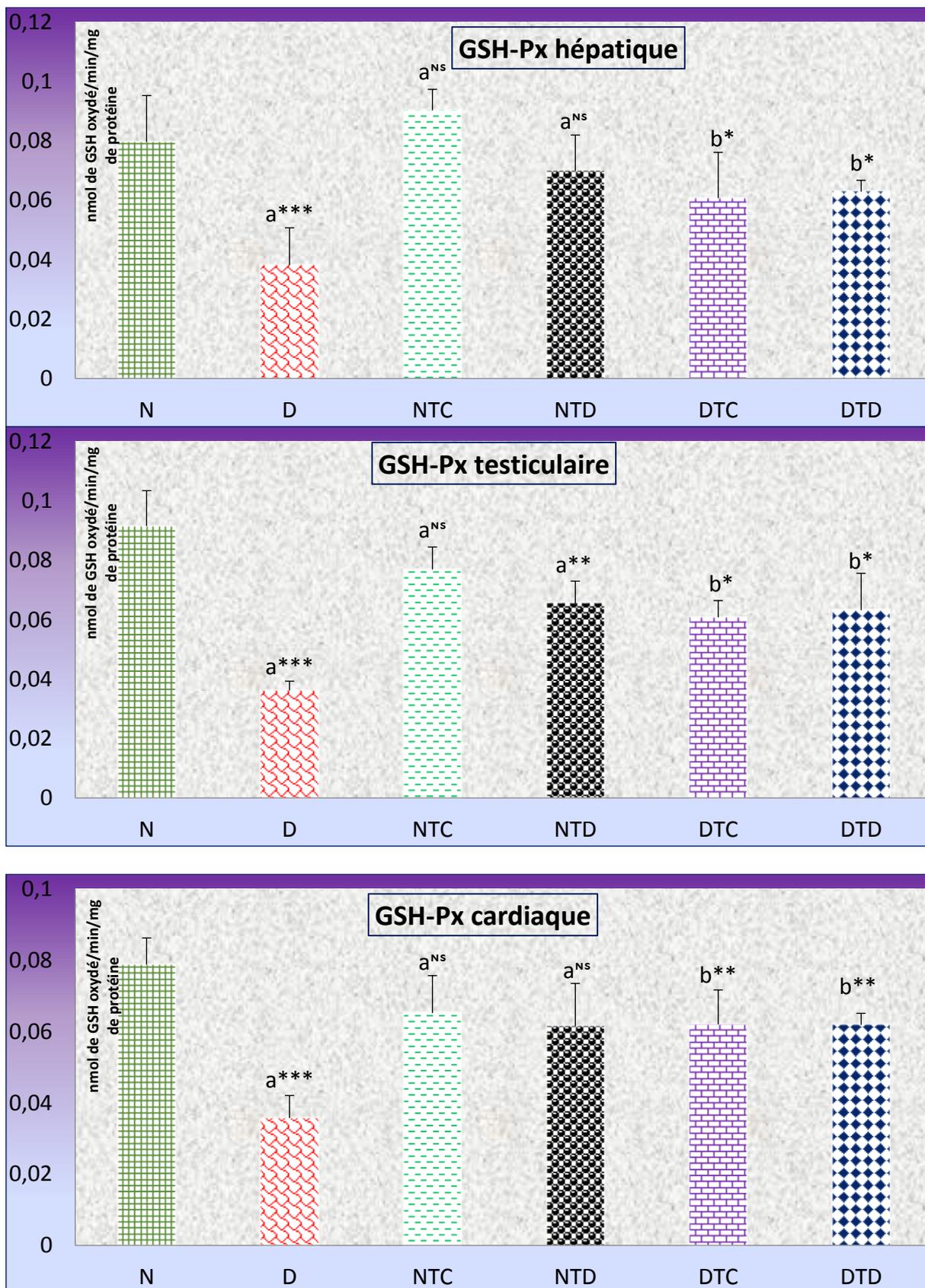
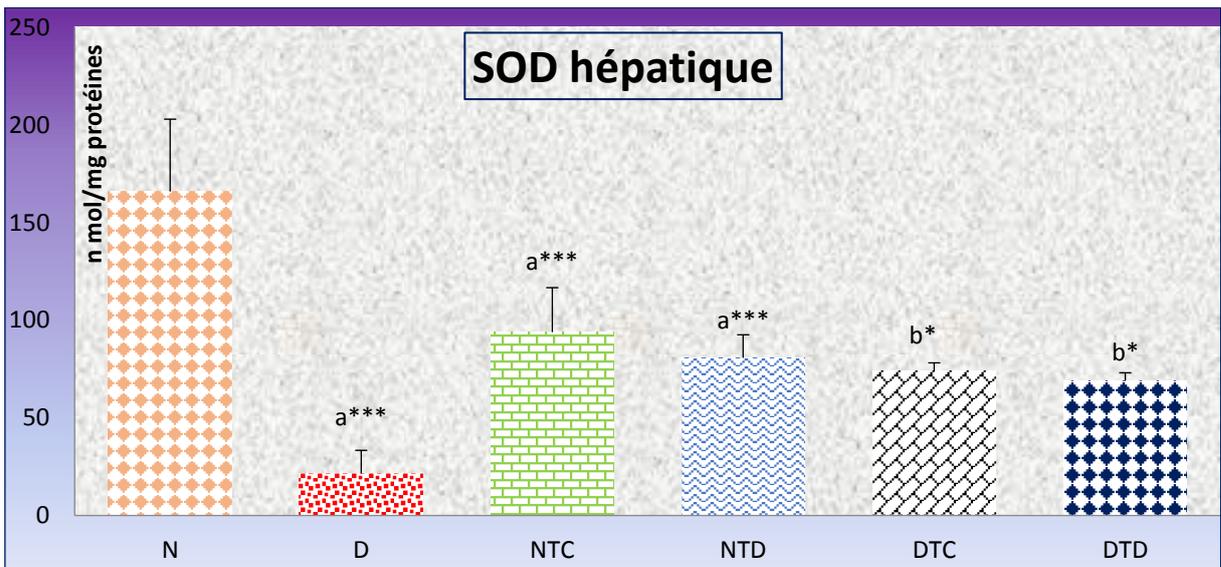
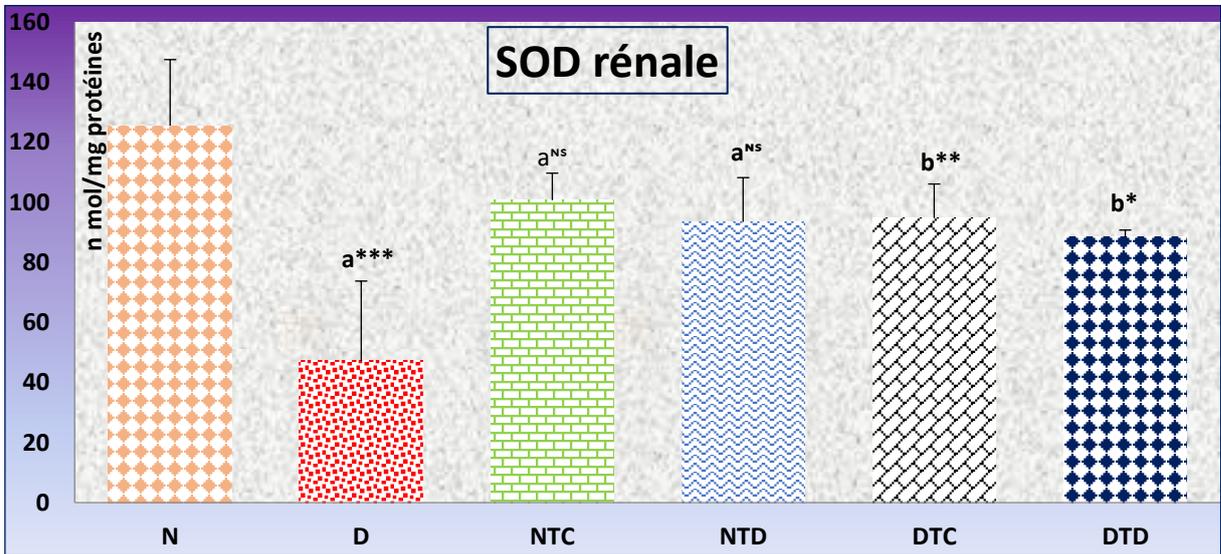
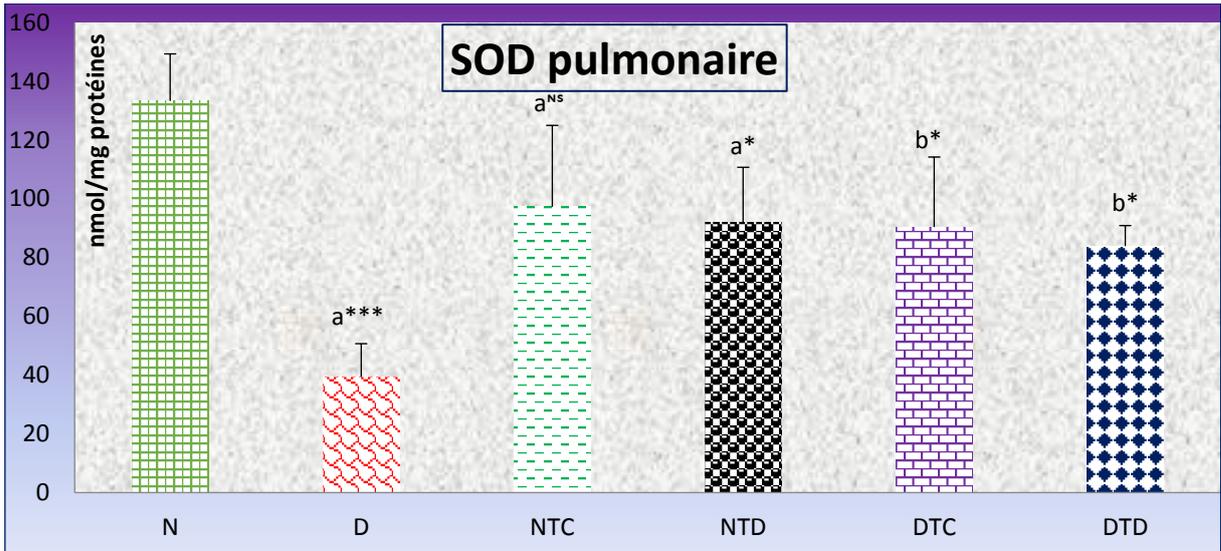


Figure 16. l'activité du glutathion peroxydase (GSH-Px) pulmonaire, rénale, hépatique, testiculaire et cardiaque chez les lots (N), (D), (NTC), (NTD), (DTC) et (DTD) après 28 jours de traitement.



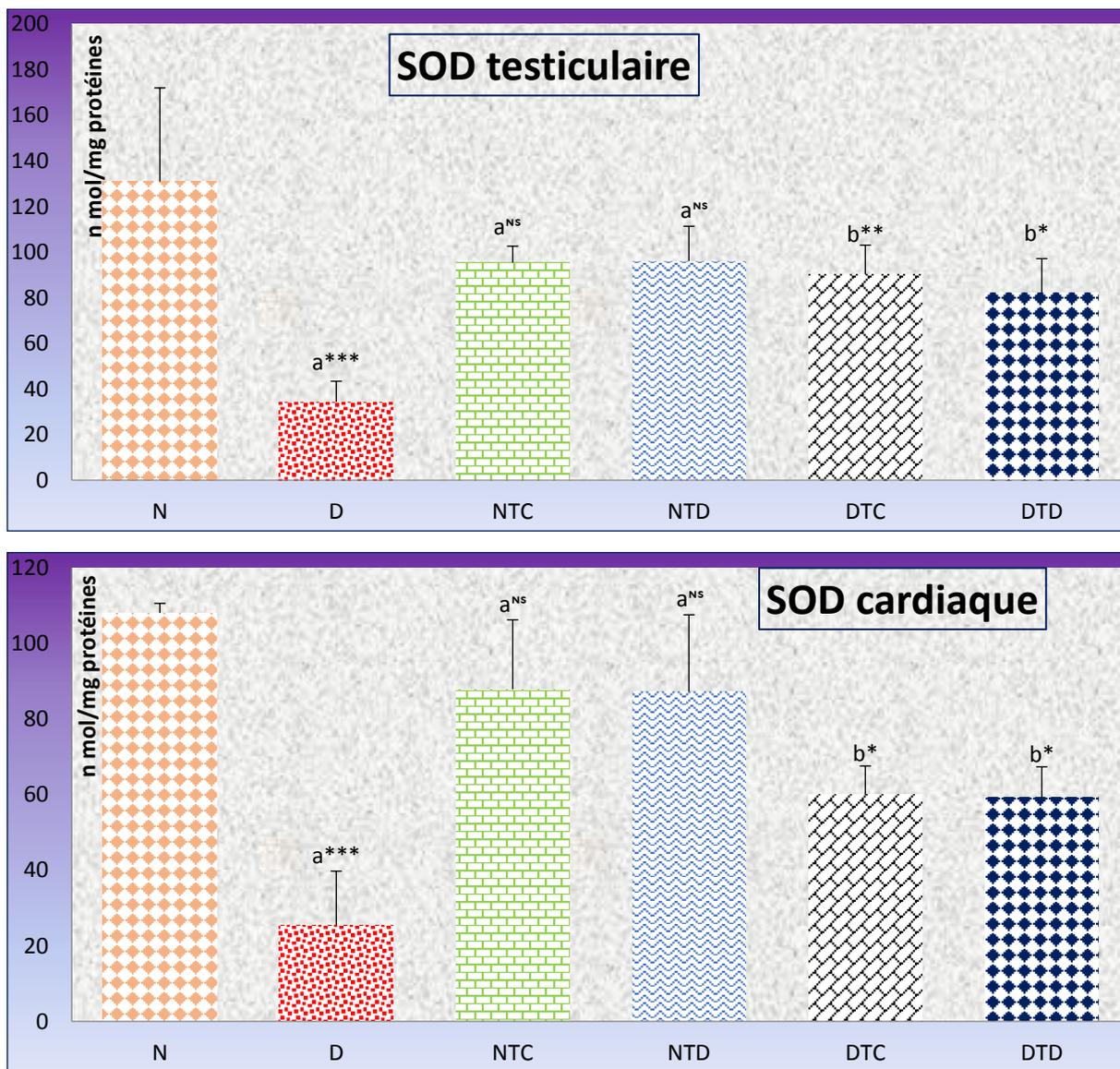


Figure 17. Superoxyde dismutase (SOD) pulmonaire, rénale, hépatique, testiculaire et cardiaque chez les lots (N), (D), (NTC), (NTD), (DTC) et (DTD) après 28 jours de traitement.

a* : $P \leq 0.05$; a** : $P \leq 0.01$, a*** : $P \leq 0.001$, a^{ns} : $P \geq 0.05$ comparaison avec le lot des normaux et b* : $P \leq 0.05$; b** : $P \leq 0.01$, b*** : $P \leq 0.001$, b^{ns} : $P \geq 0.05$ comparaison avec le lot des diabétiques.

Nos résultats révèlent une diminution très hautement significative de l'activité enzymatique du GSH-Px et SOD pulmonaires, rénales, hépatiques, testiculaires et cardiaques chez les rats diabétiques (D) en comparaison avec les normaux (N).

Cependant, on note une augmentation significative de l'activité enzymatique du GSH-Px pulmonaire, hépatique et testiculaire et hautement significative pour le GSH-Px cardiaque et rénale chez les rats diabétiques traités par l'extrait méthanolique (DTC) par rapport à ce non traités (D).

Notons aussi que le traitement des rats diabétique par l'extrait méthanolique (DTD) à augmenter l'activité enzymatique de GSH-Px d'une façon significative dans le foie, rien et testicule, et hautement significative dans le cœur et le poumon.

De plus, on remarque une augmentation significative de l'activité enzymatique du SOD pulmonaire, hépatique et cardiaque et hautement significative ($P \leq 0,01$). Pour le SOD testiculaire et rénale chez les rats diabétiques traités par l'extrait méthanolique (DTC) comparant aux rats diabétiques (D).

D'autre part, l'extrait méthanolique (DTD) a induit une augmentation significative dans tous les organes.

3.3.4. Analyse des coupes histologiques

Au niveau de pancréas :

L'observation microscopique du pancréas du rat témoin (N) montre la présence des ilots de Langerhans avec architecture normal tandis que l'étude histologique de pancréas de rat diabétique contrôle (D) montre une diminution du nombre des ilots de Langerhans par chant microscopique dont ceux présents sont en voie deux dégénérescences.

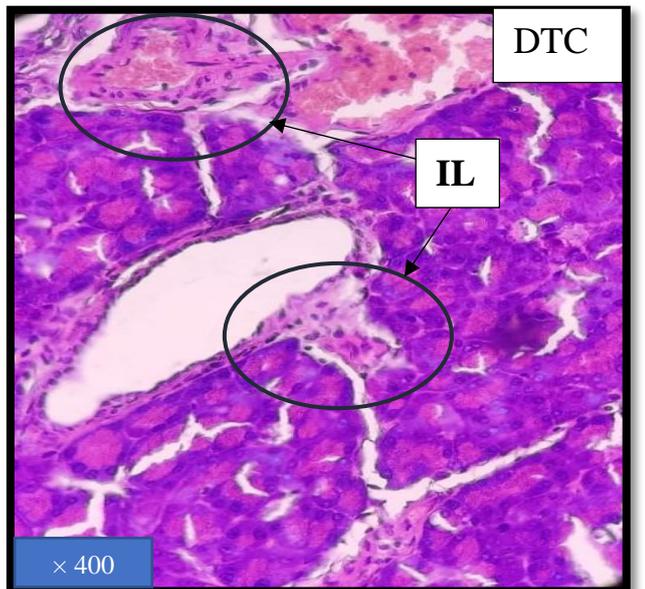
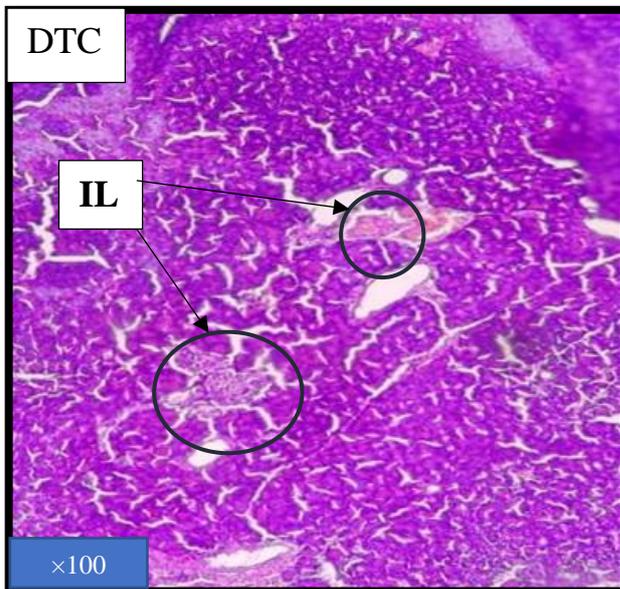
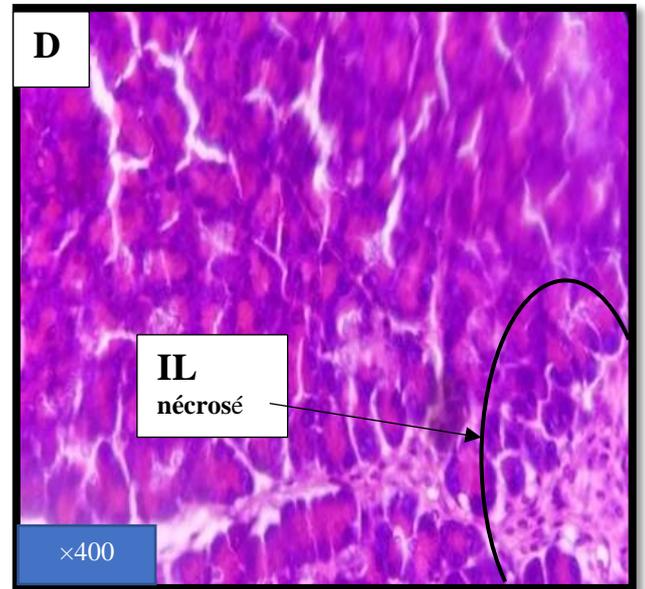
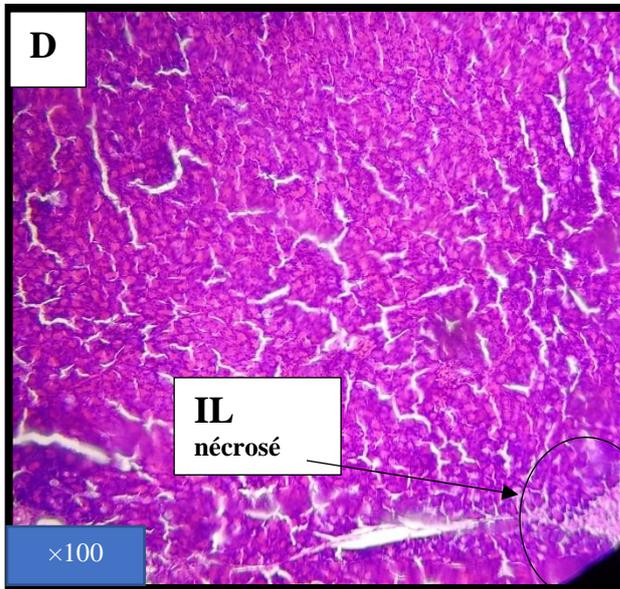
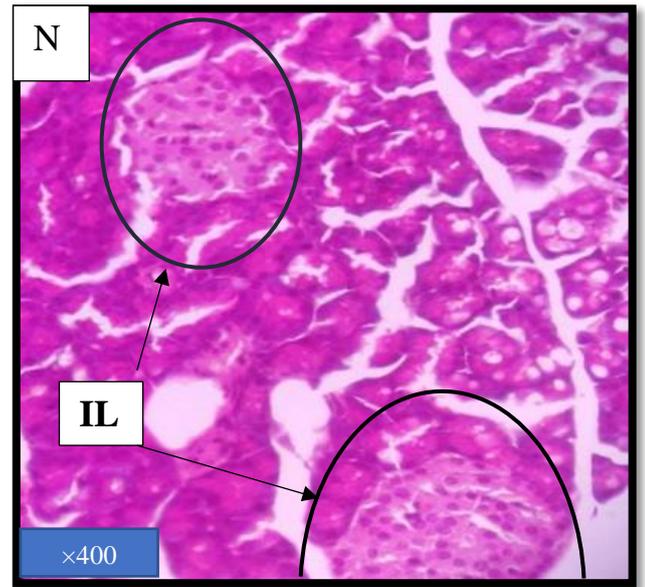
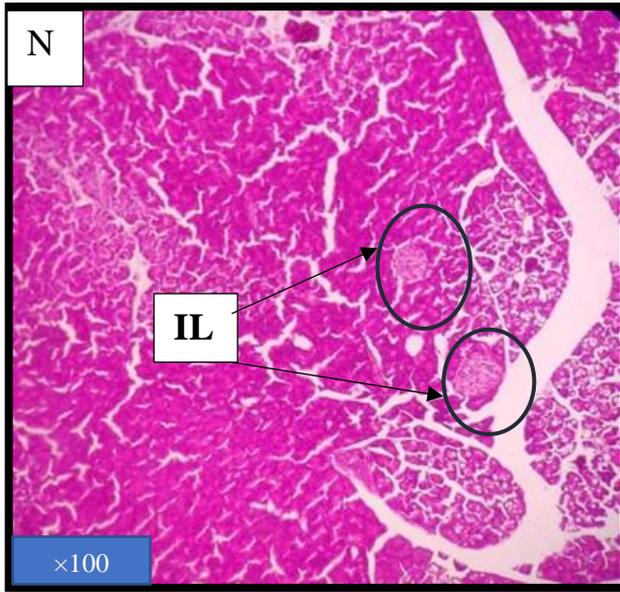
L'histologie pancréatique du rat diabétique traité par *Calendula suffruticosa* (DTC) et *Drimia anthericoides* (DTD) montre une absence de différence significative par rapport aux rats normaux.

Au niveau de foie :

La coupe de tissu hépatique d'un rat normal montre un foie normal avec un nombre élevé des hépatocytes et avec des veines centro-lobulaires clairement visible.

Chez le rat diabétique, en note une inflammation polynucléaire aigu et aussi péri-portale avec la disparition des Travées hépatique.

Pour le groupe diabétique traité par *Drimia anthericoides*, on observe une architecture conservée avec une inflammation modérée des espaces portes. Par contre chez le rat diabétique traité par *Calendula suffruticosa* une inflammation péri-portale, une ballonnisation des cellules et d'autres apparaissent binucléées qui peuvent être en cours de division.



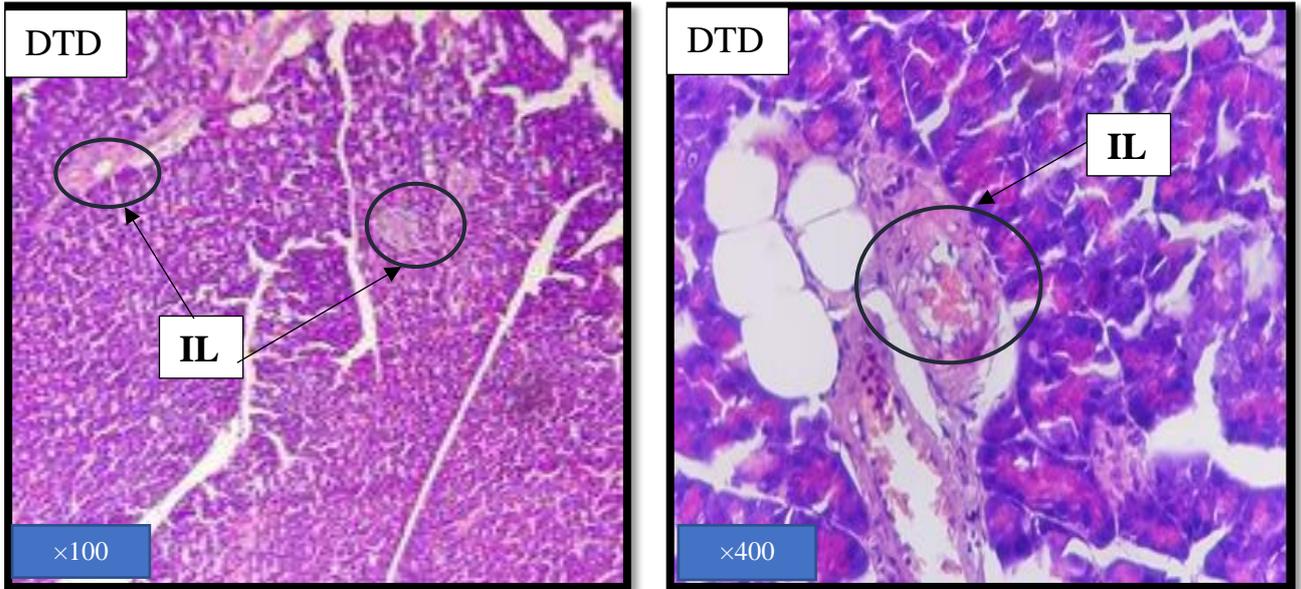
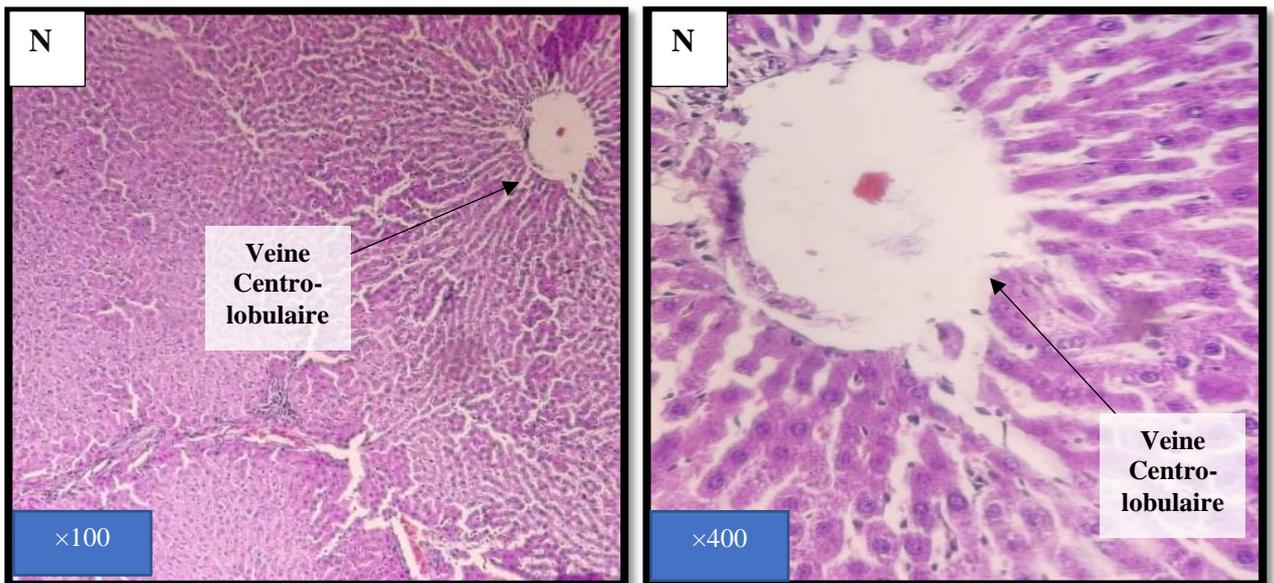


Figure 18. Coupe histologique des pancréas.



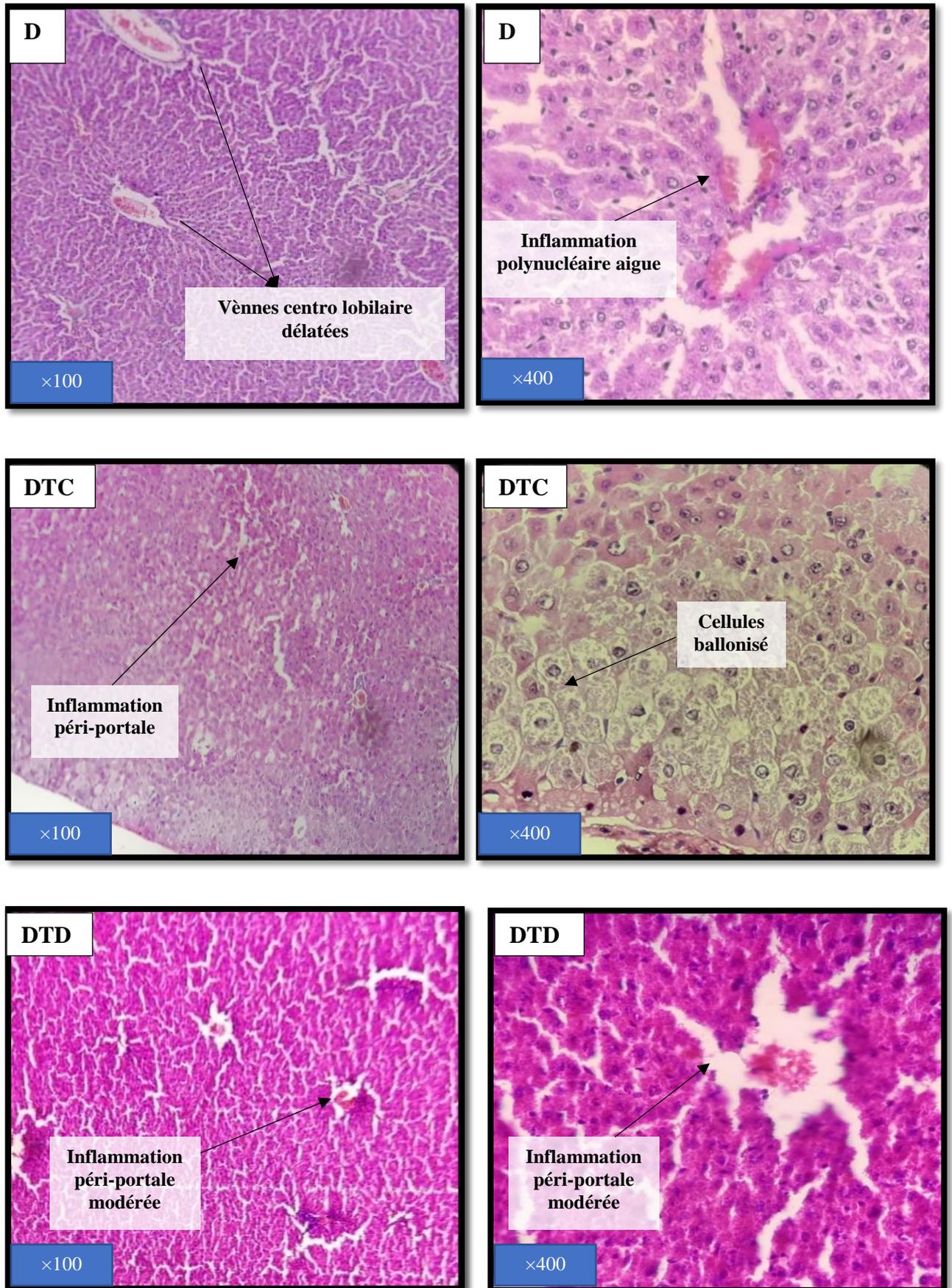


Figure 19. Coupe histologique de foie.

Discussion

Devant l'augmentation considérable du nombre des diabétiques et les échecs secondaires des médicaments antidiabétiques, de nombreux chercheurs ont évalué l'action pharmacologique des plantes traditionnelles et donc leur intérêt en médecine traditionnelle. Plus de 400 plantes traditionnelles utilisées pour le traitement du diabète sucré ont été enregistrées, mais seulement un petit nombre d'entre eux ont subis un enregistrement scientifique et une évaluation médicale afin de confirmer leurs efficacités (**Bailey et Day, 1989**).

Le stress oxydant soit un phénomène non spécifique d'altération cellulaire, il est évoqué dans le cadre des complications liées au diabète. En effet, diverses études ont mis en évidence une élévation des marqueurs du stress oxydant en mesurant notamment les marqueurs de la peroxydation lipidiques et la diminution du système de défense antioxydant enzymatique et non enzymatique chez les diabétiques de type 1, de type 2 et dans le diabète expérimental.

Le stress oxydant est augmenté dans les différents tissus à la fois dans le cas de diabète expérimentale ou pour les patients diabétiques, l'hyperglycémie induit une production prolongée des espèces réactives de l'oxygène intracellulaire et ceux-ci prolongent le gradient électrochimique des protons générés dans la chaîne mitochondriale menant à une surproduction d'anion superoxyde, qui est l'une des espèces réactives de l'oxygène qui peut endommager les cellules dans de nombreuses voies à travers le stress oxydatif, en l'absence d'une compensation appropriée de la réponse des réseaux antioxydants endogènes des cellules, le système est débordé, entraînant un déséquilibre d'oxydo-réduction, ce qui aggrave encore la situation (**Korshunov et al, 1997**). Les espèces réactives de l'oxygène générées lors de l'hyperglycémie causent principalement des dommages de l'ADN, des protéines et des lipides. Au cours de diabète l'hyperglycémie provoque la génération des radicaux libres via multiples mécanismes ; auto-oxydation de glucose, glycation non enzymatique, la voie des polyols et la réduction de la défense antioxydante (**Bonnefont-Rousselot et al., 2000; Sharma et al., 2008**).

Les médicaments antidiabétiques ont généralement des effets secondaires, une diminution de l'efficacité au fil du temps, une inefficacité contre les complications diabétiques à long terme et un faible rapport coût-efficacité (**Grover et al., 2002**). En

conséquence, la découverte et le développement de nouveaux médicaments antidiabétiques est encore plus qu'indispensable.

La médecine populaire pratiquée par l'homme à travers le monde est basée essentiellement sur l'utilisation des plantes comme sources de substances naturelles actives. Parmi ces substances, les composés phénoliques et notamment les flavonoïdes qui occupent une place importante dans le traitement de nombreuses pathologies entre autres le diabète sucré.

L'utilisation des plantes médicinales est aujourd'hui la forme de médecine la plus répandue à travers le monde. Le recours au traitement par les plantes ainsi que la recherche de nouvelles substances à activité biologiques constituent une des plus grandes préoccupations scientifiques. De ce fait, plusieurs travaux ont été réalisés pour l'évaluation des secrets des plantes dont la présente étude qui est consacrée à la recherche d'éventuels effets antioxydants et antidiabétiques de deux plantes médicinales *Calendula suffruticosa subsp. foliosa* (Batt.) et *Drimia anthericoides* (Poir.).

1. La partie phytochimique

La région d'Annaba (Nord-Est de l'Algérie), elles sont de deux familles botaniques, douées de différentes caractéristiques. Ces plantes sont : *Drimia anthericoides* (Poir.) et *Calendula suffruticosa subsp. foliosa* (Batt.).

Le rendement en extrait méthanolique est variable selon les espèces des deux Plantes. Cependant, le rendement le plus important est enregistré dans *Drimia anthericoides* (17.2%) contre (10.43%) de *Calendula suffruticosa*.

Ce résultat est inférieur à celui signalé dans d'autres études sur une espèce de la même famille : *C. officinalis*, où le rendement de l'extrait éthanolique est de 18.24 % dans l'étude de **Rigane et al., (2013)** et 19.56 % dans l'étude de **Roopashree et al., (2008)**.

Selon les études menées par (**Belhaddad, 2018 ; Kord et al., 2021**) sur le synonyme homotypique de *Drimia anthericoides* (*Urginea maritima*), les rendements en extrait brut sont de 2.18%, 13% respectivement. Ces rendements sont nettement inférieurs à celui obtenu dans notre étude.

L'analyse phytochimique a montré que les deux extraits méthanolique lyophilisés

(EMDA et EMCS) sont riches en composés phénoliques tels que les tanins, les flavonoïdes, les composés réducteurs, terpénoïdes, stérols et triterpène. Ces naturels composés sont connus pour leurs propriétés antioxydantes.

Nos résultats concordent avec ceux trouvés dans les travaux de recherche de **Belhaddad, (2018)** et de **Kord *et al.*, (2021)** qui ont montré que la plante *Drimia anthericoides* est riche en composés phénoliques avec une absence des alcaloïdes, coumarine et saponoside .

Plusieurs investigations phytochimiques tels que celles de **Kirmizibekmeza *et al.*, (2006)**, **Chakraborty, (2010)**, **Kumar *et al.*, (2010)** , **Khalid et Teixeira, (2012)** et **Shaheen *et al.*, 2012)** ont révélé la richesse des espèces du genre *Calendula* en composés biologiquement actifs.

La famille des composés phénoliques inclue un grand nombre de produits de métabolisme secondaire qui diffèrent par leurs structures et leur réactivité (**Shahidi et Nacz, 1995 in Waston, 2014**). Ces composés ont un grand intérêt au cours des dernières années en raison de leurs effets bénéfiques sur la santé humaine, de leurs propriétés antioxydantes et de leurs effets crédibles sur la prévention de diverses maladies associées au stress oxydatif (**Manache *et al.*, 2004 in Waston, 2014**).

Nos résultats montrent que l'extrait méthanolique de CS a une teneur plus élevée en polyphénols totaux (196.14 mg EAG/g) et en flavonoïdes (62.54 mg EQ/g) par rapport à celle de l'extrait méthanolique de DA (124.05 mg EAG/g) et (46.35 mg EQ/g) . Plusieurs travaux ont confirmé la richesse du genre *Calendula* en polyphénols et flavonoïdes (**Ćetković *et al.*, 2003 ; Rigane *et al.*, 2013 ; Zhao, 2014**). En effet, ces différences peuvent être dues à la variabilité du métabolisme phénolique dans différentes plantes mais aussi à la différence dans les conditions climatiques (température, l'exposition solaire, la sécheresse et la saison de croissance).

Plusieurs méthodes sont utilisées expérimentalement pour la détermination in vitro de l'activité antioxydante, nommées d'après le nom de la substance utilisée comme source de radicaux libres, par exemple : FRAP (Ferric reducing antioxidant power), ORAC (oxygen radical absorbance capacity), TEAC (Trolox équivalent antioxidant capacity) ou ABTS (2,2- azinobis 3-ethyl-benzothiazoline 6 sulphonate) et DPPH₊ (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) etc. Il est à indiquer que différentes méthodes donnent des résultats assez

différents et devraient être appliquées préférentiellement pour la comparaison de produits similaires (Georgieva *et al.*, 2010).

Le dosage piégeage du radical libre DPPH est basé sur la réduction de ce dernier lorsqu'il est mélangé avec un antioxydant tel que les polyphénols, ce qui conduit à une perte de sa couleur violette qui vire au jaune pâle et à une réduction de son absorption à 520 nm (Bolois, 1958 ; Molyneux, 2004 *in* Watson, 2014). Par ailleurs, l'effet de balayage contre les radicaux DPPH a révélé une activité antioxydante dépendante de la concentration de l'EMDA et l'EMCS.

Les terpénoïdes, flavonoïdes, alcaloïdes et les tannins sont considérés comme des substances potentiellement antioxydantes. Cependant, la présence de ces substances indique que notre extrait est doté d'une activité antioxydante. Les piègeurs les plus efficaces du radical libre DPPH sont ceux possédant les valeurs IC₅₀ les plus basses (Markowicz *et al.*, 2007).

Drimia anthericoides et *Calendula suffruticosa* ont montré un bon pouvoir de neutralisation du radical DPPH traduit par une concentration inhibitrice égale à (0,80mg/ml) pour DA et (0,65mg/ml) pour CS, valeur inférieure à celle trouvée par Máriássyová, (2006).

Le mécanisme de la réaction entre l'antioxydant et le DPPH dépend de la conformation structurale de l'antioxydant (Tsimogiannis and Oreopoulou, 2006; Kouri *et al.*, 2007). Quelques composés se réagissent très vite avec le DPPH en réduisant un nombre de molécules de DPPH égal à celui des groupements hydroxyles de l'antioxydant (Bondet *et al.*, 1997). L'effet scavenger des flavonoïdes sur les radicaux libres dépend de la présence des groupements OH libres, en particulier 3-OH, avec une configuration 3',4'-rthodihydroxy (Heim *et al.*, 2002).

2. L'effet antidiabétique

En ce qui concerne l'étude biologique qui s'articule sur la recherche d'éventuel effet antidiabétique de cette variété locale et son impact sur le statut antioxydant chez le rat Wistar, la voie d'administration du traitement choisie est la voie orale par ce que c'est une voie d'administration physiologique, elle offre certain nombre de critères, d'efficacité et de

commodité. De plus elle ne nécessite aucun matériel particulier. De point de vue pharmacologique, la voie orale est la plus couramment utilisée (70 à 80% des médicaments sont administrés *per os*). Cette voie est, généralement, bien acceptée par les patients (**Bourin et al., 1999**).

Le diabète induit par l'Alloxane est un modèle bien connu du diabète expérimental (**Dhanabal et al., 2007**). Ce composé peut causer une nécrose sévère des cellules β pancréatiques. Cet effet est expliqué par le fait que l'Alloxane est pourvu d'un pouvoir producteur du peroxyde d'hydrogène et d'autres radicaux libres qui sont à l'origine de cette nécrose cellulaire des cellules β (**Lenzen and Munday, 1991**). La sensibilité de ces cellules au stress oxydatif est attribuée également à un taux faible en antioxydants du pancréas par rapport aux autres tissus (**Lenzen et al., 1996**). Cet effet prooxydant de l'Alloxane produit une hyperglycémie suite à la chute de l'insulminosécrétion et aggrave le statut redox par l'auto-oxydation du glucose (**Sakurai et Tsuchiya, 1988 ; Abir et al., 2005**).

La partie principale de notre étude était consacrée à l'évaluation de l'activité antidiabétique et antioxydante *in vivo* en utilisant des rats wistar albinos. Les rats sont rendus diabétiques par l'injection d'une monodose de 150 mg/kg d'Alloxane par voie intrapéritonéale et une glycémie supérieure à 400 mg/dl était notée. Le diabète induit par cette substance a, également, entraîné chez les rats une polyphagie, polydipsie et une polyurie. Ces signes observés chez l'animal confirment l'installation du diabète sucré.

Par ailleurs, l'investigation phytochimique quantitative montre que notre extrait constitue un ensemble riche en polyphénols et flavonoïdes où chacun de ces principes actifs aurait pu induire l'effet observé. Cependant, il est rapporté que les flavonoïdes constituent les principes actifs de la plupart des plantes médicinales ayant une activité antidiabétique (**Wollenweber, 1988; Adeneye et al., 2007**).

Dans la présente étude, nous avons constaté que les deux extraits méthanoliques ont pu jouer un rôle crucial dans la baisse de la concentration sérique de glucose, soit par la stimulation de la sécrétion de l'insuline, soit par une action extra-pancréatique et donc par l'influence de l'absorption de glucose et son utilisation par les différents tissus. Il a été rapporté que plusieurs molécules bioactives isolés des plantes tels que les terpènes et les flavonoïdes influencent les cellules β pancréatique et stimulent la sécrétion de l'insuline

par leurs activités antioxydantes (**Sarkhail et al., 2007**). Étant donné qu'au cours du diabète le stress oxydant et les radicaux libres affectent et détruisent les cellules β , donc les deux extraits méthanoliques peuvent aussi augmenter la sécrétion de l'insuline via leurs activité antioxydante ce qui est justifié amplement par la constatation au niveau des coupes histologiques du pancréas endocrine conduisant à la libération de l'insuline.

D'autre part, les deux extraits peuvent avoir une action extra pancréatique en influençant ainsi l'absorption de glucose et son utilisation par les différents tissus. Un autre mécanisme possible pour l'action de ces deux plantes l'être par le biais du foie, en influant la gluconéogenèse, la glycogénogenèse ou la glycogénolyse.

Certains flavonoïdes, qui ont été isolés des plantes, inhibent les transporteurs du glucose dans les intestins, diminuent l'expression des gènes qui contrôlent la néoglucogenèse, augmentent le stockage du glucose dans le foie et réduisent la dégradation du glycogène (**Li et al., 2004 ; Saravanan et al., 2005. Sarkhail et al., 2007**). Un grand nombre de travaux de recherche ont montré l'effet hypoglycémique de plusieurs plantes contenant des terpènes, des flavonoïdes ainsi que plusieurs d'autres composés (**Sarkhail et al., 2007**) selon plusieurs mécanismes. Par exemple catéchine qui est un flavonoïde inhibe l'absorption intestinale du glucose ainsi que l'epicatéchin gallate augmentent la synthèse hépatique du glycogène et la quercitrine augmente la synthèse de l'insuline (**Perez et al., 1998; Pinent et al., 2004**).

Notre étude phytochimique réalisée sur les deux plante *Drimia anthericoides* et *Calendula suffruticosa subsp. foliosa* a montré que sont riches en plusieurs principes actifs tels que les flavonoïdes et les terpènes composés donc il est possible que l'action hypoglycémiant de la plante soit liée à la présence de ces composés.

Le diabète sucré est aussi associé avec une hyperlipidémie et provoque de profondes anomalies dans la concentration et la composition des lipides. Ces anomalies représentent un important facteur de risque de maladies cardiovasculaires. Plusieurs études ont rapporté que les complications cardiovasculaires associées au diabète sont dues aux perturbations du métabolisme lipidique (**Shamaony et al., 1994 ; Akuyam et al., 2007 ; Qi et al., 2008**).

Les résultats de notre expérimentation suggèrent une augmentation bien claire de la concentration sérique du profil lipidique (cholestérol et triglycérides) chez les rats

diabétiques. Nos résultats sont en accord avec ceux montrés par (**Sharma *et al.*, 2008 ; Ong *et al.*, 2010**). Cette augmentation peut être expliquée d'une part par la carence en insuline qui inhibe la 3- hydroxy -3 méthyl glutamyl coenzyme A réductase (HMG-coA réductase) une enzyme clé pour la biosynthèse du cholestérol (**Betteridge *et al.*, 2002**) et d'autre part, par la dégradation intense des composés lipidiques des tissus adipeux. Notant aussi que, l'hyperglycémie peut provoquer un désordre métabolique traduit par des changements de la voie normale du glucose, où une partie du glucose est transformée en acides gras et glycérol et puis la synthèse des triglycérides et cholestérol (**Patricia *et al.*, 1995**).

La recherche de nouvelles drogues capable de réduire et/ou de réguler la concentration sérique du cholestérol total et des triglycérides a gagné d'élan ces dernières années. Les extraits de plantes constituent un potentiel candidat, elles contiennent souvent une mixture très complexe de différentes molécules, de polarité distincte, capable de réduire la concentration sérique des lipides par différent mécanismes (**Eddouks *et al.*, 2004**).

Une réduction significative de la concentration sérique du cholestérol et des triglycérides est observée après le traitement des rats diabétiques par l'EMCS et l'EMDA. Le potentiel de la diminution du cholestérol et des triglycérides peut être dû à la teneur en composés phénoliques et à la capacité antioxydante qui ont été trouvés dans les deux plantes, ainsi que leurs teneurs élevées en flavonoïdes et/ou en saponines qui ont la capacité d'agir sur le métabolisme du cholestérol (**Naeem et Marwa, 2014**). Un grand nombre de travaux de recherche ont montré l'effet hypolipidémique de plusieurs flavonoïdes, terpènes et d'autres composés phénoliques (**Sarkhail *et al.*, 2007**).

Cette étude a mentionné une augmentation de l'urée et de la créatinine chez les rats diabétiques par rapport aux rats normaux. Ceci est expliqué par la dégradation des protéines en acides aminés puis en urée et créatinine (**Prangthip *et al.*, 2012**) et la dégradation des acides nucléiques en acide uriques, ce qui induira une diminution des composés protéiques et la dégradation des acides nucléiques en acide uriques, ce qui induira une diminution des composés protéiques du corps (**Valdigué, 2000**). A ce titre, (**Asayama *et al.*, 1993**) ont montré que la diminution des protéines chez les animaux diabétiques est due à la réduction de leur synthèse dans le foie.

L'EMCS et l'EMDA ont diminué significativement le taux de l'urée et de la créatinine par rapport au groupe contrôle des rats diabétiques. Cet effet peut être dû à l'activité hypoglycémiant où à la régulation de l'homéostasie du glucose et son utilisation par les tissus périphériques. L'existence des flavonoïdes dans les deu extraits semble être un facteur contribuant à l'amélioration du taux protéique chez les rats diabétiques. Cette suggestion est supportée par **(Palsamy P & Subramanian S., 2008 in Boumaaza, 2009)** qui ont montré le même effet chez des rats diabétiques traités par un flavonoïde qui est le resvératrole.

Un but principal de notre étude est l'évaluation de l'effet de l'extrait méthanolique de *Drimia anthericoides* et *Calendula suffruticosa subsp. foliosa* sur la peroxydation lipidique et le taux du GSH, SOD et GSH-Px affectés par le stress oxydant associé au diabète sur des rats rendus diabétiques par l'alloxan.

La présente étude a révélé une augmentation significative de MDA avec une réduction importante de l'activité des enzymes antioxydantes (SOD et GSHPx,) et de la teneur en antioxydant non enzymatique (GSH) au niveau de certains organes (foie, rein, poumon, testicule et cœur) chez les rats diabétiques.

Les MDA sont des sous-produits de la peroxydation des phospholipides de la membrane et sont principalement des peroxydes instables et leur concentration accrue est donc indicative de la peroxydation lipidique **(Zhang et al., 2003)** et de l'échec mécanisme de défense de l'antioxydant, qui est sensé inhiber la production de radicaux libres. Ces produits d'oxydation lipidiques peuvent être utilisés comme marqueurs dans le suivi de pathologie **(Signorini et al., 2013)** ou de traitement **(Hockenberry et al., 2013)**.

Dans la présente étude, le taux hépatique de MDA chez les rats diabétiques est significativement augmenté par rapport aux rats témoins. Une telle augmentation de MDA pourrait être le résultat d'une modification importante du statut redox cellulaire en faveur des prooxydants, car l'Alloxane s'est avéré générateur de radicaux libres qui, par leur pouvoir oxydant, sont à l'origine de l'oxydation de l'ADN, de lipides et de carbohydrates aboutissant ainsi à la mort des cellules β et l'installation du diabète. D'autre part le taux élevé de MDA au cours du diabète peut être expliqué par la diminution des antioxydants enzymatique et non enzymatique comme l'acide ascorbique et le tocophérol qui jouent un rôle coopératif très importants dans l'inhibition du phénomène de la peroxydation des

lipides et la formation de ses produits dangereux au niveau cellulaire (**Vertuani et al., 2004**).

La diminution du glutathion confirme que dans les conditions d'hyperglycémie ; le glucose est utilisé par la voie des polyols en consommant le NADPH indispensable dans la régénération des molécules de glutathion par le GSH réductase (**West, 2000**). Il a été suggéré également que la baisse du taux du GSH hépatique pourrait être le résultat de la diminution de sa synthèse et/ou sa dégradation massive par le stress oxydatif chez le diabétique.

Les glutathion peroxydases constituent sans doute l'un des plus importants systèmes enzymatiques de protection car elles sont capables non seulement de détoxifier le peroxyde d'hydrogène, mais aussi les hydroperoxydes résultants de l'oxydation du cholestérol ou des acides gras en couplant la réduction de l'hydroperoxyde avec l'oxydation d'un substrat réducteur comme le glutathion. Le glutathion oxydé sera régénéré grâce à l'intervention de la glutathion réductase qui agit par oxydation du NADPH,H⁺, formé principalement par la voie des pentoses (**Bonnefont-Rousselot et al., 2003**).

La baisse d'activité de GSH-Px chez les rats diabétiques non traités pourrait être directement expliquée par la faible concentration du glutathion ; car ce dernier est un substrat et cofacteur de GSH-Px (**Ramachandran et Saravanan, 2013**). D'autre part l'hyperglycémie peut produire les ROS et empêcher également l'activité des enzymes antioxydantes telles que le SOD, le CAT et le GSH-Px par l'inhibition des sites actives de ces enzymes (**Sindhu et al., 2004**).

Parmi les systèmes antioxydants enzymatiques cellulaires figurent en première ligne la SOD. L'anion superoxyde, première espèce toxique formée à partir de l'oxygène, est éliminé et maintenu à un niveau de concentration assez bas par la SOD qui catalyse sa desmutase en H₂O₂. Ce dernier est transformé en H₂O et O₂ par la CAT. L'évaluation biochimique de l'activité des systèmes enzymatiques antioxydants (le superoxyde desmutase) a mis en évidence une réduction significative de l'activité cytosolique de ces enzymes chez les rats diabétiques (**Kebieche et Meraihi, 2009**).

Le traitement des rats diabétiques par l'extrait méthanolique de *Calendula suffruticosa subsp. foliosa* et *Drimia anthericoides* a non seulement diminué la formation

d'MDA mais aussi il a modifié positivement le statut en GSH et de même l'activité enzymatique de SOD et GPx. Ces résultats sont clairement indicatifs de l'effet modulateur de *Calendula suffruticosa subsp. foliosa* et *Drimia anthericoides* sur le stress oxydant.

Initialement, nous avons démontré l'effet scavenger et l'activité antioxydante des deux plantes in vitro. L'étude phytochimique de la plante nous a permis de détecter la présence de certains types de composés qui semblent avoir, en plus l'activité antihyperglycémiant, une activité antioxydante comme les polyphénols, les β carotènes, les saponines, les tanins et les flavonoïdes, ces composés notamment les flavonoïdes présentent une activité antioxydante importante.

Il a été admis que *les* tri-terpénoides isolés à partir des espèces de *Calendula* ont plusieurs activités pharmacologiques telles que, hypoglycémique, gastro-protecteur, antiviral, antimutagène et anti-inflammatoires (**Kirmizibekmez, 2006**).

Les propriétés anti-radicalaires de produits naturels sont souvent liées à leur aptitude à façonner les radicaux stables (**Rice-Evans et al., 1996**). Jusqu'à ce jour, plusieurs études décrivant l'activité anti-oxydante dans les différents essais ont été rapportées sur l'espèce *Calendula*. Par exemple ; l'extrait butanolique de *C. officinalis* a une forte activité de piégeage des radicaux d'hydroxyle et de super oxyde (**Cordova et al., 2002 in Rigane et al., 2013**). Dans une autre étude sur *C. arvensis* et *C. officinalis* croissante en Serbie-et-Monténégro, où le potentiel de piégeage a été mesuré comparativement contre le DPPH, l'hydroxyle et les radicaux pyroxyles. Les extraits obtenus à partir de ces deux espèces ont piégés tous les radicaux de manière dépendante de leurs concentration, bien que la meilleure activité anti- oxydante a été démontrée par l'extrait aqueux de *C.officinalis* à 0,75 mg/ml (**Cetkovic et al., 2004 in Rigane et al., 2013**).

Dans une étude similaire, **Danila et al., en 2011**, ont testé les extraits aqueux et alcooliques de plusieurs espèces de plantes en provenance de Roumanie, y compris *C. officinalis* pour leur activité anti-oxydante. **Dall'acqua et al., en 2008**, ont étudié l'activité anti oxydante de onze espèces végétales utilisées dans la médecine traditionnelle (y compris *C. arvensis*), utilisant le test de piégeage des radicaux par le DPPH et *C. arvensis* a été trouvé pour classer 7ème parmi les espèces végétales testées en terme d'effet de

piégeage des radicaux vers DPPH (Dall'acqua *et al.*, 2008 ; Danila *et al.*, 2011; in Rigane *et al.*, 2013).

D'autre part, Hussein *et al.*, (2010) ont confirmé que *Calendula arvensis* a amélioré la cytotoxicité et le stress oxydatif induit par le tétrachlorure de carbone avec l'augmentatin de la teneur en GSH et la diminution de la formation de TBARS.

Il a été reporté que *Drimia anthericoides* a également été utilisée dans le traitement de l'hypertension et indiquée contre les maladies du foie en plus est aussi hypoglycémiant il constitue un auxiliaire remarquable dans la lutte contre le diabète (Irshaid et Mansi, 2009 ; Wahba *et al.*, 2014).

En ce qui concerne l'histologie ; le pancréas des rats rendus diabétiques présente des îlots nécrotiques avec une destruction des populations cellulaires, notamment les cellules β . Ceci est dû à l'effet cytotoxique de l'Alloxane ayant des conséquences négatives sur la sécrétion exocrine et endocrine pancréatique, procès accompagné par un diabète typique dû à la défection apparue de la sécrétion insulinique (Hamdiken, 2017).

Le traitement par l'EMCS et l'EMDA a présenté une bonne distribution et une forme intacte des îlots de Langerhans. Il est, peut-être, constatable que les deux extraits possèdent des effets préventifs sur la dépréciation du pancréas.

Au niveau du foie et du cœur, une prévention significative des dommages oxydatifs a été notée pour les lots diabétiques traités par l'EMCS et par l'EMDA. Ces résultats peuvent être dus à l'effet hypoglycémiant et antioxydant accomplis par les deux plantes. Atangwho et ces collaborateurs ont motionné que les flavonoïdes des plantes peuvent exercer un effet protecteur contre les dommages du stress oxydant au niveau des organes (Atangwho I.J *et al.*, 2007).

CONCLUSION PERSPECTIVES

L'usage des plantes médicinales constitue un vrai patrimoine de l'être humain. Leur importance dans le domaine de la médecine est très accentuée dans ces dernières années grâce à leurs effets thérapeutiques qu'elles exercent et ceci est certainement lié à la présence des molécules bioactives synthétisées par la plante non seulement comme des agents chimiques contre les maladies, mais aussi comme des agents médicinaux tels que les antioxydants.

Le diabète est l'une des maladies les plus répandues dans le monde et en Algérie. Il est reconnu comme un problème majeur de santé publique dans notre pays du fait des conséquences humaines et économiques redoutables de cette maladie chronique.

D'après les résultats obtenus, on conclut que :

- ✚ *Calendula suffruticosa* et *Drimia anthericoides* possèdent un pouvoir anti-radicalaire important, notons que le pouvoir le plus élevé et enregistré chez *Calendula suffruticosa*.
- ✚ L'injection d'Alloxan a induit des perturbations au niveau du métabolisme lipidique et protéique traduisant par une augmentation du glucose, cholestérol, triglycérides, créatinine, et de l'urée, alors que le traitement par les deux plantes a amélioré ces paramètres métaboliques.
- ✚ Le diabète a provoqué une diminution de l'activité enzymatique de SOD et de la concentration du glutathion avec une augmentation de l'MDA par contre le traitement par *Calendula suffruticosa* et *Drimia anthericoides* a protégé les cellules contre l'attaque radicalaire en diminuant le taux de la peroxydation lipidique et en augmentant la concentration des antioxydants.

L'observation microscopique des coupes histologiques a illustré des nécroses pancréatiques et des fibroses hépatiques, tandis que les deux plantes utilisées ont montré un remarquable effet cyto-protecteur des pancréas et de foie contre les radicaux libres générés par l'injection d'Alloxane.

En effet, il ressort du présent travail que *Calendula suffruticosa* et *Drimia anthericoides* sont des produits très intéressants et riches en possibilités thérapeutiques. Nos résultats sont pour nous remarquables car ils ouvrent dans le futur des perspectives expérimentales qui devraient nous permettre d'identifier clairement les molécules impliquées dans l'effet hypoglycémique, hypolipidémique et antioxydant de ces plantes et

d'avancer vers une meilleure connaissance des mécanismes moléculaires intervenant dans les effets pharmacologiques observés.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

A

- ✚ **Aberkane,M.C.**, (2006). Etude phytochimique de la plante *Publicarialaciniata*. Thèse de doctorat. Batna, 163p.
- ✚ **Abir,T. El-Alfy, Amany,A.E. Ahmed, Amal ,J. Fatani.** (2005). Protective effect of red grapeseeds proanthocyanidins against induction of diabetes by alloxan in rats. *Pharmacological Research* 52 : 264–270.
- ✚ **Adeneye, A.A., Ajagbonna, O.P and Ayodele, O.W.** (2007). Hypoglycemic and antidiabetic activities on the stem bark aqueous and ethanol extracts of *Musanga cecropioides* in normal and alloxan-induced diabetic rats. *Fitoterapia*. 78: 502–505.
- ✚ **Akuyam,SA,Bamidele,AS,Aminu ,SM,Aliyu,IS,Muktar,HM,Mamman,AI.** (2007). Liver function tests profiles of sickle cell anaemia patients in steady state of health: Zaria experience. *BOMJ*, Vol. 4, No. 2.
- ✚ **Alberti, K., Zimmet, P.** (1998). Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus provisional report of a WHO consultation. *Diabet Med* 15, 539–53.
- ✚ **American Diabetes Association.** (2014). Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*.37 (Suppl. 1): S81–90.
- ✚ **American Diabetes Association.** (2008). Standards of medical care in diabetes .*Diabetes Care*. 31 Suppl 1: S12–54.
- ✚ **American Diabetes Association.** (2017). Standards of medical care in diabetes. *Diabetes Care*. 27 : S15-S35
- ✚ **Anne-Sophie,Nogaret-Ehrhart.** (2003). *La Phytothérapie Se Soigner Par Les Plantes*
Groupe Eyrolles, 2003, ISBN 2-7081-3531-7. Suisse. P : 25-30.
- ✚ **APGIII.** (2009).An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants. *Bot. J. Linn. Soc.* 161, 105–121.
- ✚ **Ardestani, A., Yazdanparast, R.** (2007). Antioxidant and free radical scavenging potential of *Achillea santolina* extracts. *Food Chem*, 104: 21-29.

- ✚ **Asayama,K, Kitaoka,Y, Zheng,G-Q, Ishida,K.et Ohsugi,S.**(1993).Fujiwara and K. Asayama,*Mechanisms of Superconductivity*, JJAP Series 7 p. 185.
- ✚ **Asmus, K.D.,Bonifacic, M .** (2000). « Handbook of Oxidants and Antioxidants in Exercise», Free radicchemIn, p. 3-53.
- ✚ **Atangwho IJ, Ebong PO, Eyong MU, Eteng MU, Uboh FE .**(2007). Vernonia amygdalina Del.: A potential prophylactic antidiabetic agent in lipids complication. Glob. J. Pur. Appl. Sci. 13(1) : 103-106.
- ✚ **Atti, I.** (2014). Evaluation des activités antioxydant et anti radicalaire d'un mélange d'épices « Ras el hanout ». Thèse de master. Université kasdi merbah Ouargla. P 9-10-14-31-57.
- ✚ **Azzi R., Djaziri R., Lahfa F., Sekkal F.Z., Benmehdi H., Belkacem N.** (2012). Ethnopharmacological survey of medicinal plants used in the traditional treatment of diabetes mellitus in the North Western and South Western Algeria.Journal of Medicinal Plants Research.

B

- ✚ **Baba-Aissa, F.** (1991). Les plantes médicinales en Algérie. Coédition Bouchéne et Ad-diwan : Alger.
- ✚ **Baba,L., McGrath ,IM.** (2008). Oxygen free radicals: effects in the newborn period. *Advances in Neonatal Care 8 Journal*. P 256-264.
- ✚ **Bahorun, T., Grinier, B., Trotin, F., Brunet, G., Pin, T., Luncky, M., Vasseur, J., Cazin, M .Cazin, C. and Pinkas, M.** (1996). Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arzneimittel-Forschung*, 46(11) : 1086-1089.
- ✚ **Bailey CJ, Day C.** (1989). Traditional plants medicines as treatments for diabetes. *Diabetes Care*, 12(8) : 553-564.
- ✚ **Baillie ,JK .,Bates MGD., Thompson AAR.,Waring WSM Partridge RW., Schnopp MF., Simpson A., Gulliver-Sloan F., Maxwell SRJ., Webb DJ.** (2007). *Lolwand Subjects Expose to High Alitude de plasma Antioxydqnt Capacity in Healthy Endogenous .Urate Production Augments, Chest, 131:14 / 3-8.*
- ✚ **Bechan, S., Sheta, S., Nikhat, J.** (2014). Biomédical Implications of Heavy Metals Indices IMbalances in Redox Systèmes. Bio Med Research International.

- ✚ **Belaich ,R., Boujraf ,S.** (2016). Facteurs inflammatoires et stress oxydant chez les hémodialysés : effets et stratégies thérapeutiques. *Médecine des Maladies Métaboliques*, Vol. 10(1). P 38-42.
- ✚ **Belhaddad,Oum elkheir.**(2018).Phytochimie,fractionnement et activités antioxydante et antibactérienne des extraits de *Urginea maritima et Urtica pilulifera*.
- ✚ **Benghanou, M.** (2012). La phytothérapie entre la confiance et mefiance. Mémoire professionnel infirmier de la sante publique, institut de formation paramédical CHETTIA (Alger) : 56.
- ✚ **Benhamza, L.** (2008).Effets biologiques de la petite centauree *Erythraea centaurium*.Thèse présentée pour obtenir le diplôme de Doctorat d'état (Université Mentouri constantine).
- ✚ **Beniston, N., BENISTON W.** (1984). Fleurs d'Algérie. Entreprise Nationale du Livre. p.359.
CJB - African plant database –Detail. URL
<https://www.ville-ge.ch/musinfo/bd/cjb/africa/details.php?langue=an&id=240127>
- ✚ **Benkhniq O., Hachi M., Fadli M., Douira A., Zidane L.** (2016). Catalogue of the medicinal plants used in the treatment of urinary infections in the area of Al-HaouzRhamna (central Morocco).*European Journal of Botany Plant Sciences and Phytology*, 3(1), 1-49.
- ✚ **Bensakhria, A.** (2018). Toxicologie générale-Stress oxydatif. Université atholique Saint Antonio de Murcia.
- ✚ **Berger, MM.** (2006). Manipulations nutritionnelles du stress oxydant : état des connaissances, *Nutrition Clinique et Métabolisme*, 20, 48–53.
- ✚ **Betteridge, A, Piwowarczyk,A,Giuliani,G,Holden,N.**(2002). Can soil moisture deficit be used to forecast when soils are at high risk of damage owing to grazing animals?
- ✚ **Blondeau C, Sava P, Toubin G, Belon J.P, Magnin P, Gillet M.** (1987).*Activités des enzymes antioxydantes plaquettaires au cours de l'artériopathie*. *Pathol. Biol*, vol 35 (8), p 1115-1118.
- ✚ **Blickle J-F.** (2014). Diabète, nutrition clinique pratique, 2ème édition, Elsevier Masson SAS, P. 189-206.
- ✚ **Bondet, V., Williams, W.B. and Berse,t C.**(1997). Kinetic and mechanism of

- antioxydant activity using the DPPH free radical method. *Lebensmittel – Wissenschaft und Technologie*. 30: 609-615.
- ✚ **Bonnefont-Rousselot, D., Bastard, J.P., Jaudon, M.C., Delattre, J.**(2000). Consequences of the diabetic status on the oxidant/antioxidant balance. *Diabetes & Metabolism (Paris)*. 26 : 163-176.
- ✚ **Bonnefont-Rousselot, D., Beaudeau, J.L., Thérond, P., Peynet, J., Legrand, A., Delattre, J.** (2003). Diabète sucré, stress oxydant et produits de glycation avancée. *Annales Pharmaceutiques Françaises* **62** : 147-157.
- ✚ **Bonnefont-Rousselot, D., Beaudeau, J.L., Thérond, P., Peynet, J., Legrand, A., Delattre, J.** (2004). Diabète sucré, stress oxydant et produits de glycation avancée. *Annales Pharmaceutiques Françaises*.62 : 147-157.
- ✚ **Botineau M.** (2010). Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs, Tec&Doc (Eds.) Lavoisier 1336 p.
- ✚ **Bossokpi, I.P.L.** (2002). Etude des activités biologiques de *Fagara xanthoxyloïdes* LAM (Rutaceae). Thèse de pharmacie, Bamako, 133 p.
- ✚ **Boudiba A, Mimouni-Zerguini S.** (2008) Améliorer la prévention et les soins du diabète en Algérie. *Diabetesvoice*. 53(2) :45- 48.
- ✚ **Bouldjadj J R.** (2009). Etude de l'effet antidiabétique et antioxydant de l'extrait aqueux lyophilisé d'Artemisia herba alba Asso. Université de Constantine. P 22-27.
- ✚ **Boumaaza, A.**(2009). *Effect of some antioxidants on oxidative stress parameters and the related organs: in vivo study on diabetic rats*".
- ✚ **Boumediou A, Addoun S.** (2017). Etude ethnobotanique sur l'usage des plantes toxiques, en médecine traditionnelle, dans la ville de Tlemcen (Algérie). Mémoire de fin d'études pour l'obtention du diplôme de docteur en pharmacie. Université Abou Bakr Belkaïd-Tlemcen, pp : 7,12.
- ✚ **Bourin, M. and Joliet, P.**(1999). Pharmacologie générale et pratique. Ed ellipse, Paris. 142.
- ✚ **Bouzig, A., Chadli, R., Bouzig, K.** (2016). Étude ethnobotanique de la plante médicinale *Arbutus unedo*L. dans la région de Sidi Bel Abbés en Algérie occidentale. *Phytothérapie* 15 (6), 373-378.
- ✚ **Bradford, M.** (1976). A rapid and sensitive method for the quantities of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 72: 248-254.

- ✚ **Buyschaert, M** .(2012) .Diabétologie clinique 4 ème édition .de Boeck ,paris,France, 9-10- 15-23-29-34.

C

- ✚ **Carocho M., Ferreira I.C.** (2013). A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. *Food and chemical toxicology*. 51, 15-25.
- ✚ **Catier O., Roux D.** (2007). Cahiers du préparateur en pharmacie : Botanique Pharmacognosie.
- ✚ **Ćetković G.S., Dilas S.M., Čanadanović-Brunet J.M. and Tumbas V.** (2003). Thin-layer chromatography analysis and scavenging activity of marigold (*Calendula officinalis l.*) extracts. *APTEFF*. V(34), pp. 93–102.
- ✚ **Chabrier, J.Y.** (2010). Plantes médicinales et formes d'utilisation en phytothérapie, Diplôme d'état de docteur en pharmacie. Université Henri Poincaré - Nancy 1, pp : 23- 42-99.
- ✚ **Chakraborty G.S.**(2010). Phytochemical screening of *Calendula officinalis Linn* leaf extract by TLC. *International Journal of Research in Ayurveda & Pharmacy*, V(1), pp .131-134.
- ✚ **Chang, A.M., et Halter, J.B.** (2003). Aging and insulinsecretion. *American journal of physiologyEndocrinology and metabolism* 284, E7-12.
- ✚ **Chang-Chen K.J., Mullur R. & Bernal-Mizrachi E.** (2008). - Beta-cellfailure as a complication of diabetes. *Reviews in Endocrine and MetabolicDisorders*, 9(4): 329-343.
- ✚ **Chatzigeorgiou A, Halapas A, Kalafatakis K, Kamper E.**(2009). The use of animal models in the study of diabetesmellitus. *In vivo*.23:245-25
- ✚ **Chemar K.** (2016). Etude ethnobotanique de quelques plantes médicinales spontanées de la région EL Outaya. Mémoirede Mester, Univ. Med Khider ,Biskra, 8-11.
- ✚ **Chevenne, D., & Fonfrède, M.** (2001). Actualité sur les marqueurs biologiques du diabète. *Immunoanal. Biol. Spec.* 16. P 215-229.
- ✚ **CJB - African plant database** .(2022).
- ✚ **Córdova-Martínez ,Ezquerro-Brauer,L. R,Bringas-Alvarado,M, Aguirre-Hinojosa,L, Garza-Aguirre, M. C.**(2002). Optimizing feed and feeding practices

in shrimp farming in Northwest Mexico. In: Cruz-Suárez *et al.*, Avances en nutrición Acuícola VI. Memorias del VI Simposium Internacional de nutrición Acuícola. 3 al 6 de Septiembre del 2002. Cancún, Quintana Roo, México

- ✚ **Couplan, François.**(2012).1^{ère} édition ‘ Les plantes et leurs noms Histoires insolites’ .P 023,23.
- ✚ **Couchoud C, Stengel B, Landais P, Aldigier JC, de Cornelissen F, Dabot C, et al.** (2006).The renalepidemiology and information network (rein): A new registry for end-stage renaldisease in france. Nephrology, dialysis, transplantation: official publication of the EuropeanDialysis and Transplant Association - EuropeanRenal Association. 21:411-418.
- ✚ **Curtin J.F,Donovan M, Cotter T.G.** (2002). Regulation and measurement of oxidative stress in apoptosis, *J.of Immunological Methods*, 265, 49.

D

- ✚ **Dali-Sahi M, Benmansour D, Aouar A et Karam N.** (2012). Etude de l’Epidémiologie du diabète de type 2 dans des populations Endogames de l’ouest Algérien.Lebanese Sciences Journal,Vol,13 No 12.
- ✚ **Dall’Acqua WF, Kiener PA, Wu H.** (2008) Properties of human IgG1s engineered for enhanced binding to the neonatal Fc receptor (FcRn). *J Biol Chem* 281:23514–23524
- ✚ **Danila,A,William Paul Quick,Rosemary G., Florence R. White,Susanne von Caemmerer,Robert T. Furbank.**(2011). Response of plasmodesmata formation in leaves of C4 grasses to growth irradiance.
- ✚ **Darblade, B., C. Privat, D. Caillaud, J. Rami, et J. F. Arnal.** (2000). « [Clinical and biological investigation of NO] ». *Journal De La Société De Biologie* 194 (3-4): 151-57.
- ✚ **Dhanabal S.P., Mohan Maruga Raja M.K., Ramanathan M., Suresh B., 2007.**
a
Hypoglycemic activity of *Nymphaea stellata* leaves ethanolic extractin alloxan induced diabetic rats, *Fitoterapia* 78: 288–291
- ✚ **Delille L.** (2007). Les plantes médicinales d’Algérie. Éd.BERTI, Alger,122 P.
- ✚ **Djahra AB.** (2015). Cours Phytochimie II 2^{ème} Année Master. Université EchahidHamma Lakhdar El Oued.

- ✚ **Drummond, G. R., H. Cai, M. E. Davis, S. Ramasamy, et D. G. Harrison.** (2000). « Transcriptional and Posttranscriptional Regulation of Endothelial Nitric Oxide Synthase Expression by Hydrogen Peroxide ». *Circulation Research* 86 (3): 347-54
- ✚ **Dunstan H, Florentine S, K, Calvino-Cancela M, Westbrooke M, Ghabrier J.Y.** (2010). *Plantes médicinales et formes d'utilisation en phytothérapie*. Thèse de doctorat en pharmacie, Université Henri Poincaré-Nancy1 (France): 165.
- ✚ **Duron F., Heurtier A.** (2005). *Complications du diabète en dehors des accidents métaboliques aigus*. Faculté de Médecine, Pierre et Marie Curie. Paris, France. www.chusa.jussieu.fr. Avril.2010.

E

- ✚ **Eberhard T, Robert A, Annelise L.** (2005). *Plantes aromatiques, épice aromates, condiments et huiles essentielles*. Tec et Doc. Lavoisier. Paris France.
- ✚ **Eddouks M, Lemhadri A, Michel, JB .**(2004). Caraway and caper: a potential antihyperglycaemic plants in diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 94 : 143 - 148
- ✚ **Eddouks, M., Ouahidi, M.L., Farid, O., Moufid, A., Khalidi, A., Lemhadri, A.** (2007). L'utilisation des plantes médicinales dans le traitement du diabète au Maroc. *Phytothérapie*. 5: 194–203.
- ✚ **Edzard Ernst, Max H Pittler.** (2005). *Médecines alternatives : le guide critique*. Marie-José Rouquette, Gregg Colin. France.
- ✚ **Ellman G L.** (1959). Tissue sulfhydryl groups, *Arch. Biochem. Biophys*, 82:, 70–77.
- ✚ **Etuk, E., Muhammed, B.** (2010). Evidence Based Analysis of Chemical Method of Induction of Diabetes Mellitus in Experimental Animals. *ASIAN J. EXP. BIOL.SCI.*1 (2): 331-336.
- ✚ **Evans JL, Goldfine ID, Maddux BA and Grodsky GM.** (2002). Oxidative stress and stress activated signaling pathways: a unifying hypothesis of type 2 diabetes. *Endocr, Rev* 23, 599-622.

F

- ✚ **Fagot-campagna, A., Romon, I., Fosse, S., Roudier, C.** (2010). Prévalence et incidence du diabète, et mortalité liée au diabète en France d ' origine et de la zone, Institut de veille sanitaire.
- ✚ **Favier A.** (2003). Le stress oxydant Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité Chimique*. Vol(12) 108-111.
- ✚ **Fédération International du Diabète.**(2013). At las du Diabète 6ème Edition.
- ✚ **Fischer.P , Ghanassia.E, Baraut.M.C.** (2017), Diabete de type 1 de l'enfant et de l'adulte, in endocrinologie diabetologie-nutrition 9e, éd 99 bd de l'hopital 75013 Paris, 155/174.
- ✚ **Flohe, L. and Gunzler, W.A.** (1984) Assays of Glutathione Peroxidase.. *Methods in Enzymology*,105,114. [http://dx.doi.org/10.1016/S0076-6879\(84\)05015-1](http://dx.doi.org/10.1016/S0076-6879(84)05015-1)
- ✚ **Fossati P, Clin. Chem.** (1982). 28(10): 2077-2080.
- ✚ **Fouché J.G, Marquet A, Hambuckers.** (2000) .Les plantes au médicament observation du monde des plantes .Sart-Tiliman.
- ✚ **Frankel, E. N; Meyer. A. S.** (2000). "The problems of using one-dimensional methods to evaluate multifunctional food and 365 biological antioxidants. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80, 1925-1941.
- ✚ **Fransworth NR, Kingdom AD, Soefarto DD, et al, In:Wagner H, Farnsworth NR.** (1985). Editors, *Economic and Medicinal plant Research* , Vol, I, London: academic press; pp. 166-167.
- ✚ **François Rojas.** (2013). *Le Do-In: une méthode d'auto-massage venue d'Orient.* Editions LANORE. France.
- ✚ **Fridovich, I.** (1995). « Superoxide Radical and Superoxide Dismutases ». *Annual Review of Biochemistry* 64: 97-112

G

- ✚ **Garait, B.** (2006). Le stress oxydant induit par voie métabolique (régimes alimentaires) ou par voie gazeuse (hyperoxie) et effet de la Glisodin. Thèse pour obtenir le grade de docteur de l'université Joseph Fourier-Grenoble 1. P 123-125.

- ✚ **Gardès-Albert M, Bonnefont – Rousselot D, Abedinzadeh Z, Jore D.** (2003).Espèces réactive de l'oxygène .Comme l'oxygène peut-il devenir toxique? L'actualité chimique, 91-96.
- ✚ **Gayet C. Michel P.** (2013).Guide de poche de la phytothérapie. Paris : Quotidien Malin Editions.
- ✚ **Georgievas,S., Boyadzguev,L.Angelov,G.** (2010). Caractérisation des vins bulgares par leur capacité antioxydant. Revue de génie industriel. (5):124-132.
- ✚ **Georgé, S., Brat, P., Alter,P and Amiot, J.M.** (2005).Rapid determination of polyphénols and Vitamin C in plant-derived products. *J. Agr. Food Chem.* 53:1370-1373.
- ✚ **Ghaberier J. Y.** (2010). Plantes médicinales et formes d'utilisation en phytothérapie. Thèse de doctorat en pharmacie, Université Henri Poincaré-Nancy1 (France): 165
- ✚ **Ghedabnia, M. K.** (2008). Inventaire de quelques espèces spontanées à caractère médicinale hypoglycémiant utilisées dans la région d'Ouargla.
- ✚ **Ghyselinck N.B, Dufaure J.P.**(1990). *A mouse cDNA sequence for epididymal androgenregulated proteins related to glutathione peroxidase.* Nucleic Acids Res, vol 18 (23), p7144-7149.
- ✚ **Gilbert, D. A., M. Sutherland, et P. M. Kroonenberg.** (2000). « Exploring Subject-Related Interactions in Repeated Measures Data Using Three-Mode Principal Components Analysis ». *Nursing Research* 49 (1): 57-61.
- ✚ **Godic A., Poljšak B., Adamic M., Dahmane R.** (2014). The role of antioxidants in skin cancer prevention and treatment.*Oxidative medicine and cellular longevity.*
- ✚ **Grimaldi A.** (2000). Diabétologie. Université Pierre et Marie Curie (France) ,17 - 93.
- ✚ **Grover J.K., Yadav S., Vats V.,** (2002). Medicinal plants of India with anti-diabetic potential.*Journal of Ethnopharmacology* 81: 81–100.
- ✚ **Grunwald J. Janick C.** (2006).Guide de la phytothérapie. 2ème édition. Italie : marabout.
- ✚ **Guignard J. L.** (2000). Biochimie végétale. 2ème édition. Edition Dunod, Paris, pp 198- 207.

- ✚ **Gunckel, S. Santander, P.G., Cordano, J., Ferreira, S., Munoz, L.J., Vergara, N., Squella, J.A.** (1998). 'Chemico-Biological Interactions'. 114; 45–59.

H

- ✚ **Haleng J, Chapelle J.P, Charlier C, Defraigne J.O, Pincemail J.** (2007). Le stress oxydant. Rev Med Liege 628–638.
- ✚ **Halliwell, B.** (1990). How to characterize a biological antioxidant, Free Radic Res Commun, 9: 1-3.
- ✚ **Halliwell,B., Gutteridge,JMC.** (1989). Free Radicals in Biology and Medicine, Second edition, Clarendon Press, Oxford.
- ✚ **Halliwell, B.,Gutteridge, J.M.C.** (1999). Free radicals in biology and medicine, Oxford, UK.
- ✚ **Hamdiken, M.** (2017). L'effet de Ruta chalepensis et de Beta vulgaris sur le métabolisme des carbohydrates et quelques enzymes du système antioxydant chez des rats Wistar diabétiques recevant un régime alimentaire pauvre en zinc. Annaba - Badji Mokhtar.
- ✚ **Hammerich O, Svensmark B.** (1990), "Anodic oxidation of oxygen-containing compounds." in: H. Lund, M. Baizer (Eds.), Organic Electrochemistry, Marcel Dekker, New York, p 615.
- ✚ **Haton, C.** (2005). Effets des rayonnements ionisants sur la structure et la fonction de la cellule épithéliale intestinale. Thèse de doctorat. Université de Paris VI.
- ✚ **Haudret J-C.** (2004). Bien se soigner par les plantes. 1ère édition. Paris : éd SOLAR.
- ✚ **Headlam, Henrietta A., et Michael J. Davies.** (2003). « Cell-Mediated Reduction of Protein and Peptide Hydroperoxides to Reactive Free Radicals ». Free Radical Biology & Medicine 34 (1): 44-55.
- ✚ **Heim, K.E., Tagliaferro, A.R., Bobilya, D.J.**(2002). Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. Journal of Nutritional Biochemistry. 13(10):572-584.
- ✚ **Hilinaruthnadia.** (2018). Les bénéfiques et les inconvénients de la phytothérapie. [en ligne]. Consulté le : 16/02/2018. Disponible sur : [http:// :hilinaruthnadia.e-monsite.com](http://hilinaruthnadia.e-monsite.com).

- ✚ **Hockenberry, M. J., Taylor, O. A., Gundy, P. M., Ross, A. K., Pasvogel, A., Montgomery, D., Ribbeck, P., Mc Carthy, K. and Moore, I.**(2013). F2-Isoprostanes: A measure of oxidative stress in children receiving treatment for leukemia. *Biological Research For Nursing*. 16(3): 303-309.
- ✚ **Hussein M., El-Tawil O., Yassin N. and Abdou KH.** (2010). The Protective Effect of *Morus Alba* And *Calendula Officinalis* Plant Extracts on Carbon Tetrachloride- Induced Hepatotoxicity In Isolated Rat Hepatocytes. *Journal of American Science V* (10), pp. 762-773.

I

- ✚ **Irshaid,F,et Mansi,K.**(2009).Effects of leaf extract of *Uritica pilulifera* L.on male reproductive system of streptozotocin-diabetic rats.*American journal of pharmacology and toxicology*.4:22-28.
- ✚ **Iserin P.** (2001). Encyclopédie des plantes médicinales. 2ème édition. Londres : Larousse.
- ✚ **Iserin P,Masson M , Restellini J.P,Ybert E,De laage DE meus A.,Moulard F.,Zha E ,De la Roque R, De la Roque O,Vican P ,Deelesalle-Feat T,Biaujeaud M.,Ringuet J.,Bloth J.,Botrel A.**(2001).Larousse des plantes médicinales : identification , préparation, soins. 2ème édition de VUEF, Hong Kong: 335.

J

- ✚ **Jean Raynaud.** (2006). Prescription et conseil en AROMATHERAPIE. Edition Technique et Documentation.
- ✚ **Jollow D, Mitchell L, Zampaglione N, Gillete J,Bromobenzene.**(1974). Induced liver necrosis: protective role of glutathione and evidence for 3, 4-bromobenzenoxide as the hepatotoxic intermediate, *Pharmacology*, 11: 151-169
- ✚ **Judd Walter S.** (2002).Campbell Christopher S, Kellogg Elizabeth A, Stevens Peter.

K

- ✚ **Kar, A.** (2007). Pharmaocgnosy and Pharmacobiotechnology (Revised-Expanded Second Edition).New Age International LimitedPublishres New Delhi.

- ✚ **Kebèche, Mohamed.**(2009). Activité biochimique des extraits flavonoïdiques de la plante *Ranunculus repens* L'effet sur le diabète expérimental et l'hépatotoxicité induite par l'Epirubicine.
- ✚ **Kebèche M., Lakroun Z., Mraïhi Z., and Soulimani, R.** (2011). Effet anti diabétoène et cytoprotecteur de l'extrait butanolique de *Ranunculus repens* L. et de la quercétine sur un modèle expérimental de diabète alloxanique. *Phytothérapie*, 9 (5), pp 274-282.
- ✚ **Khalid KHA, Teixeira JA.**(2012). Biology of *Calendula Officinalis* Linn: focus on pharmacologic, biological activities and agronomic practices. Medicinal and Aromatic Plant Science and Biotechnology. Medicinal and Aromatic Plant Science an Biotechnology.; 6(1):12-27.
- ✚ **Khiredine H.** (2013). Comprimés de poudre de dattes comme support universel des principes actifs de quelques plantes médicinales d'Algérie. Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de magister .Université Mohamed Bougara-boumerdes, p : 4.
- ✚ **Kocchilin-Ramonatxo, C.** (2006). Oxygen, oxidative stress and antioxidant supplementation or another way for nutrition in respiratory diseases. *Nutrition clinique et métabolique*, 20, 165-177. doi: 10.1016/j.nupar.2006.10.178.
- ✚ **Kouri, G., Tsimogiannis, D., Bardouki, H. and Oreopoulou, V.**(2007). Extraction and analysis of antioxidant components from *Origanum dictamnus*. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 8: 155-162.
- ✚ **Korshunov, S.S., Skulachev, V.P., and Starkov, A.A.** (1997). High protonic potential actuates a mechanism of production of reactive oxygen species in mitochondria. *FEBS. Lett.*416: 15-18
- ✚ **Kirmizibekmeza H., Bassarello C., Piacente S. and Pizzab C.** (2006). Triterpene saponins from *Calendula arvensis*, pp. 1170 – 1173.
- ✚ **Kukreja A, Maclaren N.K.** (2002). Les cellules NKT et le diabète de type 1 et "l'hypothèse d'hygiène" pour expliquer la hausse des taux d'incidence. *Technologie et thérapeutique du diabète*, 4 (3), 323-333.

- ✚ **Kumar N., Sharma J. and Sharma, S.** (2010). Pharmacognostical and Phytochemical Investigation of *Calendula Officinalis*. J. Adv. Sci. Res V(1), pp .61-66.

L

- ✚ **LadohYemeda C F, Dibon S D, Nyegue M A, Djembissi Talla R P, LentaNdjakou B, Mpondo E, Yinyang J, Wansi J D.** (2014). Activité antioxydante des extraits méthanoliques de *Phragmantheracapitata* (Loranthaceae) récoltée sur *Citrus sinensis*. Journal of applied Bioscience, 84, 7636-7643 p.
- ✚ **Langlois A.** (2008). Optimisation de la revascularisation des îlots pancréatiques au cours de la transplantation: Approche génétique ou pharmacologique? (Doctoral dissertation, Strasbourg 1).
- ✚ **Larousse.** (2001). Encyclopédie des plantes médicinales, Nouv. éd. mise à jour. ed.
- ✚ **Lefèvre F, Figarol F, Carslaw, K.S. and Peter T.** (1998). The 1997 Arctic Ozone depletion quantified from three-dimensional model simulations. Geophysical Research Letters 25 :doi:10.1029/98GL51812.issn:00094-8276.
- ✚ **Leïla Touati, Tarek Hamel, Amel Meddar-Hamza, Gérard de Bélair.** (2001). *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège, Vol. : 90, articles, p. 213 – 240.*
- ✚ **Lenzen S, Munday R.** (1991). Thiol group reactivity, hydrophilicity and stability of alloxan, its reduction products and its *N*-methyl derivatives and a comparison with ninhydrin. *Biochem Pharmacol*; 42:1385–91.
- ✚ **Lenzen S., Drinkgern J., Tiedge M.** (1996). Low antioxidant enzyme gene expression in pancreatic islets compared with various other mouse tissues. *Free Radic Biol Med.* 20: 463-6.
- ✚ **Lenzen S., Tiedge M., Jorns A., Munday R.** (1996). Alloxan derivatives as a tool for the elucidation of the mechanism of the diabetogenic action of alloxan.
- ✚ **Létard, J.-C., Canard, J.-M., Costil, V., Dalbiès, P., Grunberg, B., Lapuelle, J.** (2015). Commissions nutrition et thérapies complément., *Phytothérapie – Principes généraux: Hegel N° 1, 29.*

- ✚ **Li, H.B., Cheng, K.W., Wong, C.C., Fan, K.W., Chen, F and Jiang, Y.** (2007). Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fractions of selected microalgae. *Foodchem.* 102: 771-776.
- ✚ **Li WL, Zheng HC, Bukuru J, De Kimpeb N** .(2004). Natural medicines used in the traditional Chinese medical system for therapy of diabetes mellitus. *JEthnopharmacol*, **92**: 1 - 21.
- ✚ **Lisu W, Jui-Hung Y, Hsiao-Ling, L, Ming-Jiuan W.** (2003), “Antioxydant effect of methanol extracts from Lotus Plumule and Blossom (*Nelumbo nucifeca* Gertn).” *Journal of food and drug analysis*, 11(1): 60-66.
- ✚ **Lori, N Devan.** (2005). Un guide pratique des plantes médicinales pour les personnes vivant avec VIH.
- ✚ **Loumpangou C N, Arnaud Wilfrid Etou O, Longin Justin Clair Bonazaba M, Béranger Igor Tsati K, Peggy Urielle Bazolo M, Ouamba J, Abena A.** (2016). Caractérisation Phytochimique et Toxicité aigüe des feuilles de *Trema Orientalis* (L.) Blume (Cannabaceae). *J. Soc. Ouest-Afr. Chim*, 042, 52-59p.

M

- ✚ **Mansouri, A., Embarek, G., Kokkalou, E and Kefalas, P.**(2005). Phenolic profile and antioxidant activity of the Algerian ripe date palm fruit (*Phoenix dactylifera*); *Food Chemistry*. 89: 411-420.
- ✚ **Máriássyová M.** (2016). Antioxidant activity of some herbal extracts in rapeseed and sunflower oils. *Journal of Food and Nutrition Research*. V (45), pp. 104-109.
- ✚ **Markham, KR.** (1982). Techniques of flavonoids identification. *Ed. Academic Press, London*. 15:234-243.
- ✚ **Markowicz Bastos, D.H., Saldanha, L. A., Catharino, R.R., Sawaya, A.C.H.F., Cunha, I B.S., Carvalho, P.O., Eberlin, M.N.**(2007). Phenolic Antioxidants Identified by ESI-MS from Yerba Maté (*Ilex paraguariensis*) and Green Tea (*Camelia sinensis*) Extracts. *Molecules*. 12: 423-432
- ✚ **Martine V.** (2012). Progrès en dermato-allergologie. John Libbey Eurotext. Besançon.

- ✚ **Martínez-Cayuela M.** (1995) .Oxygen free radicals and human disease. *Biochimie*, 77: 147-161.
- ✚ **Max W. Robert A. F-C Czygan. D Frohne. K Hiller. Chr Holtzel.** (2003). Plantes thérapeutiques.2ème édition. Paris : éditions médicales internationales (Lavoisier).
- ✚ **Mediacentre.** (2018).Les inconvénients de la phytothérapie. [en ligne]. [consulté le 16/02/2018]. Disponible sur : [http// :www.who.int/mediacentre.com](http://www.who.int/mediacentre.com)
- ✚ **Menon, SG.Goswami.** (2007). A redox cycle withe the cell cycle: ring in the olde with thenew. *Oncogene*, 26: 1101-9.
- ✚ **Moatti, R.** (1990). LA PHYTOTHERAPIE. *Revue des Deux Mondes* 80.
- ✚ **Monnier L.** (2010). Diabétologie Issy les Moulineaux: Elsevier Masson.
- ✚ **Monnier L.** (2014). Diabétologie. 2e édition. Paris, 464 Page (3 ; 4 ; 5).
- ✚ **Monnier.L.** (2019). Diabétologie, 3e éd Elsever Masson, Issy-les-Moulinaux , Cedex. P557.
- ✚ **Montagnier L., Olivier R., Pasquier C.** (1998). *Oxidative stress in cancer, AIDS and neurodegenerative diseases*, Marcel Dekker, New York, 1998.
- ✚ **Moreau Buronzo A.** (2008). Le Grand Guide des Huiles Essentielles: Santé, Beauté, Bien être; Ed : HACHETTE PRATIQUE, p: 14- 43.

N

- ✚ **Naeem Rabeh M and Marwa Ibrahim E.**(2014). Anti-hypercholestrolemic effects of beet (*Beta vulgaris L.*) root waste extract on hypercholestterolemic rats and its antioxidant potential properties. *Pakistan Journal of Nutrition*, 13(9):500-505..
- ✚ **Nelly G.** (2016). L'aromathérapie prodigieuse: les huiles essentielles prennent soin de vous. Edition LANORE. Paris, France.
- ✚ **Nepom, G. T., & Kwok, W. W.** (1998). Molecular basis for HLA-DQ associations with IDDM. *Diabetes*, 47(8), 1177-1184.
- ✚ **Nico V.** (2003).Encyclopédie des plantes médicales et aromatiques. Paris : Maxi livres.

- ✚ **Noble JA, Erlich HA.** (2012). Genetics of type 1 diabetes. Cold Spring Harbor perspectives in medicine. 2012;2:a007732
- ✚ **Noble JA, Valdes AM.** (2011). Genetics of the HLA region in the prediction of type 1 diabetes. Current diabetes reports. 11:533-542.
- ✚ **Nogaret A.S.** (2003). La phytothérapie : Se soigner par les plantes. Ed. Groupe Eyrolles.
- ✚ **Nowitz T., Bottet J.** (2000). Encyclopédie des plantes médicinales : identification, préparation, soins. Edition Larousse.

O

- ✚ **Odile M.** (2004). Biosynthèse des isoprénoides: synthèse d'analogues du 1-désoxy-Dxylulose 5-Phosphate, inhibiteurs potentiels de la voie du méthylérythritol phosphate ;Thèse de Doctorat ;Univ. Louis Pasteur, pp.17-22.
- ✚ **Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K.** (1979). Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction, Anal.Biochem, 95: 351–358.
- ✚ **OMS ,Organisation Mondiale de la santé.** (2002). Stratégie de l'OMS pour la Médecine Traditionnelle pour 2002 – 2005 267.
- ✚ **OMS,Organisation Mondiale de la santé.**(2015). Diabète . Stratégie de l'OMS pour la Médecine Traditionnelle pour 2015.
- ✚ **Ong, S., Foote, C., Tan, C.** (2010). Mutations of DMYP1 cause over constriction of contractile rings and ring canals during Drosophila germline cyst formation. Dev. Biol. 346(2): 161--169.

P

- ✚ **Palsamy,P ,Subramanian,S.**(2008). Resveratrol, a natural phytoalexin, normalizes hyperglycemia in streptozotocin-nicotinamide induced experimental diabetic rats. 10.1016/j.biopha.2008.06.037.
- ✚ **Paolini J., Barboni T., Desjobert J.M., Djabou N., Muselli A. and Costa J.**(2010). Chemical composition, intraspecies variation and seasonal variation in

- essential oils of *Calendula arvensis* L. *Biochemical Systematics and Ecology*. pp. 865–874.
- ✚ **Patricia I.O., Wtherine L.O., Cesar C.F et Carl L.K.** (1995). Zinc deficiency causes oxidative damage to protein, lipids and DNA in rats testes. *Nutr.* 125 ; p : 823-829.
- ✚ **Patterson CC, Gyurus E, Rosenbauer J, Cinek O, Neu A, Schober E, et al.** (2012). Trends in childhood type 1 diabetes incidence in Europe during 1989-2008: Evidence of non-uniformity over time in rates of increase. *Diabetologia*. 55:2142-2147.
- ✚ **Pelt, J. M.** (1980). *Les drogues, leur histoire et leurs effets*. Édition Doin, Paris : 221p.
- ✚ **Perez, J. M. ; Maertens, L. ; Villamide, M. J. ; de Blas, J. C.** (1998). Tables of composition and nutritive value of feedstuffs for rabbits: First proposal from an European working group. 7èmes Journ. Rech. Cunicole Fr., Lyon, 141-14.
- ✚ **Pharmacopée Française.** (2013). Tisanes.
- ✚ **Philips JC, Radermecker RP.** (2012). Type 1 diabetes: From genetic predisposition to hypothetical environmental triggers. *Revue médicale de Liege*. 67:319-325.
- ✚ **Pietta P G.** (2000). Flavonoids as antioxidants. *Journal of natural products*. Vol 63: 1035-1042.
- ✚ **Pincemail J, Meurisse M, Limet R et Defraigne J O.** (1999) .L'évaluation du stress oxydatif d'un individu: une réalité pour le médecin. *Vaisseaux, Coeur, Poumons*, 4 (5).
- ✚ **Poitout, V., and Robertson, R.P.** (2002). Minireview: Secondary beta-cell failure in type 2 diabetes--a convergence of glucotoxicity and lipotoxicity. *Endocrinology* 143, 339-342.
- ✚ **Pourrut, B., Perchet, G., Silvestre, J., Cecchi, M., Guiresse, M., et Pinelli E.** (2008). Potential role of NADPH-oxidase in early steps of lead-induced oxidative burst in *Vicia Faba* roots. *Journal of Plant Physiology* 165(6), 571-579.
- ✚ **Pousset, J.L.** (1989). *Plantes médicinales africaines*. Edition Ellipses.
- ✚ **Prangthip, P., Surasiang, R., Charoensiri, R., Leardkamolkarn, V., Komindr, S., Yamborisut, U., Vanavichit, A., Kongkachuichai, R.** (2012). Amelioration of hyperglycemia, hyperlipidemia, oxidative stress and inflammation in streptozotocin-

induced diabetic rats fed a high fat diet by riceberry supplement. *Functional Foods* 5 (1): 195–203.

- ✚ **Procopiou, M.** (2006). HbA1c: review and recent developments. *Rev Médicale Suisse*.
- ✚ **Puppo, A. Halliwell, B.** (1988). «Formation of hydroxyl radicals from hydrogen peroxide in the presence of iron. Is haemoglobin a biological Fenton reagent?», *J Biochemistry*, n°249, p. 185-90.

Q

- ✚ **Qi, D., Bergman, M., Aihara, H., Nibu, Y., Mannervik, M.** (2008). Drosophila Ebi mediates Snail-dependent transcriptional repression through HDAC3-induced histone deacetylation. *EMBO J.* 27(6): 898--909.
- ✚ **Quézel P. et Santa S.** (1963). *Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales*. Tome II. CNRS, Paris, 603p.

R

- ✚ **Racah, D.** (2004). Épidémiologie et physiopathologie des complications dégénératives du diabète sucré. *EMC - Endocrinol.* 1, 29–42. doi:10.1016/j.emcend.2003.10.003.
- ✚ **Ramachandran, V., Saravanan, R.** (2013). Asiatic acid prevents lipid peroxidation and improves antioxidant status in rats with streptozotocin-induced diabetes. *Functional Foods* 5: 1077-1087.
- ✚ **Ré, D.B., Nafia, I., Nieoullon, A., Kerkerian, L., Had-Aissouni, L.,** (2005). Cerebral oxidative stress: are astrocytes vulnerable to low intracellular glutamate concentrations? Consequences for neuronal viability. *Annales Françaises d'Anesthésie et de Réanimation*, 24, 502–509. doi: 10.1016/j.annfar.2005.03.004.
- ✚ **Rice-Evans C.A. Packer L.** (1996). *Flavonoids in Health and Disease*, Second Edition. CRC Press, p.504.
- ✚ **Rigane G., Ben Younes S., Ghazghazi H. and Ben Salem R.** (2013). Investigation into the biological activities and chemical composition of *Calendula officinalis* L. growing in Tunisia. *International Food Research Journal*, V6), pp. 3001-3007.

- ✚ **Rodier, M.** (2001). Définition et classification du diabète. Médecine nucléaire imagerie fonctionnelle et métabolique. Edition Centre Hospitalier Universitaire-Nimes. 25(2):91-93. <https://www.docteurcllic.com/maladie/diabete-non-insulino-dependant-type-2-DNID.aspx>. Fonctionnelle et métabolique. Edition Centre Hospitalier Universitaire-Nimes.
- ✚ **Roopashree T.S., Dang R., Rani S. and Narendra C.** (2008). Antibacterial activity of antipsoriatic herbs: *Cassia tora*, *Momordica charantia* and *Calendula officinalis*. International Journal of Applied Research in Natural Products. V1(3), pp. 20-28.
- ✚ **Roep, B. O., Atkinson M, Vonherrath M** (2004). 'Satisfaction (not) guaranteed : reevaluating the use of animal models of type 1 diabetes. 'Not Rev Immunol 4(12) : 989-997.
- ✚ **Rosen GM, Pou S, Ramos CL, Cohen MS, Britigan BE.** (1995). Free radicals and phagocytic cells. FASEB J. 1995 Feb; 9(2):200-9. doi: 10.1096/fasebj.9.2.7540156. PMID: 7540156.
- ✚ **Roger H.** (2011). La gemmothérapie: La santé par les bourgeons. Dangles édition. France.
- ✚ **Rock E.** (2003). Stress oxydant, micronutriments et santé. Inra – CRNH, unité des maladies métaboliques et micronutriments 63122 St Genès Champanelle. Université d'été de nutrition Clermont- Fenand, 37-42.

S

- ✚ **Sakurai T, Tsuchiya S.** (1988). Superoxide productin from nonenzymatically glycated proteins. *FEBS Lett* ; 236:406–10.
- ✚ **Salle J-L.** (1991). Le totum en phytothérapie: approche de phyto-biothérapie. Paris: Frison-Roche, 239p.
- ✚ **Sanchez-moreno C.** (2002). Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *International Journal of Food Science and Technology*. 8: 121-137.
- ✚ **Sandrine C-H et Pascale S.** (2011). Le guide de l'homéopathie pour la famille. ESI Editions. France.

- ✚ **Saravanan R, Pari L** .(2005). Antihyperlipidemic and antiperoxidative effect of Diasulin, a polyherbal formulation in alloxan induced hyperglycemic rats. *BMC Complement Altern Med*, **5** :14 - 21.
- ✚ **Sarkhail P, Rahmanipour S, Fadyevatan S, Mohammadirad A, Dehghan G, Amin G, Shafiee A, Abdollahi M** .(2007). Antidiabetic effect of *Phlomis anisodonta*: Effects on hepatic cells lipid peroxidation and antioxidant enzymes in experimental diabetes. *Pharmacological Research*, **56** : 261 - 266.
- ✚ **Sebbagh N, Chabane Sari D, ATaleb S, Ouali F, Magnan C, Ktorza A** . (2007). Évaluation du profil du stress oxydatif chez des rats Wistar rendus diabétiques et ayant reçu un régime à base de l'huile de coloquinte à pouvoir hypoglycémiant. *Diabètes & Métabolisme*. 33:153.
- ✚ **Sarkhail P., Rahmanipour S., Fadyevatan S., Mohammadirad A., Dehghan G., Amin G., Shafiee A and Abdollahi M.** (2007). Antidiabetic effect of *Phlomis anisodonta*: Effects on hepatic cells lipid peroxidation and antioxidant enzymes in experimental diabetes. *Pharmacological Research*, **56**; p: 261 - 266.
- ✚ **Shaheen ,S., Mushtaq ,A., Haroon1, N., Khan ,F., Hussain ,A., Zafar, M., Ramzan1 ,S., Rabail ,A. and Khalid1, K.** (2012). Systematic and ethnopharmacognostic investigation of selected medicinal plants of family Asteraceae. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*. V (6), pp. 3184-3194.
- ✚ **Shamaony,L, Khazraji,S.M, Twaij,H.A.**(1994). Hypoglycaemic effect of *Artemisia herba alba*. II. Effect of a valuable extract on some blood parameters in diabetic animals. 1994 Jul 22;43(3):167-71. doi: 10.1016/0378-8741(94)90038-8.
- ✚ **Sharma, A., Kharb, S., Chung, S.N., Kakkar, R., Singh, G.P.**(2000). Evaluation of oxidative stress before and after control of glycemia and after Vitamin E supplementation in diabetic patients. *Metabolism*. 49: 160-162.
- ✚ **Sharma ,SB, Balomajumder ,C, Roy ,P.**(2008). Hypoglycemic and hypolipidemic effects of flavonoid rich extract from *Eugenia jambolana* seeds on streptozotocin induced diabetic rats. *Food and Chemical Toxicology*, **46** : 2376 - 2383.
- ✚ **Signorini, C., De Felice, C., Durand, T., Oger, C., Galano, J. M., Leoncini, S., Pecorelli ,A., Valacchi, G., Ciccoli, L. and Hayek, J.**(2013). Isoprostanes and 4-hydroxy-2-nonenal: markers or mediators of disease? Focus on Rett syndrome as a

- model of autism spectrum disorder. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 343824.
- ✚ **Sindhu, R.K., Koo, J.R., Roberts, C.K., Vaziri, N.D.** (2004). Dysregulation of hepatic SOD, CAT and GSH-Px in diabetes: response to insulin and antioxidant therapy. *Clin. Exp. Hypertens.* **26**: 43-53.
 - ✚ **Sohal R.S., Mockett, R.J., W.C. Orr.** (2002). Antioxidants and Quality of Aging: Further Evidences for a Major Role of *TXNRD1* Gene Variability on Physical Performance at Old Age, *J. Free Radical Biology. Medicine*, **33**, 575–586.
 - ✚ **Sorg, O.** (2004). Oxidative stress: a theoretical model or a biological reality? *Comptes rendus Biologies* .**327**: 649-662.
 - ✚ **Strang, C.** (2006). Larousse medical. Ed Larousse
 - ✚ **Sudha, M.J.** (2012). Study of hypoglycemic effect of murrayakoenigiileaf extract in streptozotocin induced diabetic rats. These de doctorat. Université de mangalore .2012.
 - ✚ **Szkudelski, T.** (2001). The Mechanism of Alloxan and Streptozotocin Action in B Cells of the Rat Pancreas. *Physiol. Res.* , **50**: 536-546.

T

- ✚ **Tesfaye S, Chaturvedi N, Eaton Sem, Ward Jd, Manes C, Ionescu-Tirgoviste C, Witte Dr, Fuller Jhn.** (2005). For the EURODIAB Prospective Complications Study Group Vascular Risk Factors and Diabetic Neuropathy. *NEJM*; **352** : 341-350 .
- ✚ **Tietz N.W.** (1999). Text book of clinical chemistry, 3rd Ed. C.A. Burtis, E.R. Ashwood, W.B. Saunders p. 676-684 et p. 1429-1431.
- ✚ **Torres, R.** (2006). Antioxidant activity of coumarins and flavonols from the resinous exudates of *Haplopappus multifolius*; *Phytochemistry*. **67**: 984-987.
- ✚ **Trease, GE and Evans, IC.** (1983). Text book of pharmacognosy. 12th edn. London: Bailliere Tindall. p: 21–2.
- ✚ **Tsimogiannis, Oreopoulou, V.** (2006). Characterization of flavonoid subgroups and hydroxy substitution by HPLC -MS/MS. *Molecules*. **12**: 593-606
- ✚ **Tutin T., Heywood H.** (1976). *Flora Europaea: Plantaginaceae to Compositae (and Rubiaceae)*. Cambridge University Press. p 534.

V

- ✚ **Valdigué P.** (2000). Biochimie Clinique. Edition Médicales internationales (2ème édition). Paris. p: 340.
- ✚ **Valko, M. Leibfriz, D. monocol, J. Mark, T. Mazue, M. Telsler, J.** (2007). « Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease », In Biochem Cell Biol, n°39, p. 44-84
- ✚ **Vasconcelos SML, Goulart Mof, Moura JBF, Manfredini V, Benfato M, Kubota LT.**(2007). Espèces réactives de oxigène et al de nitrogène, antioxydants e mascadores de dano oxidativo em sangue humano: principais metodos analiticoa sua determinações. Quim Nova, 30(5):1323-38.
- ✚ **Vertuani, S., Angusti, A., Manfredini, S.**(2004). The antioxidants and pro-oxidants network: an overview. Curr. Pharm. Des. 10: 1677-1694.
- ✚ **Vicki P.** (2004). Aromatherapy: A Practical Approach. Nelson thornes Ltd. Cheltenham, Angleterre.
- ✚ **Vivot, K.** (2012). Identification des mécanismes cellulaires et moléculaires à l'origine de la perte précoce des îlots pancréatiques au cours de la transplantation (Doctoral dissertation, Université de Strasbourg).

W

- ✚ **Wahba, HE, Motawa, HM, Ibrahim, AY.**(2014). Effect of nitrogen fertilizers on productivity of Urtica pilulifera plant, Nusantara bioscience. 6(1):49-56.
- ✚ **Wang, J., Yang, Z., Lin, L., Zhao, Z., Liu, Z. & Liu, X.** (2012). Protective effect of Naringenin against lead-induced oxidative stress in rats. Biological Trace Element Research, 146:354–359.
- ✚ **Waston R.R.** (2014). Polyphenols in Plants: Isolation, Purification and Extract Preparation. Academic Press. p 360.
- ✚ **Ward, J.F.** (1988). "DNA damage produced by ionizing radiation in mammalian cells: identities, mechanisms of formation, and reparability". Progress in Nucleic Acid Research and Molecular Biology. 35 (3): 95–125. doi:10.1016/s0079-6603(08)60611-x. ISBN 9780125400350. PMID 3065826.

- ✚ **Wellen K.E. & Hotamisligil G.S.** (2005). Inflammation, stress, and diabetes. *Journal of Clinical Investigation*, 115(5): 1111-1119. doi: 10.1172/JCI25102.
- ✚ **Wémeau.J-L, Vialettes.B, Schlienger.J-L.** (2014). Le diabète type 2, in : *Endocrinologie, diabète ,métabolisme et nutrition pour le praticien*, ed Elsevier Mansson, Issy-Les-Moulineaux cedex ,227-233.
- ✚ **Wens J, Sunaert P, Nobels F, Feyen L, Crombruggen P-V, Bastiaens H, Royen P-V.** (2007). Diabète de type II : Recommandation de bonnes pratiques. 02 : 7-10.
- ✚ **West, I.C.**(2000). Radicals and oxidative stress in diabetes. *Diabetic Medicine*. 17: 171-180.
- ✚ **Wichtl M., Anton R.** (1999). *Plantes thérapeutiques: traditions, pratiques officinales, science et thérapeutique*. Paris: Tec & Doc, p636.
- ✚ **William, J. M., Marshall, S., & Stephen, K. Bongret.** (2005). *Biochimie Medical Physiologie et Diagnostic*. P, 385.
- ✚ **Wollenweber, E.**(1988). *Plant flavonoids in biology and medicine II: biochemical, cellular and medicinal properties*. *Progress in clinical and biological research*. New York: Alan R.Liss. 45.
- ✚ **Wolff S.P, Bascal Z.A and Hunt J.V.**(1989).& quot;Autoxidative glycosylation"; free radicals and glycation theory. *Prog. Clin. Biol. Res.*, 304; p: 259-75.
- ✚ **Wright S., Keele CA.** (1980). *Neil E. Physiologie appliquée à la médecine*. 2ème Edition Flammarion-Sciences, Paris

Y

- ✚ **Yasuhiro,H., Hideki,F., Masafumi,F.** (2009). Role of oxidative stress in diabetic bone disorder. *Bone*. 45:35-38.
- ✚ **Yu R, Mandlekar, S, Tony Kong A,N.** (2000), "Molecular mechanisms of butylated hydroxyanisole induced toxicity: induction of apoptosis through direct release of cytochrome c." *Molecular Pharmacology*, 58.

Z

- ✚ **Zbadi, R., Mohti, H., Moussaoui, F.** (2018). Stress oxydatif: évaluation du pouvoir antioxydant de quelques plantes médicinales. *Medecine Therapeutique* 24, 134–141.
- ✚ **Zhang, Q., Li, N., Zhou, G., Lu, X., Xu, Z. and Li, Z.**(2003). *In vivo* antioxidant activity of polysaccharide fraction from *Porphyra haitanesis* (Rhodophyta) in aging mice. *Pharmacological Research*. 48: 151-155.
- ✚ **Zhao ,T.** (2014). Caractérisations chimiques et biologiques d'extraits de Plantes Aromatiques et Médicinales oubliées ou sous-utilisées de Midi-Pyrénées (France) et Chongqing (Chine). Thèse Doctorat. Institut National Polytechnique de Toulouse (INP Toulouse), Université de Toulouse.

Annexes

Annexe 1 : Courbes d'étalonnage

1. Courbe d'étalonnage d'acide gallique

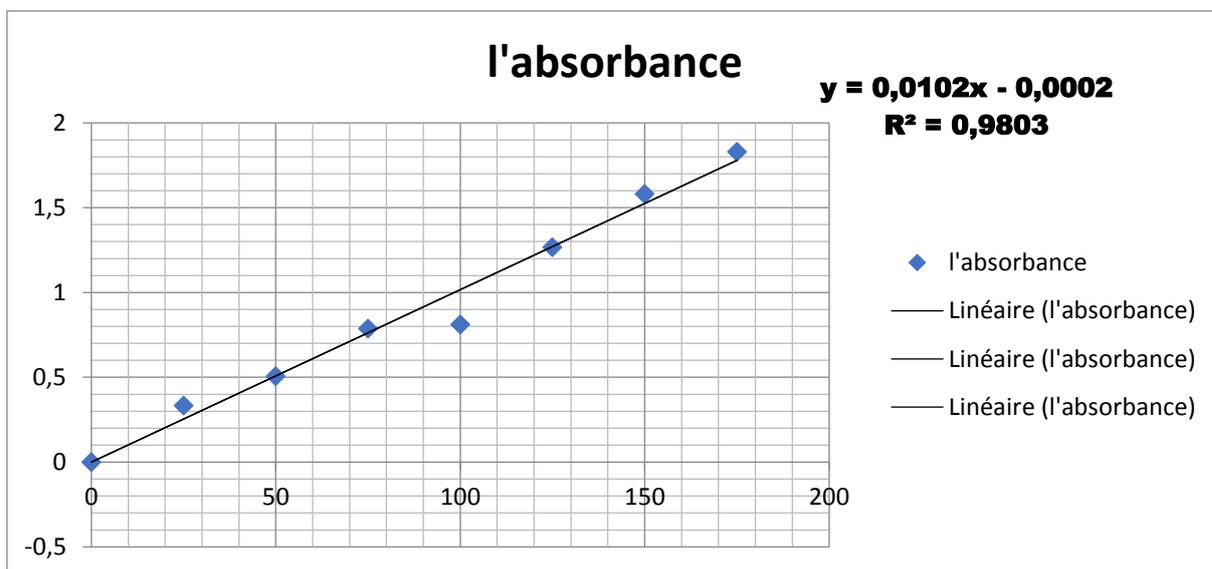


Figure 1. Courbe d'étalonnage d'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux

2. Courbe d'étalonnage de la quercétine

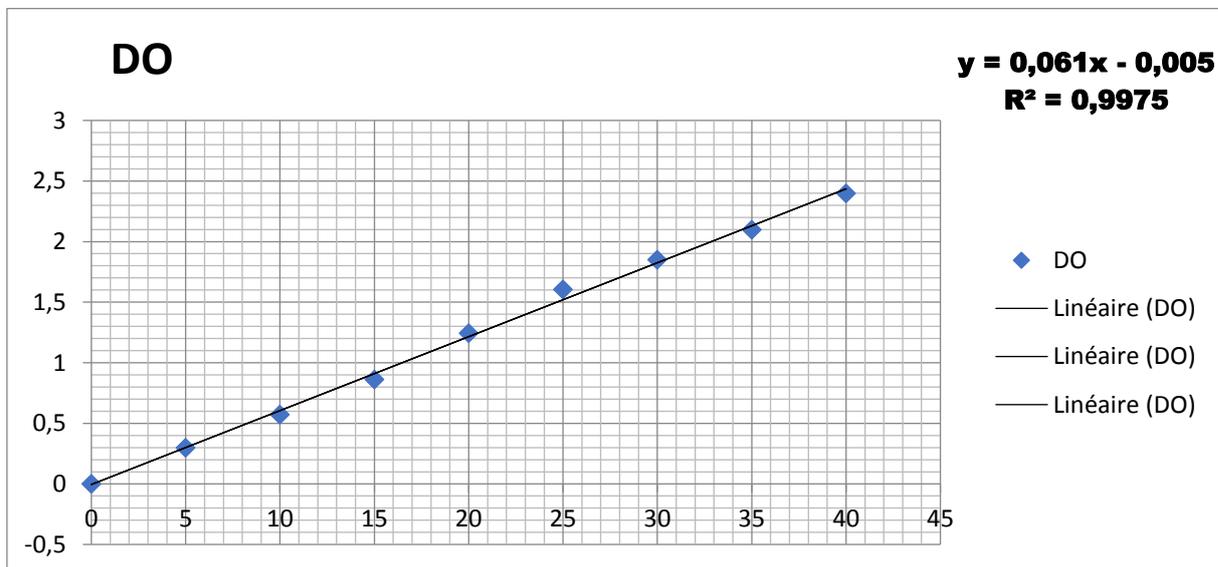


Figure 2. Courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonoïdes totaux

3. Courbe d'étalonnage de protéine

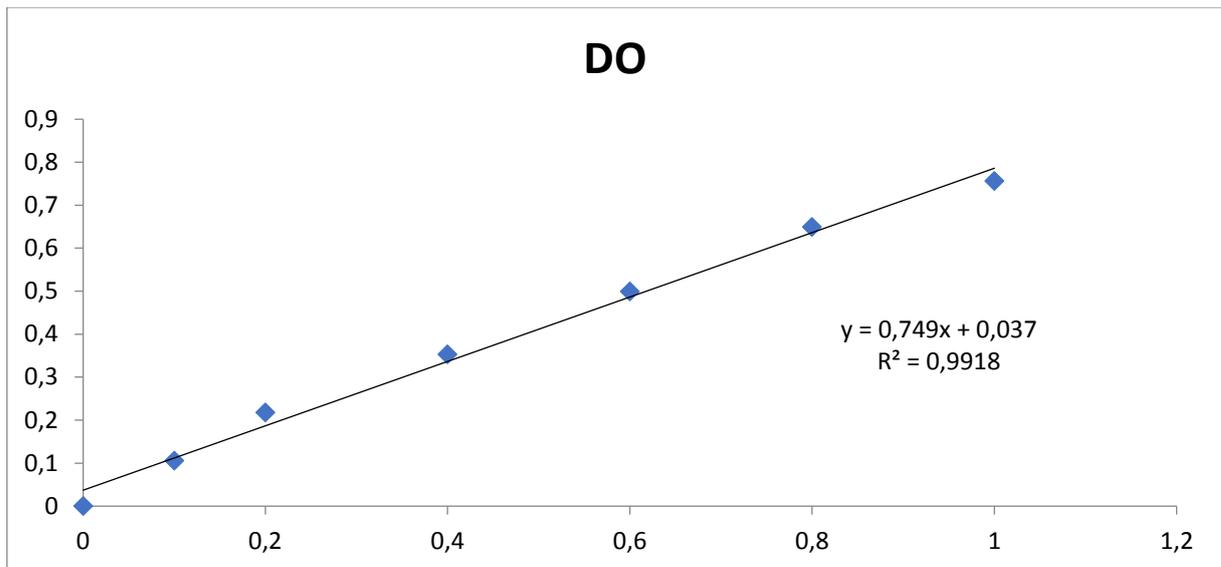


Figure 3. Courbe d'étalonnage de protéines pour le dosage des SOD et GSH-Px.

4. Courbe d'étalonnage de l'MDA

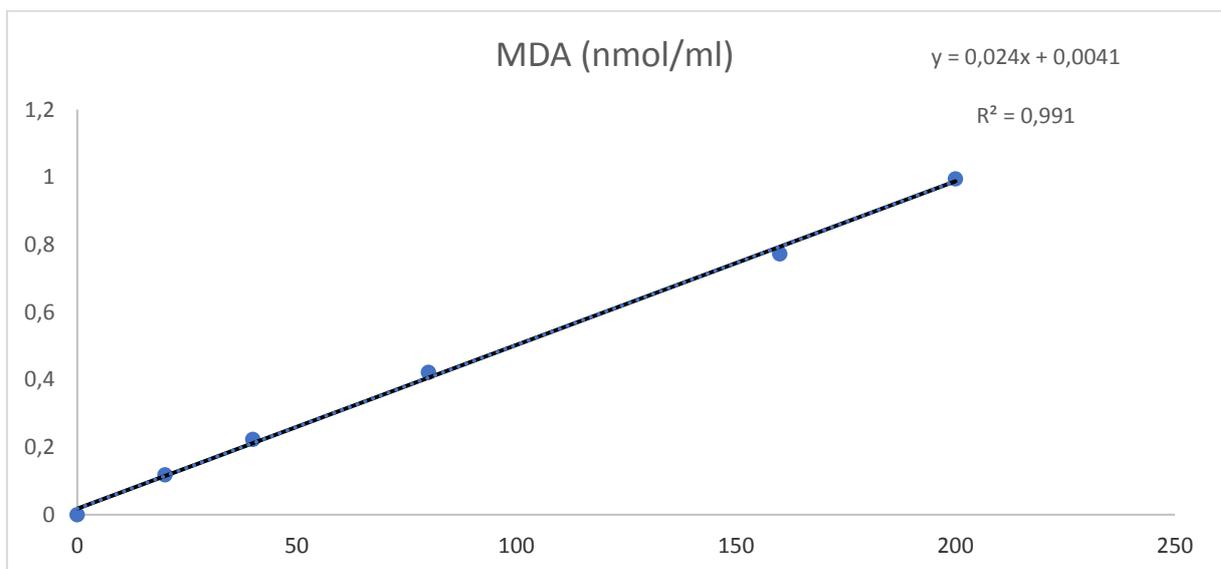


Figure 4. Droite d'étalonnage pour le dosage de MDA.