

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

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

UNIVERSITE 8 MAI 1945 GUELMA  
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET SCIENCES DE LA TERRE ET  
DE L'UNIVERS  
DEPARTEMENT DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE



## Mémoire de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière: Biologie

Spécialité/Option : Immunologie approfondie

---

**Thème: Les effets de l'extrait méthanolique de deux plantes (*Bêta vulgaris* et *Ruta chalepensis*) sur quelques paramètres de stress oxydant induit au cours de diabète.**

---

Présenté par :

Kouti Soumia

Belambri Asma

Devant le jury composé de :

Présidente : M<sup>me</sup>BOUSSAADIA

M.A.A

Université de Guelma

Examinatrice: M<sup>me</sup> ABDAOUI

M.A.B

Université de Guelma

Encadreur : M<sup>elle</sup>. HAMDIKEN

M.A.A

Université de Guelma

Juin 2014

# *Remerciements*

---

*Avant toutes choses, nous remercions Dieu, le tout puissant, pour nous a donné  
la force et la patience.*

*Nos profonds remerciements et nos vive connaissance à Melle **Hamdiken Malika**,  
maitre conférence à l'université Guelma pour avoir encadrée et dirigée ce travail  
avec une grande rigueur scientifique, sa disponibilité, ses conseils et la confiance que  
nous s'accordées durant la réalisation de ce travail.*

*Nous adressons nos sincères remerciements à Mme **Boussaadia**, maitre conférence à  
l'université Guelma d'avoir acceptée de présider le jury.*

*A Mme, **Abdaoui** maitre de conférence à l'université de Guelma de l'honneur qu'elle  
nous a fait en acceptant d'examiner ce mémoire.*

*Nous exprimemons nos vifs remerciements à Mr **Bouden** , maitre conférence à  
l'université de Guelma pour leur aide .*

*Aux personnels du laboratoire de l'université de Guelma , en particulier **Ratiba** pour  
leur aide.*

*A nos familles*

*À tous nos amis.*

*À toute personne qui a participé de près ou de loin, directement ou indirectement, à la  
réalisation de ce travail.*

*Merci beaucoup*

***Soumia et Asma***

## Résumé

---

Au cours du diabète, le stress oxydant et les anomalies lipidiques sont fréquents, prononcés et représentent des facteurs importants en cause dans le développement des complications liées au diabète. 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.

L'objectif de cette étude est la recherche de l'effet antidiabétique de deux espèces locales *Ruta chalepensis* et *Bêta vulgaris* chez des rats mâles wistar récurant un régime alimentaire pauvre en zinc.

Les résultats obtenus dans la présente étude montrent clairement que la streptozotocine a induit chez l'animal un diabète caractérisé par une hyperglycémie, une élévation des marqueurs du stress oxydant et une diminution du système de défense antioxydant.

Cependant la carence du zinc dans l'alimentation des rats diabétiques a favorisé les complications du diabète.

L'administration orale de l'extrait méthanolique lyophilisé de *Ruta chalepensis* et de *Bêta vulgaris* pendant 21 jours à une dose journalière de 500 mg/kg a provoqué une diminution significative de la concentration sérique de glucose chez les rats diabétiques par rapport aux diabétiques témoins

D'autre part, l'extrait méthanolique a également entraîné une nette amélioration du statut antioxydant dans les tissus étudiés (foie, cœur et reins). En effet, la diminution de la concentration du mlonyldialdéhyde (MDA) et l'accroissement du taux du glutathion réduit (GSH)

En conclusion, les deux extraits méthanoliques (*Ruta chalepensis* et *Bêta vulgaris*) sont doués d'activité antidiabétique et antioxydante remarquables. De ce fait il peut constituer une ressource naturelle pour les futures études sur le diabète sucré et ses complications.

---

**Mots clé :** diabète type 1, activité antioxydante, extrait méthanolique, *Ruta chalepensis*, *Bêta vulgaris*, activité antidiabétique

## Abstract

---

Our work has focused on the study of the effect of methanol extract of *Ruta chalepensis* and *Bêta vulgaris* against type 1 diabetes, oxidative stress, and thus the study of the histology of the pancreas.

Phytochemical analysis reveals the presence of saponins, flavonoids, coumarins, tannins and mucilages in both plants, while the presence of alkaloids in *Ruta chalepensis* only.

The dosage of polyphenols and flavonoids performed on these methanol extracts were determined from gallic acid and quercetin calibration curves respectively. Our results revealed the richness of *Ruta chalepensis* polyphenol flavonoids and the methanol extract of *Bêta vulgaris*.

TLC analysis revealed the presence of quercetin and gallic acid in the two methanolic extracts *Ruta chalepensis* and *Bêta vulgaris* chromatographic thin layer.

The results obtained in this study clearly show that the streptozotocin induced in male Wistar rats of diabetes characterized by hyperglycemia, an elevation of markers of oxidative stress and decreased enzymatic defense system and non-enzymatic antioxidant.

However, the analysis of the antidiabetic effect showed a decrease in blood sugar runs in the regular treatment for 21 days by oral administration of two methanol extracts.

On the other hand, the two methanol extracts were also a significant improvement driven antioxidant status in tissues studied (liver, heart and kidneys). Indeed, the decreased concentration of malonyldialdehyde (MDA) and the increase rate of the reduced glutathione (GSH).

In conclusion; both methanol extracts *Ruta chalepensis* and *Bêta vulgaris* are endowed with remarkable antioxidant and antidiabetic activity. Thus it can be a natural resource for future studies on diabetes mellitus and its complications.

### Keywords:

---

Type 1 diabetes, antioxidant activity, methanol extract, *Ruta chalepensis*, *Bêta vulgaris*, antidiabetic activity.



## المخلص

يعتبر الإجهاد التأكسدي والإختلال الليبيدي في مرض السكري أمرا معتادا وتعتبر هذه الإضطرابات من العوامل الهامة التي تؤدي إلى ظهور المضاعفات المرتبطة بهذا الداء. الكثير من المركبات الثانوية المستخلصة من النباتات تمتلك تأثير مضاد للتأكسد و قدرة في الوقاية من الآثار السمية للإجهاد التأكسدي أثناء مرض السكري.

الهدف من هذه الدراسة هو البحث عن الأثر المضاد للسكري لنبتتين محليتين *Bêta vulgaris* و *Ruta chalepensis* عند جرذان Wistar ذكور تحت نظام غذائي منقوص من الزنك.

النتائج المتحصل عليها في هذه الدراسة أظهرت جليا أن الستربتوزوتوزين يحرض عند الحيوان مرض السكري و يتميز بارتفاع مستوى الجلوكوز في المصل و ارتفاع مؤشرات الإجهاد التأكسدي و انخفاض في نظام الدفاع المضادة للأكسدة.

من جهة اخرى فإن نقص الزنك في تغذية الجرذان المصابة بالسكري يساهم في زيادة مضاعفات هذا المرض.

أدى تناول المتكرر لجرعات من المستخلص الميثيلي لنبتتي *Bêta vulgaris* و *Ruta chalepensis* لمدة 21 يوم بجرعة يومية 500 مغ/كغ الى انخفاض معتبر في مستوى الجلوكوز في المصل عند الجرذان المصابة بداء السكري مقارنة مع الشواهد.

من جهة أخرى أظهر المستخلص الميثانولي تحسن ملحوظ في تكوين الجذور الحرة على مستوى الأنسجة المدروسة كما أحدث انخفاضا في تركيز التأكسد الليبيدي و ارتفاع مستوى الغلوثاثيون المرجع.

وفي الختام تبين لنا ان المستخلصين الميثانوليين لهما فعالية مضادة لداء السكري و التأكسد و بهذا يمكن أن يشكل أداة قيمة للموارد الطبيعية من أجل دراسات مستقبلية عن مرض السكري و مضاعفاته

### الكلمات المفتاحية:

مرض السكري نوع 1، النشاط المضاد للأكسدة، المستخلص الميثانولي، النشاط المضاد لمرض السكري، *Bêta*

*Ruta chalepensis vulgaris*

## Liste des abréviations

ADN	Acide désoxyribonucléique.
AGE	Produits de glycation avancée.
DID	Diabète insulino- dépendant.
EMBV	Extrait méthanolique de Béta vulgaris.
EMRC	Extrait méthanolique de Ruta chalepensis.
ERO	Espèce réactive oxygénée.
GK	Goto-Kakizaki.
GPx	Glutathion peroxydases.
GSH	Glutathion réduit
GSHPX	Glutathion peroxydase et réductase
GSSG	Glutathion oxydé.
HLA	Humaine Leucocyte Antigène
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Peroxyde d'hydrogène.
MDA	Malonyl di aldéhyde
MODY	Monogénétique diabetes of young
NO·	Monoxyde d'azote.
O <sub>2</sub>	Oxygène.
OH·	Radical Hydroxyle.
OMS	Organisation Mondiale de la Santé.
PKC	Protéine kinase C.
RL	Radicaux Libres.
ROS	Reactive oxygen species.
SOD	Superoxyde dismutase.
STZ	Streptozotocine.
TBA	Acide thiobarbiturique
TCA	Acide trichloracétique
TBARS	Substances réactives de l'acide thiobarbiturique
TBHQ	Tatrabutylhydroquinone
TRX	Thiorédoxine.
UV	ultrat violet
Zn	Zinc



## LISTE DES FIGURES

---

Figure 1:Activation du système immunitaire conduisant à la mort des cellules $\beta$	7
Figure 2: formes d'utilisation des plantes médicinales	15
Figure 3: <i>Ruta chalpensis</i>	18
Figure 4: <i>Bêta vulgaris</i> .	19
Figure 5: Protocole de l'extraction	23
Figure 6: Droite d'étalonnage de l'acide gallique.	25
Figure 7: Droite d'étalonnage de la quercetine	25
Figure 8: schéma de protocole expérimental.	29
Figure 9: Courbe d'étalonnage de Glutathion réduit GSH.	32
Figure 10: Le rendement de l'extraction en % .	35
Figure 11:chromatographie sur couche mince des deux extraits méthanoliques.	36
Figure 12: Teneur des polyphénol et des flavonoïdes des deux extraits	38
Figure 13: Courbe du suivie de la glycémie durant le traitement	40
Figure 14: Pourcentage de la variation de la Glycémie chez les rats	40
Figure 15 : Dosage du GSH tissulaire au niveau du foie , des reins et du coeur.	42
Figure 16: Dosage de l'MDA tissulaire au niveau du foie, des reins et du coeur.	44
Figure 17:Photos des coupes histologiques du pancréas	45

## LISTE DES TABLEAUX

---

Tableau 1: Classifications de diabète	4
Tableau 2: Composition de la nourriture	27
Tableau 3: La quantité des métaux	27
Tableau 4: Rendement de l'extraction	35
Tableau 5: Résultats des tests phytochimiques	36
Tableau 6: Dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes dans l'EMBV et l'EMRC	38
Tableau 7: Effet de l'administration orale de EMBV, EMRC, Glibenclamide et de l'eau physiologique sur la glycémie	41

## I. ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

<b>Introduction</b>	<b>1</b>
<b>Chapitre 1</b>	
<b>1. Le diabète</b>	
1.1. Définition	3
1.2. Classifications de diabète	3
1.2.1. Le diabète de type I	3
1.2.2. Le diabète de type II	3
1.3. Les facteurs déclencheurs de diabète	4
1.4. Complications de diabète	5
1.4.1. Le diabète de type 1 et auto-immunité	5
1.5. Zinc et diabète	7
<b>Chapitre 2</b>	
<b>2. Stress oxydant</b>	
2.1. Définition du stress oxydant	9
2.2. Les radicaux libres	9
2.2.1. Définition	9
2.3. Les cibles biologiques du stress oxydant	9
2.4. Les antioxydants	10
2.4.1. Définition	10
2.4.2. Classification des systèmes antioxydants	10
2.5. Implication du stress oxydant dans le diabète	13

## **Chapitre 3**

### **3. La phytothérapie**

3.1. Définition de La phytothérapie	14
3.1.1. Différents types de la Phytothérapie	14
3.2. La définition d'une plante médicinale	15
3.3. Principes actifs des plantes médicinales	15
3.4. Les plantes sélectionnée	17
3.4.1. .Ruta chalepensis	17
3.4.2. Bêta vulgaris« var. cicla»	18

## **II. PARTIE EXPERIMENTALE**

### **Matériel et Méthodes**

1. Modèle végétale	20
1.1. Matériel végétale	20
1.2. Méthode	20
1.2.1. Etude phytochimique	20
2. Modèle animal	26
2.1. .Matériel animal	26
2.2. Méthode	26
2.2.1. Induction du diabète sucré chez les rats	26
2.2.2. La préparation de la nourriture	26
2.2.3. Traitement des animaux	27
2.2.4. prélèvement du sang	28
2.2.5. préparation des homogénats	28
2.2.4. préparation des échantillons des coupes histologiques	28
2.2.7. Dosage biochimique	30

2.2.8. .Analyse des paramètres tissulaires	30
1.2.9. Etude histologique	32
1.2.10. Etude statistique	34
<b>Résultats</b>	
1. Modèle végétale	35
1.1. Préparation de l'extrait méthanolique des deux plantes <i>Bêta vulgaris</i> « <i>var.cicla</i> » et <i>Ruta chalepensis</i>	35
1.2. Etude phytochimique	35
1.2.1. tests phytochimiques	35
1.2.2. Chromatographie sur couche mince	36
2.1.3. Analyses de l'EMBV et l'EMRC	38
2. Modèle animal	38
2.1. Suivie de la glycémie pendant le traitement	39
2.2. Dosages des paramètres tissulaires	41
<b>Discussion</b>	
1. Partie végétale	47
2. Partie biologie	49
<b>Conclusion</b>	<b>53</b>
Références bibliographiques	
Annexes	
Abstract	
المخلص	
Résumé	





# *Introduction*

Depuis quelques années, le monde des sciences biologiques et médicales est envahi par un nouveau concept, celui du « stress oxydant », c'est-à-dire d'une situation où la cellule ne contrôle plus la présence excessive des radicaux oxygénés toxiques. Actuellement, il est bien admis que même si un stress oxydant n'est pas une maladie en soi, il est potentiellement impliqué dans de nombreuses maladies comme facteur déclenchant ou associé à des complications lors de leur évolution comme dans le cas du diabète.

Le diabète sucré représente un groupe hétérogène de maladies métaboliques qui touche aujourd'hui 150 millions de personnes, sur tous les continents, soit environ 3% de la population mondiale. Il se caractérise par une hyperglycémie résultant d'un défaut de sécrétion, d'action de l'insuline ou de ces deux anomalies associées. Il est responsable de 9% de la mortalité totale, tuant chaque année 4 millions de malades ce qui prend les proportions d'une véritable épidémie (**Ravi et al., 2005**)

Le zinc est un oligo-élément important. Il est indispensable à un certain nombre de fonctions biochimiques et physiologiques, il intervient dans l'activité de près de 300 enzymes [**Judith J et al., 2009**]. Il joue également un rôle dans la plupart des métabolismes (synthèse et dégradation des glucides, lipides, protéines et acides nucléiques). Il agit aussi au niveau du métabolisme hormonal, il joue un rôle important dans le stockage et la sécrétion d'insuline. La carence en zinc induit une augmentation des troubles métaboliques du diabète et favorise les complications de cette maladie.

Le traitement de ces complications constitue une des plus grandes préoccupations scientifiques à travers le monde. Ceci est en vue de trouver de nouvelles solutions pour prévenir, voir ralentir la survenue des complications organiques et métaboliques résultantes de l'hyperglycémie chronique.

Le traitement pharmacologique actuel du diabète est représenté essentiellement par l'insuline et les hypoglycémifiants oraux qui visent à soigner et non à guérir la maladie (**Zhang J et al., 2006 ; Eddouks M et al., 2007**), en plus, on remarque que l'utilisation continue des drogues antidiabétiques synthétiques causes des effets secondaires néfastes et la toxicité (**Hwang H.J et al.,2005 ; Zhang J et al.,2006**).

Plusieurs recherches s'orientent vers les plantes médicinales considérées comme source énorme de multiples substances phytothérapeutiques douées d'activités à la fois antidiabétiques

et antioxydantes et qui peuvent être l'arme permettant de faire face au stress oxydant et ses dégâts au niveau des organes de l'être vivant

Actuellement, plus de 400 plantes traditionnelles utilisées pour le traitement du diabète sucré ont été enregistrées, mais seulement un petit nombre d'entre elles ont subi un enregistrement scientifique et une évaluation médicale afin de confirmer leurs efficacités.

L'Algérie, riche par sa biodiversité et son climat, est une plate-forme géographique très importante qui mérite d'être explorée dans le domaine de la recherche de molécules hypoglycémiantes et/ ou antioxydantes originaires de plantes qui ont pour longtemps servi à une grande tranche de population comme moyen incontournable de médication.

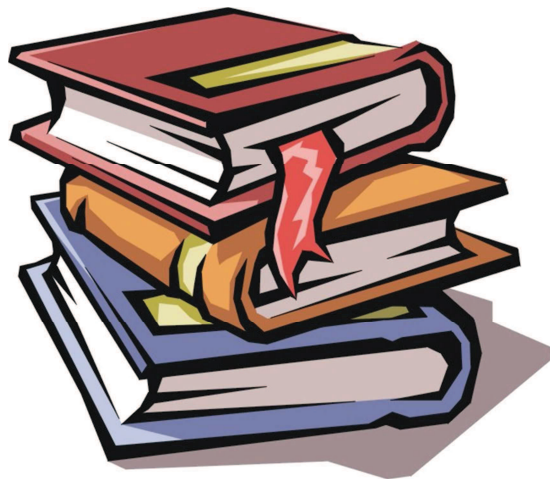
C'est pourquoi, nous nous sommes intéressés à étudier l'activité antidiabétique de l'extrait méthanolique lyophilisé de deux plantes algériennes (*Ruta chalepensis* et *Beta vulgaris*)

Dans la première partie, nous aborderons les différentes connaissances bibliographiques sur le diabète, le stress oxydant ainsi que les deux plantes.

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, la CCM et finalement l'activité antidiabétique. Le deuxième chapitre sera consacré aux résultats obtenus dans notre étude et leur discussion.

Nous terminons par une conclusion.

# *I. Etude bibliographique*



# ***CHAPITRE***

**1**

## **1. Le diabète**

## 1.1. Définition

Le diabète est défini comme une affection métabolique, caractérisée par une hyperglycémie (taux de sucre dans le sang trop élevé) liée à une déficience, soit de la sécrétion, soit de l'action de l'insuline, ou des deux. L'insuline est une hormone produite par le pancréas, indispensable à la pénétration du glucose sanguin dans les cellules. Lorsqu'elle fait défaut, le taux de sucre augmente dans le sang, or l'organisme est très sensible à ces variations : la chronicité de l'hyperglycémie est responsable de complications à long terme touchant de nombreux organes notamment les yeux, les reins, les nerfs, le cœur et les vaisseaux. (**Fédération Internationale du Diabète, 2011**)

## 1.2. Classification de diabète

### 1.2.1. Le diabète de type I

Le diabète type I dit insulino-dépendant parce que l'organisme ne produit pas assez d'insuline, touche seulement 10% des diabétiques, surtout des moins de 25 ans.

Il s'agit souvent d'une maladie auto-immune : le système immunitaire du diabétique s'attaque à ses cellules productrices d'insuline dans le pancréas. Un virus ou une substance toxique peuvent aussi provoquer la maladie. Des facteurs génétiques pourraient aussi entrer en jeu (1).

### 1.2.2. Le diabète de type II

Il s'agit du diabète jusqu'alors appelé non insulino-dépendant. Ce diabète est la conséquence d'une résistance à l'insuline (action défectueuse de l'insuline sur les cellules cibles) et/ou d'un défaut de sécrétion d'insuline dont l'étiologie reste encore inconnue à ce jour (**in Vigreux, 2009**).

**Tableau 1: Classification de diabètes (Ladouari et Harkouk, 2012)**

<p><b>Diabète de type 1:</b> (<i>destruction des cellules <math>\beta</math> conduisant à une carence en insuline</i>)</p> <p>a- D'origine immunologique (mécanismes auto-immuns)</p> <p>b- Idiopathique (marqueurs d'auto-immunité absents, faible nombre des diabétiques type 1, le plus souvent retrouvé dans les populations d'origine asiatique ou africaine)</p>
<p><b>Diabète de type 2:</b> (<i>résistance à l'action de l'insuline associée à un trouble de sa sécrétion</i>)</p> <p>a-Prédominance de l'insulinorésistance.</p> <p>b-Prédominance du déficit de l'insulinosécrétion.</p>
<p><b>Autres types de diabètes spécifiques:</b></p> <p>a-Défauts génétiques de la fonction des cellules <math>\beta</math>: (MODY, mutation de l'ADN mitochondriale).</p> <p>b-Défauts génétiques de l'action de l'insuline.</p> <p>c-Diabètes pancréatiques: (pancréatite, cancer, mucoviscidose, hémocluomatose, hyperthyroïdie...etc)</p> <p>d-Endocrinopathies: (Hyperthyroïdies, syndrome de cushing, phéochromocytome...etc.).</p> <p>e-Diabètes iatrogènes :(glucocorticoïdes, hormones thyroïdiennes, diazoxide, agonistes <math>\beta</math>-adrénergiques, diurétiques thiazidique, antirétroviraux...etc.)</p> <p>f-Infections: rubéole, congénitale, cytomégalovirus... etc.</p> <p>g-Formes rares de diabète liés à une pathologie du système immunitaire: (Anticorps dirigés contre le récepteur de l'insuline, syndrome de stiff-man).</p> <p>h-Autres syndromes génétiques s'accompagnant parfois d'un diabète: (Syndrome de Down, de Klinefelter, de Turner...etc.)</p>
<p><b>Diabète gestationnel</b></p>

### 1.3. Les facteurs déclenchant le diabète

- \* **L'hérédité:** les différents types de diabète peuvent être induits par des facteurs héréditaires dont: la génétique à une action sur la présentation du diabète (**Bakour et Sioune, 2007**).
- \* **L'obésité:** est défini par un excès de la masse adipeuse qui représente le facteur de résistance de l'action d'insuline le plus fréquent (**Bakour et Sioune, 2007**).
- \* **Le stress:** le stress peut déclencher un diabète chez certaines personnes prédisposées génétiquement, il entraîne:
  - L'excrétion des catécholamines qui activent la néoglucogénèse et la glycogénolyse.

- L'augmentation de l'activité de l'hypophyse qui a un effet anti-insuline périphérique. Ainsi l'effet du stress sur la glycémie peut varier d'une personne à l'autre (**Gribe et Mersougui, 2009**).
- \* **L'âge:** plus l'âge est avancé, plus le risque d'apparition du diabète est important dans la population, la sécrétion de l'insuline par le pancréas s'use chez certaines personnes (**Gribe et Mersougui, 2009**).
- \* **Les facteurs alimentaires:** Le diabète peut résulter d'une suralimentation et surtout d'un déséquilibre alimentaire, les modifications des habitudes alimentaires, provoquant une augmentation des apports caloriques, accroissement de la consommation de graisse saturée et de sucre simple ainsi qu'une carence alimentaire favorise l'apparition du diabète (**Bakour et Sioune, 2008**).
- \* **L'infection virale:** le virus *Coxsackie B* impliqué dans le déclenchement du DID et les virus des oreillons et la rubéole dans l'infection congénitale qui attaque la cellule Bêta du pancréas (**Bakour et Sioune, 2008**).

#### 1.4. Complications de diabète

Les principales complications à long terme du diabète sont classiquement divisées en deux catégories : les complications microangiopathiques: neuropathie, néphropathie et rétinopathie dont le facteur de risque majeur est l'hyperglycémie, et les complications macroangiopathiques : maladies cardiovasculaires dont les facteurs de risque sont l'hyperglycémie, l'insulinorésistance, des carences en insuline, des acides gras libres dans le sang, l'hypertension, l'hyperlipidémie, et l'inflammation (**King, 2008**).

#### 1.5. Le diabète de type 1 et auto-immunité

Les maladies auto-immunes sont des pathologies touchant 4 à 5% de la population occidentale. Ce sont principalement des atteintes chroniques qui résultent d'une rupture de tolérance des lymphocytes B et des lymphocytes T vis-à-vis des antigènes du soi (**in Gesterman, 2012**).



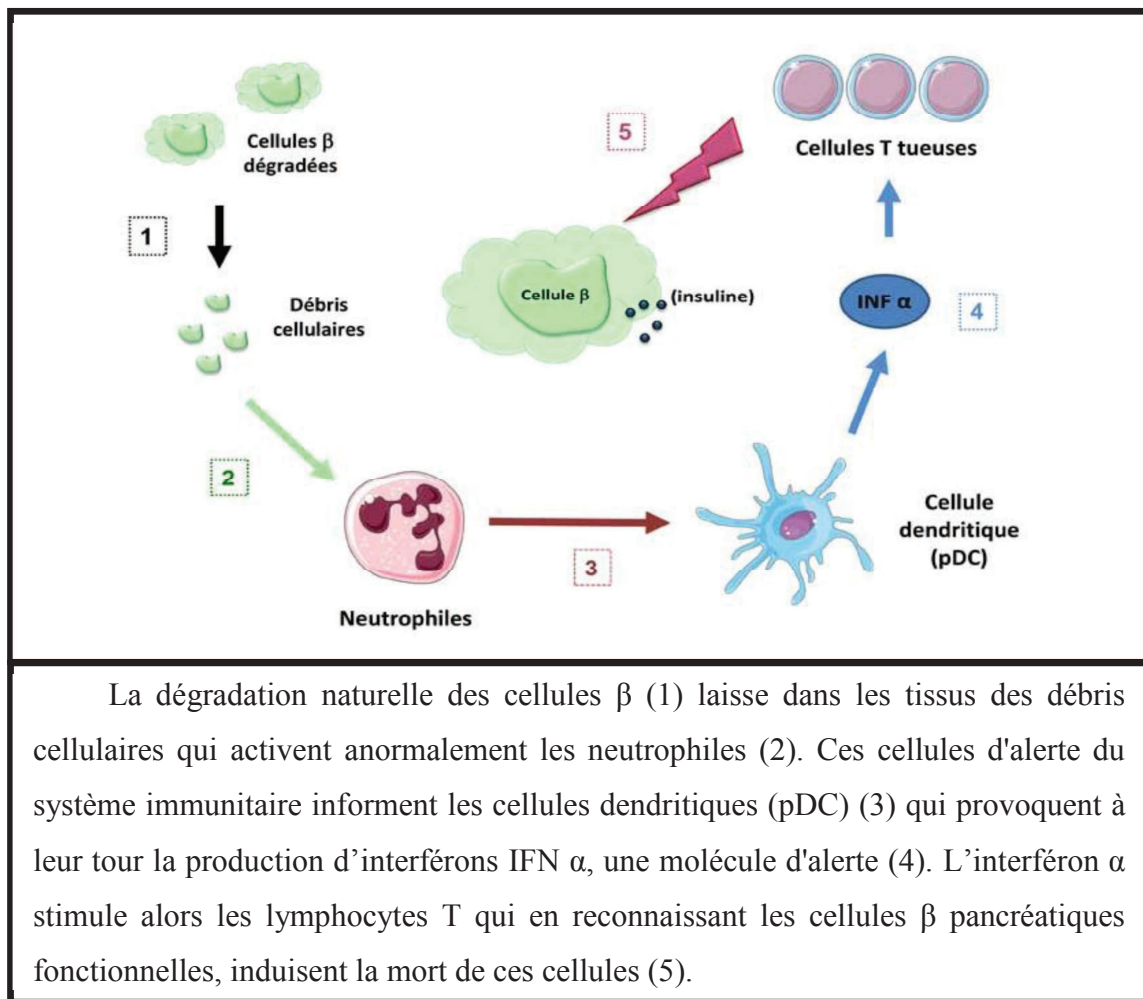
Le diabète de type 1, ou diabète insulino-dépendant, est une maladie auto-immune caractérisée par la destruction des cellules  $\beta$  pancréatiques, productrices d'insuline, présentes au sein des îlots de Langerhans au niveau du pancréas. La particularité de ce type de diabète réside dans le fait que ces cellules sont détruites par les lymphocytes T tueurs du système immunitaire du patient. Il s'agit d'une réaction auto-immune. De nombreux travaux ont mis en évidence le rôle de ces lymphocytes T auto-réactifs dans la mort des cellules  $\beta$  pancréatiques. Toutefois les mécanismes impliqués dans l'activation initiale du système immunitaire, qui déclenche la cascade d'événements conduisant à la mort des cellules, sont encore mal définis.

La destruction de la cellule  $\beta$  est essentiellement due à une infiltration des îlots par des lymphocytes T helper  $CD_4$  et des lymphocytes T cytotoxiques  $CD_8$ . Ce processus se déroule à bas bruit pendant plusieurs années. Au cours de cette réaction sont produits des auto-anticorps dirigés contre certains antigènes pancréatiques. Ces auto-anticorps n'ont pas en eux-mêmes de rôle pathogène mais sont des marqueurs fiables du déroulement du processus auto-immun pathologique (**Grimaldi, 2000**). (**Figure 1**)

Ces anticorps sont essentiellement au nombre de 4:

- ✓ Auto-anticorps anti-cellules des îlots (ICA): Ils sont très spécifiques du diabète de type I et sont détectables chez les sujets jeunes. Ils disparaissent par la suite chez la majorité des patients.
- ✓ Auto-anticorps anti-insuline : Ils sont présents avant tout traitement par insuline, à distinguer de ceux qui apparaissent sous insulinothérapie. On les retrouve en particulier chez l'enfant et notamment chez les sujets HLA DR4.
- ✓ Auto-anticorps anti-décarboxylase de l'acide glutamique : Anti-GAD présents dans 85% des cas de diabète de découverte récente.
- ✓ Auto-anticorps anti-IA2 : Témoins de l'imminence de la maladie clinique. Le processus auto-immun est étalé sur plusieurs années avant et après l'apparition du diabète.

D'autres maladies auto-immunes sont fréquemment associées au diabète de type 1, avec présence d'auto anticorps spécifiques d'organes (15%) (**2**).



La dégradation naturelle des cellules  $\beta$  (1) laisse dans les tissus des débris cellulaires qui activent anormalement les neutrophiles (2). Ces cellules d'alerte du système immunitaire informent les cellules dendritiques (pDC) (3) qui provoquent à leur tour la production d'interférons INF  $\alpha$ , une molécule d'alerte (4). L'interféron  $\alpha$  stimule alors les lymphocytes T qui en reconnaissant les cellules  $\beta$  pancréatiques fonctionnelles, induisent la mort de ces cellules (5).

**Figure 1:Activation du système immunitaire conduisant à la mort des cellules  $\beta$**   
(inserm / Agnès Lehuen - Juliette Hardy)

### 1.6. Zinc et diabète

Le zinc joue un rôle important dans le stockage et la sécrétion de l'insuline (Comms et al., 1971). Chez l'animal, la carence en zinc induit une diminution, de la concentration de zinc du pancréas et du chélate insuline – zinc stocké dans les cellules bêta des îlots de Langerhans-, de la sécrétion d'insuline et augmenterait soit la dégradation de l'insuline circulante, soit la résistance des tissus périphériques à l'insuline (Grodsky et Schmid, 1985).

La baisse de la sécrétion insulinaire pourrait être secondaire à la perte d'appétence provoquée par la carence en zinc (Engelbart et Keif, 1970).

Le zinc pourrait également jouer un rôle dans la synthèse de l'insuline. Il participe à la polymérisation de l'insuline au niveau des cellules bêta (Chausmer, 1998).

La carence induirait des modifications structurales de l'insuline. La sécrétion de proinsuline ne semble pas être modifiée par la carence en zinc. Le zinc interviendrait enfin dans la fixation de l'insuline à son récepteur (**Mooradian et Morley, 1987**).

Le zinc pourrait également jouer un rôle dans l'utilisation du glucose par les muscles et les cellules adipeux (**Song, 1998**). Il intervient au niveau de la voie de la glycolyse, des pentoses, de la néoglucogenèse (**Riordan et Vallee, 1976**). L'absence ou la carence de ce métal favorise les complications du diabète.

# ***CHAPITRE***

**2**

## **2. Stress oxydant**

Depuis quelques années, le monde des sciences biologiques et médicales est envahi par un nouveau concept, celui du « Stress Oxydant ».

## 2.1. Définition du stress oxydant

Le stress oxydatif est le déséquilibre entre la génération des ERO (espèces réactives de l'oxygène) et la capacité du corps à les neutraliser et à réparer les dommages oxydatifs. Il correspond à une perturbation du statut oxydatif intracellulaire **(in Mohammed Z, 2006)**

Les radicaux libres (RL) sont produits par divers mécanismes physiologiques car ils sont utiles pour l'organisme à doses raisonnables. Cette production physiologique est parfaitement maîtrisée par des systèmes de défense. Dans les circonstances normales, on dit que la balance antioxydants/ prooxydants est en équilibre. Si tel n'est pas le cas, que ce soit par déficit en antioxydants ou par suite d'une surproduction énorme de RL, un état de « stress oxydant » est signalé **(Favier A., 2003)**.

## 2.2. Les radicaux libres

### 2.2.1. Définition

Un radical libre est une molécule ou un atome ayant un ou plusieurs électrons non appariés. Ce qui le rend extrêmement réactif. L'ensemble des radicaux libres et leur précurseurs est souvent appelé espèce réactive de l'oxygène **(in Mohammed Z, 2006)**.

Les RL sont produits par un grand nombre de mécanismes tant endogènes qu'exogènes. Sans vouloir faire du finalisme, nous pouvons considérer que certaines de ces productions sont volontairement programmées par l'organisme à des fins de défense ou d'envoi des signaux **(Halliwell B, 2006)**.

## 2.3. Les cibles biologiques du stress oxydant

Les entités oxydantes étant très réactives, elles réagissent avec les premières molécules qu'elles rencontrent. Elles ont comme cibles les lipides, les acides nucléiques, les protéines et les sucres **(Beckman et Ames, 1998)**.

### ❖ Les 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 eicosapenténoïque. 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)**.

### ❖ Les acides nucléiques

Les dommages médiés par le stress oxydant au niveau de l'ADN sont de cinq types : l'oxydation des bases, la formation de sites abasiques, d'adduits intra-caténaux, des cassures des brins et des pontages ADN-protéines (Cadet *et al.*, 2002).

### ❖ Les protéines

Les protéines subissent des modifications au cours du stress oxydant, soit sous l'action des radicaux libres oxygénés, soit en présence de métaux de transition (Stadtman, 1993). Il s'ensuit plusieurs types de modifications : fragmentation de la protéine, oxydation des chaînes latérales des acides aminés et formation de liaisons croisées entre deux protéines (Bonfont *et al.*, 2001). Tous les acides aminés peuvent être oxydés ; ainsi la méthionine peut se transformer en méthioninesulfoxyde et la tyrosine en nitrotyrosine (Tratner, 2003)

### ❖ Les sucres

En présence de métaux, l'oxydation du glucose peut libérer des céto-aldéhydes, du peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) et des anions superoxydes (OH<sup>•</sup>), et entraîner la coupure de protéines et leur glycation par attachement du céto-aldéhyde (Wolff *et al.*, 1989) formant un dérivé de produit de glycation avancée (AGE, Advanced Glycation End product).

## 2.4. Les antioxydants

L'organisme a développé des systèmes de défense très efficaces contre la production des RL. Les molécules contrôlant cette production sont désignées par le terme «antioxydant».

### 2.4.1. Définition

Du point de vue biologique, les antioxydants sont toutes substances qui, présentes à faible concentration par rapport à celle du substrat oxydable, retardent ou inhibent significativement l'oxydation de ce substrat (Abuja and Albertini, 2001), et dont les produits de la réaction entre l'oxydant et l'antioxydant ne doivent pas être toxiques et ne branchent pas la réaction radicalaire (Durackova Z, 2008).

### 2.4.2. Classification des systèmes antioxydants

#### 2.4.2.1. Les antioxydants naturels

L'organisme possède des systèmes de défense très efficaces, de deux types : les antioxydants enzymatiques et les antioxydants non enzymatiques. Ces antioxydants sont d'autant plus importants que certains peuvent être utilisés en thérapeutique pour tenter de prévenir le stress oxydatif. (Diplock, 1991).

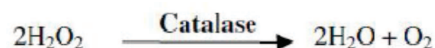
\* Les antioxydants enzymatiques: La superoxydedismutase, la catalase, la glutathion peroxydase et la glutathion réductase sont considérés comme la première ligne de défense de notre organisme contre les ROS (**in Kanoun, 2010**).

- Les superoxydes dismutases (SOD) : La famille des superoxyde dismutases comporte trois isoformes (SOD1, SOD2,SOD3) dont le rôle est la dismutation de deux anions superoxyde en espèces oxygénées moins réactives que sont H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> et O<sub>2</sub> (**Antwerpen, 2006**).

L'activité des SOD est dépendante des apports nutritionnels en cuivre et à un moindre degré en zinc (**Goudable et Favier, 1997**).



- Les catalases : Elles réduisent le peroxyde d'hydrogène H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en libérant de l'oxygène et de l'eau. Elles sont localisées surtout dans les peroxysomes. Elles n'éliminent pas la totalité du peroxyde d'hydrogène, mais leur rôle est très important surtout en présence d'ions ferreux (**Lindau-Sehpard et Shaffer, 1993**).



- Les glutathions peroxydases et réductases (GSHPX) : Ces deux enzymes sont localisées dans le cytosol et dans les mitochondries. Le rôle de la glutathion peroxydase (GPx) est de réduire d'une part le peroxyde d'hydrogène en molécule d'eau, et d'autre part les hydroperoxydes organiques (ROOH) en alcools. Lors de cette réaction, qui demande l'intervention de deux molécules de glutathion (GSH), celles-ci se transforment en glutathion-disulfure (GSSG) (**Marfak, 2003**).

\* Les antioxydants non enzymatiques : Contrairement aux enzymes antioxydants, la plupart de ces composants ne sont pas synthétisés par l'organisme et doivent être apportés par l'alimentation. Dans cette catégorie d'antioxydants nous retrouvons les oligoéléments, la glutathion réduit (GSH), les vitamines E et C et les polyphénols. (**in Kanoun ,2011**)

- La vitamine E : La vitamine E désigne un groupe de nombreux composants présents dans la nature: les  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  et  $\delta$  tocophérols et tocotriénols (**Ohrvall et al, 1996**). Elle intervient directement au niveau des membranes biologiques où elle piège les radicaux libres avant qu'ils n'atteignent leurs cibles (**Goussard, 1999**).

La vitamine E étant liposoluble, elle se fixe aux membranes et peut ainsi séquestrer les radicaux libres empêchant la propagation des réactions de peroxydation lipidique. (**Evans, 2002 ; Packer et al., 1997**).

- La vitamine C (acide ascorbique) : La vitamine C ou acide ascorbique est l'antioxydant hydrosoluble majeur (**Curtay et Robin, 2000**) Elle se trouve dans le cytosol et dans le fluide extracellulaire ; elle peut capter directement l' $O_2\cdot-$  et l' $OH\cdot$ . Elle peut aussi réduire le radical  $\alpha$ -tocophérol et ainsi permettre une meilleure efficacité de la vitamine E (**Packer et al, 1997;Evans, 2002**).
- La  $\beta$ -carotène: est apporté par l'alimentation. Elle est douée de plusieurs capacités : elle est précurseur de la vitamine A, elle capte l'oxygène singulet sous faible pression d'oxygène et, avec les autres caroténoïdes, elle a le pouvoir de terminer les réactions en chaîne de lipoperoxydation. Elle protège les structures cellulaires contre l'agression oxydante : elle s'oppose à la génotoxicité de nombreux agents (**Allard et al, 1994**). La présence de nombreuses doubles liaisons au sein de leurs structures en fait des antioxydants reconnus, notamment par leur effet protecteur vis-à-vis des radiations solaires (UV) (**Biesalskiet al., 1996**).
- Glutathion: Le glutathion joue un rôle majeur dans la protection des lipides, des protéines et des acides nucléiques contre l'oxydation.(**Stamler et Slivka, 1996**).En situation de stress oxydant, son rôle protecteur et détoxifiant résulte principalement de sa fonction de coenzyme des GSHPX. Il fait aussi l'objet d'interactions synergiques avec d'autres composants du système de protection antioxydant tels que la vitamine C ou la vitamine E. (**Gerard- Monnier et Chaudière, 1996**).



- Les oligoéléments : Le cuivre, le zinc, le manganèse, le sélénium et le fer sont des métaux essentiels dans la défense contre le stress oxydant. Toutes les enzymes antioxydants requièrent un cofacteur pour maintenir leur activité catalytique. Ainsi, la SOD mitochondriale a besoin de manganèse, la SOD cytosolique de cuivre et de zinc, la catalase de fer et la GPx de sélénium (**Garait, 2006**).
- Les composés phénoliques issus des végétaux
- Les polyphénols suscitent depuis une dizaine d'année un intérêt croissant de la part des nutritionnistes, des industriels de l'agro-alimentaire et des consommateurs. Une des raisons principales est la reconnaissance de leurs propriétés antioxydants et ainsi leur implication probable dans la prévention des diverses pathologies associées au stress oxydant. Un très grand nombre de données expérimentales plaide aujourd'hui en faveur de leur implication dans la prévention des maladies dégénératives telles que cancers, maladies cardio-vasculaires, ostéoporose ou maladies inflammatoires (**Rock, 2003**). Les plus représentés sont les anthocyanes, les flavonoïdes et les tanins (**Boizot et Charpentier, 2006**).

#### 2.4.2.2. Les antioxydants synthétiques

Dans l'industrie alimentaire, les antioxydants synthétiques, tel que le butylhydroxyanisole (BHA), butylhydroxytoluène (BHT) gallate propylée (PG) et le tétrabutylhydroquinone (TBHQ), sont largement utilisés parce qu'ils sont efficaces et moins chers que les antioxydants naturels. (**Lisu et al., 2003**).

### 2.5. Implication du stress oxydant dans le diabète

Les mécanismes de la toxicité du glucose au niveau des tissus cibles des complications du diabète sont multiples (**Benhamou, 1991**).

Le glucose exerce son effet toxique et forme des ROS par différents mécanismes. Il a été montré chez des rats Goto-Kakizaki (GK), diabétiques de type 2, non obèses, une augmentation des marqueurs du stress oxydant suite à une hyperglycémie (**Nathalie, 2010**).

Les mécanismes conduisant à la formation de ROS sont notamment, le phénomène d'auto oxydation du glucose, la voie des polyols, la voie de la PKC et la glycation des protéines avec formation des produits avancés de fin de glycation (AGEs)

# ***CHAPITRE***

**3**

## **3. La phytothérapie**

Pour se soigner, l'homme a longtemps eu recours à des remèdes traditionnels à base de plantes (tisanes, poudres, décoctions), administrées par inhalations, cataplasmes, massages ou encore par voie orale.

L'OMS, (2010) définit la médecine traditionnelle comme « la somme des connaissances ,des compétences et des pratiques basées sur les théorie ,les croyances et les expériences propres aux différentes cultures, et qui sont utilisées pour prévenir, diagnostiquer , soulager ou soigner des souffrance physique et mentale ». Actuellement, plus 80 % de la population mondiale, surtout dans les pays sous-développés, ont recours aux traitements traditionnelles pour satisfaire leurs besoins en matière de santé et de soins primaire (OMS, 2008).

### 3.1. Définition de la phytothérapie

Est un traitement où prévention des maladies par l'usage des plantes, la phytothérapie fait partie des médecines parallèles ou des médecines douce (Zeghad ,2009).

#### 3.1.1. Différents types de la Phytothérapie :

- \* **Aromathérapie:** est une thérapeutique qui utilise les essences des plantes, ou huiles essentielles, substances aromatiques secrétées par de nombreuses familles de plantes, ces huiles sont des produits complexes à utiliser souvent à travers la peau.
- \* **Gemmothérapie:** se fonde sur l'utilisation d'extrait alcoolique de tissus jeunes de végétaux tels que les bourgeons et les radicules.
- \* **Herboristerie:** correspond à la méthode de phytothérapie la plus classique et la plus ancienne. L'herboristerie se sert de la plante fraîche ou séchée; elle utilise soit la plante entière, soit une partie de celle-ci (écorce, fruits, fleurs). La préparation repose sur des méthodes simples, le plus souvent à base d'eau : décoction, infusion, macération. Ces préparations existent aussi sous forme plus moderne de gélule de poudre de plante sèche que le sujet avale.
- \* **Homéopathie:** a recours aux plantes d'une façon prépondérante, mais non exclusive; les trois quarts des souches sont d'origine végétale, le reste étant d'origine animale et minérale.

\* **Phytothérapie pharmaceutique:** utilise des produits d'origines végétales obtenus par extraction et qui sont dilués dans de l'alcool éthylique ou un autre solvant. Ces extraits sont dosés en quantités suffisantes pour avoir une action soutenue et rapide. Ils sont présentés sous forme de sirop, de gouttes, de gélules, de lyophilisats (**Strang, 2006**)

Depuis des temps immémoriaux, les plantes ont servi comme première source de médicaments pour les hommes, et elles ont continué à fournir à l'humanité, des remèdes thérapeutiques nouveaux et originaux jusqu'à aujourd'hui. L'intérêt de l'étude et de l'utilisation des plantes médicinales a mené à la caractérisation et à l'identification de molécules majeures, et à l'isolation de composés chimiques actifs d'une importance thérapeutique incontestable (**Leduc, 2006**).

### 3.2. La définition d'une plante médicinale

En effet il s'agit d'une plante qui est utilisée pour prévenir, soigner ou soulager divers maux. Les plantes médicinales sont des drogues végétales dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses (**Farnsworth et al., 1986**).

Les plantes médicinales sont utilisées en plusieurs formes (Figure 2).

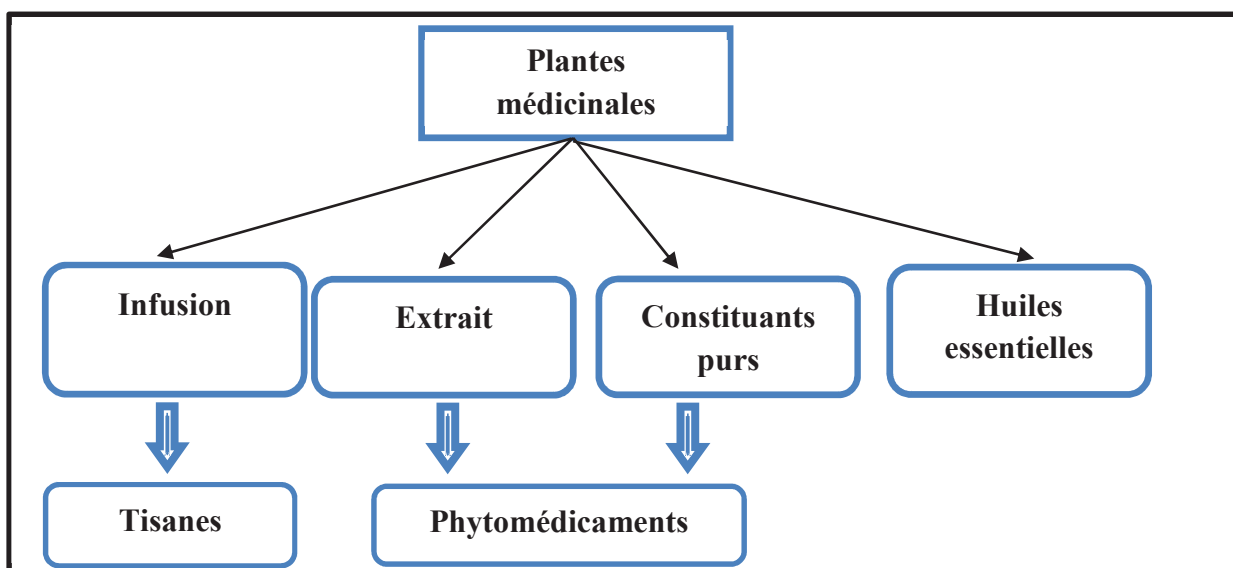


Figure2: formes d'utilisation des plantes médicinales

### 3.3. Principes actifs des plantes médicinales

Le ou les principes actifs d'une plante médicinale sont les métabolites naturellement présents qui lui confèrent son activité thérapeutique. Ces composants sont souvent en quantité extrêmement faible en ce qui concerne les métabolites secondaires. Les plantes sont une source inépuisable de substances pharmacologiques (alcaloïdes, polyphénols, terpènes, polysaccharides, etc.) qui procurent des propriétés curatives appréciables. Ainsi, sur

252 médicaments considérés comme essentiels par l'OMS, plus de 11 % sont exclusivement produits à partir de plantes médicinales (**Rates, 2001**).

#### \* Les coumarines

Les coumarines, de différents types, se trouvent dans de nombreuses espèces végétales et possèdent des propriétés très diverses. Elles sont capables de prévenir la peroxydation des lipides membranaires et de capter les radicaux hydroxyles, superoxydes et peroxydes (**Igor, 2002**).

#### \* Les quinones

Ce sont des substances colorées et brillantes, en général rouges, jaunes ou oranges et possédant deux fonctions cétones. On trouve les quinones dans les végétaux, les champignons, les bactéries. Les organismes animaux contiennent également des quinones, comme par exemple la vitamine K, qui est impliquée dans la coagulation du sang. Les quinones sont utilisées dans les colorants, dans les médicaments et dans les fongicides (**Kansole, 2009**).

#### \* Les tanins

Les tanins sont des polyphénols que l'on trouve dans de nombreux végétaux tels que les écorces d'arbre et les fruits (raisin, datte, café, cacao...). Leur structure complexe est formée d'unités répétitives monomériques qui varient par leurs centres asymétriques, leur degré d'oxydation (**Hemingway, 1992**).

Ces tanins sont des donneurs de protons aux radicaux libres lipidiques produits au cours de la peroxydation. Des radicaux tanniques plus stables sont alors formés, ce qui a pour conséquence de stopper la réaction en chaîne de l'auto oxydation des lipides (**Cavin, 1999**).

#### \* Les flavonoïdes

Présentes dans la plupart des plantes, les flavonoïdes sont des pigments polyphénoliques qui sont responsables dans la plupart des colorations des fleurs et des fruits. Ils possèdent de nombreuses vertus thérapeutiques (**Lecerf et Ragot, 2006**).

#### \* Les alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des substances naturelles et organiques provenant essentiellement des plantes et qui contiennent au moins un atome d'azote dans leur structure chimique, avec

un degré variable de caractère basique Les alcaloïdes sont principalement extraits des plantes fleurissantes.

Ce sont des composés relativement stables qui sont stockés dans les plantes en tant que produits de différentes voies biosynthétiques, la plupart du temps à partir des acides aminés tels que la lysine, l'ornithine, la tyrosine et le tryptophane. Quelques structures sont relativement simples, tandis que d'autres sont tout à fait complexes.

Les alcaloïdes peuvent se trouver dans toutes les parties de la plante, mais selon l'espèce de la plante. (in **Mauro ,2006**)

### \* Les saponosides

Les saponosides sont des hétérosides de poids moléculaire élevé, appartenant aux stérols ou triterpènes. Ils se dissolvent dans l'eau en formant des solutions moussantes, ils sont caractérisés par leur action tensioactive (abaissement de la tension superficielle).

La plupart des saponosides présentent des propriétés hémolytiques, certains sont des matières premières pour l'hémi-synthèse de molécules médicamenteuses stéroïdiques (in **Bouhadjera K, 2005**).

En Algérie, plusieurs plantes sont utilisées traditionnellement pour traiter le diabète sucré. Des études faites sur des plantes médicinales ont révélé leur effet antidiabétique accompagné de leur effet antioxydant élevé, ce qui donne plus d'espoir pour prévenir et/ou guérir le diabète et ses complications. Objet de notre étude.

## 3.4. Les plantes sélectionnée

### 3.4.1. *Ruta chalepensis*

*Ruta chalepensis*, appelée aussi Rue de Chalep, est une plante aromatique, appartenant à la famille des rutacées, appelée communément par la population locale «Fidjel » C'est une espèce méditerranéenne, relativement commune dans toute l'Algérie septentrionale (**Baba Aissa, 1999**), au nord-est de l'Afrique, sud de l'Europe et le sud-ouest de l'Asie (**Mioulane, 2004**).

La rue est citée sous le terme de سذاب *sadzab* par **Abdulbasset et Abde Tawab, 2008**, elle est aussi dite en berbère: أورمي *aouermi*, **Issel, Issin(Baba Aissa, 1999)**. Autres noms sont indiqués par (**Duke et al ., 2008**): *Al Shathap* (الشذاب), *Bou Ghans*, en grec : *Pigam, zent*.(Figure 3)

❖ **Systematique:** (Bonnier, 1999; Wiart, 2006; Takhtajan, 2009)

**Règne :** *Plantae*  
**Sous règne :** *Tracheobionta (plantes vasculaires)*  
**Super division :** *Spermatophyta (plantes à graine)*  
**Division :** *Magnoliophyta (plantes à fleurs)*  
**Sous division :** *Angiospermae*  
**Classe :** *Magnoliopsida (dicotylédons)*  
**Sous classe :** *Rosidae*  
**Super ordre :** *Rutanae*  
**Ordre :** *Sapindales*  
**Famille :** *Rutaceae*  
**Genre :** *Ruta*  
**Espèce :** *chalepensis*



**Figure 3:** *Ruta chalepensis* (prise personnelle)

❖ **Description botanique**

La rue d'Alep, plante herbacée à tige ligneuse à la base, pouvant atteindre 1 m (Baba Aissa, 1999). Les feuilles de 6 à 12 cm de long, sont aromatiques, ovales, larges, pennatiséquées, bleu-vert, elles présentent de nombreux lobes oblongs, lancéolés ou aborales. En été, s'épanouissent des fleurs de 1 à 2 cm de diamètre, en coupe, de couleur jaune foncé, portant quatre ou cinq pétales frangés de longs poils. Elles sont réunies en cymes lâches (Mioulane, 2004).

### 3.4.2. Bêta vulgaris« var. cicla»

❖ **Présentation et taxonomie**

- *Bêta vulgaris*«var. *cicla*», connue sous le nom de « bette à cardes » est une espèce du *Bêta vulgaris* de la famille des chénopodiacées tribu des *Cyclolobae* (située dans les Amaranthacées par la classification phylogénétique) (Figure 4).
- Nom commun: bette à cardes, blette, côte de blette, côte de bette, poirée à cardes cette plante, dicotylédone, apétale, dériverait de la betterave maritime (actuellement classée comme *Bêta vulgaris*L. subsp. *maritima* (L.) Arcang) qui est spontanée sur les rivages maritimes en Europe.

C'est une plante très proche de la betterave. Ce sont en fait des formes dérivées de la même sous-espèce.

❖ **Systematique**

**Règne:** *Plantae*

**Division:** *Magnoliophyta*

**Classe:** *Magnoliopsida*

**Ordre:** *Caryophyllales*

**Famille:** *Chénopodiacee*

**Genre:** *Beta*

**Espèce:** *vulgaris*

Nom vernaculaire : السلق



Figure 4: *Bêta vulgaris*.(prise perssonelle)

❖ **Description**

Bette à cardé (espèce *Bêta vulgaris*) est une plante herbacée bisannuelle de légumes feuilles cultivés dans de nombreuses régions du monde pour sa disponibilité toute l'année, peu coûteux et largement utilisés dans de nombreux plats traditionnels (Gao et al., 2009). La plante est plus robuste et plus facile à cultiver que les épinards et le céleri. Les feuilles de bette à cardé contiennent des concentrations significatives sur le plan nutritionnel de vitamines A, C et B, en calcium, en fer et en phosphore (Pyo et al., 2004). Chard (*Bêta vulgaris*L. «var. cicla»:Chenopodiaceae) a indiqué avoir des propriétés hypoglycémiques (Bolkent et al., 2000). Ces espèces sont utilisées comme un remède folklorique populaire pour le foie et les reins, pour la stimulation des systèmes immunitaires et hématopoïétiques, et comme un régime spécial dans le traitement du cancer (Kanner et al., 2001).

L'études phytochimiques de blettes ont révélé la présence de certains acides gras (acides palmitique, stéarique, oléique, linoléique et linoléique), des phospholipides, des glycolipides, des polysaccharides, l'acide ascorbique, l'acide folique, de la pectine, des saponines, des flavonoïdes, des acides phénoliques (Bolkent et al., 2000), des bêtaïnes (Kugler et al., 2004) et de l'épigénies (Gao et al., 2009).



## ***II. Partie expérimentale***





## **Matériel et Méthodes**

## 1 Modèle végétale

### 1.1. Matériel végétale

La partie aérienne (les feuilles et les tiges) a été récoltée au niveau de deux régions :

- La région de hadjar Mangoube sud de la wilaya de Guelma pour *Rûta chalepensis*.
- La région d'El Nadhour wilaya de Guelma pour *Bêta vulgaris* «var. *cicla*».

Les deux plantes sont nettoyées puis mis 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.

### 1.2. Méthodes

#### 1.2.1. Etude phytochimique

##### 1.2.1.1. Tests préliminaires de la composition chimique :

#### \* Alcaloïdes

##### ↳ Macération :

Introduire 10 g de poudre végétale sèche dans un erlenmeyer de 250 ml, ajouter 50 ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> dilué au 1/10 après agitation pendant 30 minutes, laisser macérer 24 heures à la température du laboratoire. Filtrer sur papier filtre de manière à obtenir environ 50 ml de filtrat.

##### ↳ - Réactions de caractérisation :

- 1 ml de filtrat + 5 gouttes du réactif de MAYER (5 g de KI et 1,358 g de HgCl<sub>2</sub> solubilisés dans 100 ml d'eau distillée) s'il apparaît un précipité c'est qu'on est en présence d'alcaloïdes. (Précipité blanc-jaunâtre)

- 1 ml de filtrat+ 5 gouttes de réactif de WAGNER (2 g de KI et 1,27g d'I<sub>2</sub> solubilisés dans 100 ml d'eau distillée) s'il apparait un précipité brun c'est qu'on est en présence d'alcaloïdes.( in Attou , 2011 )

#### \* flavonoïdes

##### ↳ Extraction :

Les flavonosides sont extractibles par l'alcool ou par l'eau chaude ; ils sont peu solubles dans l'eau froide.

- Mettre 3g de poudre avec 75 ml d'eau dans une fiole. Le mélange est porté à ébullition pendant 15 minutes. Filtrer et laisser refroidir.

### ↳ Réactions générales de caractérisation des flavonoïdes

Coloration en milieu alcalin :

En milieu alcalin, les flavonosides se dissolvent facilement en donnant des colorations allant du jaune au brun.

A 2 ml de l'extrait, ajouter quelques millilitres de soude au 1/10 dans un tube à essai. L'apparition d'une coloration jaune orangé, indique que le test est positif.

### ↳ Coloration par le perchlorure de fer (FeCl<sub>3</sub>) :

Les flavonoïdes, du fait de la présence de fonctions phénoliques dans leurs génines, donnent des colorations variées avec des solutions diluées de FeCl<sub>3</sub>.

A 2ml de la solution extractive ajouter 2 à 3 gouttes d'une solution diluée de FeCl<sub>3</sub> à 2%. L'apparition d'une coloration verdâtre. Indique que le test est positif (in Mbodj , 2003).

## \* Tanin

### ↳ -Extraction

Dans un tube à essais, introduire 5 ml d'infusé à 5 % puis ajouter 1 ml de solution aqueuse de FeCl<sub>3</sub> à 1 %. En présence de tanin, il se développe une coloration verdâtre ou bleu noir.

- Tanins Catéchiques: à 5 ml de solution à 5%, ajouter 5 ml d'HCl concentré. L'ensemble a été porté à ébullition pendant 15 mn puis filtrer sur papier filtre. En présence de tanins catéchiques, il se forme un précipité rouge.

- Tanins Galliques: réaction de Stiasny : à 30 ml de solution à 5 %, ajouter 15 ml de réactif de Stiasny (10 ml de formol à 40 % et 5 ml d'HCl concentré), puis chauffer au bain-marie à 90°C pendant 15 mn environ. Après filtration, le filtrat a été saturé par 5g d'acétate de sodium. Ajouter 1 ml goutte à goutte d'une solution de FeCl<sub>3</sub> à 1 %. L'obtention d'une teinte bleue noire montre la présence de tanins galliques non précipités par le réactif de Stiasny (Edeoga1 et al., 2005)

## \* Saponosides

- Porter à ébullition 100 ml d'eau distillée dans un erlenmeyer de 250 ml puis ajouter 1g de la poudre ensuite maintenir une ébullition pendant 15 mn. Après filtration, ajuster le filtrat à 100 ml.
- Remplir 1ml du décocté à 1 % préparé dans un tube à essais et ajuster le volume à 10 ml avec de l'eau distillée. Ensuite, agiter le tube. Pour confirmer la présence de

saponosides, il faut qu'une mousse apparaît après avoir laissé au repos pendant 15 minute le tube à essai (Karumi et al., 2004).

#### \* Coumarines

1 g d'échantillon de la poudre végétale placer dans un tube à essai en présence de quelque gouttes d'eau distillée. Le tube est recouvert avec un papier imbibé d'une solution de NaOH et porté dans un bain marie pendant quelques minutes. Puis ajouter 0,5 ml de NH<sub>4</sub>OH dilué (10%), mettre deux taches sur un papier filtre puis examiner sous la lumière ultraviolette. La fluorescence des taches confirme la présence des coumarines (Rizk, 1982).

#### \* Mucilages

Introduire 1 ml du décocté à 10 % dans un tube à essai et ajouter 5 ml d'éthanol absolu. Après une dizaine de minutes, l'obtention d'un précipité floconneux par mélange, indique la présence de mucilages (Karumi et al., 2004).

#### 1.2.1.2. Préparation de l'extrait méthanolique

L'extrait méthanolique est préparé selon la méthode de (Markhan, 1982). 250 g de la poudre de *Bêta vulgaris* et *Ruta chalepensis* est débarrassé des cires et des lipides par trois lavages successifs de 24 heures par l'éther de pétrole puis filtré à chaque fois. Le résidu est débarrassé de la chlorophylle par trois lavages successifs de 24 heures par le chloroforme. L'extraction s'effectue par macération de 24 heures dans le méthanol (85%) suivie d'une filtration. Cette opération est répétée trois fois.

Les trois filtrats récupérés sont mélangés et évaporés dans un rotavapor à 45°C puis lyophilisés, le lyophilisat est pesé pour calculer le rendement de l'extraction.

#### \* Calcul du rendement

Le rendement de l'extraction est le rapport entre le poids de l'extrait obtenu et le poids initial de la plante utilisée. Le rendement exprimé en pourcentage est calculé par la formule suivante :

$$R = 100m/m_0$$

Tel que :

R : le rendement en %

m : la masse de l'extrait

m<sub>0</sub>: la masse initiale de la plante

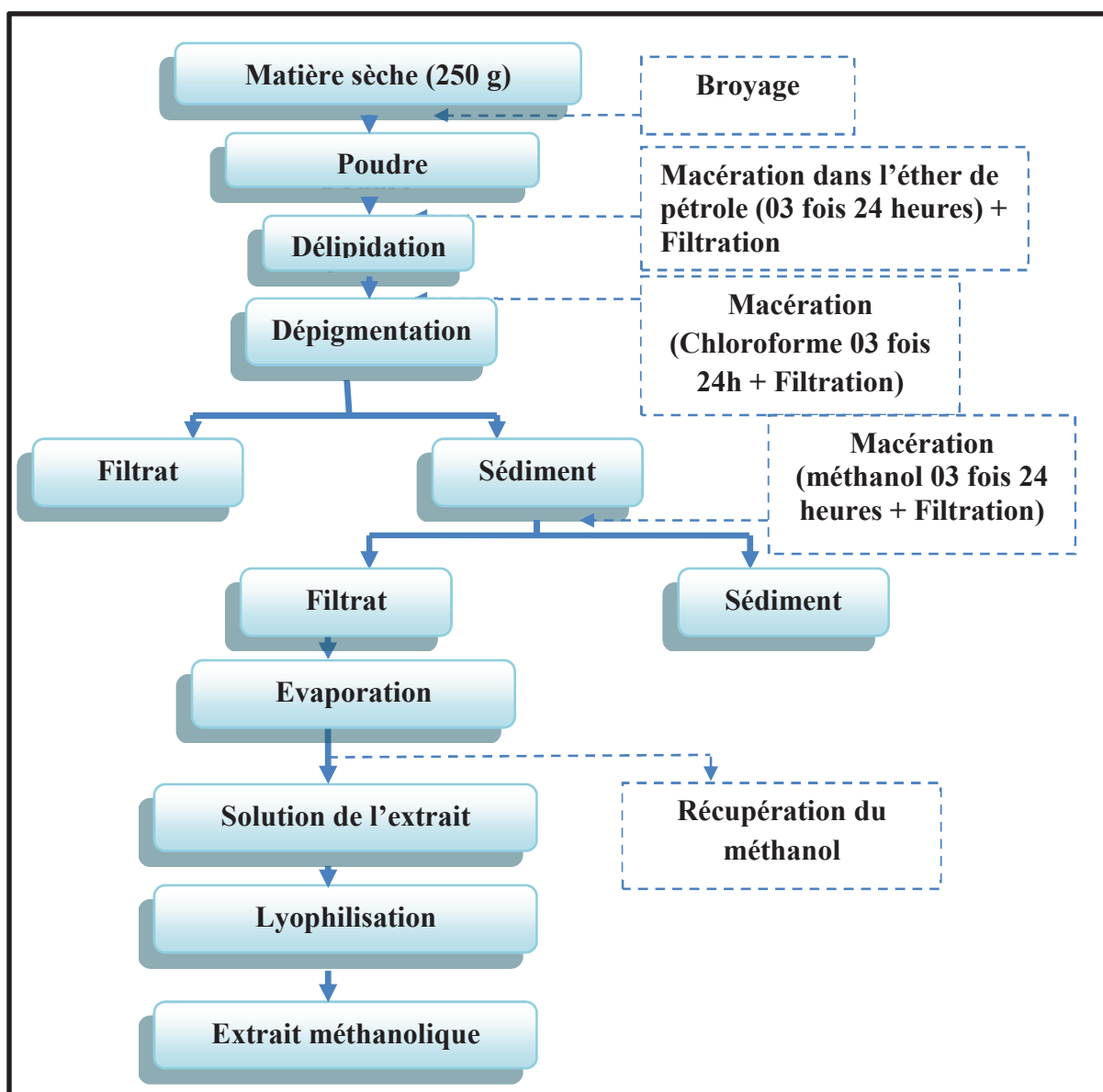


Figure 5: Protocole de l'extraction

### 1.2.1.3. Séparation et identification par chromatographie sur couche mince (C.C.M)

#### \* Méthode:

C'est une méthode rapide de contrôle dont l'adsorbant ou la phase stationnaire est constitué d'une couche mince et uniforme, de 0,25 mm d'épaisseur, de silice séchée, finement pulvérisée et appliqué sur un support approprié (feuille d'aluminium ou de verre).

La phase mobile ou éluant se propage à la surface de la plaque par capillarité.

#### ↳ Phase stationnaire

Des plaques de silice Kieselgel 60F254 de 0,2 mm d'épaisseur (Merck) ont été employées pour la chromatographie sur couche mince en phase normale.

### ↪ Phase mobile :

- Solvant:

Acétate d'éthyle - méthanol - eau distillée aux proportions de : (100V : 135V : 10V).

- Dépôts de la solution à tester
  - Déposer 8µl de chaque extrait sur la plaque à l'aide d'un capillaire.
  - Déposer 8 µl de quercétine, Alanine, acide gallique (les standards).

- Migration

Introduire la plaque dans la cuve à chromatographie contenant l'éluant approprié. La phase mobile parcourt alors la phase stationnaire provoquant ainsi une succession de partage des constituants entre les deux phases, ce qui permet une séparation des constituants entre les deux phases.

- Révélation

Pour révéler les taches de substances sur la plaque, on utilise soit la détection UV, soit la Ninhydrine (**Oomah, 2003**).

Après évaporation de l'éluant, la plaque est pulvérisée par la Ninhydrine.

#### 1.2.1.4. Analyse de l'extrait méthanolique de *Bêta vulgaris* et de *Ruta chalepensis* :

##### \* Dosage des polyphénols

La teneur en composés phénoliques des deux extraits de *Bêta vulgaris* et *Ruta chalepensis* (EMBV et EMRC) a été estimée par la méthode de Folin-ciocalteu selon (**Li et al., 2007**) basée sur la réduction en milieu alcalin de la mixture phosphotungstic ( $WO_4^{-2}$ ) phosphomolybdic ( $MoO_4^{-2}$ ) du réactif de Folin par les groupement oxydables 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 (Figure 6)



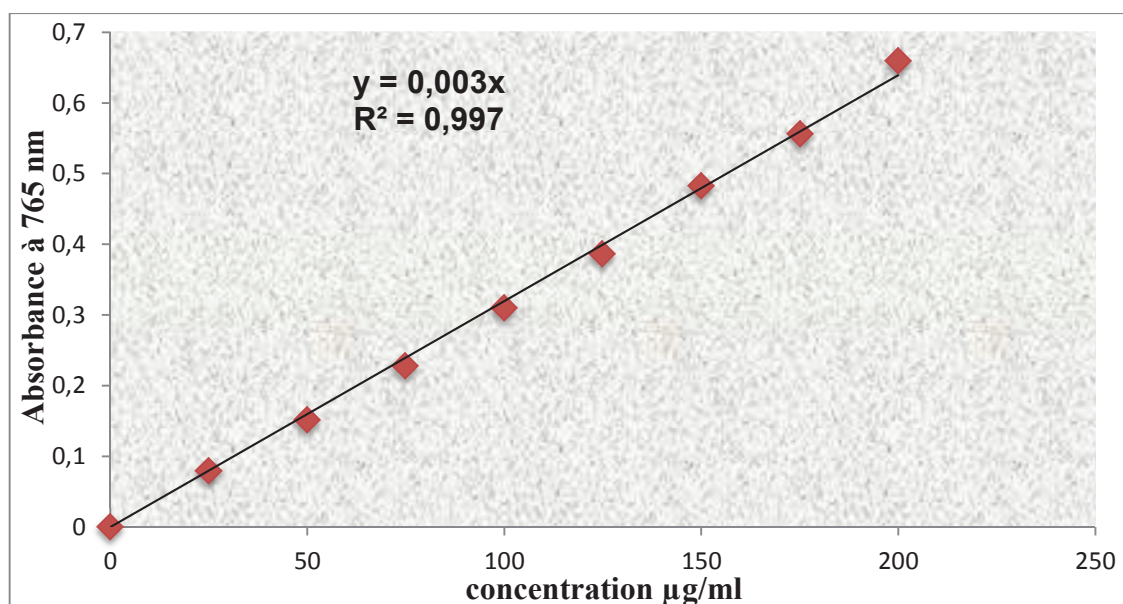


Figure 6 : Droite d'étalonnage de l'acide gallique.

#### \* Dosage des flavonoïdes

L'évaluation quantitative des flavonoïdes dans les deux extraits est réalisée selon la méthode du trichlorure d'aluminium (Bahorun *et al.*, 1996). Brièvement, les échantillons sont préparés par la dissolution de 1mg (extrait)/ml (méthanol). 1 ml de chaque échantillon est ajouté à 1 ml de la solution d' $AlCl_3$  (2%, dans le méthanol). Dix minutes après le début de la réaction, l'absorbance est lue à 430 nm.

Une gamme d'étalonnage est établie avec la quercétine (0-40 µg/ml)(Figure 7) pour calculer la concentration des flavonoïdes dans chaque extrait. Les résultats du dosage sont exprimés en milligramme d'équivalent de quercétine par gramme de lyophilisat.

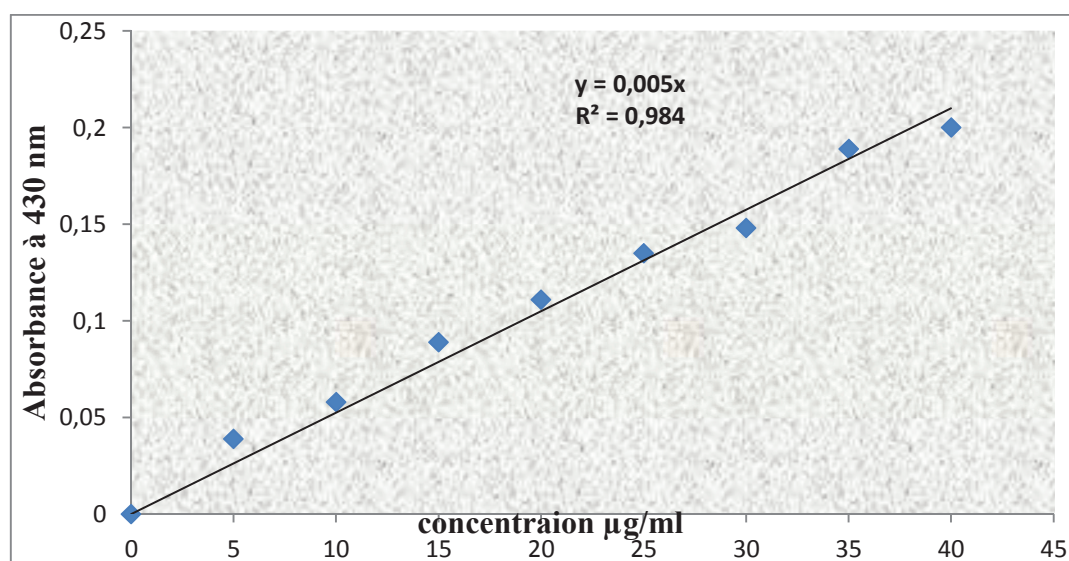


Figure 7: Droite d'étalonnage de la quercétine



## 2 Modèle animal

### 2.1. Matériel animal

L'étude est réalisée sur 45 rats mâles de souche Wistar albinos pesant 120-200g, les rats sont maintenus dans des cages plastiques dans l'animalerie de département des sciences de la nature et de la vie de l'université 08 mai 1945 Guelma à une température ambiante. Les animaux ont accès à volonté à la nourriture et à la boisson

### 2.2. Méthodes

#### 2.2.1. Induction du diabète sucré chez les rats :

Le diabète est induit aux rats par injection intrapéritonéale d'une dose unique de Streptozotocine (STZ) diluée dans du tampon citrate (0,01 M, pH4,5), et à raison de 50 mg/kg de poids corporel.

La streptozotocine est capable d'induire une hypoglycémie fatale résulte d'une sécrétion pancréatique massive de l'insuline (**Palsamy et Subramanian, 2008**). Après l'administration de la streptozotocine et pour prévenir son effet fatal, les rats reçoivent une solution glucosée à 5 % pendant 48 heures. Généralement, le diabète se stabilise chez les rats après trois jours de l'injection. Après 72 heures de l'administration de la STZ, la glycémie est mesurée à jeun à l'aide d'un glucomètre (**Chandra A et al., 2007**). Après la confirmation qu'il y a une induction du diabète expérimentale, les rats qui ont montré une glycémie supérieure à 200 mg/dl ont été sélectionnés (**Singh N et al., 2005**) et sont divisés en cinq groupes représentant les groupes diabétiques.

#### 2.2.2. La préparation de la nourriture

La préparation de la nourriture est basée sur les matières premières mentionnées dans le Tableau(2) selon la méthode suivante :

- Peser chaque métal seul et le broyer.
- Peser et mélanger les autres éléments (maïs, saccharose, cellulose, protéines et les vitamines).
- Ajouter les métaux avec les pourcentages mentionnés dans le tableau (3)

La nourriture préparée est répartie en deux :

- ◆ Nourriture avec le zinc (régime alimentaire normal).
- ◆ Nourriture sans zinc (régime alimentaire pauvre en zinc).
- Ajouter la quantité adéquate de l'huile de maïs dans chaque partie et mélanger pendant 15 minutes (**in Hamdiken, 2009**).

- **Tableau 2: Composition de la nourriture (Southon et al., 1984)**

Les matières premières	La quantité (g/kg nourriture)	Le pourcentage (%)
Mais	326	32,6
Saccharose	326	32,6
Protéines	168	16,8
Cellulose	40	4
Métaux	40	4
Vitamines	20	2
l'huile de maïs	80	8

- **Tableau 3: La quantité des métaux (Southon et al., 1984).**

Le métal	Quantité/ Kg de nutrition
ZnCO <sub>3</sub>	100g
FeSO <sub>4</sub>	144g
CuSO <sub>4</sub> , 5H <sub>2</sub> O	23g
KIO <sub>3</sub>	1g
MnSO <sub>4</sub> , H <sub>2</sub> O	180g
CaHPO <sub>4</sub>	13mg
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	7,4mg
CaCO <sub>3</sub>	8,2 mg
KCl	7,03mg
MgSO <sub>4</sub> , H <sub>2</sub> O	4mg

### 2.2.3. Traitement des animaux

Les 45 rats sont répartis en 9 lots égaux (05 rats /lot) :

- Lot1: Rats non diabétiques sous un régime alimentaire normal traités par 10 ml/Kg de l'eau physiologique.
- Lot 2 : Rats diabétiques sous un régime alimentaire normal traités par 10 ml/Kg de l'eau physiologique.

- Lot 3 : Rats diabétiques sous à un régime pauvre en zinc traités par 10 ml/Kg de l'eau physiologique.
- Lot4 : Rats non diabétiques sous un régime alimentaire pauvre en zinc traités par 10ml/kg eau physiologique
- Lot 5 : Rats diabétiques sous un régime alimentaire pauvre en zinc traités par Glibenclamide( 2,5 mg/kg).
- Lot 6 : Rats diabétiques sous un régime alimentaire pauvre en zinc traités par l'EMRC (500 mg/kg).
- Lot 7 : Rats diabétiques sous un régime alimentaire pauvre en zinc traités par l'EM BV (500 mg/kg).
- Lot 8 : Rats non diabétiques sous un régime alimentaire normal avec traitement par l'EMRC (500 mg/kg).
- Lot 9 : Rats non diabétiques sous un régime alimentaire normal avec traitement par l'EMBV (500 mg/kg).

Le traitement a été effectué par gavage pendant 21 jours.

#### **2.2.4. Prélèvement du sang**

Les prélèvements sanguins se font après sacrifice à la fin du traitement (22<sup>ème</sup> jour) les échantillons sanguine sont recueillis dans des tubes héparinés pour le dosage de la glycémie

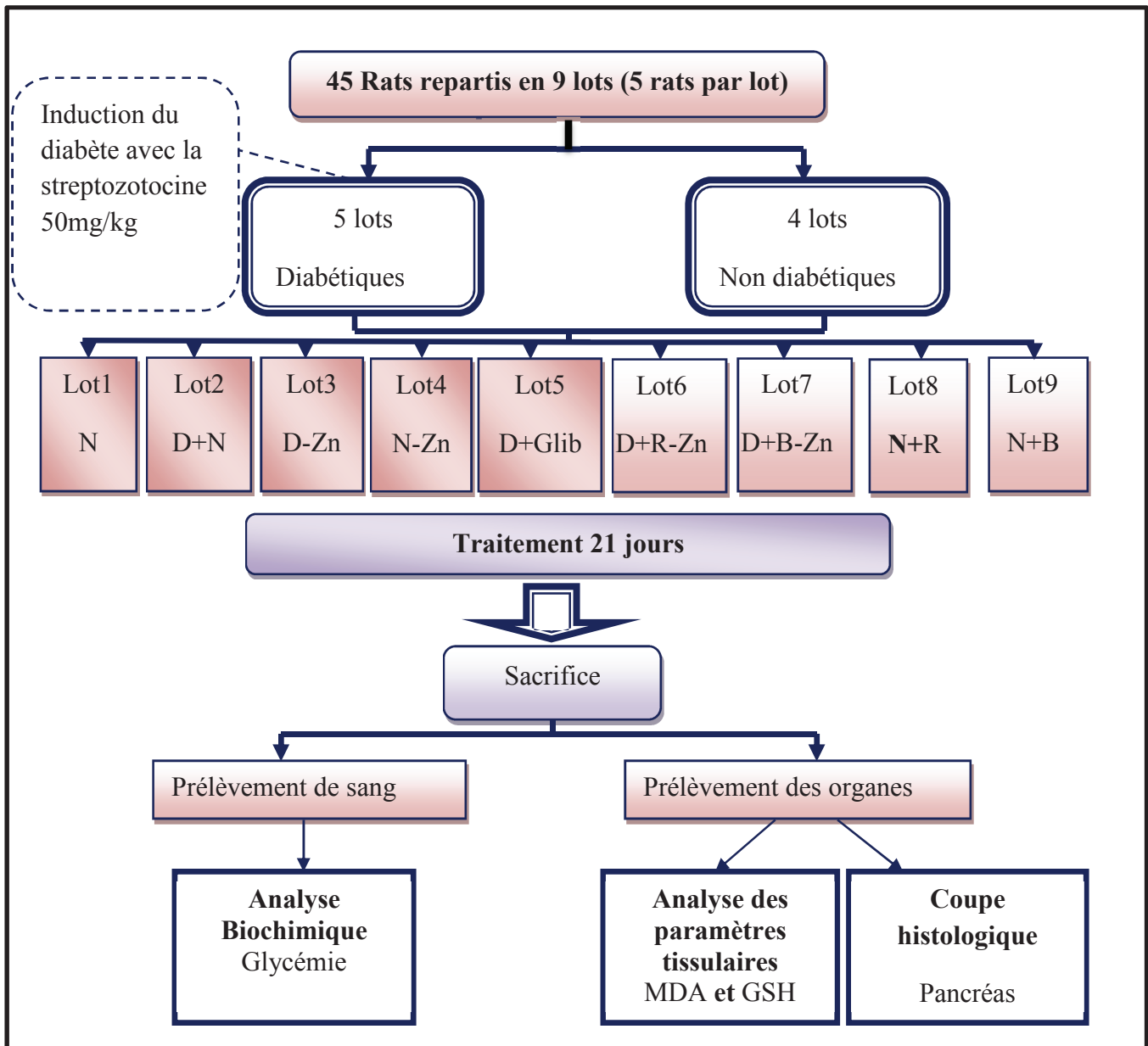
#### **2.2.5.Préparation des homogénats**

Après la dissection, le foie, le reine, et le cœur de chaque rat sont rapidement prélevés et bien rincés avec l'eau physiologique (0,9%) froide ensuite chaque organe est coupé en petits morceaux, pesé et enfin homogénéisé à l'aide d'un homogénéisateur dans une solution de Kcl(1 ,15%) à raison de 10%(p/v).

L'homogénat obtenu est centrifugé à 4000 tours /min pendant 10min pour éliminer les débris cellulaires .Ensuite, le surnagent est récupéré dans des tubes secs et stockés à -20° C jusqu'à l'utilisation pour le dosage tissulaires

#### **2.2.6. Préparation des échantillons des coupes histologiques**

Le pancréas est rapidement prélevé après la dissection pour éviter son autolyse qui s'effectue après quelques instants de la mort de l'animale. Après rinçage des échantillons avec l'eau physiologie froide, ils sont immédiatement fixés dans une solution de formol (10%)



**Figure 8 : schéma de protocole expérimental.**

**N** : Non diabétiques sous un régime normal traité

**D+N** : Diabétiques sous un régime alimentaires normal

**D-Zn** : Diabétiques sous un régime pauvre en Zn

**N-Zn** : Non diabétiques sous un régime pauvre en Zn

**D+Glib** : Diabétiques traités par Glibenclamide

**D+R-Zn** : Diabétiques sous un régime pauvre en Zn par eau physiologiques, traité par *Ruta chalepensis*

**N+R** : Non diabétiques traité par *Ruta chalpenis*

**D+B-Zn** : Diabétiques sous un régime pauvre en Zn Traité par eau physiologique traité par *Beta vulgaris*

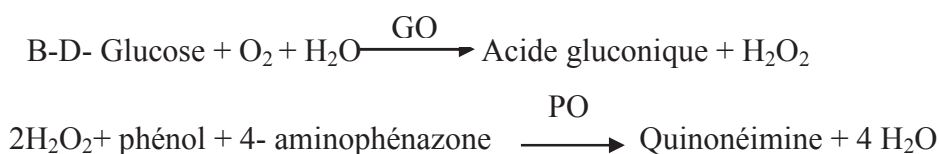
**N+B** : Non diabétiques traité par *Beta vulgaris*

### 2.2.7. Dosage biochimique

#### \* -Dosage de glucose : selon la fiche technique Spinreact

##### ↳ Principe :

Le glucose est mesuré après une oxydation enzymatique en présence du glucose oxydase. Le peroxyde d'hydrogène formé réagit grâce à l'action catalytique d'une peroxydase, avec un phénol et la 4- amino- phénazone pour former un composé rouge violet de quinonéimine qui sert d'indicateur coloré, selon les réactions suivantes (**Kaplan, 1984; Trinfer, 1969**) :



Echantillon : Sérum

##### ↳ Les réactifs utilisés :

Réactifs	Composition	Concentration
Réactif (R1) Tampon	TRIS pH 7,4 Phénol	92 m mol/ L 0,3 m mol/ L
Réactif (R2) Enzymes	Glucose oxydase (GOD) Peroxydase (POD) 4- aminophénazone (4- AP)	15000 U/L 1000 U/L 2,6 m mol/ L
Etalon	Glucose	/dl

##### ↳ Mode opératoire :

	Blanc	Etalon	Echantillon
Réactif (ml)	1,0	1,0	1,0
Etalon (µl)	-	10	-
Echantillon (µl)	-	-	10

-Mélanger et incuber pendant 10 min à 37°C.

-Lire l'absorbance optique à 500 nm de l'étalon et de l'échantillon contre le blanc dans les 30 minutes.

### ↳ - Calcul :

La concentration du glucose plasmatique est calculée par la formule suivante :

$$[\text{Glucose}] \text{ (mg/dl)} = \frac{(A)\text{échantillon}}{(A)\text{étalon}} \times 100 \text{ (concentration de l'étalon)}$$

## 2.2.8. Analyse des paramètres tissulaires

### \* Peroxydation lipidique

La peroxydation lipidique dans le foie, rein et cœur est évaluée par le dosage de malondialdéhyde (MDA) selon la méthode **d'Ohkawa et al., 1979**. Le MDA est l'un des produits terminaux de la décomposition des acides gras polyinsaturés (PUFA) sous l'effet des radicaux libres libérés au cours du stress. une molécule de MDA est condensée avec deux molécules de thiobarbiturique (TBA) pour former un complexe coloré en rose.

Pour le dosage du MDA, 0,5 ml de l'homogénat 0,5 ml d'acide trichloracétique 20 % et 1 ml d'acide thiobarbiturique (TBA) 0,67 % sont additionnés. Le mélange est chauffé à 100 °C pendant 15 minutes, refroidi puis additionné de 4 ml de n-butanol. Après centrifugation de 15 minutes à 3000 tours/minute, l'absorbance est déterminée sur le surnageant au spectrophotomètre à 532 nm.

La concentration de MDA est déduite à partir d'une gamme étalon établie dans les mêmes conditions avec une solution de « 1,3,3,3-tétratoxypropane » qui donne le MDA après son hydrolyse .

### \* Dosage du glutathion tissulaire

Le dosage de glutathion réduit est effectué selon la méthode de ( **Ellman , 1959**) au niveau du foie, du rein, et du cœur.

#### ↳ Principe :

La méthode du dosage de glutathion est basée sur l'évaluation de la réduction du réactif d'Ellman par les groupes (SH) en formant l'acide 2-nitro-5- mercaptobenzoïque ; ce dernier est caractérisé par une coloration jaune intense, ce qui permet sa quantification spectrophotométrique à 412 nm.

#### ↳ Réactifs et solvants :

- a- L'acide trichloracétique 10%.
- b- Tampon phosphate de potassium pH8 (0.1M).
- c- Réactif d'Ellman ; 5,5'-dithio-bis (2-nitrobenzoïque) 0.396g/100ml de tampon.

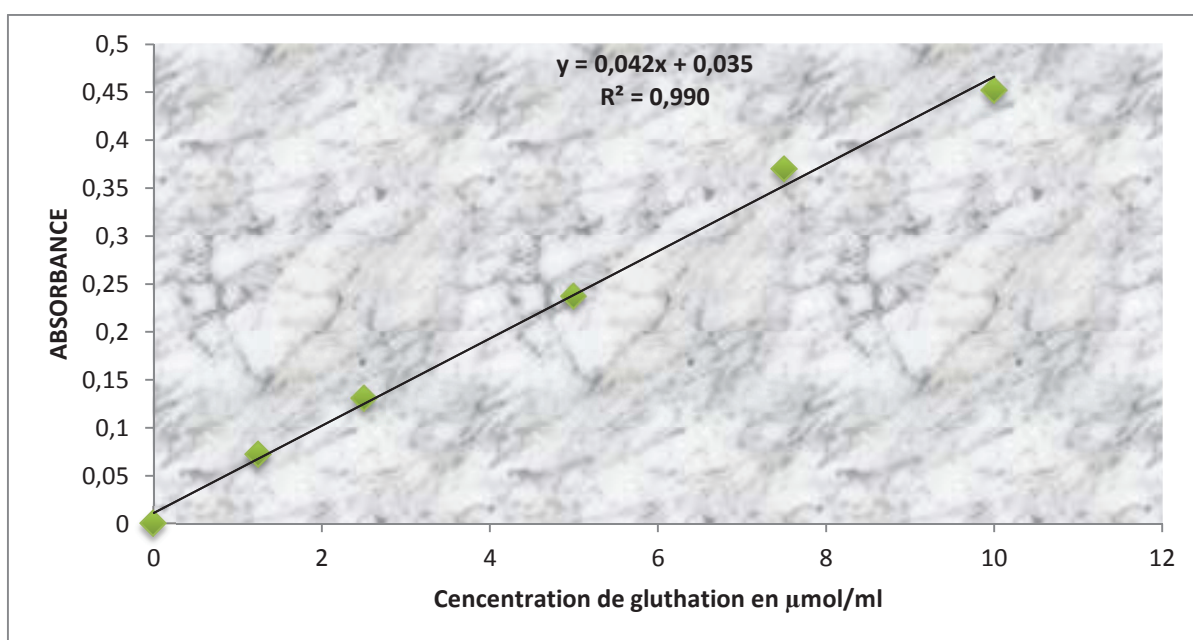
d- Glutathion réduit.

↳ **Procédure :**

Le dosage du glutathion réduit dans les tissus s'effectue selon les étapes suivantes :

- a- 0.5 ml de TCA à 10% sont mélangés avec 0.5 ml d'échantillon. Le mélange est agité de temps en temps pendant 15 minutes.
- b- Après 15 minutes, les tubes sont centrifugés 5 minutes à 2000 tpm.
- c- D'autres tubes sont préparés pour le mélange réactionnel : 100 µl de réactif d'Ellman sont ajoutés à 1.7 ml de tampon, ensuite, 200 µl de surnageant sont additionnés et la lecture se fait après 5 minutes à 412 nm contre un blanc préparé dans les mêmes conditions.

Les concentrations du glutathion réduit sont exprimées en µmol par gramme de tissu. Elles sont déduites à partir d'une gamme étalon de glutathion préparée dans les mêmes conditions que le dosage.



**Figure 9 : Courbe d'étalonnage de Glutathion réduit GSH.**

### 2.2.9. Etude histologique :

Les coupes histologiques du pancréas ont été réalisées suivant la technique classique du Houlot.

Pour chaque rat, on prélève un fragment du pancréas de 0,5 cm<sup>3</sup>, ces fragments sont mis directement dans du formol, fixateur couramment utilisé. Puis ces morceaux sont retirés et coupés à l'aide du couteau tranchant à fin de réaliser des prélèvements pour l'étude

histologique avec une surface de 1-2 cm<sup>2</sup> et une épaisseur proche de 1,5 mm. Les pièces obtenues sont alors mis dans des cassettes spéciales à parois tournées afin de permettre le passage des liquides.

### \* Déshydratation

Les échantillons sont ensuite déshydratés pendant 12 heures au minimum pour éliminer l'eau des tissus, cette opération nécessite le passage du tissu dans des bains d'éthanol de concentration croissante (70%, 80%, 90% et 100%).

### \* Inclusion

Les pièces anatomiques sont alors plongées dans des bains de paraffine liquide, puis on procède à l'étape de l'enrobage qui consiste à inclure le tissu imprégné dans un bloc de paraffine qui, en se solidifiant, va permettre sa coupe. La réalisation des coupes minces de quelques microns (5 µm en moyenne) sont possibles grâce d'un microtome. Ces coupes sériées sont reliées entre elle sous forme des rubans ; les quels sont par la suite étalés sur des lames porte-objets, dépliés et fixés sur les lames par l'utilisation d'une eau gélatineuse chauffée.

### \* Coloration

Selon la technique à l'hémalum-éosine, la coloration compris les étapes suivantes:

- 1- Déparaffiner et hydrater les lames à l'eau de robinet puis rincer à l'eau distillé.
- 2- Immerger dans un bain d'hématoxyline de Harris (15 min) qui colore en bleu violacée les structures basophiles (noyaux).
- 3- Différencier les coupes dans l'alcool acide (100 ml éthanol à 70% + 50 ml HCl) puis les rincer à l'eau de robinet.
- 4- Bleuir dans un bain d'eau ammoniacale (100 ml d'eau distillé + 2 ml d'ammoniaque).
- 5- Immerger dans un bain d'Eosine (15 secondes à 2 min) qui colore les structures acidophiles (cytoplasme).
- 6- Déshydrater, éclaircir et monter les lames à Eukitt. Tous ces bains sont séparés par des lavages à l'eau de robinet.
- 7- Enfin, passer à l'observation au microscope photonique, lequel est équipé d'un appareil photographique.



### 2.2.10. Etude statistique

L'étude statistique est réalisée à l'aide du système Origin Pro 8 en utilisant le test de variance univariée (one-way ANOVA) suivie du test de Tukey.

Pour l'étude expérimentale sur les animaux, les résultats sont exprimés en moyenne  $\pm$  S.E.M et en comparant les différents groupes où :

- a : : Comparaison du lot N avec le DN.
- b : Comparaison du lot D-Zn avec le lot DN.
- c : Comparaison du lot N+R et N+B et N-Zn avec le lot N.
- d : Comparaison du lot D+Med-Zn, D+R-Zn et D+B-Zn avec le D-Zn.

Ce test nous donne le degré de signification P où on dit que la différence :

N'est pas significative si  $p > 0.05$  (NS).

Est significative si  $0.05 > p > 0.01$  (\*).

Est hautement significative si  $0,05 > p > 0,01$  (\*\*).

Est très hautement significative si  $p < 0,001$  (\*\*\*)



*Résultats*

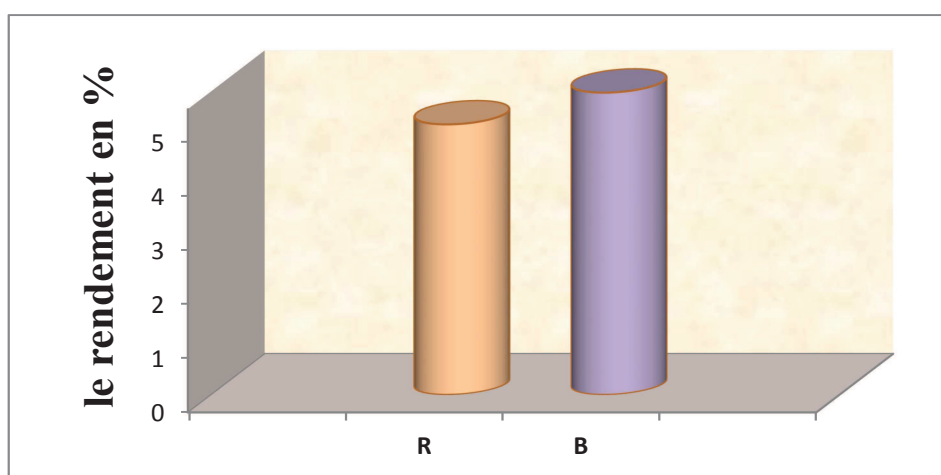
## 1. Modèle végétale :

### 1.1. Préparation de l'extrait méthanolique des deux plantes *Bêta vulgaris* «var.cicla» et *Ruta chalepensis*

L'opération de l'extraction à partir de 250 g du matériel végétal à l'aide du méthanol et après lyophilisation a permis d'obtenir un résidu sec d'extrait méthanolique. Les rendements en (%) et en (g) des deux plantes sont présentés dans le tableau 4 et la (figure 10)

**Tableau 4: Rendement de l'extraction**

La quantité de l'extrait à partir de 250 g	<i>Bêta vulgaris</i>	<i>Ruta chalepensis</i>
Rendement en %	5,58	5
Rendement en g	13,96	12,5



**Figure 10 : Le rendement de l'extraction en % (R : *Ruta chalepensis* ; B : *Bêta vulgaris*)**

## 1.2. Etude phytochimique

### 1.2.1. Tests phytochimiques

Le screening phytochimique nous a permis de mettre en évidence la présence des composants chimiques au niveau de nos plantes *Ruta chalepensis* et *Bêta vulgaris*. Les résultats expérimentaux des tests phytochimiques réalisés sur le matériel végétal broyé de *Ruta chalepensis* et de *Bêta vulgaris*, sont mentionnés dans le tableau(5)

Tableau 5 : Résultats des tests phytochimiques

test plantes	Alcaloïdes	Flavonoïdes	Tanins	Mucilages	coumarines	Saponosides
<i>Bêta vulgaris</i>	-	+	+	+	+	+
<i>Ruta chalepensis</i>	+	+	+	+	+	+

(+) présence, (-) Absence

Les résultats montrent la présence des flavonoïdes, tanins, mucilages, coumarine et saponosides dans les deux plantes, tandis que la présence des alcaloïdes uniquement chez *Ruta chalepensis*.

### 1.2.2. Chromatographie sur couche mince

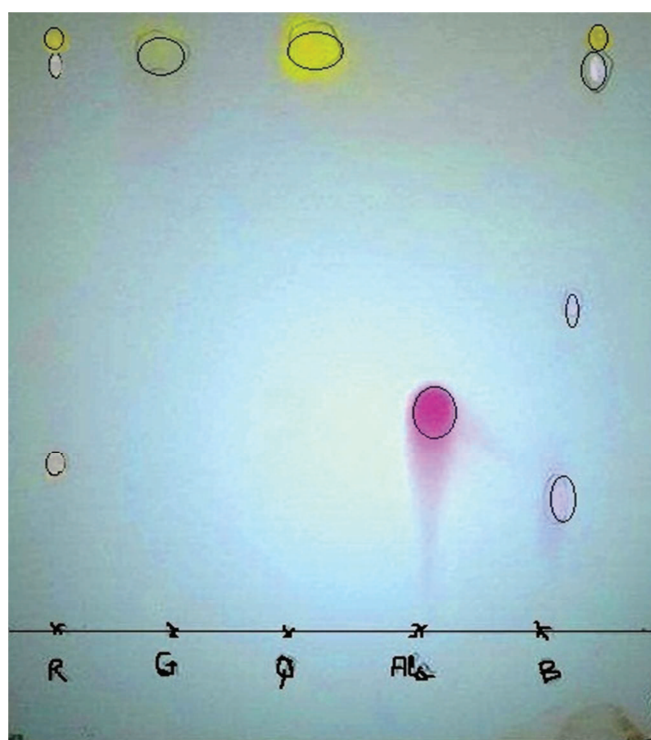


Figure 11 : chromatographie sur couche mince des deux extraits méthanoliques (prise personnelle)

Pour une caractérisation partielle des différents extraits de *Bêta vulgaris* et *Ruta chalepensis*, une chromatographie sur couche mince (CCM) a été réalisée selon la méthode de (Oomah ,2003).

L'analyse du chromatogramme révèle la présence de quatre taches pour *Bêta vulgaris* et trois taches pour *Ruta chalepensis*.

Les rapports frontaux sont calculés selon l'équation suivante :

$$R_f = \frac{\text{distance parcourue par l'échantillon}}{\text{distance parcourue par le solvant}}$$

- Distance parcourue par le solvant = 10 cm

↳ **Extrait méthanolique de *Ruta chalepensis***

- Distance parcourue par la 1<sup>ère</sup> tache = 2,8cm

$$R_{f1} = 0,28$$

- Distance parcourue par la 2<sup>ème</sup> tache = 9,1cm

$$R_{f2} = 0,91$$

- Distance parcourue par la 3<sup>ème</sup> tache = 9,2cm

$$R_{f3} = 0,92$$

↳ **Extrait méthanolique de *Bêta vulgaris***

- Distance parcourue par la 1<sup>ère</sup> tache = 2,2cm

$$R_{f1} = 0,22$$

- Distance parcourue par la 2<sup>ème</sup> tache = 5,6cm

$$R_{f2} = 0,56$$

- Distance parcourue par la 3<sup>ème</sup> tache: 9,1

$$R_{f3} = 0,91$$

- Distance parcourue par la 4<sup>ème</sup> tache: 9,3

$$R_{f4} = 0,93$$

↳ **Acide gallique**

- Distance parcourue par A gallique = 9,1cm

$$R_f = 0,91$$

↳ **Quercétine**

- Distance parcourue par la quercétine = 9,3cm

$$R_f = 0,93$$

↳ **Alanine**

- Distance parcourue par l'alanine = 3,8 cm

$$R_f = 0,38$$

La révélation par la Ninhydrine a permis d'avoir une bonne séparation et une visibilité acceptable des taches qui confirme la présence de l'acide gallique et la quercétine dans les deux extraits.

### 1.2.3. Analyses de l'EMBV et l'EMRC

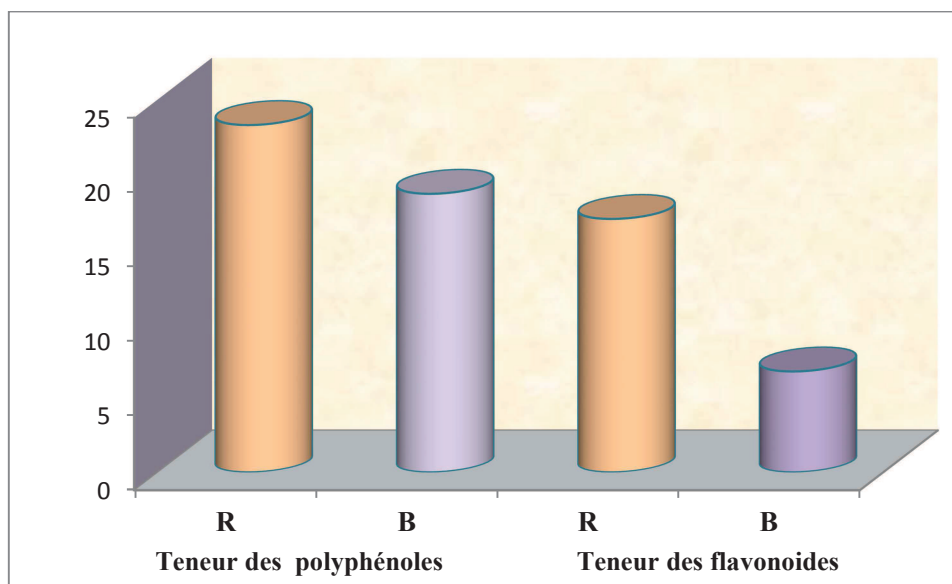
#### 1.2.3.1. Dosage des polyphénols et des flavonoïdes

Le dosage des polyphénols totaux effectué selon la méthode de Folin-Ciocalciu montre que *Ruta chalepensis* contient (23,33mg EAG/g extrait), contre (18,66mg EAG/g extrait) pour *Bêta vulgaris*

L'évaluation quantitative des flavonoïdes par la méthode de trichlorure d'aluminium révèle la présence de (17 mg EQ/g extrait) et (6,8mg EQ/g extrait) dans *Ruta chalepensis* et *Bêta vulgaris* respectivement. Tableau 6 et figure 12

**Tableau 6: Dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes dans l'EMBV et l'EMRC**

	Teneur en polyphénols (mg EAG /g extrait)	Teneur en flavonoïdes (mg EQ/g extrait)
<i>Bêta vulgaris</i> «var. cicla»	18,66	6,8
<i>Ruta chalepensis</i>	23,33	17



**Figure 12 : Teneur en polyphénol et en flavonoïdes dans les extraits**

(R: *Ruta chalepensis*, B : *Bêta vulgaris*)

## 2. Modèle animal

Après l'installation du diabète, on a commencé le traitement des différents lots. Durant les premiers jours du traitement, on a noté un état de polyurie chez tous les rats diabétiques par rapport aux rats normaux avec augmentation de la consommation de l'eau et de la nourriture. Après trois semaines de traitement, ces symptômes tendent à se diminuer chez les rats diabétiques traités avec l'EMRC et EMBV et le glibenclamide alors qu'il n'y a aucune amélioration chez les rats diabétiques normaux. Les variations de la glycémie des rats des différents lots sont notées dès la première semaine, alors que les paramètres biochimiques (glycémie finale) et tissulaires ainsi que les coupes histologiques sont analysés après le sacrifice des animaux.

### 2.1. Suivi de la glycémie pendant le traitement

Les résultats obtenus dans notre étude « figure 13 et tableau 7 » ont montré que le STZ provoque après 48 heures de son injection une augmentation significative de la glycémie chez les groupes des rats diabétiques.

Chez les rats diabétiques qui sont sous un régime alimentaire normal et ceux qui sont sous un régime pauvre en zinc, la concentration sérique de glucose a continué de s'élever et elle est arrivée à son maximum après la troisième semaine de traitement par l'eau physiologique.

L'administration orale de l'EMRC, l'EMBV et le Glibenclamide a provoqué une baisse significative de la glycémie par rapport au groupe diabétique sous un régime alimentaire pauvre en zinc.

Notons que le pourcentage de la diminution de la glycémie établie par l'EMRC sur les rats diabétiques soumis à un régime pauvre en zinc (-55,04%) est presque équivalent à celui qu'est effectué par l'EMBV (-37,88%) les résultats sont rassemblés dans la figure 14 .



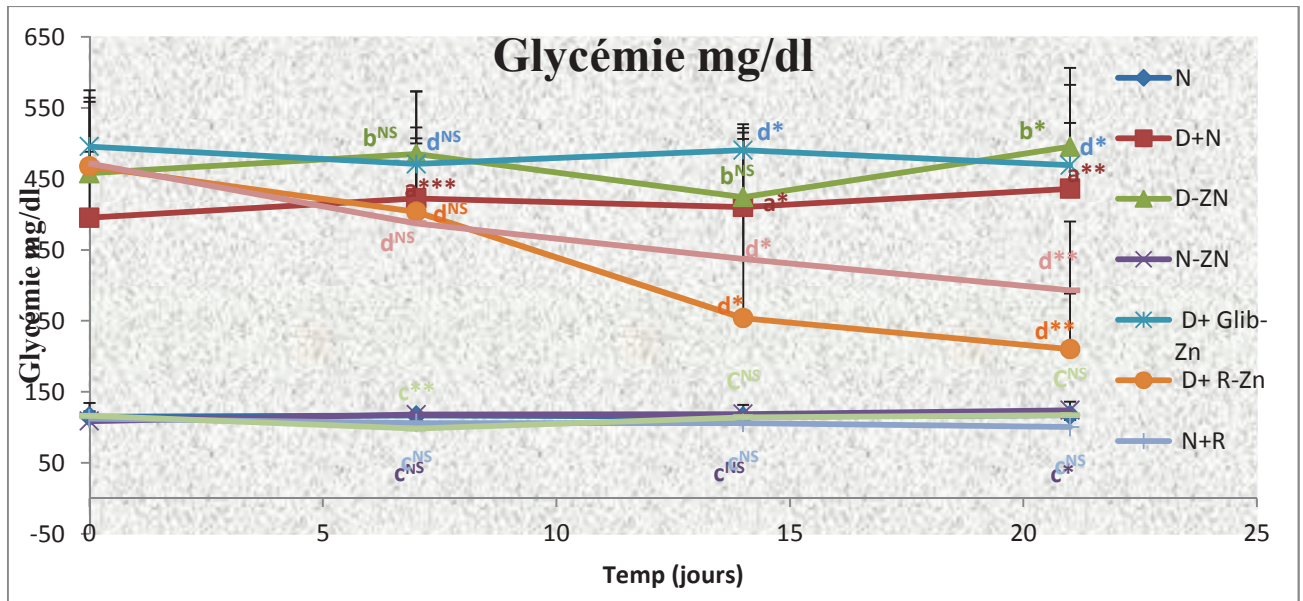


Figure 13: Courbe du suivi de la glycémie durant le traitement

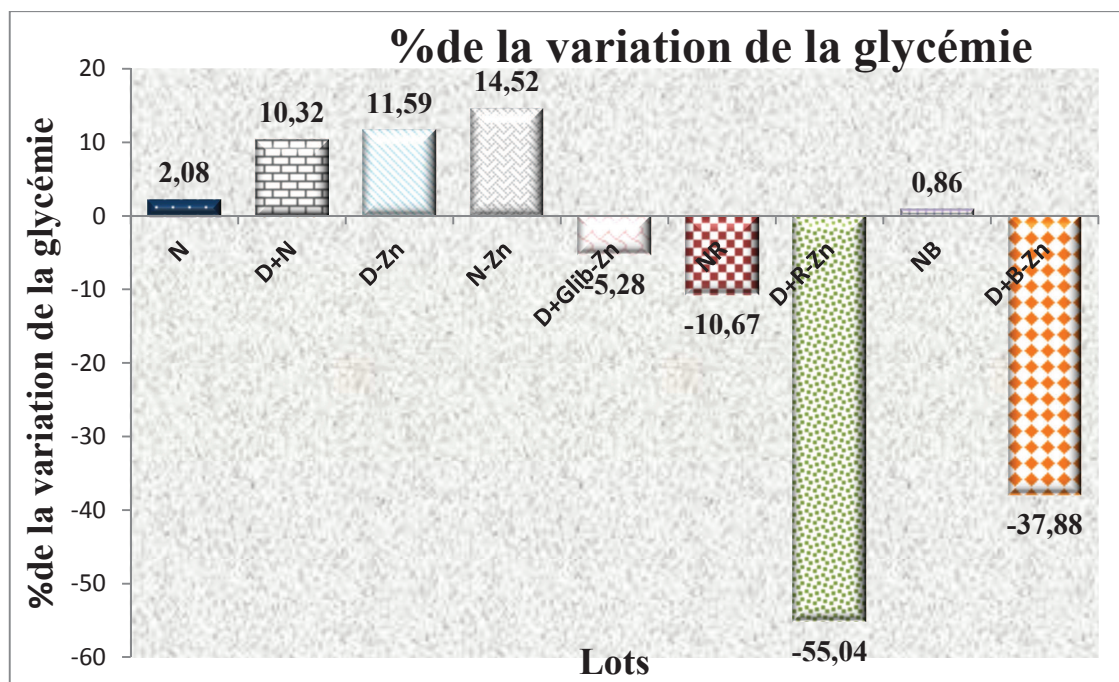


Figure 14 : Pourcentage de la variation de la Glycémie chez les rats pendant la durée du traitement



**Tableau 7 : Effet de l'administration orale de EMBV, EMRC, Glibenclamide et de l'eau physiologique sur la glycémie**

Lots	Paramètres	
	Glycémie initial (mg/dl)	Augmentation ou diminution de la glycémie (mg/dl)
D+N	395,2±70,56	40,8 <sup>NS</sup>
D-Zn	457,8±99,48	57,4 <sup>*</sup>
D +Glib-Zn	495,4±63,28	-26,2 <sup>*</sup>
D +R-Zn	467 ,6±106,88	-257,4 <sup>**</sup>
D+B-Zn	471,4±16 ,64	-178,6 <sup>**</sup>
N+R	112,4±10,08	-12 <sup>NS</sup>
N + B	116,2±18 ,29	1 <sup>NS</sup>
N	115±11 ,6	2 ,4 <sup>NS</sup>
N -Zn	108 ,8±4,72	15,8 <sup>*</sup>

## 2.2 Dosages des paramètres tissulaires

### 2.2.1 Dosage de glutathion

Le dosage du glutathion tissulaire a montré qu'il y a une diminution hautement significative au niveau du foie (-97,30 %), du cœur (-97,01%) et du rein (-95,09%) chez les rats diabétiques par rapport aux rats normaux.

La carence en zinc dans l'alimentation des rats diabétiques a baissé le taux du glutathion au niveau du rein (-28,35%) et du foie (-34,04%) et du cœur (-1,29%) par rapport aux rats diabétiques normaux.

Le traitement des rats diabétiques qui sont sous un régime alimentaire pauvre en zinc par le glibenclamide (2,5mg/kg), par l'EMRC (500mg/kg), par l'EMBV (500mg/kg) semble avoir un effet significatif sur le taux du glutathion dont on a noté une augmentation remarquable au niveau du foie(+97,99%), du rein (+89,60%) et du cœur (+96,26%) pour l'EMRC. et au niveau du foie (+60,44%), du rein (+13,12%) et du cœur (67,79%) pour l'EMBV. Et au niveau du foie (+26,96%), du rein (+13,39%) et du cœur (+19,71%) pour le glibenclamide.

Les résultats sont mentionnés dans (la figure 15).

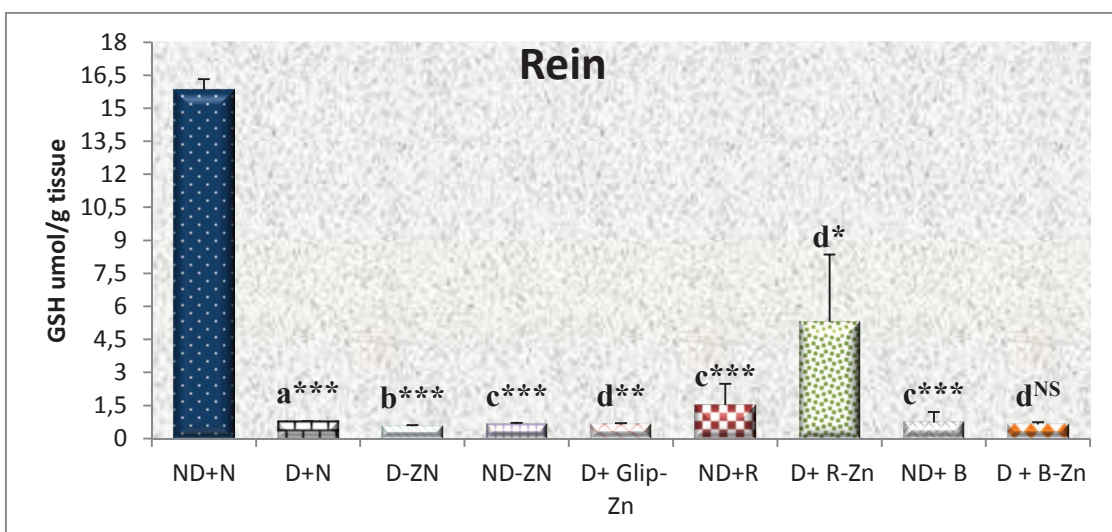
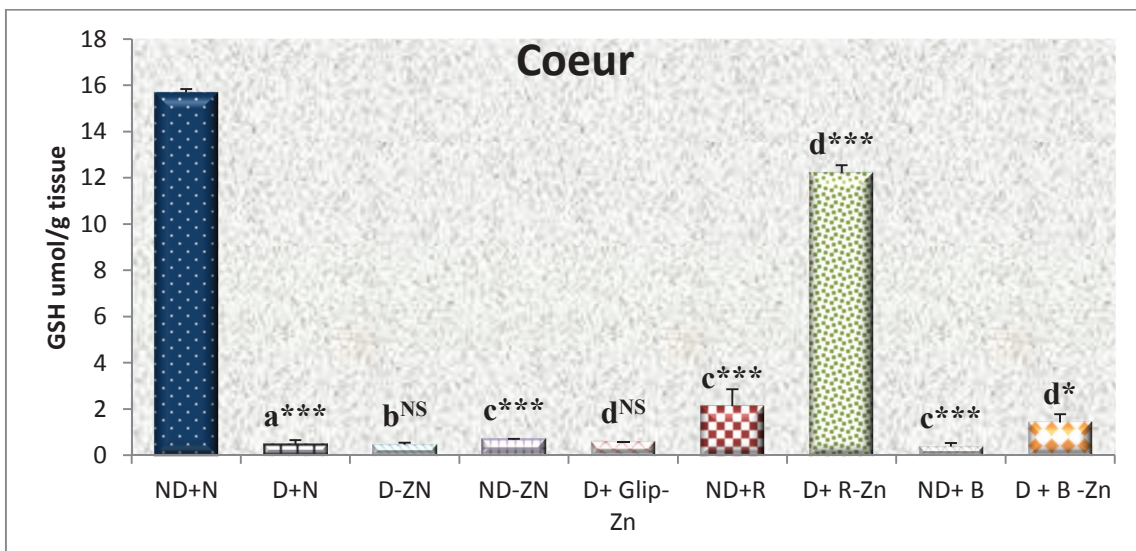
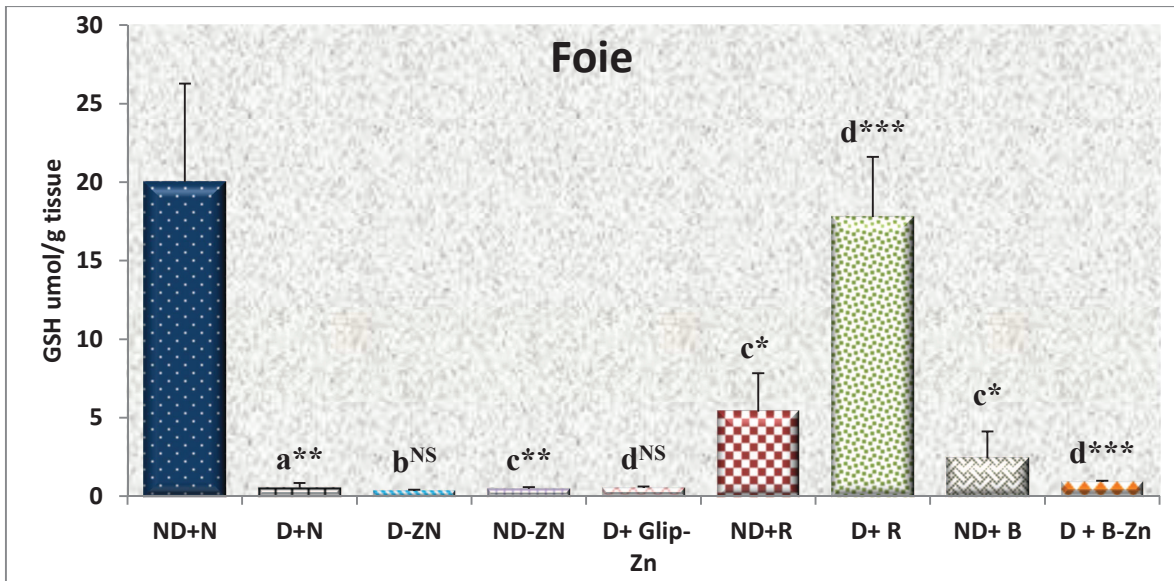


Figure15 : Dosage du GSH tissulaire au niveau du foie , des reins et du coeur.

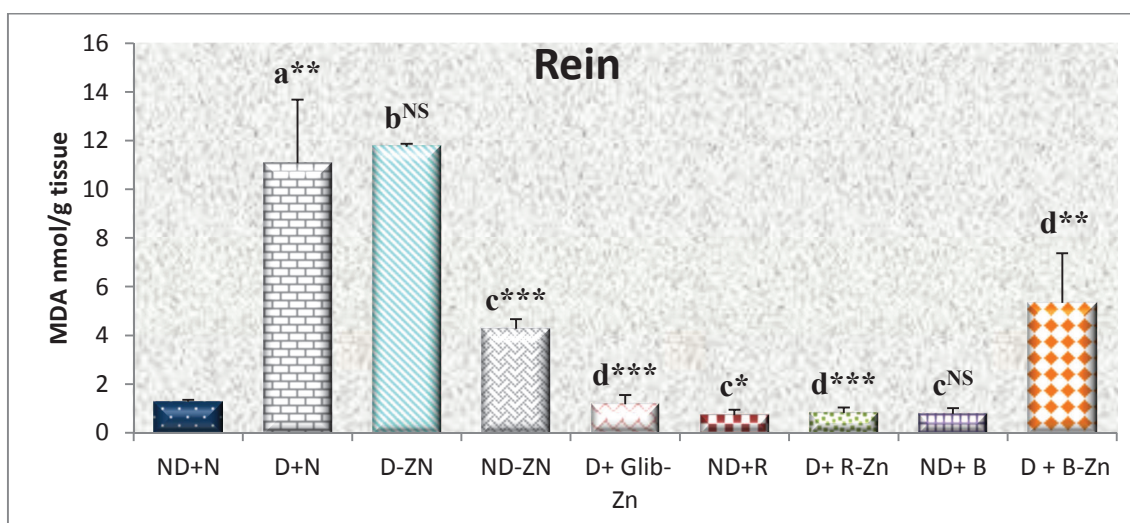
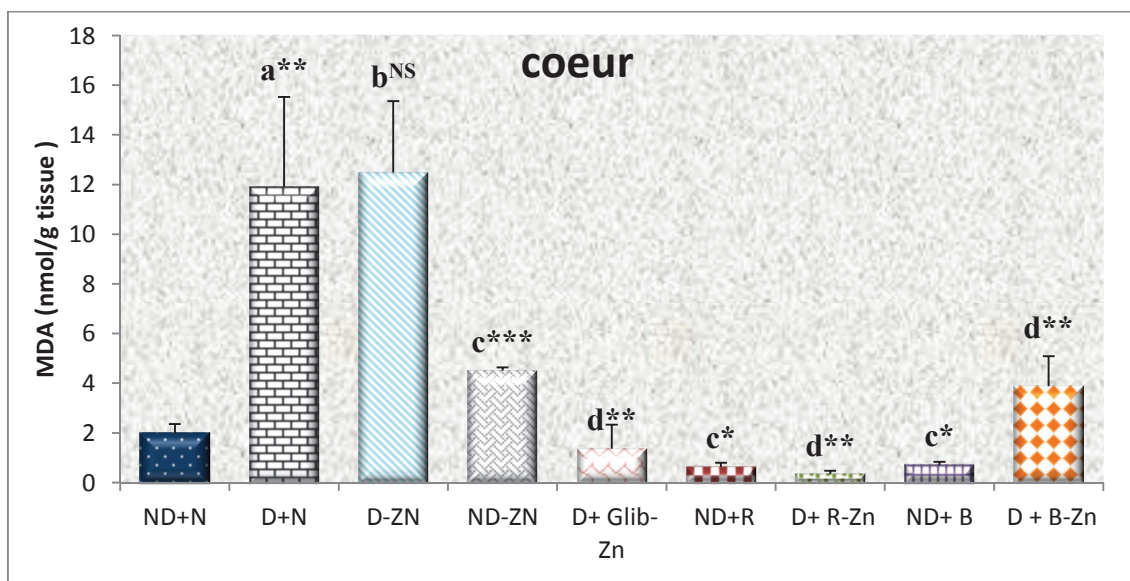
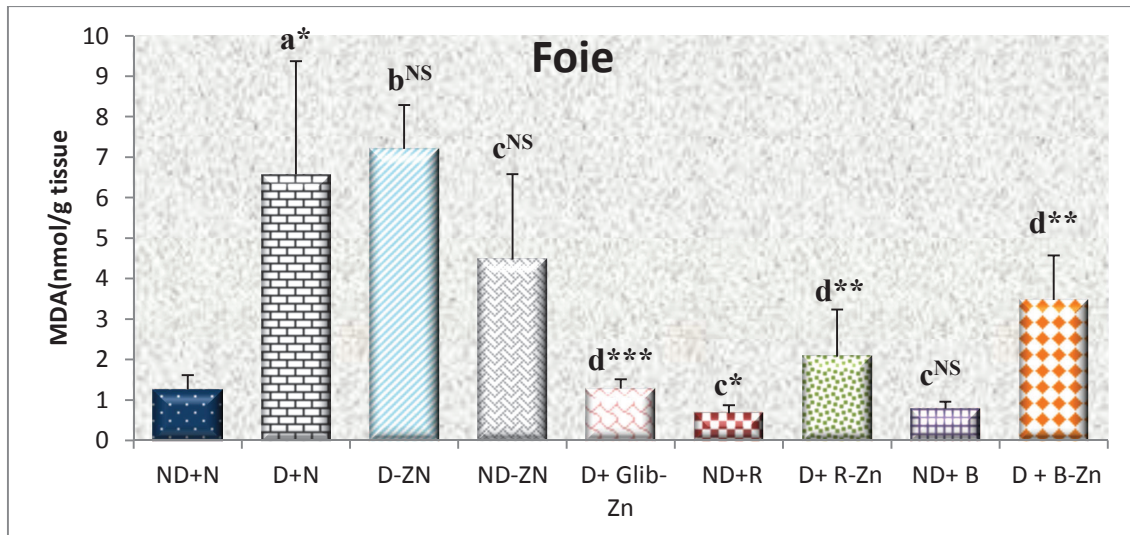
Chaque valeur représente la moyen± S.E.M (n=5) :\* 0.05>p>0.01, \*\* 0.01>p>0.001, (\*\*\*) p < 0.001

### 2.2.2. Dosage de MDA

Le dosage de MDA a montré qu'il a subi une augmentation hautement significative au niveau du foie (+80,88%), du cœur (+83,40%) et du rein (+88,42%) chez les rats diabétiques par rapport aux rats normaux. On a noté aussi une augmentation non significative au niveau du foie (+8,82%), du cœur (+4,59%) et du rein (+5,88%) chez les rats diabétiques sous un régime alimentaire pauvre en zinc par rapport à ceux qui sont sous un régime normal.

Le traitement avec l'EMRC et l'EMBV et avec le Glibenclamide semble avoir un effet significatif sur le taux de l'MDA. On a noté une augmentation hautement significative au niveau du foie (-71,24%), du cœur (-97,23%) et du rein (-93,02%) pour l'EMRC, alors que pour le Glibenclamide au niveau du foie (-82,26%), du rein (-90,04%) et (-89,05%) au niveau du cœur, au niveau de foie (-51,79%), du cœur (-68,91%), du rein (-54,61%) pour l'EMBV. D'après ces données, on constate que l'EMRC était plus efficace que le Glibenclamide et l'EMBV au niveau du foie et du cœur et reins. Les résultats sont rassemblés dans la figure (16)





**Figure 16 : Dosage de l'MDA tissulaire au niveau du foie, des reins et du coeur.**  
 Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  S.E.M (n=5) : \* 0.05>p>0.01, \*\* 0.01>p>0.001, (\*\*\*) p < 0.001



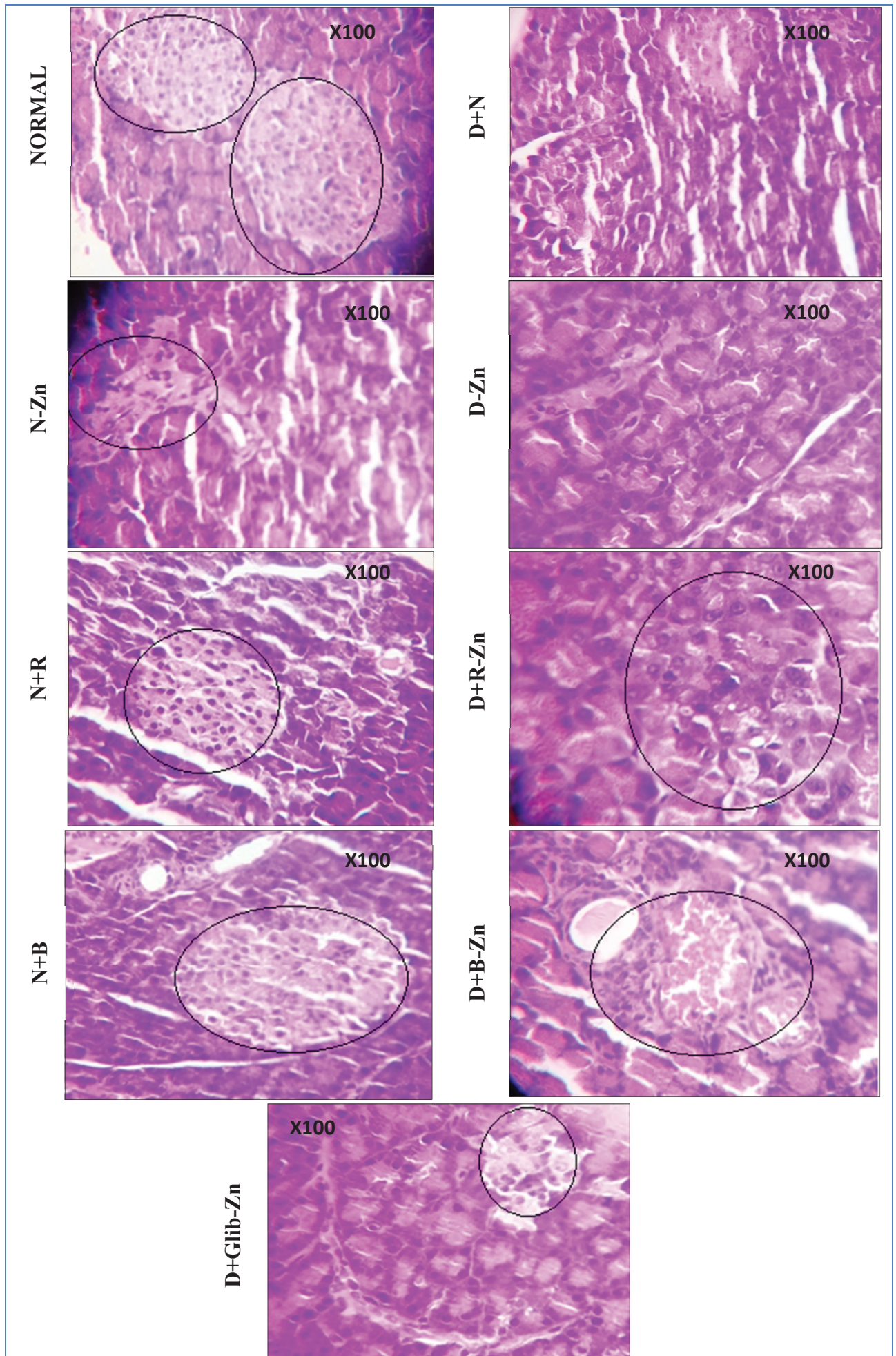


Figure17 : Photos des coupes histologiques du pancréas



*Discussion*

Le diabète sucré est un groupe hétérogène des maladies métaboliques dont la caractéristique principale est une hyperglycémie résultant d'un défaut de sécrétion, d'action de l'insuline ou de ces deux anomalies associées (**Sharma et al., 2008**).

Il touche 4 à 5% de la population mondiale (**Pickup et William, 1997**) et représente la majeure source de morbidité dans les pays développés (**Ravi et al., 2005**).

Le diabète peut être induit chez l'animal par différentes techniques dont l'injection de la Streptozotocine (STZ) qui est largement utilisée (**Szkudelski, 2001**).

La STZ est un glucosamine nitrosé (**Anderson et al, 1974; Povoski et al., 1993**), elle entraîne un effet cytotoxique sélectif des cellules  $\beta$  des îlots de Langerhans (**Anderson et al., 1974 ;Crouch et al., 1978; Robbins et al., 1980**). Le mécanisme d'action de cet agent diabéto-gène reste encore mal connu. Cependant, les études postérieures ont montré son action sur les îlots de Langerhans en réduisant la masse des cellules, par conséquent une insulinopénie caractéristique d'une hyperglycémie chronique ou transitoire (**Chen et Ianuzzo,1981; Aughsteen, 2000; Szkudelski, 2001**).

Le zinc est un oligo-élément important. Il est indispensable à un certain nombre de fonctions biochimiques et physiologiques, il intervient dans l'activité de près de 300 enzymes (**Judith J et al., 2009**). Il joue également un rôle dans la plupart des métabolismes (synthèse et dégradation des glucides, lipides, protéines et acides nucléiques). Il agit aussi au niveau du métabolisme hormonal, il joue un rôle important dans le stockage et la sécrétion d'insuline.

La carence en zinc induit une augmentation des troubles métaboliques du diabète et favorise les complications de cette maladie.

Le traitement de ces complications constitue une des plus grandes préoccupations scientifiques à travers le monde. Ceci est en vue de trouver de nouvelles solutions pour prévenir, voir ralentir la survenue des complications organiques et métaboliques résultantes de l'hyperglycémie chronique.

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 activités biologiques constituent une des plus grandes préoccupations scientifiques.

De ce fait, plusieurs travaux ont été réalisés pour l'évaluation des effets antidiabétiques des plantes médicinales dont la présente étude qui est consacrée à la recherche d'éventuels effets antidiabétiques de l'extrait méthanolique de *Ruta chalepensis* et *Béta vulgaris*.

## 1. Modèle végétale

Les rendements en extrait méthanolique sont variables selon les espèces des plantes, pour notre étude on a constaté que:

le rendements de *Ruta chalepensis* est de 5% contre 5,58% pour *Bêta vulgaris* ; Selon une étude mener par **Manssour et al., 1990** sur la même espèce *Ruta chalepensis*, le rendement en extrait brut de la partie aérienne entière est de 3.75%. Rendement nettement inférieure à celui obtenu dans notre étude. Cela est peut être dû à l'utilisation de soxhlet où la température élevée pendant plusieurs heures qui peut dégrader certains constituants sensibles (tels les polyphénols...) (**Andersen et Markham, 2006**), ce qui n'est pas le cas dans notre étude où l'extraction est réalisée à froid par simple macération.

Le screening phytochimique nous a permis de mettre en évidence la présence de métabolites secondaires au niveau des tissus végétaux de nos plantes. La détection de ces composés chimiques est basée sur des réactions de précipitation, apparition de la mousse, un changement de couleur spécifique ou un examen sous la lumière ultraviolette.

- ❖ Les flavonoïdes existent dans les deux plantes, la réaction de perchlorure de fer confirme la présence des flavonoïdes
- ❖ Les tanins sont présents avec des quantités importantes dans les deux plantes. Leur présence est confirmée par la réaction de Stiasny.
- ❖ Les coumarines sont présentes dans *Ruta chalepensis* et *Bêta vulgaris*.
- ❖ Les alcaloïdes sont présents uniquement dans *Ruta chalpensis*.
- ❖ L'apparition de la mousse indique la présence des saponosides dans les deux plantes.
- ❖ L'obtention d'un précipité floconneux confirme la présence des mucilages dans les deux plantes.

De façon général, les familles chimiques détectées dans notre étude viennent confirmer les travaux de:

- **Hnatyszyn et al.,1974 ; Mohr et al.,1982 ; Ulbulen et Terem, 1988** et aussi **Mansour El said et al.,1990 Salima Merghache et al.,2009** et **Attou Amina, 2010** sur *Ruta chalepensis*.
- **Bolkent et al., 2000; Kugler et al., 2004; Gao et al.,2009)** sur *Bêta vulgaris*.



Les teneurs en phénols totaux mesurés à l'aide du réactif de Folin dans les deux extraits méthanoliques montre que la quantité de polyphénols dans l'extrait méthanoïque de RC (23,33mg EQ/g) est plus importante que celle de BV (18,66 mg EQ/g). Il a été rapporté que la quantité de composés phénoliques totaux dans la variété *rutacea* est plus élevée que dans d'autres familles.

En effet, les quantités de composés phénoliques totaux dans les extraits de plantes que nous avons testés ont été élevées par rapport à ce qui a été rapporté dans d'autres plantes (**Kaur et Kapoor, 2002**).

Selon l'étude de **Saadaoui et al.(2007)** la teneur phénolique de l'extrait méthanolique de quelques plantes appartenant à différentes familles *Punica gramatum*, *Rétama raetam*, *Thymus capitatus*, *Rosmarinus officinalis*, ***Ruta chalepensis***, *Ajuga iva*, *Lawsonia inermis* et *Agave americana* varie entre 1,68 à 11,07 mg/g de matière sèche exprimée en équivalent d'acide gallique.

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).

En conclusion, tous ces résultats ont montré la richesse de ces plantes en contenu phénolique permettant d'étudier leurs activités biologiques potentielles.

Des dosages spectrophotométriques ont été effectués à partir des extraits bruts méthanoliques des plantes afin de déterminer la teneur totale des flavonoïdes.

Il est intéressant de déterminer la quantité de flavonoïdes dans les extraits méthanoliques d'afin de mieux les caractériser. Le dosage des flavonoïdes par la méthode de trichlorure d'aluminium révèle (6,8 mg EQ/g extrait) pour *Bêta vulgaris* contre (17 mg EQ/g extrait) pour *Ruta chalepensis*, ce résultat des flavonoïdes dans *Ruta Chalepensis* et supérieur à la quantité retrouvé dans les travaux de **Daycem et al. en (2013)** qui était de  $(12,78 \pm 0,08)$ , est cela du probablement à l'utilisation d'une extraction au soxhlet pendant 48h à 65°C qui peut détruire les composés des flavonoïdes.

La séparation des extraits par la chromatographie sur couche mince nous a permis de mettre en évidence la présence de la quercétine et de l'acide gallique dans *Ruta chalepensis* et *Bêta vulgaris*; ce qui confirme leur richesse en flavonoïdes.

## 2- Modèle animal

Comme il a été décrit auparavant, la STZ inhibe la sécrétion de l'insuline par le pancréas, après destruction sélective et irréversible des cellules  $\beta$  pancréatique **(Zhang et al., 2000)**.

Dans la présente étude, nous avons constaté que STZ a provoqué une augmentation significative de la concentration sérique de glucose chez le groupe diabétique témoin. La STZ engendre une nécrose des cellules  $\beta$  pancréatiques et une carence sévère en insuline avec une hyperglycémie diabétique établie dans les deux jours suivants **(Szkudelski, 2001)**.

Les effets toxiques de la substance semble être associés à une formation accrue des radicaux libres **(Nukatsuka et al., 1990 ; Takasu et al., 1991; Bedoya et al., 1996)**, et à une altération de la membrane plasmique des cellules  $\beta$ .

L'analyse des résultats a montré que la carence en zinc a induit une augmentation plus élevée de la concentration sérique du glucose chez les rats diabétiques.

Cette hyperglycémie est due à des troubles dans l'utilisation du glucose par les tissus ce qui traduit l'effet positif du zinc sur le métabolisme glucidique **(Hendricks et Mahoney, 1972 ; Schauder et al., 198)**.

Le zinc joue un rôle important dans le stockage et la sécrétion de l'insuline **(Combs et al., 1971)**. Chez l'animal, la carence en zinc induit à une diminution de la concentration du zinc du pancréas et du chélate insuline – zinc stocké dans les cellules bêta des îlots de Langerhans, de la sécrétion d'insuline et augmente soit la dégradation de l'insuline circulante, soit la résistance des tissus périphériques à l'insuline **(Grotsky and Schmid, 1985)**.

Les résultats de cette étude ont montré aussi que l'EMRC, l'EMBV et le glibenclamide ont une activité anti diabétique importante.

La meilleure activité est obtenue avec *Ruta chalepensis* (-55,05 %) donnant un effet comparable à celui des hypoglycémiant oraux, cette activité peut être expliquée 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. Ces résultats viennent donc confirmer les premières conclusions d'**Osama Mohamed** en **(2009)** qui a constaté que l'administration de l'extrait de la rue provoque une diminution hautement significative de la glycémie juste après quatre semaines de traitement.

**Bolkent et al.** en (2000) ont rapporté que l'extrait aqueux de blettes a diminué la glycémie induite par l'alloxane chez des lapins. Il a été rapporté que plusieurs molécules bioactives isolés de plantes tels que les terpènes et les flavonoïdes influencent les cellules  $\beta$  pancréatique et stimulent la sécrétion de l'insuline par leurs activités antioxydants (**Jang et al., 2004; Sarkhail et al., 2007**). Etant donné qu'au cours du diabète le stress oxydant et les radicaux libres affectent et détruisent les cellules  $\beta$ , donc l'extrait méthanolique de deux plantes peut aussi augmenter la sécrétion de l'insuline via son activité antioxydante (**Osama Mohamed, 2009; Bolkent et al., 2000**) Ce qui est justifié amplement par la constatation au niveau des coupes histologiques du pancréas endocrine conduisant à la libération de l'insuline.

Un but principale de notre étude c'est d'évaluer l'effet de l'EMRC et de l'EMBV sur la peroxydation lipidique et le taux du GSH réduit affectés par le stress oxydant associé au diabète sur des rats rendus diabétiques par la STZ et qui sont utilisés comme modèles pour le diabète de type 1.

La STZ est toxique pour les cellules  $\beta$  pancréatiques, elle est largement utilisée pour induire un diabète expérimental, et comme résultat la genèse d'un stress oxydant causé par une production excessive des espèces réactives de l'oxygène (ERO) (**Mazunde et al., 2005**).

Le stress oxydant induit une forte production des ERO qui sont très toxiques pour les cellules (**Sivajothi et al., 2008**). L'hyperglycémie provoque la glycation non enzymatique des protéines suivant la réaction de Maillard et altère le métabolisme énergétique, ça peut conduire aux taux élevés de ROS et au développement des complications du diabète (**Vinik A et Flemmer M., 2002**). Le stress oxydant pendant le diabète inclut aussi le déséquilibre de la balance redox provenant de l'altération du métabolisme des lipides et des carbohydrates, de l'augmentation de la production des ROS par la glycation et la peroxydation lipidique, de la diminution de la défense des antioxydants. Et comme le GSH est responsable de la détoxification de l'organisme de ces radicaux libres délétères (**Cho et al., 2002**) le diabète induit une consommation accrue du glutathion cette diminution est confirmée par nos résultats.

La carence du zinc dans l'alimentation des rats diabétiques a induit une diminution de la concentration du glutathion hépatique, rénale et cardiaque. Ce résultat a été confirmé par les travaux de **Mark et al., 1983**. Cette diminution peut être expliquée d'une part par l'intervention du zinc dans l'activité des enzymes qui sont responsables de la synthèse du glutathion. D'autre part, le glutathion et le zinc sont des

antioxydants importants capables de protéger les cellules vivantes des métabolites toxiques et des produits exogènes (**Wilson, 1989**), donc la carence en zinc a induit probablement une augmentation dans l'utilisation du glutathion.

Dans cette présente étude, les résultats ont montré que le traitement par l'EMRC et l'EMBV ont maintenu le glutathion à son niveau cellulaire normal. Cet effet démontre le pouvoir chémoprotecteur antiradicalaire des polyphénols des deux plantes. Ces molécules sont donc capables d'empêcher la chute du GSH et stimulent sa régénération à partir de GSSG (**Martin, 2003**) suite à la neutralisation des ROS par les flavonoïdes. les résultats obtenus sur *Ruta chalepensis* sont en accord avec les travaux d'**osama mohamed ahmed et al., 2010**

Plusieurs études réalisées sur l'homme et sur des modèles animaux utilisant le dosage de la TBARS ont constaté une augmentation du malonyldialdéhyde (MDA) dans le sang et les tissus (le foie, les reins et le cœur) des sujets diabétiques (**Baynes, 1991; Kakkar et al., 1998**). Cette condition est adéquate avec nos résultats où on a constaté une augmentation significative de la concentration du MDA dans le foie, le cœur et les reins chez le groupe des rats rendus diabétiques par STZ par rapport au groupe des rats sains témoins.

L'augmentation de la concentration du MDA suggère une augmentation des espèces réactives de l'oxygène (**Kakkar et al., 1998**).

L'augmentation du taux de MDA est le résultat de l'augmentation des ERO qui attaquent les acides gras polyinsaturés de la membrane cellulaire et provoque la peroxydation lipidique (**Battacharya et al., 1997**). L'augmentation des ERO pourrait être due, soit à l'augmentation de leur production, soit à la réduction de leur élimination suite à l'épuisement des systèmes antioxydants piègeurs tel que rapportent **Cho et al., (2002)**. La STZ peut aussi augmenter le niveau des ERO chez les rats diabétiques en raison de l'augmentation de la glycémie (**Mazunder et al., 2005**). Lors d'un diabète, l'hypoinsulinémie augmente l'activité de l'enzyme Faty acyl coenzyme A oxydase, qui initiée la  $\beta$  oxydation lipidique des acides ce qui provoque une augmentation de la peroxydation lipidique (**Sivajothi et al., 2008**)

Nos résultats ont révélé aussi une augmentation significative de la concertation en MDA chez le les rats diabétiques qui sont sous un régime alimentaire pauvre en zinc par rapport à ceux alimentés par un régime normal, ce résultats est en d'accord avec les résultats de **Baltaci et al., 2004**

L'administration quotidienne de l'extrait méthanolique lyophilisé de *Ruta chalepensis* et de *Bêta vulgaris* pendant trois semaines a permis de réduire d'une manière significative le taux du MDA dans le foie, cœur et les reins chez les rats diabétiques par rapport aux diabétiques témoins.

Ces résultats suggèrent que les deux extraits ont pu protéger les tissus hépatiques, cardiaques et rénaux contre le stress oxydant et l'action cytotoxique induite par la STZ, donc ils ont pu améliorer l'état pathologique du diabète par inhibition de la peroxydation lipidique. En outre, la réduction de la peroxydation lipidique chez les rats diabétiques traités peut être due à l'augmentation du statut antioxydant, car l'extrait méthanolique de chaque plante a présenté une haute activité antioxydant (Pyo et al., 2004 ; Daycem et al., 2013).

D'autre part, la réduction de la peroxydation chez les rats diabétiques traités par l'EMRC et l'EMBV peut être également due à l'amélioration du contrôle de la glycémie, car l'extrait a aussi montré une haute activité hypoglycémiant chez des rats rendus diabétiques par STZ. Ces résultats suggèrent donc que l'extrait méthanolique lyophilisé de *Ruta chalepensis* et de *Bêta vulgaris* a pu exercer une activité antioxydant et protéger les tissus hépatiques, cardiaques et rénaux des attaques radicalaires.

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  $\beta$ . Ceci est dû, à l'effet cytotoxique de la streptozotocine ayant des conséquences négatives sur la sécrétion exocrine pancréatique, procès accompagné par un diabète typique dû à la défection apparue de la sécrétion insulinique. En revanche, l'histologie pancréatique des rats traités par l'EMRC et l'EMBV comparable à celle des rats normaux présente une 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. Cette conclusion trouve son utilité également dans d'autres études où ils ont visualisé l'efficacité de ces extraits sur la protection des tissus pancréatiques (Bolkent et al., 2000; Osama Mohamed et al., 2010).



*Conclusion et  
perspectives*

De nos jours, l'utilisation des plantes médicinales en phytothérapie a reçu un grand intérêt dans la recherche biomédicale et devient aussi importante que la chimiothérapie. Ce regain d'intérêt vient d'une part du fait que les plantes médicinales représentent une source inépuisable de substances et de composés naturels bioactifs et d'autre part du besoin de la recherche d'un meilleur médicament par une thérapie plus douce sans effets secondaires.

En Algérie, la médecine traditionnelle est largement répandue et tient une place majeure dans le traitement du diabète. Sachant que le diabète constitue un véritable fléau en Algérie, le nombre d'études en matière de recherche de nouvelles molécules capable de prévenir ou même de retarder l'apparition des complications liées au diabète, reste pré limité.

La présente étude est réalisée pour visualiser l'effet de *Ruta chalapensis* et de *Bêta vulgaris* contre le diabète et ces complications

Les résultats obtenus ont montré l'effet bénéfique de ces deux plantes non seulement contre le diabète et les perturbations métaboliques y associées, mais aussi son effet remarquable contre le stress oxydant résultant avec une probabilité émergente concernant la prévention des complications hépatiques, cardiovasculaires et rénales.

A la lumière des résultats figurés dans ce mémoire, on peut conclure que les deux plantes *Ruta chalapensis* et *Bêta vulgaris*, sont très riches en flavonoïdes, coumarines, saponosides, tanins, mucilages, et la présence des alcaloïdes seulement en *Ruta chalapensis*.

Le dosage des phénols totaux et des flavonoïdes des deux extraits méthanoliques a révélé la richesse de *Ruta chalapensis* en polyphénols et flavonoïdes plus que *Bêta vulgaris*

L'analyse de CCM a permis l'identification de deux composés phénoliques dans les deux plantes à savoir : l'acide gallique et la quercétine.

Les tests biologiques réalisés sur les rats Wistar ont prouvés l'efficacité des deux plantes étudiées contre le diabète sucré. Nos résultats ont indiqué que l'extrait méthanolique de chaque plante présente une haute activité hypoglycémisante chez des rats rendus diabétiques par la streptozotocine en diminuant d'une manière significative la concentration sérique du glucose.

Nos résultats ont montré aussi que les deux extraits méthanolique sont pourvus d'un pouvoir anti radicalaire et antioxydant pouvant jouer un rôle chémoprotecteur contre le stress oxydant induit au cours du diabète (amélioration du statut antioxydant hépatique, cardiaque et rénale).

Cette étude reste préliminaire et plus superficielle, donc elle nécessite d'autre étude approfondis pour mieux se concentrer sur les effets révélés. Même des études à l'échelle moléculaire sont nécessaires pour déterminer, d' une part les composés du *Ruta chalepensis* et *Béta vulgaris var cicla* qui peuvent être responsable de tels effets et d' autre part, le mécanisme absolu par le quel ces composé accomplissent leurs rôles.





*Références  
bibliographiques*

## *Références bibliographiques*

---

- \* **Agnès Lehuen**, Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale (INSERM), U986, Paris, France. University Paris Descartes Sorbonne Paris Cité, France.
- \* **Allard, J; Royall, D; Kurian, R; Muggli, R; Jeejee bhoy, K. (1994)**. Effects of  $\beta$ -carotene supplementation on lipid peroxidation in humans, *Amj Clim Nutr*, 59: 884 –90.
- \* **Antwerpen, P.V. (2006)**. Contribution à l'étude du pouvoir antioxydant de divers agents d'intérêt thérapeutique: Ciblage du système myclopéroxydase / Peroxyole d'hydrogène /Clilorure. Thèse présentée en vue de l'obtention du grade de Docteur en Science Pharmaceutiques, Bruxelles.
- \* **Baba aissa. (1999)**. Encyclopédie des Plantes Utiles : Flore d'Algérie et du Maghreb. Ed : LIBRAIRIE MODERNE – ROUIBA , p : 243 - 244.
- \* **Bakour Fet Siouane Z. (2007)**. L'apport du dosage de Hub glauque dans le diagnostic de diabèteinsulino-dépendant. memoire licence biochimie .Université Badji Mokhtar ,Annaba, P: 39.
- \* **Baynes JW. (1991)**. Perspectives in diabetes, role of oxidative stress on development of complications in diabetes. *Diabetes*, 40 : 405 - 412.
- \* **Benhamou P.Y. (1991)**. Biochimie des complications vasculaires du diabète. *Synthèse du 14ème Congrès de l'IDF*, Washington DC.
- \* **Biesalski, H.K; Hemmes,C; Hopfenmaller, W; Schmid, C; Gollnick, H.P. (1996)**. Effects of controlled exposure of sunlight on plasma and skin levels of  $\beta$ -carotene. *Free Radio Res*, 24 : 215-224.
- \* **Boizot, N ; Charpentier, J.P. (2006)**. Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. Méthodes et outils pour d'observation et l'évaluation des milieux forestiens, prairiaux et aquatiques. *INRA*, 79-82.
- \* **Bolkent S ;Yanardag~ R; Tabakog~lu-Og~uz A et Ozsoy-Sacan O. (2000)**.Effects of Chard (*Beta vulgaris L var. cicla*) extract on pancreatic B

cells in streptozotocindiabetic Rats: a morphological and biochemical study. *J. Ethnopharmacol*,73 , p : 251–259.

- \* **Bouhadjera Keltoum . (2005)** contribution a l'étude chimique et biologique de deux plantes médicinales sahariennes *Oudneya africana* R.Br. et *Aristida pungens* L. Doctarat en chimie organique appliquée. universite de tlemcene ,P : 37\_ 149
- \* **Boumaza Awatif. (2009).** Effet de l'extrait méthanolique de *Zygophyllum cornutum* coss contre le stress oxydant associé au diabète sucré et les organes en relation. Thèse de Magistère. Université Mentouri, Constantine , p : 126
- \* **Chausmer A.B. (1998).** Zinc, insulin and diabètes. *Am.Coll. Nutr* .17, p: 109-115.
- \* **Cho SY; Park JY; Park EM; Choi MS; Lee MK; Jeon SM;Jang MK, Kim Mj; Park YB.(2002).** Alternation of hepatic antioxidant enzyme activities and lipid profile in streptozotocin-induced diabetic rats by supplementation of dandelion water extract. *Clinica Chimica Acta*, 317 : 109 - 117.
- \* **Claire, Paulette, Danièle VIGREUX(2009)** Dysendocrinies thyroïdiennes et pancréatiques auto-immunes du chien et du chat : Intérêts en pathologie comparée – Mise au point bibliographique mémoire doctorat en viterinaire .Ecole nationale Vetrinaire de Toulouse, P :125\_232
- \* **Clermont- Beaugirauds.(1968).** chromatographie sur couche mince des oses et oligosaccharides,chemistry and materiels science. vol 16,N 14 p:92-101
- \* **Commbs T .C., Grant P.T et Frank R.H. (1971)** .Differences in the binding of zinc ion by insulin and pro-insulin . *Bioch*.125, p: 62.
- \* **Curtay, J.P ; Robin, J.M. (2000).** Intérêt des complexes antioxydants. Centre d'étude et développement de la nutrithérapie.
- \* **Daycem K., Rabiaa M.S., Sameh A., Dhafer L., Mokhtar H et Bouajila J. (2013).** Composition and anti-oxidant, anti-cancer and anti-inflammatory activities of *Artemisia herba-alba*, *Ruta chalpensis* L. and *Peganum harmala* L. *Food and Chemical Toxicology*, 55 p: 202–208.
- \* **Diplok, A.T. (1991).** Antioxydant nutriments and disease prevention: an Overview. *Am J Clin Nutr*, 53 (suppl): 189S-93S

- \* **Duke A.J, Duke P.A.K. et Duceille J.L. (2008).** duke's handbook of Medicinal Plants of the Bible, Ed: *CRC PRESS*, p: 394 – 397.
- \* **Eddouks.M.,OuaHidiM.L.,Farido.,MoufidA.,KhalidiA.,Lemhadri A.(2007).**L'utilisation des plantes médicinales dans le traitement du diabetes au Maroc .*Phytotherapie*, 5:194-203.
- \* **Edeoga1 H.O; Okwu D. E. et Mbaebie B.O. (2005).** Phytochemical constituents of some Nigerian medicinal plants. *African Journal of Biotechnology* Vol. 4 (7), p: 685-68.
- \* **Engelbart K et Kief H. (1970).** Ulber das funktionnelverhalten von zinc und insulin in der B-Zellen das ruten pancreas. *Virchouus .Arch.* 4, p: 249
- \* **Evans, J.L; Goldfine, I.D; Maddux, B.A; Grodsky, G.M. (2002).** Oxidative stress and stress- activated signaling pathways: a unifying hypothesis of type 2 diabets, *Endocr Rev*, 23:599-622.
- \* **Favier, A. (2003).** Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *Actualité en chimie*,108-115.
- \* **Gao, Z.J., Han, X.H., Xiao, X.G. (2009).** Purification and characterization of polyphenoloxidase from red Swiss chard (*Beta vulgaris* subspecies *cicla*) leaves. *Food Chem.*117, p: 342–348.
- \* **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
- \* **Gerard-Monnier, D ; Chaudière, J., (1996).** Métabolisme et fonction antioxydante du glutathion, *Path Biol* , 44 : 77 – 85.
- \* **Goudable, J. et Favier, A. (1997).** Radicaux libres oxygénés et antioxydants. Laboratoire de biochimie C, hôpital Edouard, Herriot, Lyon, GREPO, Université de Grenoble, la Tronche.
- \* **Goussard, J. P. (1999).** Les radicaux libres et antioxydants, p 7-11.

- \* **Gribe A et Merzougui I. (2009).** Mémoire de master biochimie : étude de l'effet antidiabétique de l'extrait aqueux de la graine de *lipinus albus*. Université Badji Mokhtar, Annaba p: 2-5.
- \* **Grodsky G.M et Schmid Y.F. (1985).** Kinetics and quantitative relationship between insulin release and Zn65 efflux from perfused islet. *Endocr.* 117, p: 704-711.
- \* **Hamdikene M. (2009).** Étude de l'effet de la vitamine D sur le diabète induit chez des rats Wistar alimentés par un régime alimentaire pauvre en zinc. Thèse de Magistère. Université de Badji Mokhtar, Annaba, p : 149
- \* **Hendricks, D.G and Mahoney, A.W. (1972).** Glucose tolerance in zinc loss, hypogeusia, anorexia and hyposmia. *Clin. Invest.* 51, p: 44.
- \* **HNATYSZYN O., ARENAS P., MORENO A.R., RONDINA, R et COUSSIO J.D. (1974).** Plantas reguladoras de la fecundidad según la medicina folklórica; *Revista de la Sociedad Científica* 14, p: 37.
- \* **Hwang H.J ; Kim S.W; Lim J.M., Joo J.H; Kim H.O; Kim H.M et Yum J.W (2005).** Hypoglycemic effect of crude expolysaccharides produced by a medicinal mushroom *Phellinus baumii* in streptozotocin-induced diabetic rats. *Life Science*, 76:3069-3080.
- \* **Judith J; Wolfram K et Lothar R. (2009).** Division of Endocrinology and Diabetes, Medical Faculty, RWTH Aachen University, 52074 Aachen, Germany. *Journal of Nutritional Biochemistry* 20, p: 399–417
- \* **Julien Diana,** Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale (INSERM), U986, Paris, France. University Paris Descartes Sorbonne Paris Cité, France. Department of Medical Biochemistry and Biophysics, Karolinska Institute, Stockholm, Sweden. Dynavax Technologies Corporation, Berkeley, California, USA.
- \* **Kakkar R; Mantha SV; Radhi J; Prasad K; Kalra J (1998).** Increased oxidative stress in rat liver and pancreas during progression of streptozotocin-induced diabetes. *J Clin Sci*, 94 : 623 - 32.
- \* **Kanner J; Harel S et Granit R. (2001).** Betalains: a new class of dietary cationized antioxidants. *J. Agric. Food. Chem.* 49, p: 5178–5185

- \* **KANOUN KHADIDJA.(2011).** Contribution à l'étude phytochimique et activité antioxydante des extraits de *Myrtus communis* L. (Rayhane) de la région de Tlemcen (Honaine) P :131
- \* **KarumiY., Onyeyili P.A Ogugbuaja V.O (2004)**Identification of active principles of *M balsamina*( Balsam Apple) beaf extract. *J Med Sci* ;4 (3) :179-182
- \* **Kebieche 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 l'obtention du diplôme de Doctorat en sciences Option : Biochimie universite de constantine, P125-143
- \* **King GL.( 2008).**The role of inflammatory cytokines in diabetes and its complications. *J Periodontol.*;79:1527-34.
- \* **Kugler F ; Stintzing F.C et Carle R. (2004).** Identification of betalains from petioles of differently colored Swiss Chard (*Beta vulgaris* L. ssp. *cicla* [L]. Alef. Cv. Brightlights)by high-performance liquid chromatography-electrospray ionizationmass spectrometry. *J. Agric. Food Chem.* 52, p: 2975–2981.
- \* **Ladouari Abdessalam et Harkouk Yacine. (2012) .** Effet du décocté de *Zygophyllum album* Coss sur le diabète et le stress oxydant associé, Université d' Alger.
- \* **Lindau-sehpard, B; Shaffer, J. (1993).** Expression of human catalase in acatalasemic murine SVB2 cells confers protection from oxiadative damage, *Free rad boil Med* , 15:581-8.
- \* **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.
- \* **Mansour S. (1990).** Studies on *Ruta chalepensis*, an ancient medicinal herb still used in traditonal medicine. *Journal of Ethnopharmacology* 28, Ed: *ELSEVIER SCIENTIFIC*,p: 305-3012.
- \* **Marfak, A. (2003).** Radiolyse gamma des flavonoides, etude de leur réactivité avec les radicaux libres issus des alcools : Formation de depsides. Thèse pour obtenir le grade de docteur de l'université de Limoges.

- \* **Mark, A., Fernandez, L., Boyd, L and O'Dell. (1983).** Effect of zinc deficiency on plasma glutathione in the rat. *Biology and Medecine*.173: 564-567.
- \* **Martin F., 2003.** Vannin-1, un nouveau régulateur moléculaire du stress oxydant et de l'inflammation. Thèse de Doctorat de l'Université de la Méditerranée, centre de l'immunologie de Marceille- Luminy NCERM U 136-CNRS MR6102, pp.17-19.
- \* **Mauro neves muniz 2006** Synthèse d'alcaloïdes biologiquement actifs : la (+)-anatoxine-a et la (±)-camptothécine .doctoart en chimie de l'universite joseph fourier grenoble I, p 12-13 -194
- \* **Mazunder UK, Gupta M, Rajeshwar Y.( 2005).** Antihyperglycemic effect and antioxidant potential of *phyllanthus niruri* (euphorbiaceae) in streptozotocin induced diabetic rats .*European Bulletin of Drug Research*, **13 (1)** : 13 - 23 .
- \* **MIOULANE P. (2004).** Encyclopédie Universelle des 15000 plantes et fleurs de jardins .*Larousse* , Ed : PROTEA , p : 7-50.
- \* **Mohhamedi Zohra 2006** Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïde de quelques plantes de la région de Tlemcen magister en biologie :produit naturele et activite biologique et synthese , P 24-155
- \* **Mohr N (1982).** Further Alkaloids from *Ruta chalepensis*; *Phytochemistry* 21 (7); PERGAMON PRESS, *Great Britain*, p: 1838-1839.
- \* **Mooradien A.D et Morley J.E. (1987).** Micro nutrient status in diabetes mellitus . *Am. Clin .Nutr* .45, p: 877-895.
- \* **Nathalie Aubervale .(2010)** . prévention du stress oxydant dans le diabete et ses complications par des antioxydants d'origine naturelle, P : 258 .
- \* **Nicolas Gestermann( 2012).** Causes et conséquences de l'activation de l'interféron de type I dans les maladies auto-immunes.Étude dans le modèle du syndrome de Sjögren Doctorat en immunologie . l'universite de paris xi , P :56 .
- \* **Ohrvall, M; et al. (1996).** Tocopherols and heart disease nutrition report: 20/ Gamma, but not alpha, tocopherol levels in serum are reduced in coronary heart disease patients. *Journal of Internal Medicine*, 239:111-117

- \* **Osama M.A; Adel A.M; Ibrahim A.Y et Ayman M. M. (2010).** Antihyperglycemic, antihyperlipidemic and antioxidant effects and the probable mechanisms of action of *ruta graveolens* infusion and rutin in nicotinamide streptozotocin-induced diabetic rats. *diabetologia croatica* 39-1, p:19-35.
- \* **Packer, L; Tritschler, H.J; and Wessel ,K .(1997).** Neuroprotection by the metabolic antioxidant alpha – lipoic acid. *Free Radic Biol Med*, 22: 359 – 378.
- \* **Pyo, Y., Lee, T., Logendra, L et Rosen, R.T. (2004).** Antioxidant activity and phenolic Compounds of Swiss chard (*Beta vulgaris* sub species *cycla*) extracts.*Food Chem.* 85, p: 19–26.
- \* **Ravi K, Rajasekaran S, Subramanian S. (2005).** Antihyperlipidemic effect of *Eugenia Jambolana* seed Keinell on STZ induced diabetic rats. *Food chemical Toxicologie*.43, p:1433-1439.
- \* **Riordan J.F, Vallee B.L. (1976).** Structure and function of zinc metalloenzymes. In: Trace elements in human health and disease-1- zinc and copper.Prasad, A.S and Oberleas, D. (Ed). Academic Press. New York. 1; p: 227-256.
- \* **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 – Clemont- Fenand , 37-42.
- \* **Saadaoui B ; Bekir J ; Akrouit J ; Ammar S ; Mahjoub A; Mars M. ; (2007).** Etude de la composition et du pouvoir antioxydant des composés phénoliques de quelques espèces végétales de l'aride tunisien.Revue des régions arides, 1, 87-92.
- \* **Schauder, P; Schroder, K; Matthaei, D. (1983).** Influence of insulin on blood levels of branched chain keto and amino acids in man. *Metabolism*. 32,p: 323- 327.
- \* **Sharma S.B ; Balomajumder C et 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, p: 2376 – 2383.



- \* **Sivajothi V ; Dey A ;Jayakar B ; Raj Kapoor B. (2008).** Antihyperglycemic, Antihyperlipidemic and Antioxidant Effect of *Phyllanthus rheedii* on Streptozotocin Induced Diabetic Rats. Iranian Journal of Pharmaceutical Research,7 (1) : 53 - 59.
- \* **Song M.K; Rosenthal M.J; Naliboff B.D; Phanumas L et Kang K.W. (1998).** Effect of bovine prostate powder on zinc, glucose and insulin metabolism in old patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. Metabolism. 47(1); p: 39-43.
- \* **Stamler, J.S; slivka, A. (1996).** Biological chemistry of thiols in the vasculature and in vascular- related disease, *Nuts Rev* , 54: 1 – 30.
- \* **Szkudelski T. (2001).**The Mechanism of Alloxan and Streptozotocin Action in  $\beta$  Cells of the Rat Pancreas. *Physiol, Res* 50: 536-546.
- \* **TAKHTAJAN A. (2009).** Flowering Plants; Ed 2: *SPRINGER*, p: 33 - 41, 375.
- \* **Ulubelen A et Terem B. (1988).** Alkaloids and Coumarins from roots of *Ruta chalepensis*; Pargamon Journals, *Phytochemistry* 27 (2), p: 650-651.
- \* **WIART C. (2006).** Medicinal Plants of the Asia – Pacific: Drugs for the future Ed: *WORLD SCIENTIFIC*,p: 401 – 416
- \* **Wilson, R.L. (1989).** Zinc and iron in free radical pathology and cellular control. In: zinc in human biology (Mills, C.E., Ed),p: 147-172. *Spinger-Verlag, London, U.K.*
- \* **Zeghad Nadia .( 2009).** Etude du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales d'intérêt économique (*Thymus vulgaris*, *Rosmarinus officinalis*) et évaluation de leur activité antibactérienne l'obtention du diplôme de magister université de Constantine en biotechnologie végétale ,p : 130.
- \* **Zhang J.,Hwang Y.,Hou T et Wang Y .(2006).**Hypoglycaemic effect of *Artemisia Sphaerocephala* Krash seed polysaccharide in alloxane –induced diabetic rats-swiss. *Med WKIY* ,136 :529-532.
- \* **Zhang X.F et Tan B.K. (2000).** Antihyperglycaemic and anti-oxidant properties of *Andrographis paniculata* in normal and diabetic rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 27 , p: 358 – 363.

**Web graphie :**

(1) [http://www.sciencemediacentre.ca/smc/docs/fiche\\_diabete.pdf](http://www.sciencemediacentre.ca/smc/docs/fiche_diabete.pdf)

(2) [medecine.ups-tlse.fr/dcem3/module14/diabetologie/Chap02](http://medecine.ups-tlse.fr/dcem3/module14/diabetologie/Chap02)



*Annexes*

## **Matériels de la partie phytochimique :**

### **Les produits Chimique et les réactifs :**

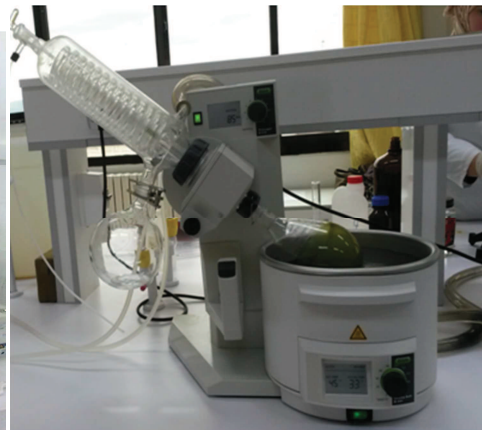
- Méthanol, acétone, éther de pétrole, Chloroforme (Sigma)
- H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, FeCl<sub>3</sub>, HCl, NH<sub>4</sub>OH, Reactif de Fehling, Ethanol.
- Réactif de Folin, Carbonate de sodium, acide gallique, AlCl<sub>3</sub>, DPPH, Quercétine, acide ascorbique,
- Acétate d'éthyle, eau distillée, ninhydrine.

### **Les équipements:**

- Le rotavapor R-215 (Büchi).
- Lyophilisateur
- Spectrophotomètre (JENWAY 6305)
- Cuve de chromatographie.
- Balance (BB310) et (Sartorius)
- balance de précision (Explorer<sup>®</sup> Pro)
- Verrerie.
- Epindorfs
- Tubes capillaires
- Agitateur Vortex (snijders 34524)
- Cristallisoirs



**Lyophilisateur**



**Rotavapor**

## Partie Biologique

### Produit utilisés

- Streptozotocine (sigma), Glibenclamide.
- Glucose, eau physiologique (NaCl 0.9%)
- Maïs, saccharose, protéine, cellulose, vitamine, l'huile de maïs.
- $ZnCO_3$ ,  $FeSO_4$ , ( $CuSO_4, 5H_2O$ ),  $KIO_3$ , ( $MnSO_4, H_2O$ ),  $CaHPO_4$ ,  $Na_2HPO_4$ ,  $CaCO_3$ , KCl,  $MgSO_4$ .
- Formole
- TBA , TCA , MDA ,reactif d'ellman , $H_2O_2$  , n-butanol ,

### Les équipements

- Centrifugeuse (Sigma 2-16).
- pH mètre.
- Glycomètre (On call plus).
- Balance précision (Explorer® Pro), balance (Sartorius) et (BB 310).
- Spectrophotometre (jenway 6305 )
- Ultra- turrax (IKA T18)

### Préparation de la solution de la streptozotocine :

- **Préparation du tampon citrate :**
- - **solution A** : 2,1 g d'acide citrique dans 100 ml d'eau distillée
- - **solution B** : 2,94 g de citrate de sodium dans 100 ml d'eau distillée
- - **solution C** : 27 ml de la solution A ajouté à 23 ml de la solution B
- - ajuster le pH de 4,5
- - filtrer sur membrane de  $0,22\mu m$  (conservation 3 mois,  $14^\circ C$ )
- - **solution D** : solution C diluée au 1/10ème dans de l'eau distillée (conservation 3 mois,  $+4^\circ C$ )
- - préparer une solution de streptozotocine de 30 mg/ml.