

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي والبحث 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 DE SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE



Mémoire de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Biologie

Spécialité/Option : Biologie moléculaire et cellulaire : Biologie moléculaire des
procaryotes

**Thème : l'effet de deux plantes médicinales sur le
statut antioxydant et la peroxydase lipidique
induite au cours du diabète.**

Présenté par :

BRAHIM ABBA Ahmedou

GHOULIA Khalid

Devant le jury composé de :

Présidente : M^{me}BOUSSAADIA .MI

M.A.A Université de Guelma

Examinatrice: M^{me} ABDAOUI .W

M.A.B Université de Guelma

Encadreur : M^{me}. HAMDIKEN.M

M.A.A Université de Guelma

Juin 2015

Avant toutes choses, nous remercions Dieu, le tout puissant, pour nous a
donné

la force et la patience.

Nos profonds remerciements et nos vives connaissances à Mme

Hamdiken Malika,

Maitre assistant à l'université de Guelma pour avoir encadrée et dirigée
ce travail

avec une grande rigueur scientifique, sa disponibilité, ses conseils et la
confiance que

nous

S'accordés durant la réalisation de ce travail.

Nous adressons nos sincères remerciements à M^{me} **Boussaadia**, maitre
assistant à

l'université de Guelma d'avoir acceptée de présider le jury.

A Mme **Abdaoui** maitre assistant à l'université de Guelma de l'honneur
qu'elle

nous a fait en acceptant d'examiner ce mémoire.

Aux personnels du laboratoire de l'université de Guelma, 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

AHMADOU et KHALID

ADN: Acide désoxyribonucléique.

AGE : Produits de glycation avancée.

DID: Diabète insulino-dépendant.

DNID : Diabète non insulino-dépendant.

EMBV : Extrait méthanolique de *Béta vulgaris*.

EMRC : Extrait méthanolique de *Ruta chalepensis*

ERO : Espèce réactive oxygénée.

GPx : Glutathion peroxydases.

GSH : Glutathion réduit

GSHPX : Glutathion peroxydase et réductase

GSSG : Glutathion oxydé.

HLA : Humaine Leucocyte Antigène

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène.

IMC : indice de masse corporelle.

MDA: Malonyl di aldéhyde

MODY: Monogenetic diabetes of young

NO. : Monoxyde d'azote.

OMS : Organisation Mondiale de la Santé.

OH[·] : Radical Hydroxyle.

. O₂: Oxygène.

PKC : Protéine kinase C.

ROS: Reactive oxygen species.

SOD : Superoxyde dismutase.

Liste des abréviations

STZ : Streptozotocine.

TBA : Acide thiobarbiturique

TCA : Acide trichloracétique

TBARS : Substances réactives de l'acide thiobarbiturique

TBHQ : Tetrabutylhydroquinone

TRX : Thiorédoxine.

UV : ultraviolet

Zn : Zinc

Liste des figures

Figure N°	Les titres des figures	N° page
Figure 1	Activation du système immunitaire conduisant à la mort des cellules	08
Figure 2	Balance radicaux libres /antioxydants	10
Figure 3	Voie des polyols et autre voies du catabolisme du glucose	17
Figure 4	Relation entre diabète et stress oxydative	19
Figure 5	<i>Ruta chalepensis</i>	24
Figure 6	<i>Bêta vulgaris</i>	25
Figure 7	protocole d'extraction	29
Figure 8	schéma de protocole de partie animal	30
Figure 9	Droite d'étalonnage de l'acide gallique	31
Figure 10	Droite d'étalonnage de la quercetine	32
Figure 11	Structure du DPPH	33
Figure 12	Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH	33
Figure 13	Courbe d'étalonnage du MDA avec le réactif TBA (Moyenne de 3 essais)	37
Figure 14	Le rendement de l'extraction en % (R : <i>Ruta chalepensis</i> ; B : <i>Bêta vulgaris</i>)	41
Figure 15	Teneur en polyphénols et en flavonoïdes dans les extraits	42
Figure 16	Effet antiradicalaire de l'EMBV et l'EMRC sur le radical DPPH°.	43
Figure 17	Le taux de GST tissulaire au niveau du foie, des reins et du cœur	45
Figure 18	Le taux de glutathion peroxydases (GPx) tissulaire au niveau du foie, des des reins et du cœur	46
Figure 19	Le taux de l'MDA tissulaire au niveau du foie, des reins et du cœur	48

Liste des tableaux

Tableau N°	Les titres des tableaux	N° page
Tableau 1	Classification étiologique du diabète sucré (Rodier M 2001)	05
Tableau 2	Composition de la nourriture	34
Tableau 3	La quantité des métaux	35
Tableau 4	Rendement de l'extraction	41
Tableau 5	Teneur des polyphénols totaux et des flavonoïdes dans les deux extraits.	42
Tableau 6	Screening phytochimique des deux plantes.	43

Introduction.....	1
Chapitre I : Le diabète.....	4
I-1 Définition	4
I-2 Classification de diabète.....	4
I-2-1 Diabète de Type 1 : (diabète insulino-dépendant «DID»)	4
I-2-2 Diabète de Type 2 : (diabète non insulino-dépendant «DNID»)	4
I-3 Les facteurs déclenchant le diabète	5
I-4 Les complications liées au diabète	6
I-5 Le diabète de type 1 et auto-immunité	7
I-6 Zinc et diabète	8
Chapitre II : Stress oxydant et système antioxydant.....	10
II-1 Stress oxydant :	10
II-1-1 Définition :	10
II-1-2 Origine du stress oxydant.....	10
II-2 les espèces réactives dérivées de l'oxygène.....	11
II-3 Les cibles biologiques des radicaux libres.....	12
II-4 Systèmes de défenses antioxydants	13
II-4-1 Les antioxydants enzymatiques	13
a) Les superoxydes dismutases (SOD)	13
b) La catalase	13
c) Les glutathions peroxydases et réductases	14
II-4-2 les antioxydants non enzymatiques.....	14
a)La vitamine C	14
b) Vitamine E.....	15
c) β -carotène	15
d) Le sélénium	15
e) Le zinc	15
f) Polyphénols.....	16
II-5 Les antioxydants synthétiques	16
II-6 Implication du stress oxydant dans le diabète.....	16
Chapitre III : La phytothérapie	20

Table des matières

III-1 Généralités	20
III-2 Définition de la phytothérapie	20
III-3 Différents types de la Phytothérapie.....	20
III-4 Les formes d'utilisation des plantes	21
III-4-1 Les tisanes	21
III-4-2 Les poudres	21
III-4-3 Les extraits	21
III-4-4 Les huiles essentielles	22
III-5 Principes actifs à effets antidiabétiques.....	22
III-5-1 Les flavonoïdes	22
III-5-2 Les saponosides.....	23
III-5-3 Les alcaloïdes	23
III-5-4 Les tanins.....	23
III-6 Les plantes sélectionnées.....	23
III-6-1 Ruta chalepensis.....	23
III-6-2 Bêta vulgaris« var. cicla»	24
I-1 Matériel végétal.....	26
I-2 les animaux.....	26
II Méthodes	26
II-1 Tests préliminaires de la composition chimique.....	26
II-2 Préparation de l'extrait méthanolique	28
II-3 Analyse de l'extrait méthanolique de Bêta vulgaris et de Ruta chalepensis.....	31
I-3 -1 Dosage des polyphénols.....	31
II-3-2 Dosage des flavonoïdes	32
II-3-3 L'évaluation de l'activité anti-oxydante : Piégeage du radical libre	32
DPPH (2,2-diphényle-1-picrylhydrazyl)	32
II-4 Investigations expérimentales sur les animaux.....	34
II-4-1 Induction du diabète sucré chez les rats	34
II-4-2 La préparation de la nourriture	34
II-4-3 Traitement des animaux.....	35
II-4-4 Préparation des homogénats	36
II-4-5Analyse des paramètres tissulaires	36
II-4-5-1 Peroxydation lipidique	36

Table des matières

II-4-5-2 Dosage de l'activité de Glutathion S-Transférase (GSTs)	37
II-4-5-3 Dosage des protéines	38
II-4-5-4 Dosage de l'activité enzymatique du glutathion peroxydase (GPx)	38
II-4-5-5 Etude statistique	39
Résultats	41
I-Modèle végétale	41
I-1-Préparation de l'extrait méthanolique des deux plantes <i>Bêta vulgaris</i> «var.cicla» et <i>Ruta chalepensis</i>	41
I-1-1 Analyses de l'EMBV et l'EMRC	41
I-1-1-2 Dosage des polyphénols et des flavonoïdes	41
I-2 L'évaluation de l'activité anti-oxydante (DPPH).....	42
II-2-1 Tests phytochimiques	43
III-Modèle animal	44
III-1 Dosages des paramètres tissulaires	44
III-1-1 dosage de Glutathion S-Transférases	44
III-1-2 dosage glutathion peroxydases (GPx)	45
III-1-3 Dosage de MDA	46
Discussion	49
I-Modèle végétal	50
II- Modèle animal	51
Conclusion et Perspectives	56
Liste des références bibliographique	
Résumé	
Abstract	
المخلص	

Introduction

Le diabète est une maladie considérée par l'OMS comme une épidémie et dont la prévalence a augmenté de façon très importante de ces dernières années. Actuellement, près de 285 millions personnes dans le monde sont atteints de diabète. Selon la **fédération internationale du diabète (FID)**, si le taux de croissance actuel se poursuit le nombre total de diabétiques dépassera les 435 million, d'ici 2030, soit une augmentation de 54%. En plus ces chiffres alarmants, il faut tenir compte des personnes qui ignorent qu'elles sont diabétiques car le développement de la pathologie est silencieux et sournois.

Le diabète est une maladie potentiellement mortelle responsable chaque année dans le monde de près de 4 millions de décès. De plus, un mauvais équilibre du diabète est responsable de l'apparition de complications cardiovasculaires par altération des vaisseaux sanguin, et représente :

- 3 à 6 fois de risques de développer des maladies cardiaques
- 25% des atteints rénales nécessitant une dialyse
- La première cause de cécité
- 50% des amputations des membres inférieurs

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.

De nombreuses études suggèrent que le diabète s'accompagne d'un stress oxydant qui favorise le développement de la maladie en perturbant l'insulino-sécrétion, en favorisant l'insulino-resistance et les complications cardiovasculaires qui y sont associées. Ce stress oxydant est dû à une rupture de l'équilibre physiologique qui existe dans l'organisme entre les molécules oxydantes et les systèmes de défenses antioxydants. En plus des défenses antioxydants présentes dans l'organisme, l'alimentation apporte de nombreux antioxydants notamment par les vitamines et les,

oligo-éléments. Ainsi, une rupture de l'équilibre alimentaire (défaillance nutritionnelle, carence alimentation trop riche) entraîne le développement du stress oxydant par diminution des systèmes de défense (**Grassi et al., 2005**)

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 hypoglycémiantes oraux qui visent à soigner et non à guérir la maladie (**Zhang, 2006 ; Eddouks, 2007;**) en plus, on remarque que l'utilisation continue des drogues antidiabétiques synthétiques causes des effets secondaires néfastes et la toxicité (**Hwang, 2005 ;Zhang, 2006;**).

Par conséquent, les plantes médicinales sont largement utilisées, en raison de leur efficacité, des effets secondaires limités, et des coûts relativement bas (**Hwang, 2005**). Il est aujourd'hui largement reconnu que le monde végétal constitue la source majeure de médicament grâce à la richesse en composés bioactifs (**Eddouks.,2007**).

Plus de 800 plantes sont utilisées actuellement dans le traitement de diabète (**Alarcon-Aguilara, 1988**), plusieurs études ont été effectuées pour identifier les composés bioactifs des plantes médicinales et diététiques responsables de l'activité hypoglycémique, certains composés sont isolés tel que : Tanins, Saponosides, mucilages, alcaloïdes, oses et holosides. et parmi lesquels les flavonoïdes qui sont les principaux composants actifs responsables de diverses activités biologiques.

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 sélectionnées.

Dans la partie expérimentale, nous développerons dans le premier chapitre le matériel et les méthodes analytiques utilisées pour le screening phytochimique, l'extraction, le

dosage colorimétrique des polyphénols et des flavonoïdes, et finalement l'activité antioxydante et antidiabétique. Le deuxième chapitre sera consacré aux résultats obtenus dans notre étude et leur discussion.

Nous terminerons par une conclusion.

Chapitre I : Le diabète

I-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)**

I-2 Classification de diabète

I-2-1 Diabète de Type 1 : (diabète insulino-dépendant «DID»)

Le diabète de type 1 ou DID, représente environ 10% des cas de diabète mondiaux **(Peter-Riesch et al., 2002)**. Il apparaît le plus souvent chez l'enfant et le jeune adulte, c'est pourquoi il est aussi appelé « diabète juvéniles ». Les symptômes classiques les plus manifestes sont une sécrétion excessive d'urine (polyurie), une sensation de soif (polydipsie) ainsi qu'une perte de poids **(Grimaldi et al., 2001)**.

I-2-2 Diabète de Type 2 : (diabète non insulino-dépendant «DNID»)

Le diabète de Type 2 ou DNID est de loin la forme de la maladie la plus fréquente puisqu'elle présente 90% des cas mondiaux **(King et al., 1998)**.

Le diabète de type 2 est aussi appelé « diabète mature » car il survient le plus souvent chez l'adulte, autour de la cinquantaine, sa prévalence augmente avec l'âge **(Peter-Riesch et al., 2002)**. L'hyperglycémie des diabétiques de type 2 est la conséquence de deux grands mécanismes physiopathologiques.

- ✓ Le premier correspond à une diminution de la sensibilité tissulaire à l'action de l'insuline (insulino-résistance) touchant les tissus périphériques (le muscle, le tissu adipeux et le foie) **(Dagogo et Santiago, 1997 ; Féry et Paquot, 2005)**.
- ✓ Le deuxième phénomène consiste en une anomalie de l'insulino-sécrétion. La production de l'insuline est tout d'abord augmentée pour palier son efficacité et l'hyperinsulinémie permet dans un premier temps de maintenir une glycémie normale **(Féry et Paquot, 2005)**.

Tableau 1 : Classification étiologique du diabète sucré (Rodier M 2001)

<p>Diabète sucré de type 1</p> <p>a-auto-immun (trouble des cellules β)</p> <p>b- idiopathique (rare, sans élément pour facteur auto-immune)</p>
<p>Diabète sucré de type 2</p> <p>a-Résistance à l'insuline.</p> <p>b-Défaut de sécrétion d'insuline</p>
<p>Types spécifiques de diabète</p> <p>a-Défaut génétique de la fonction des cellules β (Maturity Onset Diabetes of the Young: MODY).</p> <p>b-Défaut génétique dans l'action de l'insuline</p> <p>c-Diabètes pancréatiques</p> <p>d-Endocrinopathies (acromégalie, syndrome de Cushing, phéochromocytome, syndrome de Conn, autres)</p> <p>e-Induit par les médicaments (stéroïdes, pentamidine, acide nicotinique, diazoxyde, thiazides, inhibiteurs de la protéase, autres)</p> <p>f-Infections (rougeole congénitale, oreillons, virus Coxsackie, cytomégalovirus)</p> <p>g-Formes rares de diabète immunogène (syndrome de Stiff-Man, anticorps anti-insuline-récepteurs, autres) Autres syndromes génétiques associés au diabète</p> <p>h-(trisomie 21, syndrome de Klinefelter, syndrome de Turner, dystrophie myotonique, autres)</p>
<p>Diabète gestationnel</p>

I-3 Les facteurs déclenchant le diabète

- **L'obésité** : Dans 80 % des cas, le diabète est lié à une surcharge pondérale voire une obésité. Celle-ci se traduit par un indice de masse corporelle (IMC) supérieur à 30. Les patients obèses ont 10 fois plus de risque de devenir diabétique (**Grimaldi A, Livre « Diabète de type 2 », EMC Référence, 2004**).
- **L'hérédité** : Le diabète de type 2 est une maladie également à prédisposition génétique, en plus de la présence de facteurs sociaux ou environnementaux. Le risque de développer un diabète chez un enfant ayant un des deux parents diabétiques est augmenté. De plus, chez des jumeaux monozygotes, la concordance de la maladie peut atteindre 90% (**Grimaldi A, Livre « Diabète de type 2 », EMC**

Référence, 2004).

- **L'âge** : Le risque de développer un diabète de type 2 augmente avec l'âge. En effet, la tranche d'âge la plus touchée est celle des 40-59 ans (**Diabètes atlas résumé, seconde édition IDF 2003**). Chez le sujet âgé, il y a une baisse de l'insulino-sécrétion et une augmentation de l'insulino-résistance (**Jackson, 1990**).
- **La grossesse** : Un diabète gestationnel est considéré par l'OMS (1997) comme un diabète à part qui disparaît après la grossesse. Cependant, celui-ci est un facteur de risque ultérieur d'un diabète de type 2, de même que la naissance d'un enfant de plus de 4kg (**ANAES, Principe du dépistage du diabète de type 2, Février 2003**). De plus, un enfant né de mère atteinte par un diabète gestationnel, a plus de risque de développer un diabète de type 2 et de souffrir d'obésité (**Grimaldi A, Livre « Diabète de type 2 », EMC Référence, 2004**).
- **Le stress** : le stress peut déclencher un diabète chez certaines personnes prédisposées génétiquement, il entraîne :
 - L'excrétion des catécholamines qui activent la néoglucogenèse et la glycolyse.
 - 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'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**).
- **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**).

I-4 Les complications liées au diabète

Malgré le développement des molécules normalisant la glycémie et l'amélioration de schémas thérapeutiques, le diabète reste soumis à une surmorbidity et à une surmortalité liée essentiellement à des atteintes dégénératives tissulaires notamment au niveau des nerfs, des reins, de la rétine et du cœur. Le diabète sucré induit fréquemment l'apparition des complications aiguës ou chroniques (**Jakuš et Rietbrock, 2004**).

Les principales complications diabétiques aiguës est un coma causé soit par une hyperglycémie (acido-cétose) soit par une hypoglycémie due par exemple à une prise trop importante d'un médicament hypoglycémiant.

Les complications chroniques du diabète consistent surtout en des maladies vasculaires dégénératives dont les caractéristiques principales sont l'obstruction progressive de la lumière des vaisseaux et, au niveau de la microcirculation, le passage anormal de protéines de la circulation sanguine vers les tissus. Ces complications concernent à la fois les gros vaisseaux (macroangiopathie) et les microvaisseaux (microangiopathie) (**Jakuš et Rietbrock, 2004**).

I-5 Le diabète de type 1 et auto-immunité

Le diabète de type 1 c'est une maladie auto-immune conduisant à une destruction sélective et progressive des cellules β pancréatiques, productrices de l'insuline (**Boitard, 2002 ; Thivolet, 2002**). Le processus auto-immun des cellules β débute plusieurs années (5 à 10 ans voir plus) avant le début du diabète. L'évaluation de la glycémie suppose une destruction de 80 à 90 des cellules β (**Grimaldi et al., 2001**).

Cette destruction résulte de la production d'auto-anticorps dirigés contre les antigènes des cellules β (**Boitard, 2002**). Elle semble apparaître chez des sujets génétiquement prédisposés, c'est-à-dire possédant des gènes de susceptibilité liés au système HLA mais le processus auto-immun serait déclenché par un facteur environnemental encore mal connu (**Boitard, 2002**). Il pourrait correspondre à une infection virale (**Horwitz, 2002**). Ce processus de destruction entraîne une carence en insuline absolue et définitive responsable de l'apparition d'une hyperglycémie chronique permanente. Le pancréas étant incapable de produire l'insuline, la survie de ces malades dépend entièrement d'injection quotidienne de cette hormone, d'où son nom de diabète insulino-dépendant. Ce traitement est associé à un régime alimentaire en glucose finement contrôlé (**Grimaldi et al., 2001**).

La destruction de la cellule est essentiellement due à une infiltration des îlots par des lymphocytes T helper CD₄ et des lymphocytes T cytotoxiques CD₈. 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 (**Grimaldi, 2000**).

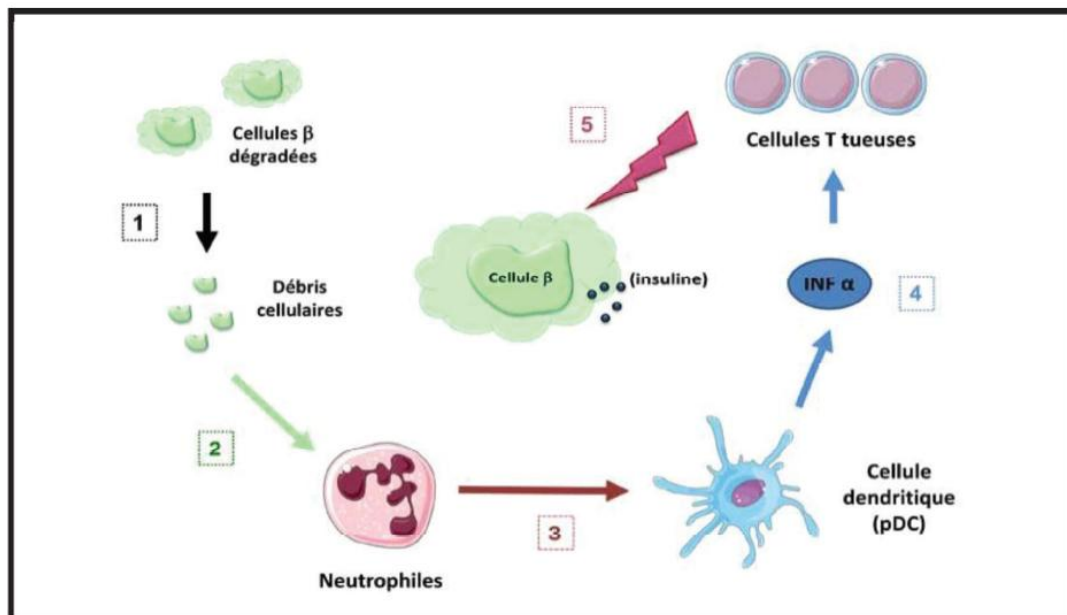


Figure 1 : Activation du système immunitaire conduisant à la mort des cellules

La dégradation naturelle des cellules (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 IFN, une molécule d'alerte (4). L'interféron stimule alors les lymphocytes T qui en reconnaissant les cellules pancréatiques fonctionnelles, induisent la mort de ces cellules (5) (**Grimaldi, 2000**).

I-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 néoglucogénèse (**Riordan et Vallee, 1976**). L'absence ou la carence de ce métal favorise les complications du diabète.

Chapitre II : Stress oxydant et système antioxydant

II-1 Stress oxydant :

II-1-1 Définition :

Dans les systèmes biologiques, le stress oxydant est la conséquence d'un déséquilibre entre la production des radicaux libres et la destruction par des systèmes de défenses anti-oxydants. Les radicaux libres peuvent engendrer des dommages importants sur la structure et le métabolisme cellulaire en dégradant de nombreuses cibles : protéines, lipides et acide nucléiques. Les radicaux libres sont une forme particulière d'espèces chimiques (atomes ou molécules) qui possèdent un électron célibataire (ou non apparié) (WolinMS, 1996) (Wassmann et al., 2004). (Wolin et al., 2005) (Angelos et al., 2005)



Figure 2 : Balance radicaux libres /antioxydants (Shimizu, 2004).

II-1-2 Origine du stress oxydant

La découverte d'espèces chimiques radicalaires présentes normalement dans l'organisme a bouleversé notre compréhension des mécanismes biologiques. Ces radicaux libres sont produits par divers mécanismes physiologiques car ils sont utiles pour l'organisme à dose raisonnable ; mais, la production peut devenir excessive ou résulter de phénomènes toxiques exogènes et l'organisme va devoir se protéger de ces excès par différents systèmes antioxydants.

Dans les circonstances quotidiennes normales, des radicaux libres sont produits en permanence en faible quantité comme les médiateurs tissulaires ou les résidus des réactions énergétiques ou de défense, et cette production physiologique est parfaitement

maîtrisée par des systèmes de défense, d'ailleurs adaptatifs par rapport au niveau de radicaux présents. Dans ces 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 radicaux, l'excès de ces radicaux est appelé « stress oxydant ».

Cette rupture d'équilibre, lourde de conséquence, peut avoir de multiples origines. **(Alain Favier, 2003).**

II-2 les espèces réactives dérivées de l'oxygène

Les Espèces Oxygénées Activées (EOA) sont des molécules contenant de l'oxygène et qui ont une grande réactivité dans les réactions biochimiques. Ce sont des molécules dotées de propriétés oxydantes et requièrent la présence des métaux de transition **(Alain Favier, 2003)**.

On distingue deux catégories d'EOA : les Radicaux Libres ou Espèces Radicalaires et les Espèces non-radicalaires.

❖ Les radicaux libres

Les radicaux libres sont des espèces chimiques (atomes ou molécules) qui possèdent un ou plusieurs électrons célibataires (électron non apparié) sur leur couche externe **(Halliwell, 1989)**. Ils peuvent être dérivés de l'oxygène (espèces réactives de l'oxygène ERO) ou d'autres atomes comme l'azote (espèces réactives d'azote ERA). La présence d'un électron célibataire confère aux radicaux libres une grande réactivité **(Delattre et al., 2005)**.

Les différents radicaux libres sont :

- Anion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$)
- Radical hydroxyle (OH^{\cdot})
- Radical peroxyde (ROO^{\cdot})
- Radical alkoxyde (RO^{\cdot})
- Monoxyde d'azote (NO^{\cdot})

Dans la formule du radical peroxyde et du radical alkoxyde, **R** représente un substrat organique ayant subi une oxydation

❖ Les Espèces Non-Radicalaires

Ces molécules sont généralement les précurseurs des radicaux libres. Ce sont des molécules d'une toxicité importante (**Alain Favier, 2003**). Les espèces non-radicalaires sont :

- Oxygène singulet ($^1\text{O}_2$)
- Peroxyde d'hydrogène (H_2O_2)

II-3 Les cibles biologiques des radicaux libres

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

L'attaque des radicaux libres au sein des doubles liaisons lipidiques membranaires, induit des processus de peroxydations en cascade aboutissant à la désorganisation complète de la membrane, altérant de ce fait ses fonctions d'échange, de barrière et d'information (**Koechlin-Ramonatxo, 2006**).

❖ Les protéines

La toxicité des EOR s'exerce également sur les protéines. Les EOR sont en effet capables de réagir avec différents acides aminés des chaînes de protéines, altérant également leur fonction. Les plus sensibles à leur action sont le tryptophane, la tyrosine, l'histidine, la cystéine et la méthionine. Les EOR sont aussi capables de couper des liaisons peptidiques et de former ainsi des fragments protéiques (**Koechlin-Ramonatxo, 2006**).

❖ Les acides nucléiques

L'ADN, qu'il soit nucléaire ou mitochondrial, est également une cible majeure des EOR. Ceux-ci peuvent en effet interagir avec les désoxyriboses de l'ADN, mais aussi avec ses bases puriques et pyrimidiques. Ces altérations structurales lorsqu'elles ne sont « réparées » entraînent à long terme des altérations géniques (**Koechlin-Ramonatxo, 2006**).

❖ Les sucres

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

formant un dérivé de produit de glycation avancée (AGE, Advanced Glycation End product).

II-4 Systèmes de défenses antioxydants

L'organisme est doté d'un ensemble de systèmes de défenses très efficaces contre la surproduction d'ERO. Le terme d'antioxydant désigne toute substance qui, présente à faible concentration par rapport à celle du substrat oxydable, retarde ou inhibe significativement l'oxydation de ce substrat (**Halliwell et Gutteridge, 1990**). Cette définition fonctionnelle s'applique à un grand nombre de substances, comprenant des enzymes aux propriétés catalytiques spécifiques. Mais aussi à des petites molécules hydro- ou liposolubles. Les systèmes antioxydants peuvent être classés selon leur mode d'action, leur localisation cellulaire et leur origine (**Delattre et al., 2005**).

La nature des systèmes antioxydants diffère selon les tissus et les types cellulaires et selon qu'on se trouve dans le milieu intracellulaire ou extracellulaire (**Bonnefont-Rousselot et al., 2003**). Il existe différents types de molécules qu'elles soient naturelles ou synthétiques et dont le mode d'action repose sur un système enzymatique (premières lignes de défense) ou non (molécules piègeuses d'électrons).

II-4-1 Les antioxydants enzymatiques : Le superoxyde dismutase, 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**).

a) Les superoxydes dismutases (SOD)

Les SOD sont les premières enzymes à intervenir dans la cascade des ROS. Ce sont des métalloprotéines qui catalysent la dismutation des ions superoxydes en peroxyde d'hydrogène et oxygène, selon la réaction suivante :



Il en existe trois isoformes décrites chez les mammifères (**Fridovich, 1995**) : la SOD à Manganèse (Mn) dans les mitochondries, à cuivre (Cu) ou à zinc (Zn) dans le cytoplasme et les mitochondries, et des formes Cu/Zn SOD extracellulaires. Les deux dernières sont retrouvées dans les vaisseaux sanguins. Il existe des molécules chimiques de synthèse qui possèdent cette activité enzymatique et sont perméables aux membranes cellulaires. Elles sont appelées SOD mimétiques (**Fridovich, 1995**).

b) La catalase

La catalase est une enzyme hémique capable de transformer le peroxyde d'hydrogène (généralement produit par les SOD) en eau et oxygène moléculaire. Elle est

essentiellement présente dans les peroxysomes, mais aussi dans les mitochondries et le cytoplasme (pour les cellules qui ne possèdent cette organelle ex ; érythrocytes) (**Lindau- Sehpard et Shaffer, 1993**). La réaction catalysée par cette enzyme est une dismutation du peroxyde d'hydrogène :



La catalase est une enzyme tétramérique, chaque sous unité comporte un groupement ferriprotophyrine dans son site actif avec un atome de fer à l'état Fe_3 et une molécule de NADPH.

La fixation du NADPH par la catalase lui confère une protection contre l'attaque de l' H_2O_2 (**Delattre et al., 2005**).

La catalase et la glutathion peroxydase ont des rôles protecteurs similaires et leur contribution relative est assez variable. La catalase est surtout active lorsque le niveau de stress oxydatif est élevé ou que la quantité de glutathion peroxydase est limitée et elle joue un rôle significatif en permettant d'éliminer l'excès de peroxyde d'hydrogène afin que la réaction de Fenton ne puisse pas s'amplifier (**Cantin, 1999**).

c) Les glutathions peroxydases et réductases :

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 intervention de deux molécules de glutathion (GSH), celles-ci se transforment en glutathion-disulfure (GSSG) (**Marfak, 2003**).

II-4-2 les antioxydants non enzymatiques

Les systèmes antioxydants non enzymatiques sont des nutriments naturellement apportés par l'alimentation ou par des composés endogènes. Ils peuvent avoir un rôle de « scavenger », c'est à dire qu'ils ont la capacité de piéger les entités oxydantes en captant leur électron libre et en formant ainsi des entités plus stables qui pourront être éliminées par d'autres systèmes antioxydants (**Delattre et al., 2005**).

a) La vitamine C

L'acide ascorbique ou vitamine C est considéré comme le plus important antioxydant dans les fluides extracellulaires. C'est un piègeur très efficace des ions superoxydes, du peroxyde d'hydrogène, de l'hypochlorite, des radicaux hydroxyles et pyroxyles, et de l'oxygène singulet. Le rôle antioxydant de la vitamine C est basé sur sa réaction avec les radicaux peroxydes aqueux, le produit formé étant le radical ascorbyle. En piégeant

les radicaux peroxydes dans la phase aqueuse avant qu'ils initient la peroxydation lipidique, la vitamine C protège les biomembranes et les lipoprotéines (**Delattre et al., 2005**).

b) Vitamine E

Sous le terme vitamine E est regroupée la famille des tocophérols (α , β , δ , γ). Le caractère hydrophobe de la vitamine E lui permet de s'insérer au sein des acides gras de la membrane cellulaire et des lipoprotéines, où elle joue un rôle protecteur en empêchant la propagation de la peroxydation lipidique induite par un stress oxydant. (**Vertuani et al., 2004**).

c) β -carotène

Le β -carotène est apporté par l'alimentation. Il est doué de plusieurs capacités : il est précurseur de la vitamine A, il capte l'oxygène singulet sous faible pression d'oxygène et, avec les autres caroténoïdes, il a le pouvoir de terminer les réactions en chaîne de lipoperoxydation. Il protège les structures cellulaires contre l'agression oxydante (**Goudable et Favier, 1997**).

d) Le sélénium

Le sélénium joue un rôle clé dans la protection des cellules et de leurs constituants contre l'attaque radicalaire. Cette fonction est due à sa présence dans le site actif des glutathions peroxydases sélénodépendantes, et à l'activité biologique antiradicalaire des sélénoprotéines (**Burk, 2002**).

e) Le zinc

Le zinc (Zn) joue un rôle antioxydant indirect en assurant la stabilisation de la Cu-Zn SOD. Cependant, au-delà de cette fonction, le zinc possède d'autres propriétés antioxydantes pour lesquelles le mécanisme précis reste encore incomplètement connu (**Powell, 2000**) :

- Le zinc inhibe la production des espèces radicalaires de l'oxygène ERO par les métaux de transitions, en entrant en compétition avec le fer et le cuivre dans la réaction de Fenton.
- Le zinc protège les groupements thiols (SH) des protéines contre l'oxydation induite par le fer, en empêchant la formation de ponts disulfure intramoléculaires.
- L'activité antioxydante du zinc pourrait également passer par l'induction de metallothionéines pouvant piéger les ERO (**Delattre et al., 2005**).

f) Polyphénols

Les polyphénols végétaux regroupent une grande variété de composés comprenant entre autres les flavonoïdes, les anthocyanes et les tanins. Ce sont des composés ubiquistes que l'on retrouve dans les plantes. Ils attirent l'attention depuis quelques années à cause de leurs propriétés antioxydantes. En effet, ils sont capables de piéger des radicaux libres, d'inhiber la peroxydation lipidique en réduisant les radicaux hydroxyles, superoxydes et peroxydes. Ils sont aussi capables de piéger les ions métalliques, car ils ont des propriétés chélatrices (**Delattre et al., 2005**).

II-5 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.

II-6 Implication du stress oxydant dans le diabète

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)

✓ L'augmentation du flux de la voie des polyols

A l'état de normoglycémie, le glucose est transformé par l'hexokinase en glucose 6- phosphate pour rejoindre la glycolyse et la voie des pentoses phosphates.

Cependant, dans le cas d'une hyperglycémie, l'hexokinase est saturée (**Gonzale et al., 1984**). Le glucose, de ce fait, s'accumule dans les tissus périphériques et active une voie accessoire, la voie des polyols.

Dans cette voie, le glucose est transformé en sorbitol par l'aldose réductase, qui n'est activée qu'en présence d'une hyperglycémie, car elle possède une faible affinité pour le glucose (**King and Brownlee, 1996**). La réaction a lieu en présence du cofacteur NADPH, H⁺ issu de la voie des pentoses phosphates. Le sorbitol est ensuite transformé en fructose par le sorbitol déshydrogénase, dont le cofacteur est le NAD⁺). Le sorbitol, qui ne peut pas franchir la membrane plasmique, s'accumule dans la cellule, et

augmente la pression osmotique, entraînant une hyperosmolarité intracellulaire (Brung, 1995) la production accrue de fructose par cette voie peut également stimuler la formation des AGEs grâce au plus grand pouvoir réducteur du fructose par rapport au glucose (Suarez *et al.*, 1988). (Figure 3)

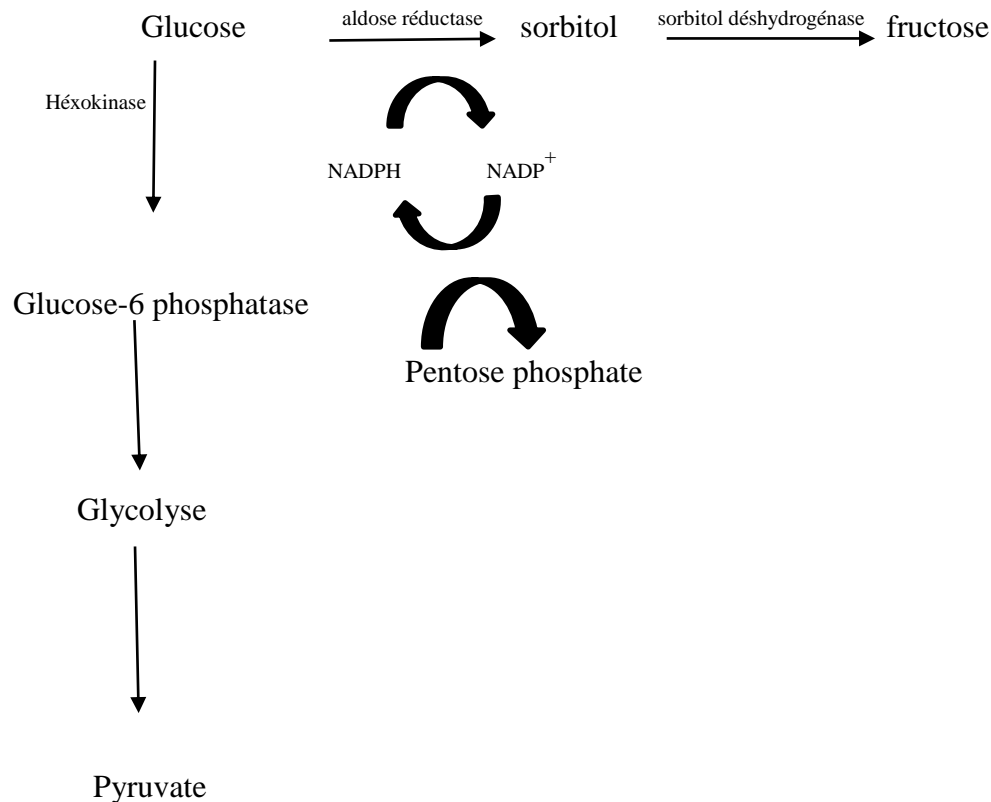


Figure 3 : Voie des polyols et autres voies du catabolisme du glucose (Janeul, 2003)

L'activation de cette voie peut avoir des effets délétères (Brownlee, 2001). La principale conséquence est la modification du statut redox intracellulaire résultant de la baisse en NADPH, H⁺, au détriment du fonctionnement de nombreuses enzymes antioxydantes comme la glutathion réductase, l'ascorbate-réductase et la NOS qui utilisent ce cofacteur (Bravi *et al.*, 1997). Cette baisse de cofacteur et de GSH réduit et augmente la sensibilité de la cellule au stress oxydant (Brownlee, 2005).

✓ **L'activation de la voie des Protéines Kinases C (PKC).**

Le mécanisme responsable de l'activation de la protéines kinases C (PKC) semble être principalement lié à une production accrue du DAG (Diacylglycérol) à partir des intermédiaires de la glycolyse par l'activation de la Phospholipase C et l'inhibition de la DAG Kinase (Xia *et al.*, 1994 ; Keogh *et al.*, 1997). Les conséquences de l'activation

de la PKC par l'hyperglycémie sont multiples. Il a été rapporté qu'une activation de la phospholipase A₂(PLA₂) cytosolique, entraîne une libération des acides aminés, la formation de prostaglandine E₂ (PGE₂) et l'inhibition des pompes Na⁺/K⁺ATPase (**Brownlee, 2005**). De plus, l'activation de la PKC est capable, entre autres, d'augmenter la prolifération cellulaire (**Koya et King, 1998**), la production des cytokines et de protéine de matrice cellulaire (**Studer et al., 1993**), ainsi que la contractibilité et la perméabilité des vaisseaux (**Hempel et al., 1997**).

✓ **La Glycation des protéines et génération des radicaux libres**

Une des conséquences essentielles de l'hyperglycémie est la glycosylation non enzymatique ou glycation des protéines. La glycation des protéines résulte de la formation d'une liaison covalente entre la fonction aldéhydique du glucose et les groupements amines libres des protéines (fonction amine N-terminale et/ou fonction ε-aminée des résidus lysine) (**Ramasamy et al., 2006**). Cette liaison (réaction de Maillard), après réarrangements, donne naissance à des produits dits d'Amadori qui présente la particularité de posséder un groupement céto (**Yim et al., 1995**). Cette fonction céto peut, en présence de métaux de transition, céder un électron à l'oxygène moléculaire, conduisant à la formation d'anions superoxydes O₂^{•-} (**Delattre et al., 2005**). La propriété des protéines glyquées de produire des anions superoxydes a été mise en évidence par la première fois par (**Gillery et al. (1988)**), et a été confirmée par d'autres auteurs tels (**Sakurai et Tsuchiya, 1988**).

Il est important de noter que les α-cétoaldéhydes ainsi que les produits d'Amadori peuvent également s'oxyder en présence de métaux de transition, et générer des ERO. Ce mécanisme amplifiant l'attaque radicalaire aboutit à la formation de complexes multimoléculaires, à la modification de la conformation des protéines ou à la fragmentation des protéines en peptides (**Jakuš et Rietbrock, 2004**)

✓ **La voie auto-oxydation du glucose**

Le glucose peut subir une auto-oxydation : il s'agit d'une réaction catalysée par les métaux de transition et au cours de laquelle sont produits des anions superoxydes (O₂^{•-}) des dicarbonyles et des AGE (Produits de glycation avancés). Le glucose dans sa forme ouverte est en effet capable de s'énoliser et de réduire des métaux de transition. Le radical énediol formé peut être ensuite oxydé en dicarbonyle et induire la formation d'anions superoxydes, précurseurs du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) et du radical

hydroxyle (OH^{\bullet}) très réactif (réaction de Fenton et Haber- Weiss) (Hunt *et al.*, 1988 ; Wolff, 1993). La réaction du dicarbonyle avec les protéines mène à la formation des AGE. Les radicaux libres formés sont capables d'altérer la fonction protéique, en particulier enzymatique, avant même la fixation du glucose sur les protéines (Santini *et al.*, 1996). Cependant, à l'heure actuelle, cette voie n'a été décrite qu'*in vitro* et les conditions expérimentales utilisées ne sont pas représentatives de celles observées *in vivo* (Delattre *et al.*, 2005).

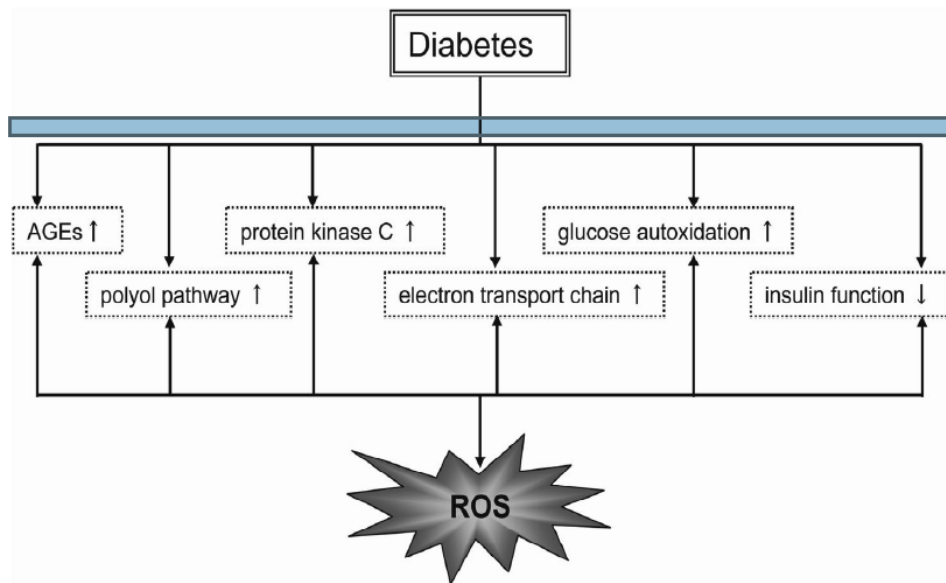


Figure 4 : Relation entre diabète et stress oxydatif (Yasuhiro *et al.*, 2009).

Chapitre III : La phytothérapie

III-1 Généralités

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 théories, les croyances et les expériences propres aux différentes cultures, et qui sont utilisées pour prévenir, diagnostiquer, soulager ou soigner des souffrances physiques et mentales ». Actuellement, plus de 80 % de la population mondiale, surtout dans les pays sous-développés, ont recours aux traitements traditionnels pour satisfaire leurs besoins en matière de santé et de soins primaires (OMS, 2008).

III-2 Définition de la phytothérapie

Le mot "phytothérapie" se compose étymologiquement de deux racines grecques : *phuton* et *therapeia* qui signifient respectivement "plante" et "traitement".

La Phytothérapie peut donc se définir comme étant une discipline allopathique destinée à prévenir et à traiter certains troubles fonctionnels et/ou certains états pathologiques au moyen de plantes, de parties de plantes ou de préparations à base de plantes qu'elles soient consommées ou utilisées en voie externe.

III-3 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 (Strang, 2006).
- **Gemmothérapie** : se fonde sur l'utilisation d'extrait alcoolique de tissus jeunes de végétaux tels que les bourgeons et les radicules (Strang, 2006).
- **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 (Strang, 2006).

- **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 (**Strang, 2006**).
- **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**).

III-4 Les formes d'utilisation des plantes

III-4-1 Les tisanes : utilisation des plantes sèches :

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

❖ L'infusion :

Elle consiste à verser sur la plante de l'eau bouillant, couvrir et laisser refroidir 2 à 15 minutes. Elle convient aux plants fragiles (fleurs et feuilles) (**Sabia Boudali, 2012**).

❖ La décoction :

Elle consiste à maintenir la drogue avec l'eau ébullition pendant une durée de 15 à 30 minutes. Elle convient aux plantes dures (écoces, racines, fruit et certaines feuilles) (**Sabia, Boudali, 2012**).

❖ La macération :

Il s'agit de maintenir la plante en contact avec l'eau (température ambiante) pendant 30 minutes à 4 heures (**Sabai, Boudali, 2012**).

❖ La digestion :

On maintient la plante en contact avec l'eau (température inférieure à celle de l'ébullition, mais supérieure à la température ambiante) pendant 1 à 5 heures (**Sabia boudali, 2012**).

III-4-2 Les poudres :

Préparées par pulvérisation suivie d'un tamisage, elles entrent directement dans la composition des gélules mais servent aussi à la fabrication d'autres formes galéniques comme les extraits et les teintures (**Sbai, Boudali, 2012**).

III-4-3 Les extraits :

Les extraits sont obtenus en traitant le plant dans une solution vaporisable (éther, eau alcool, ...) par divers procédés d'extraction (macération, digestion, infusion,

lixiviation) puis en évaporant ces solutions jusqu'à obtenir une consistance fluide, molle ou sèche. On les classe donc selon leurs consistances (**Sabai et Boudali.,2012**).

III-4-4 Les huiles essentielles

Le terme huile s'explique par la propriété que présentent ces composés de se solubiliser dans les graisses et par leur caractère hydrophobe. Le terme « essentielle » fait référence au parfum, à l'odeur plus ou moins fort dégagée par la plante (**Laib., 2001**).

Il s'agit d'un certains tissus de composés lipophiles, volatils et souvent liquides, synthétisés et stockés physiquement tels l'hydro distillation à la vapeur ou par expression à froid dans le cas des agrumes, les huiles essentielles sont responsables de l'odeur caractéristique des plante aromatiques (**Afnor., 1986**).

III-5 Principes actifs à effets antidiabétiques

Les plantes ont une importance capitale pour la survie de l'homme et des différents écosystèmes. Elles renferment une part importante des composés qui interviennent dans l'ensemble des réactions enzymatiques ou biochimiques ayant lieu dans l'organisme. On distingue ainsi deux groupes de métabolites : les métabolites primaires et les métabolites secondaires (**Hartmann, 2007**).

Il existe plus de 200 000 métabolites secondaires, dont plus de 200 présentent une activité hypoglycémiant (**Marles et Farnsworth, 1995 ; Lamba et al., 2000 ; Sanjay, 2002**). Ainsi un certains nombres de groupes, tels que des alcaloïdes, des saponines, des flavonoïdes, des glycosides, des polysaccharides, des peptidoglycanes, acides aminés et d'autres obtenus à partir de diverses sources végétales, semblent avoir des effets, d'une importance particulière, dans le traitement du diabète (**Mukherjee et al., 2006 ; Soumyanath, 2006**).

III-5-1 Les flavonoïdes

Le terme flavonoïde rassemble une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols. Leur fonction principale semble être la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles (au-delà de la chlorophylle, des caroténoïdes et des bêtaïnes), assurant ainsi la protection des tissus contre les agressions des ultraviolets (**Bruneton, 1999 ; Rajnerayanama et al., 2001**).

III-5-2 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).

III-5-3 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)

III-5-4 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).

III-6 Les plantes sélectionnées

III-6-1 *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 *sadzab* par **Abdulbasset et Abde Tawab, 2008**, elle est aussi dite en berbère : *ouermi, Issel, Issin* (**Baba Aissa, 1999**). Autres noms sont indiqués par (**Duke et al ., 2008**): *Al Shathap* (, *Bou Ghans*, en grec : *Pigam, zent*.

❖ **Systématique** : (**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*

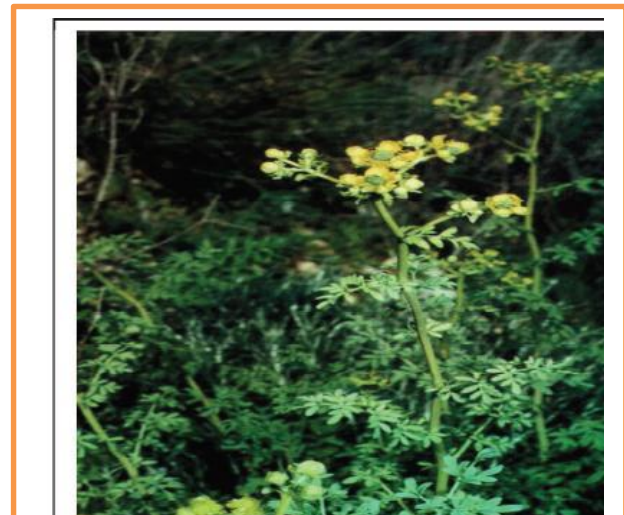


Figure 5 : *Ruta chalepensis* (Prise Personelle).

❖ **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**).

III-6-2 *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)

- 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

❖ *Systématique*

Règne : *Plantae*

Division : *Magnoliophyta*

Classe : *Magnoliopsida*

Ordre : *Caryophyllales*

Famille : *Chénopodiacée*

Genre : *Beta*

Espèce : *vulgaris*

Nom vernaculaire



Figure 6 : *Bêta vulgaris*.(prise personnelle)

❖ *Description*

Bette à carde (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 carde 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*. «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'étude phytochimique 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'épigénine (**Gao et al., 2009**).

I-1 Matériel végétal

- La région de hadjar Mangoube (wilaya de Guelma) pour *Rûta chalepensis* la partie aérienne (les feuilles et les tiges) a été récoltée au niveau de deux régions.
- La région d'El Nadhour (wilaya de Guelma) pour *Bêta vulgaris* «var. *cicla*» Les deux plantes ont été 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.

I-2 les animaux

L'étude a été 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 avec accès libre de nourriture et de l'eau et à température ambiante avec un cycle naturel de lumière de d'obscurité.

II Méthodes

II-1 Tests préliminaires de la composition chimique :

➤ **Alcaloïdes**

Introduire 10 g de poudre végétale séchée dans un erlenmeyer de 250 ml, ajouter 50 ml de H₂SO₄ à 10 %. Après agitation pendant 30 minutes, laisser macérer 24 heures à la température du laboratoire, puis filtrer sur papier filtre. Ensuite, compléter le filtrat à 50 ml avec de l'eau distillée.

❖ **Réactions de caractérisation :**

- 1 ml de filtrat + 5 gouttes du réactif de MAYER (5 g de KI et 1,358 g de HgCl₂ 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'I₂ solubilisés dans 100 ml d'eau distillée) s'il apparaît un précipité brun c'est qu'on est en présence d'alcaloïdes (**in Attou , 2011**).

➤ **Flavonoïdes**

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 (FeCl₃) :**

Les flavonoïdes, du fait de la présence de fonctions phénoliques dans leurs génines, donnent des colorations variées avec des solutions diluées de FeCl₃.

A 2ml de la solution extractive ajouter 2 à 3 gouttes d'une solution diluée de FeCl₃ à l'apparition d'une coloration verdâtre 2% Indique que le test est positif (**in Mbodj , 2003**).

➤ **Tanin**

Dans un Erlenmeyer, disperser 5 g de poudre dans 100 ml d'eau bouillante. Après infusion pendant 15 mn, filtrer et compléter le filtrat à 100 ml avec de l'eau distillée. Introduire 5 ml d'infusé à 5 % dans un tube à essais, puis ajouter 1 ml de solution aqueuse de FeCl₃ à 1 %. En présence de tanin, il se développe une coloration verdâtre ou bleu noir (**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 à 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 apparait après avoir laissé au repos pendant 15 minute le tube à essais (**Karumi et al., 2004**).

➤ **Coumarines**

1 g d'échantillon de la poudre végétale placer dans un tube à essai en présence de quelques 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 NH₄OH 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 dans le mélange, indique la présence de mucilages (Karumi et al., 2004).

II-2 Préparation de l'extrait méthanolique

L'extrait méthanolique est préparé selon la méthode de (Markhan, 1982). 250 g de la poudre de chaque plante (*Bêta vulgaris* et *Ruta chalepensis*) est débarrassé des cires et des lipides par trois lavages successifs avec l'éther de pétrole. Le résidu obtenu après filtration est débarrassé de la chlorophylle par trois lavages successifs avec le chloroforme. L'extraction est effectuée par macération dans le méthanol (85%) avec agitation de temps en temps. Après filtration sur papier le filtrat est évaporé dans un rotavapor à 45°C puis lyophilisé, 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

m₀: la masse initiale de la plante

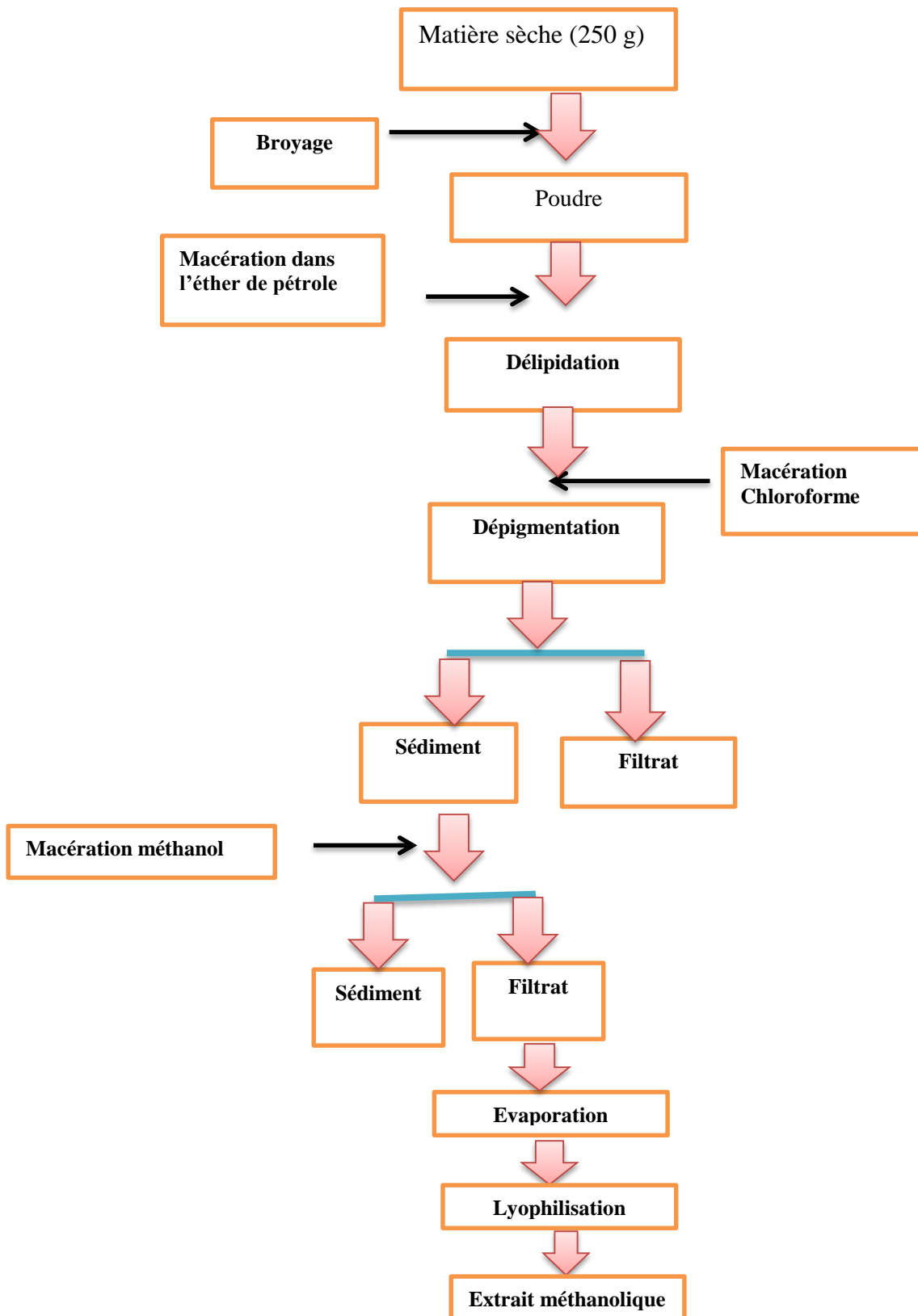


Figure 7 : protocole d'extraction

Partie expérimentale

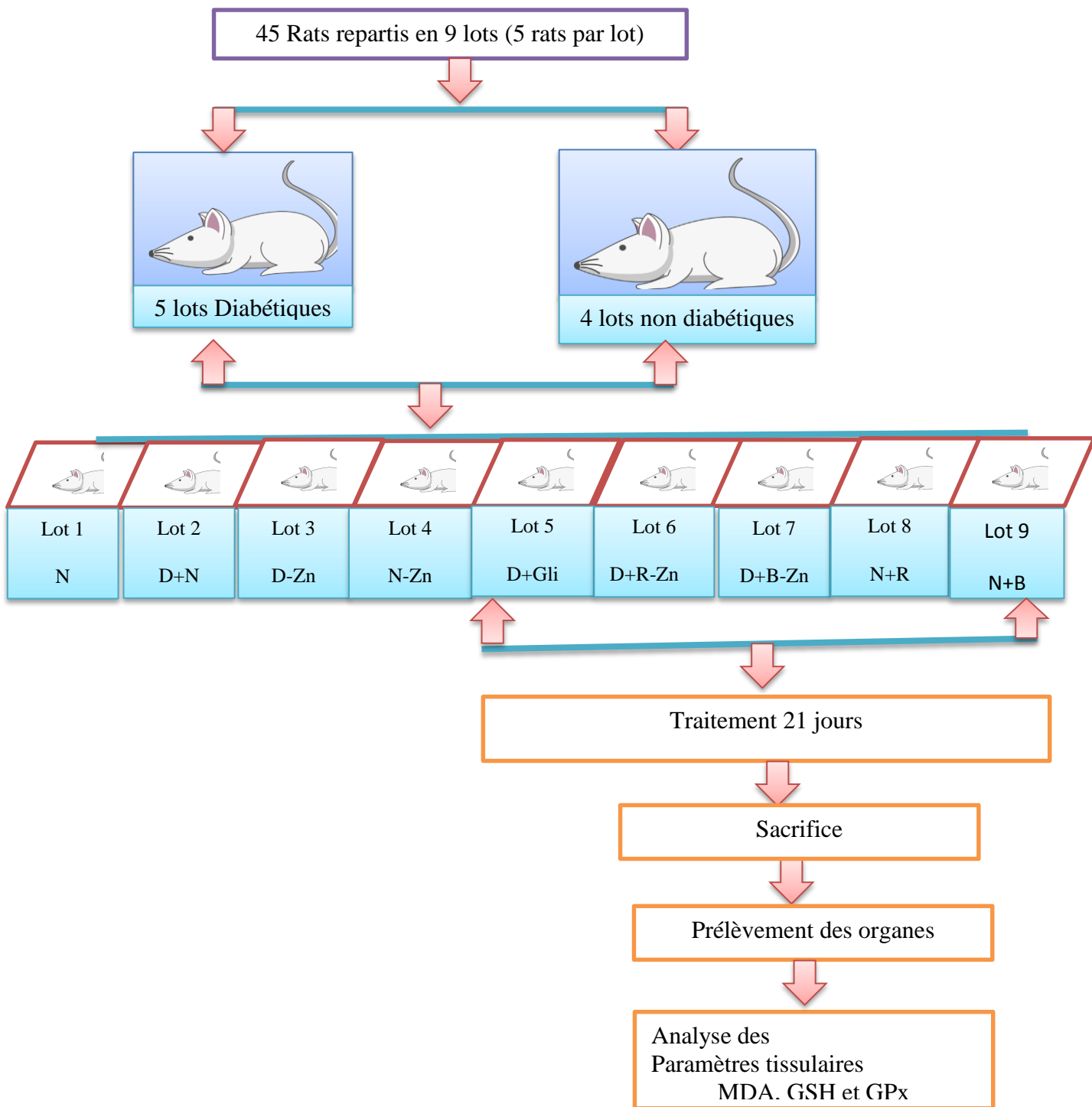


Figure 8 : schéma de protocole expérimental de la partie animale

II-3 Analyse de l'extrait méthanolique de *Bêta vulgaris* et de *Ruta chalepensis* :

II-3 -1 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 μ l d'échantillon ou de standard (préparés dans le méthanol) avec des dilutions convenables, Après 4 min, 800 μ l 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 μ g/ml) et est exprimée en mg d'équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait figure 7

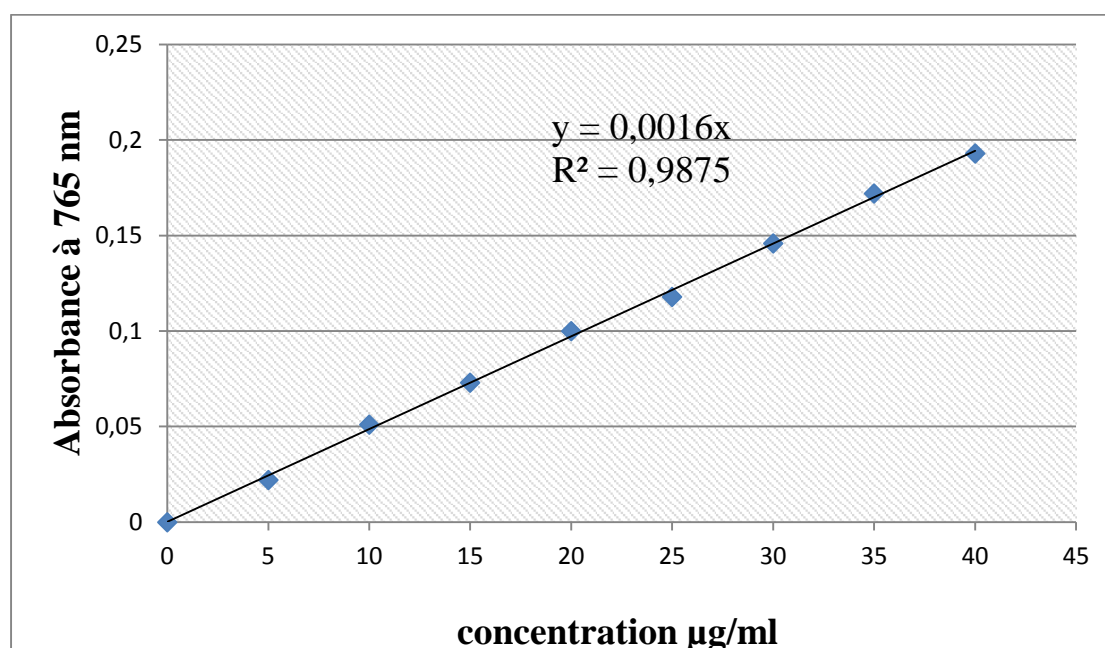


Figure 9 : Droite d'étalonnage de l'acide gallique

II-3-2 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 quercitrine (0-40 $\mu\text{g/ml}$)(Figure 8) pour calculer la concentration des flavonoïdes dans chaque extrait. Les résultats du dosage sont exprimés en milligramme d'équivalent de quercitrine par gramme de lyophilisat.

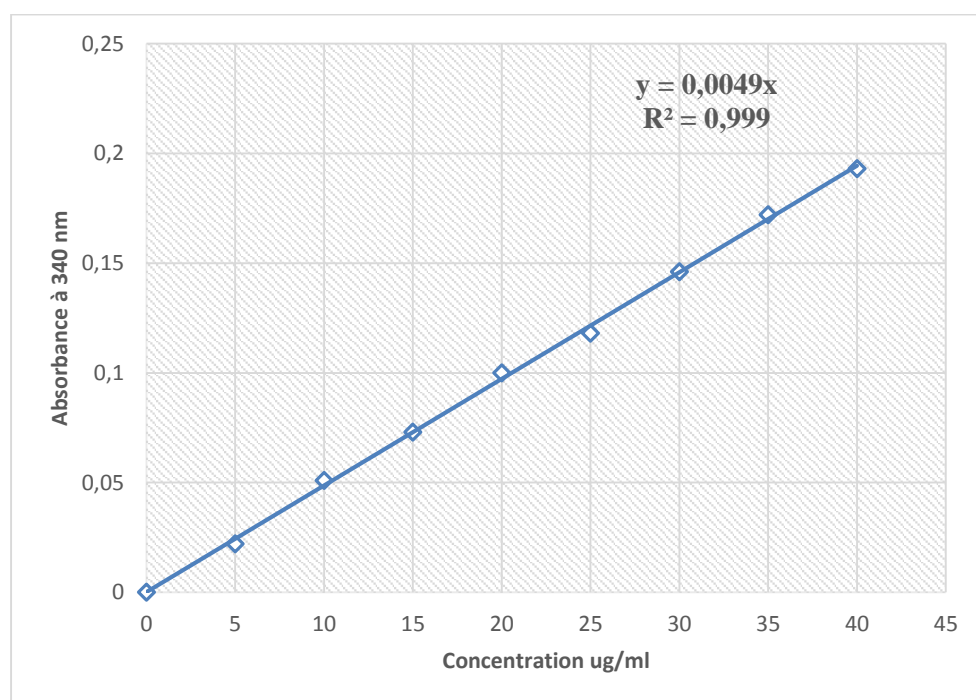


Figure 10 : Droite d'étalonnage de la quercétine

II-3-3 L'évaluation de l'activité anti-oxydante : Piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl)

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

Selon le protocole décrit par (Mansouri *et al.*, 2005). La solution de DPPH est préparée par solubilisation de 2,4 mg de DPPH dans 100 ml de méthanol (6×10^{-5} M). 25 μ l des solutions d'extraits ou standard (acide ascorbique) sont ajoutés à 975 μ l DPPH, le mélange est laissé à l'obscurité pendant 30 min et la décoloration par rapport au contrôle négatif contenant la solution de DPPH et du méthanol est mesurée à 517 nm. L'activité antiradicalaire est estimée selon l'équation ci-dessous :

$$\% \text{ d'activité antiradicalaire} = \frac{\text{Abs contrôle} - \text{Abs échantillon}}{\text{Abs contrôle}} \times 100$$



A: Diphenylpicrylhydrazyl (radical libre)

B: Diphenylpicrylhydrazine (non radicalaire)

Figure 11 : Structure du DPPH

L'activité antioxydante de l'EMBV et l'EMRC *vis-à-vis* du radical DPPH a été évaluée spectrophotométriquement en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage de la couleur violette à la couleur jaune mesurable à 517 nm.

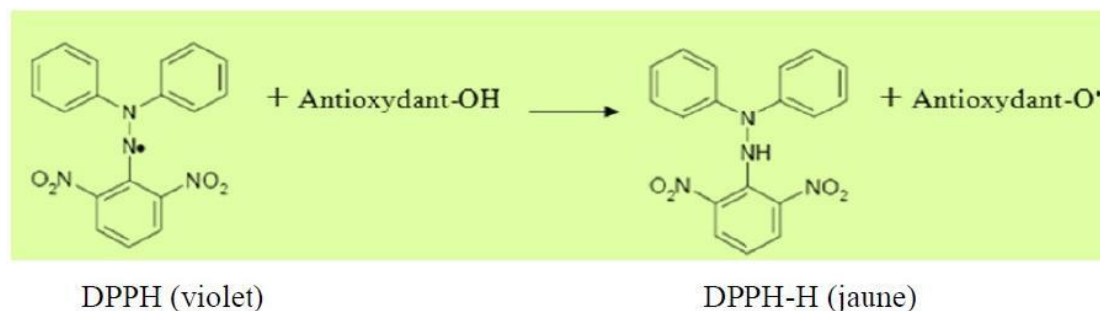


Figure 12 : Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH.

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

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

Calcul des IC₅₀

C₅₀ (concentration inhibitrice de 50 %), aussi appelée EC₅₀ (*Efficient concentration 50*), est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50% de radical DPPH. Les IC₅₀ sont calculées graphiquement par des pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des extraits testées (**Torres et al, 2006**).

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

II-4 Investigations expérimentales sur les animaux

II-4-1 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 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.

II-4-2 La préparation de la nourriture

Deux régimes alimentaires ont été préparés l'un normal et l'autre pauvre en zinc. La préparation est basée sur les matières premières mentionnées dans les Tableaux 2 et 3 selon la méthode suivante

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

II-4-3 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 (N).

❖ **Lot 2 :**

Rats diabétiques sous un régime alimentaire normal traités par 10 ml/Kg de l'eau physiologique (DN).

❖ **Lot 3 :**

Rats diabétiques sous à un régime pauvre en zinc traités par 10 ml/Kg de l'eau physiologique (D-Zn).

❖ **Lot4 :**

Rats non diabétiques sous un régime alimentaire pauvre en zinc traités par 10ml/kg eau physiologique (N-Zn).

❖ **Lot 5 :**

Rats diabétiques sous un régime alimentaire pauvre en zinc traités par Glibenclamide (2,5 mg/kg) (D-Zn+Glib) (**SCHORDERET *et al.*, 1988**).

❖ **Lot 6 :**

Rats diabétiques sous un régime alimentaire pauvre en zinc traités par l'EMRC (500 mg/kg) (D-Zn+ R).

❖ **Lot 7 :**

Rats diabétiques sous un régime alimentaire pauvre en zinc traités par l'EM BV (500 mg/kg) (D-Zn+B).

❖ **Lot 8 :**

Rats non diabétiques sous un régime alimentaire normal avec traitement par l'EMRC (500 mg/kg) (N+R).

❖ **Lot 9 :**

Rats non diabétiques sous un régime alimentaire normal avec traitement par l'EMBV (500 mg/kg) (N+B).

Le traitement a été effectué par gavage pendant 21 jours.

II-4-4 Préparation des homogénats

Après la dissection, le foie, les reins, 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 surnageant est récupéré dans des tubes secs et stockés à -20° C jusqu'à l'utilisation pour les dosages tissulaires.

II-4-5Analyse des paramètres tissulaires

II-4-5-1 Peroxydation lipidique

La peroxydation lipidique dans le foie, rein et coeur 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.

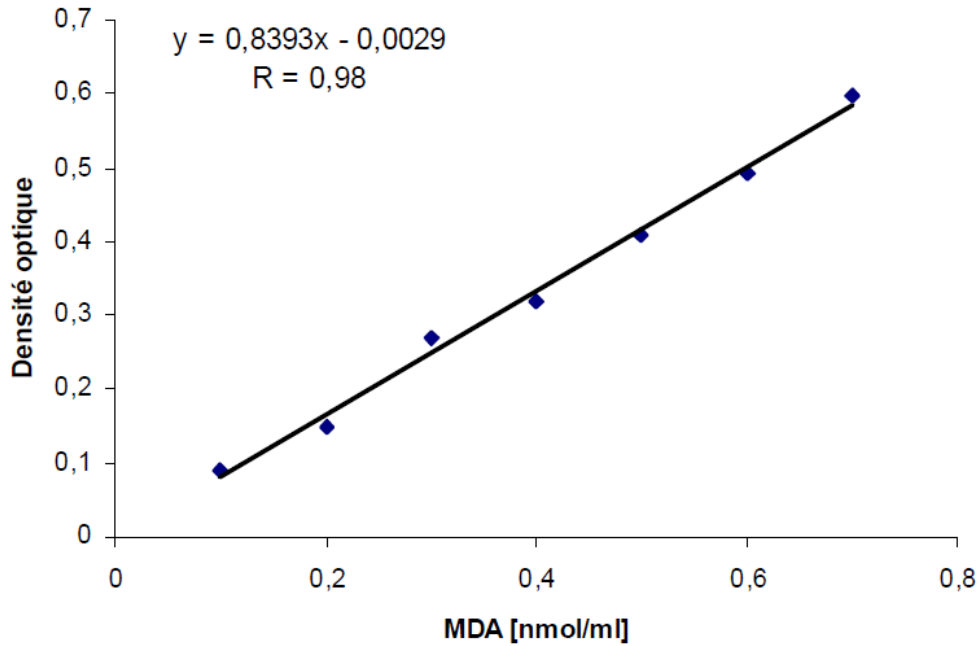


Figure 13 : Courbe d'étalonnage du MDA avec le réactif TBA (Moyenne de 3 essais).

II-4-5-2 Dosage de l'activité de Glutathion S-Transférase (GSTs) :

La mesure de l'activité des GST, consiste à fournir à l'enzyme un substrat en général du (CDNB) 1-chloro, 2.4-dinitrobenzène, qui réagit facilement avec de nombreuses formes de GST et du glutathion. La réaction de conjugaison de ces deux produits entraîne la formation d'une molécule nouvelle qui absorbe la lumière à 340 nm de longueur d'onde.

La méthode utilisée dans cette étude pour doser les GSTs est celle de (**Habig et al., 1974**) ; celle-ci consiste à faire agir les GSTs contenues dans l'homogénat sur un mélange (GSH + CDNB) à une température de 37°C et à un pH de 6.5. La variation de la densité optique, due à l'apparition du complexe GSH-CDNB, est mesurée pendant 1 minute durant 5 minutes à une longueur d'onde de 340 nm

Réactifs	Blanc (µl)	Essai (µl)
Tampon phosphate (0.1M) pH 6.5	850	830
CDNB (0.02M)	50	50
GSH (0.1M)	100	100

Homogénat	-	20
-----------	---	----

La valeur de la densité optique du blanc (conjugaison spontanée du substrat) a été ensuite retranchée à la valeur de chaque essai afin de mesurer la variation due uniquement à l'activité de l'enzyme.

La concentration de la GST est obtenue par la formule suivante :

$$\text{GST nmol GSL/min/mg protéine} = \frac{(DO \frac{\text{échantillon}}{\text{min}} - DO \frac{\text{blanc}}{\text{min}})}{9.6 \times \text{mg de protéine}}$$

- ✓ Do : Densité optique de l'échantillon /min.
- ✓ Do/min blanc : Densité optique du blanc /min
- ✓ 9.6 : Coefficient d'extinction du GSH-CDNB exprimé en mM. Cm.

II-4-5-3 Dosage des protéines :

La concentration de protéines est déterminée selon la méthode de **Bradford (1976)** qui utilise le bleu de Coomassie comme réactif. Ce dernier réagit avec les groupements amines (-NH₂) des protéines pour former un complexe de couleur bleu. (L'apparition de la couleur bleue reflète le degré d'ionisation du milieu acide et l'intensité correspond à la concentration des protéines).

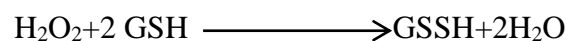
Pour cela, nous avons procédé aux étapes suivantes :

- ✓ Prélever 0.1 ml de l'homogénat.
- ✓ Ajouter 5 ml du bleu de Coomassie.
- ✓ Agiter et laisser reposer 5 minutes.
- ✓ Lire à 595 nm les densités optiques contre le blanc

La concentration des protéines est déterminée par comparaison à une gamme étalon d'albumine sérique bovine (1mg/ml) préalablement réalisée dans les mêmes conditions.

II-4-5-4 Dosage de l'activité enzymatique du glutathion peroxydase (GPx)

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



Pour cela que, nous avons procédé aux étapes suivantes :

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

La détermination de l'activité enzymatique de la GPx se fait à l'aide de la formule suivante :

$$GPx(\mu\frac{\text{molGSH}}{\text{mg}}\text{protéine}) = \frac{(DO\ \text{échantillon} - DO\ \text{étalon})x0.04}{DO\ \text{étalon}}$$

- ✓ DO échantillon : Densité optique de l'échantillon.
- ✓ DO étalon : Densité optique de l'étalon.
- ✓ 0.04 : Concentration de substrat (GSH).

II-4-5-5 Etude statistique

L'étude statistique est réalisée à l'aide du logiciel minitab 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

I-Modèle végétal :

I-1-Préparation de l'extrait méthanolique

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 brut tel que y est mentionnée dans le Tableau4

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 %	1.54	2.152
Rendement en g	3.85	5.38

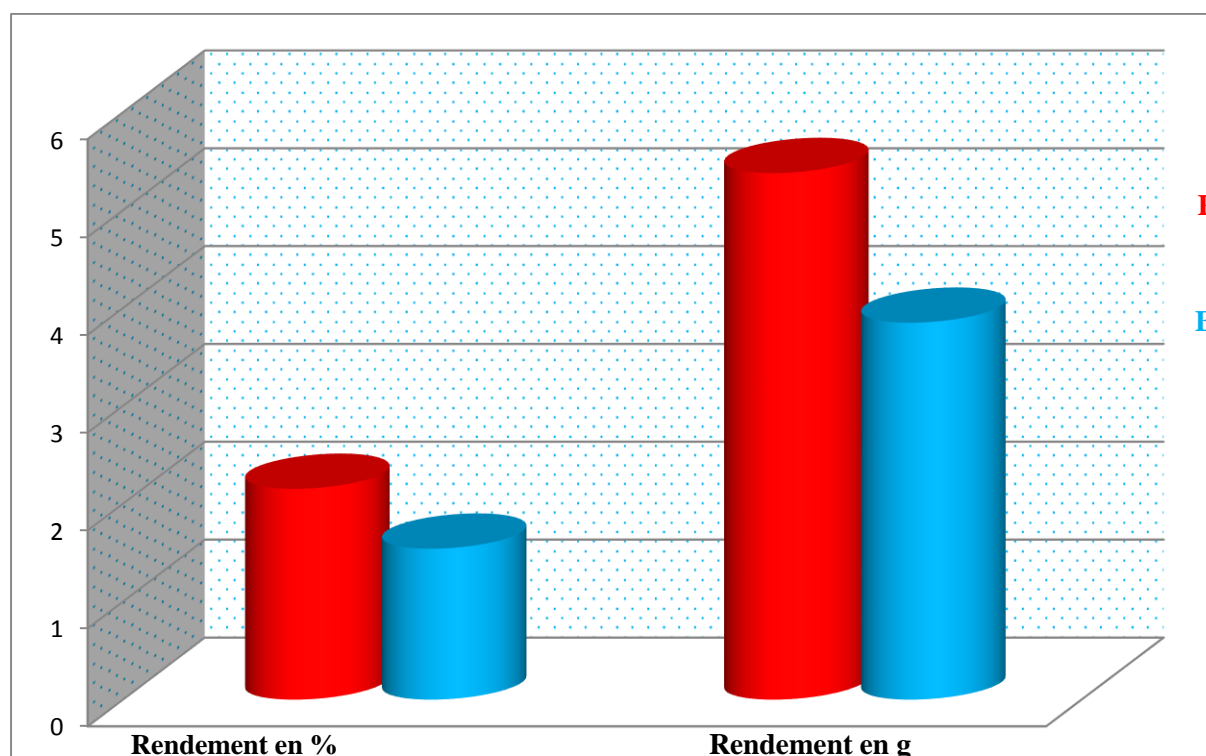


Figure 14 : Le rendement de l'extraction en % (R : *Ruta chalepensis* ; B : *Bêta vulgaris*)

I-1-1 Analyses de l'EMBV et l'EMRC

I-1-1-2 Dosage des polyphénols et des flavonoïdes

Le dosage des polyphénols totaux effectué selon la méthode de Folin-Ciocalciu montre que *Ruta chalepensis* contient (43,12mg EAG/g extrait), contre (34,37mg

EAG/g extrait) pour *Bêta vulgaris* L'évaluation quantitative des flavonoïdes par la méthode de trichlorure d'aluminium révèle la présence de (17,34 mg EQ/g extrait) et (6,93mg EQ/g extrait) dans *Ruta chalepensis* et *Bêta vulgaris* respectivement. Tableau (5) et figure 13

Tableau 5 : teneur des polyphénols et des flavonoïdes dans les deux extraits.

plante	Teneur en polyphénols (mg EAG /g extrait)	Teneur en flavonoïdes (mg EQ/g extrait)
<i>Bêta vulgaris</i> «var. cicla»	34,37	6,93
<i>Ruta chalepensis</i>	43 ,12	17,34

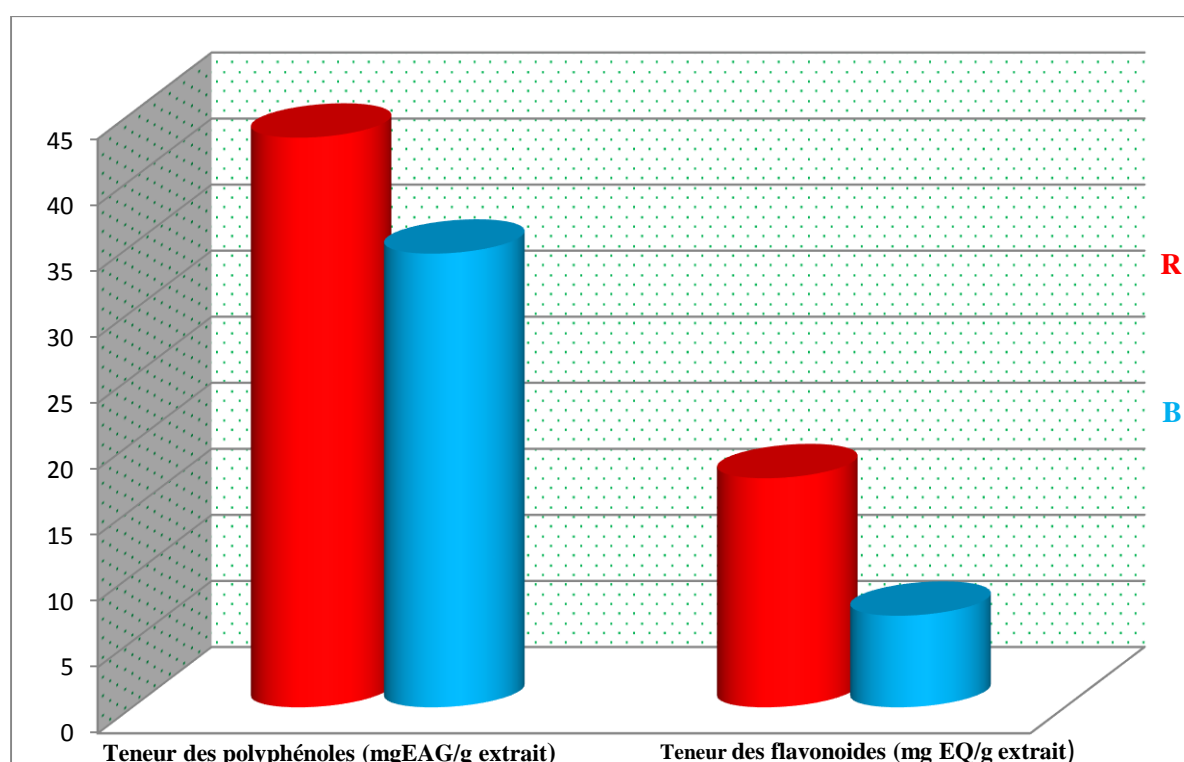


Figure 15 : Teneur des polyphénols et des flavonoïdes dans les deux extraits

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

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

L'évaluation de l'activité antioxydante des extraits méthanoliques de deux plantes *Ruta chalepensis* et *Bêta vulgaris* a été fait en comparaison avec l'antioxydant : l'acide ascorbique.

L'activité antiradicalaire *in vitro* est évaluée par la diminution du taux de DPPH° dosé après l'addition de l'extrait à différentes concentrations.

Le pouvoir antiradicalaire le plus élevé (42.2%) est observé pour *Ruta chalepensis* contre (30.2%) pour *Bêta vulgaris*, pouvoir inférieur à celui qu'exerce l'acide ascorbique (82.2%). Ce test nous a permis de déterminer la concentration inhibitrice piégeant 50% du radical DPPH°(IC50) qui était de (2.269 mg/ml) pour l'EMRC et (3.379 mg/ml) pour l'EMBV contre (0,670 mg/ml) pour l'acide ascorbique.

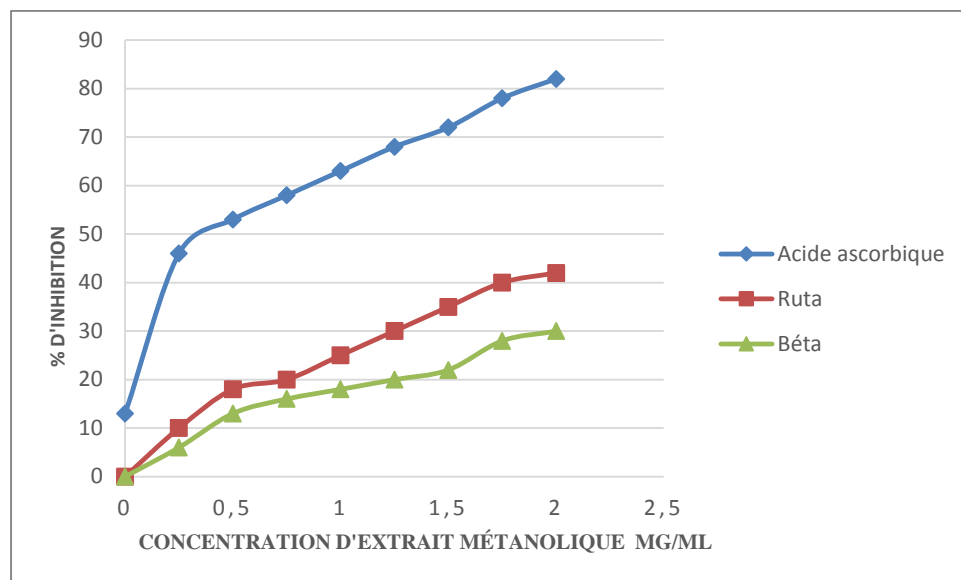


Figure 16 : Effet antiradicalaire de l'EMBV et l'EMRC sur le radical DPPH°.

. II-2 Etude phytochimique

II-2-1 Tests phytochimiques

Les résultats expérimentaux des tests phytochimiques réalisés sur le matériel végétal broyé de *Ruta chalepensis* et de *Bêta vulgaris*, sont mentionnés dans le tableau(6)

Tableau 6 : screening phytochimique des deux 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*.

III-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 l'EMBV et le glibenclamide.

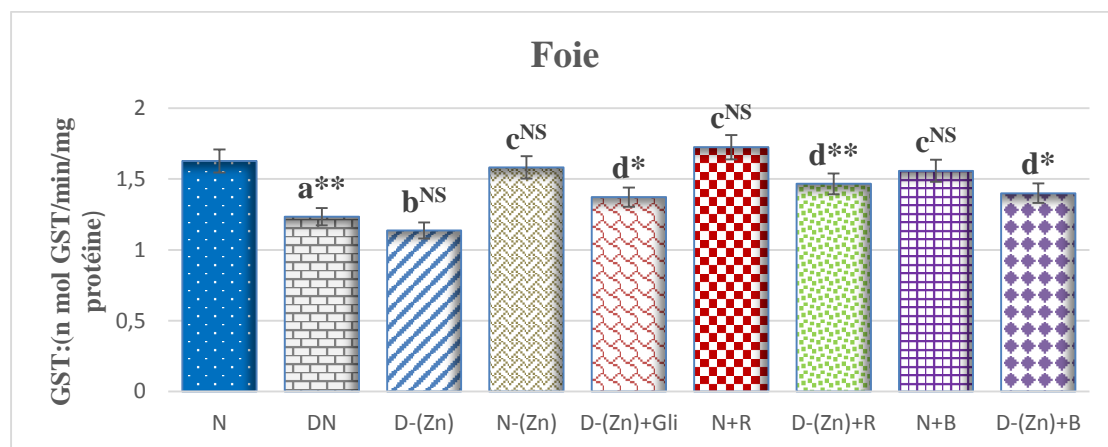
III-1 Dosages des paramètres tissulaires

III-1-1 dosage de Glutathion S-Transférases

Le dosage GST a montré qu'il a subi une diminution non significative au niveau du rein, significative au niveau du cœur, hautement significative au niveau du foie chez les rats diabétique par rapport aux rats 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) et par l'EMBV (500mg/kg) semble avoir des effets déférentes sur le taux du GST dont on a noté :

- Une augmentation très hautement significative au niveau du rein, hautement significatif au niveau du foie et significative au niveau du cœur pour l'EMRC.
- Une augmentation significative au niveau du foie, très hautement significative au niveau du rein et non significative au niveau du cœur pour l'EMBV
- Une augmentation significative au niveau du foie et du cœur, et hautement significative au niveau du rein pour le glibenclamide. Les résultats sont rassemblés dans la figure(17).



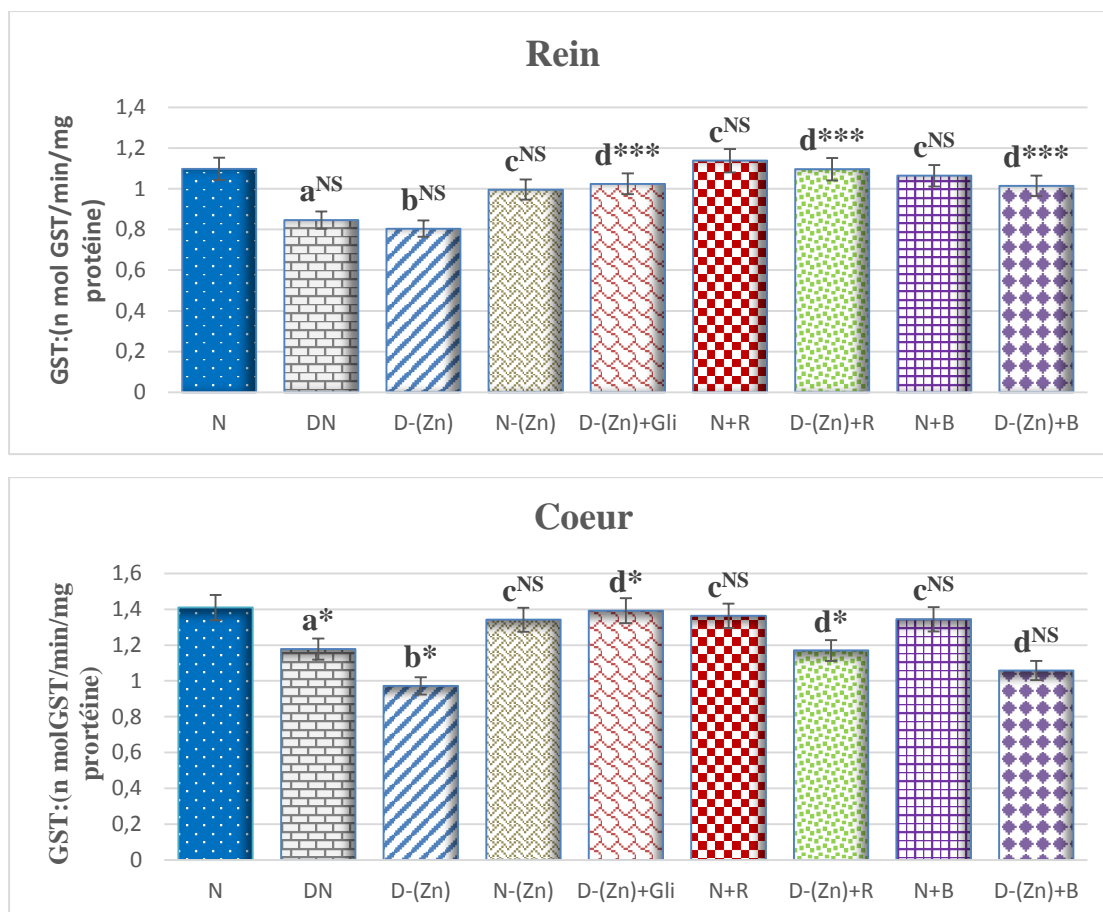


Figure 17 : le taux de GST tissulaire au niveau du foie, des reins et du cœur.
 Chaque valeur représente la moyenne \pm S.E.M (n=5) : * 0.05 > p > 0.01, ** 0.01 > p > 0.001, (***) p < 0.001

III-1-2 dosage glutathion peroxydases (GPx)

Le dosage de GPx a montré qu'il a subi une diminution très hautement significative au niveau du foie, du cœur et du rein chez les rats diabétiques par rapport aux rats normaux. On a noté aussi une diminution très hautement significative au niveau du foie et rein, et significative au niveau du cœur chez les rats diabétiques qui sont sous un régime alimentaire pauvre en zinc par rapport à ceux qui sont sous un régime normal.

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 très hautement significatif sur le taux du GPx.

Le traitement des rats normaux par l'EMRC et l'EMBV n'a aucun effet significatif sur le taux de GPx. Les résultats sont rassemblés dans la figure(18).

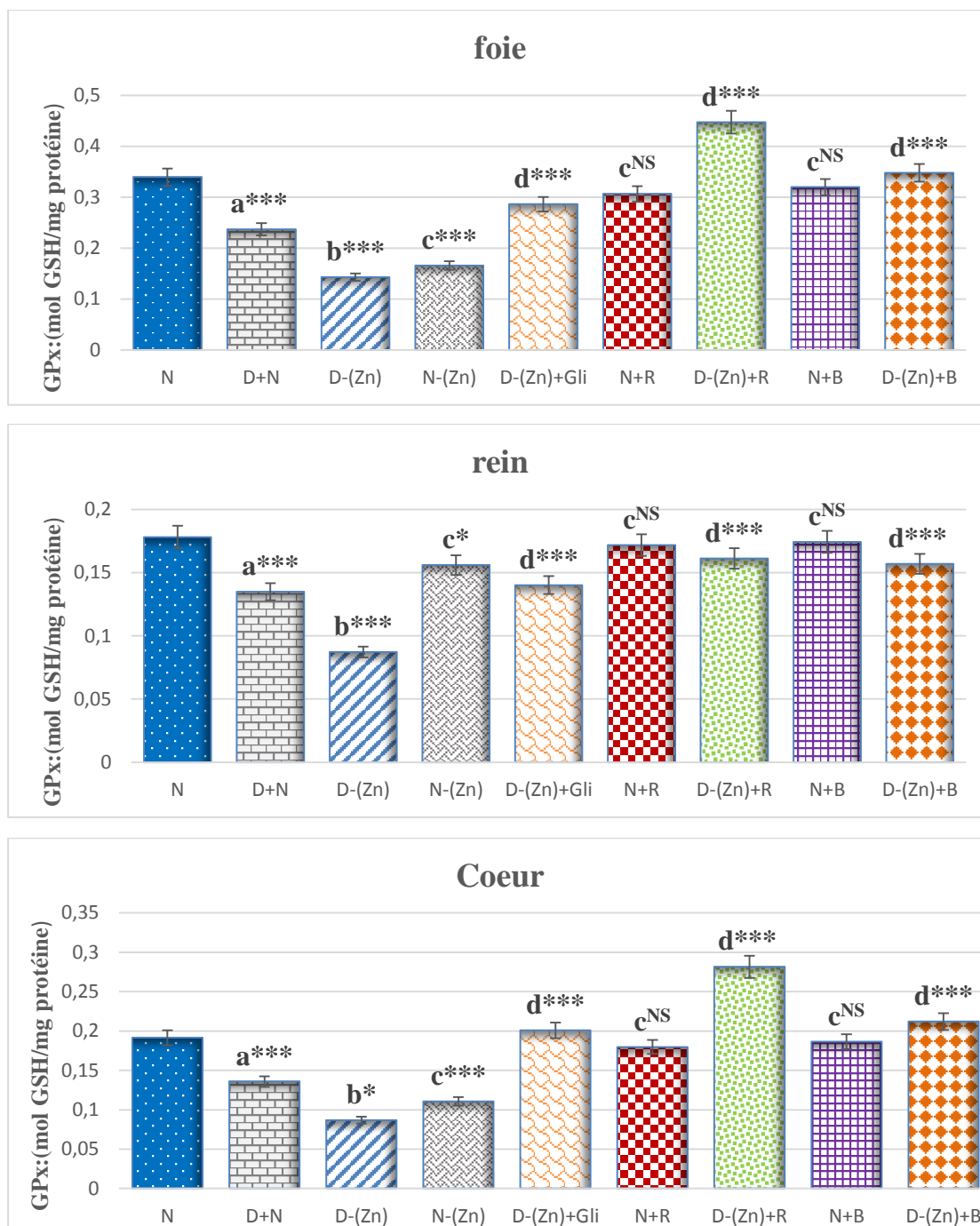


Figure 18 : le taux de GPx au niveau du foie, des reins et du cœur.

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

III-1-3 Dosage de MDA

Le dosage de MDA a montré qu'il a subi une augmentation significative au niveau du foie et hautement significative au niveau du cœur et très hautement significative au niveau du rein chez les rats diabétiques par rapport au rats normaux. On a noté aussi une augmentation non significative au niveau du foie du rein et du cœur chez les rats

diabétiques qui sont sous un régime alimentaire pauvre en zinc par rapport à ceux qui sont sous un régime normal.

Le traitement avec les deux extrais méthanoliques et avec le Glibenclamide ont un effet très hautement significatif sur le taux de l'MDA on a noté une diminution très hautement significative au niveau du foie du cœur et du rein pour les rats traités par l'EMRC et l'EMBV ; alors que pour le Glibenclamide, la diminution est très hautement significative au niveau des trois organes.

D'après ces données, on constate que L'EMRC était plus efficace que le Glibenclamide et l'EMBV au niveau du trois organes. Les résultats sont rassemblés dans la figure(19).

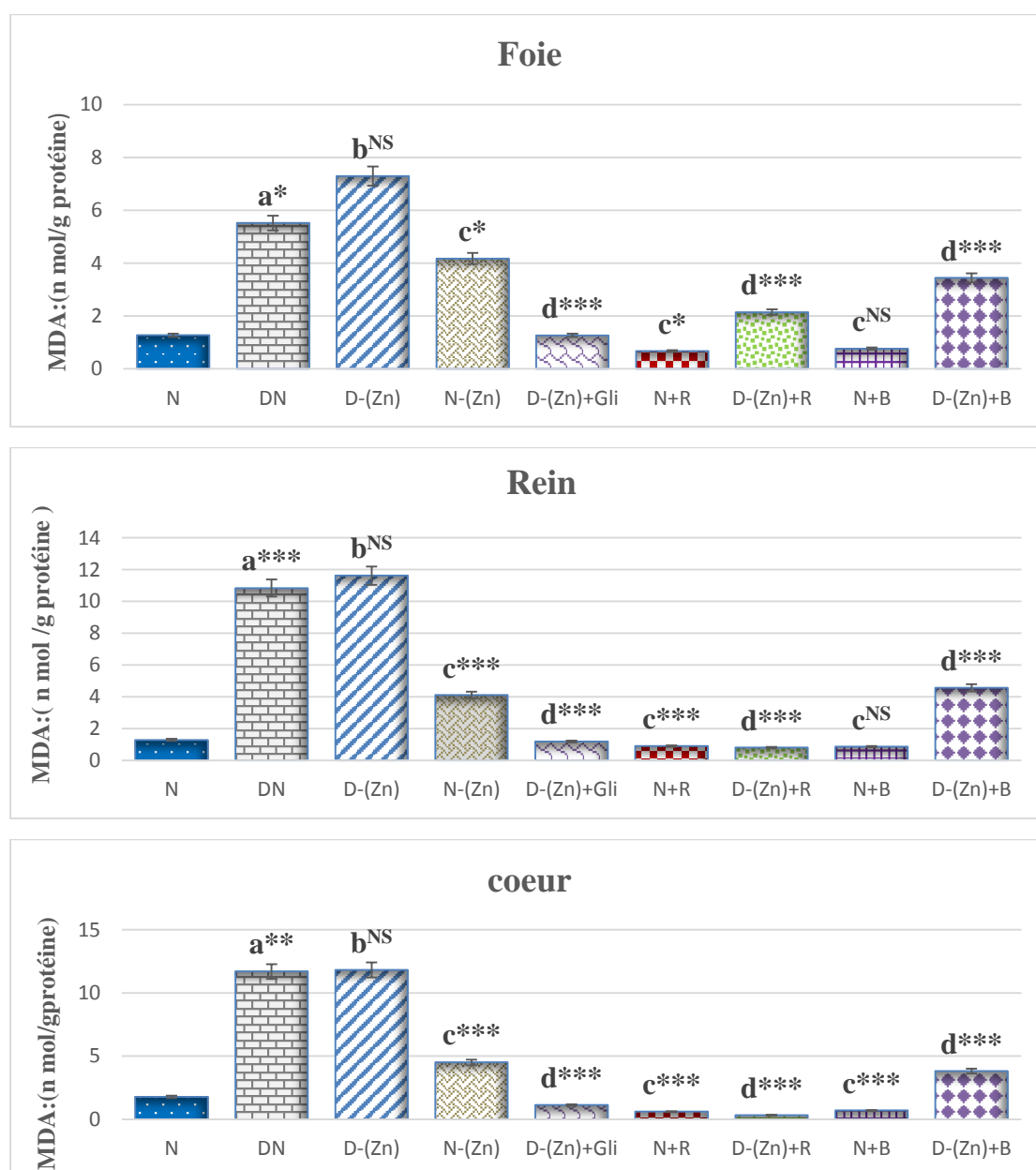


Figure 19 : le taux de l'MDA tissulaire au niveau du foie, des reins et du cœur.

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

Discussion

Le diabète sucré est un désordre/syndrome métabolique chronique résultant d'une variété d'interactions entre des facteurs héréditaires et environnementaux. Il est caractérisé par une perturbation de la sécrétion de l'insuline ou de l'action des récepteurs ou des postrécepteurs de l'insuline ce qui affecte, par conséquent, le métabolisme des carbohydrates, des protéines et des lipides. En plus, il engendre des lésions au niveau du foie, des reins et des cellules β pancréatiques (**Baynes J. W., 1991 ; Singh N et al., 2005**). Il existe une évidence croissante que les complications reliées au diabète sont associées au stress oxydant, et que la production des radicaux libres augmente pendant le diabète (**Baynes J. W., 1991 ; Armstrong D et al., 1991**). La streptozotocine est un dérivé nitrosurique isolé de *Streptomyces griseus* (**Szkudelski, 2001**) et qui représente l'une des plusieurs substances utilisées pour induire un diabète insulino-dépendant ou non insulino-dépendant chez les rats (**Szkudelski, 2001**). Ces rats peuvent servir comme un modèle de choix du diabète sucré humain (**Sarkhail et al., 2007**). Dans notre étude on a constaté que l'injection de la STZ à une dose de 50 mg/kg peut induire chez des rats le développement d'un diabète (**Lenzen, 2008**). La STZ engendre une nécrose des cellules β 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**), à une altération de la membrane plasmique des cellules β ainsi d'une fragmentation de l'ADN.

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 modèle animal diabétique expérimental a montré un niveau tellement élevé de stress oxydant dû à l'état chronique et persistant de l'hyperglycémie. Ce dernière, symptôme caractéristique du diabète, non seulement fait augmenter la production des espèces

réactives de l'oxygène mais aussi affecte les réactions antioxydantes catalysées par les enzymes scavengers des ROS (Uchimura K *et al.*, 1999).

Certains métabolites secondaires des plantes sont reportés d'avoir un effet bénéfique en diminuant le taux du glucose plasmatique. Des études ont montré que le traitement par les, antioxydants prévient et diminuent les risques des complications du diabète. Dans ce contexte, un intérêt récent a été envisagé envers l'usage des matières extraites des plantes comme des outils pour le ménagement du diabète et ses complications.

Il existe plusieurs plantes utilisées dans le traitement traditionnel du diabète, mais seulement quelques peu d'entre eux ont eu une évaluation scientifique ou médicale.

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 *Bêta vulgaris*.

I-Modèle végétal

Le rendement en extrait méthanolique est variable selon les espèces des deux plantes. Cependant, le rendement le plus important est enregistré dans *Ruta chalepensis* (2.152%) contre (1.54%) pour *Bêta vulgaris*.

Selon une étude menée par (Mansour *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 supérieur à celui obtenu dans notre étude. Cela est peut être dû à la différence dans les conditions climatiques (température, l'exposition solaire, la sécheresse et la saison de croissance).

L'analyse phytochimique est réalisée sur la base des tests de coloration caractéristiques en vue de mettre en évidence les grands groupes chimiques présents dans la plante. Notre étude nous a permis en premier lieu d'identifier les principaux groupes chimiques présents dans *Bêta vulgaris* et *Ruta chalepensis*.

- 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*.

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

Le modèle de balayage le radical DPPH instable est une méthode largement utilisée pour évaluer les activités anti-oxydantes dans relativement peu de temps par rapport à d'autres méthodes. DPPH est un radical libre instable qui accepte un électron ou un radical hydrogène pour devenir une diamagnétique stable molécule.

L'évaluation de l'effet de deux plantes contre le stress oxydant est un objectif principal dans notre étude, raison pour laquelle il était indispensable de l'étudier in vitro avant de passer à l'étude in vivo. Pour cela on a réalisé le test de DPPH qui montre une IC₅₀ de (2.26 mg/ml) pour le *Bêta vulgaris* (0,67mg/ml) Cette valeur est inférieure à l'étude de (**Pyo et al. en 2004**) et de 1,5mg/ml pour le *Ruta chalepensis*, (3.379 mg/ml) cette valeur est inférieure à l'étude menée par (**Daycem et al. 2013**) sur l'activité anti radicalaire DPPH des même espèces.

II- Modèle animal

Comme il a été décrit auparavant, la Streptozotocine induit un diabète chez l'animal non prédisposée. Les mécanismes impliqués dans l'agression des cellules β sont toujours sujets à controverse, certains auteurs plaident en faveur d'une réaction auto-immune à médiation cellulaire, d'autres en faveur d'une toxicité directe provoquant l'insulite. L'un des mécanismes proposés, suggère l'action de Streptozotocine au niveau de l'ADN, cette dernière traverse la membrane des cellules β via le transporteur GLUT 2 et cause l'alkylation de L'ADN. Par la suite, la Streptozotocine induit l'activation de la polymérase (ADP-ribose) et la libération de l'oxyde nitrique. Le résultat de cette action est la destruction des cellules β par nécrose cellulaire (**Mythili et al., 2004**).

Deux mécanismes fondamentaux qui causeraient une hyperglycémie lors d'un diabète, d'une part par un mécanisme de surproduction (excès de la néoglucogenèse et la glycogénolyse), d'autre part par la diminution de l'utilisation du glucose par les tissus périphériques (**Shirwaikar et al., 2004**). Il est hautement soutenu que la réduction de l'hyperglycémie diminue le risque du développement des complications liées au diabète (**Zhang et al., 2000**).

La STZ est toxique pour les cellules β pancréatique, 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**). La production accrue des ERO induit des dommages oxydatifs tissulaires qui peuvent jouer un rôle important dans de nombreux troubles cliniques y compris le diabète (**Feillet et al., 1999**). Le stress oxydant induit une forte production des ERO qui sont très toxiques pour les cellules, particulièrement pour les membranes cellulaires. Toutefois, des antioxydants endogènes enzymatiques tels que GPx et GST sont responsables de la détoxification de l'organisme de ces radicaux libres délétères (**Cho et al., 2002**).

L'hyperglycémie est la manifestation clinique clé du diabète sucré. L'augmentation du niveau de glucose peut induire un stress oxydatif par l'intermédiaire de la formation des ERO (**Prakasam et al., 2005**). Il existe de nombreuses voies par lesquelles l'hyperglycémie peut augmenter la production des ERO, tels que l'autoxydation de glucose, la voie des polyols, la glycation des protéines et la formation des produits de glycation avancés (**Armstrong et al., 1996**). De plus, l'élévation de la concentration de glucose peut déprimer le mécanisme de défense antioxydant endogène tel que le GST (**Yoshida et Kondo, 1998**). Le déséquilibre entre la production des ERO et le système de défense antioxydant peut augmenter le stress oxydant et conduire à des dommages des macromolécules telles que l'ADN, les protéines et les lipides (**Prakasam et al., 2005**).

Un but principal de notre étude c'est d'évaluer l'effet de l'EMRC et de l'EMBV sur la peroxydation lipidique et le taux du GST et GPx 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.

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 β 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 concentration en MDA chez les rats diabétiques qui sont sous un régime alimentaire pauvre en zinc par rapport à ceux alimentés par un régime normal, ce résultat est en 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 antioxydante (**Pyo et al., 2004 ;Daycem et al., 2013**).

L'organisme se protège en permanence contre la formation et l'agression de ces oxydants grâce à divers mécanismes de défense tant enzymatiques que non enzymatiques (**Halliwell, 1994**). Parmi ces antioxydants enzymatiques, la glutathion peroxydase (GPx) et la glutathion-S-transférase (GST).

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.

Les glutathion peroxydases constituent sans doute l'un des plus importants systèmes enzymatiques de protection car elles sont capables non seulement de détoxifier le peroxyde d'hydrogène, mais aussi les hydroperoxydes résultants de l'oxydation du cholestérol ou des acides gras en couplant la réduction de l'hydroperoxyde avec l'oxydation d'un substrat réducteur comme le glutathion.

Le glutathion oxydé sera régénéré grâce à l'intervention de la glutathion réductase qui agit par oxydation du NADPH, H⁺, formé principalement par la voie des pentoses (**Bonnefont-Rousselot et al., 2003 ; Thérond et Denis, 2005**).

Dans notre résultat le dosage du glutathion peroxydases a montré qu'il y a une diminution très hautement significative au niveau du foie du cœur et du rein chez les rats diabétiques par rapport aux rats normaux.

On a noté aussi que la carence en zinc dans l'alimentation des rats diabétiques a baissé le taux du glutathion peroxydases au niveau du rein et du foie et du cœur par rapport aux rats diabétiques normaux.

Le traitement des rats diabétiques qui sont sous un régime alimentaire pauvre en zinc par le glibenclamide, par l'EMRC, par l'EMBV semble avoir un effet très hautement significatif sur le taux du glutathion peroxydases dont on a noté une augmentation remarquable au niveau du foie, du rein et du cœur.

Les glutathion S-transférases (GSTs) représentent une famille d'enzymes qui jouent un rôle important dans la détoxification et la protection contre des métabolites nocifs générés après la dégradation des macromolécules suite à leur exposition aux RL (**Hayes and Pulford, 1995**).

. La fonction des GSTs la plus connue est leur activité de catalyser des réactions de conjugaison entre, le glutathion et des substances nocives pour diminuer leurs réactivités avec les macromolécules intracellulaires.

Les GST complètent l'action des glutathion peroxydases (GPx) dans la seconde ligne de défense enzymatique antioxydante, les GSTs préviennent les dommages

cytotoxiques et génétoxiqes causés par les composés électrophiles générés comme produits de dégradation des macromolécules suite à leur exposition au stress oxydant (**Hayes et Pulford, 1995 ; Zakharyan et Aposhian, 1999; Aposhian et Aposhian, 2006**).

D'après nos résultats on a constaté une diminution hautement significative de l'activité de GST hépatique, cardiaque et rénale chez les rats diabétiques par rapport aux rats normaux et ceci est expliqué par l'augmentation accrue des radicaux libres au cours du diabète conduisant à une consommation accélérée de GST.

On a constaté aussi que la carence en zinc dans l'alimentation des rats diabétiques a provoqué une diminution du taux de GST dans les trois organes ceci par ce que les cellules va compenser ce déséquilibre en utilisant la GST en quantité plus élevée en absence du zinc (**Yousef et al., 2002**).

D'autre part, les résultats ont montré que le traitement par l'EMRC, l'EMBV et Glibenclamide ont maintenu le glutathion-S-transférase à son niveau cellulaire normal.

Conclusion et Perspectives

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 très limité.

L'ensemble de nos travaux a permis de souligner les effets bénéfiques de l'administration de l'extrait méthanolique de *Ruta chalapensis* et de *Bêta vulgaris* dans la prévention et la limitation des effets toxiques des radicaux libres au cours du diabète. Les résultats obtenus dans la présente étude montrent clairement que la streptozotocine induit chez l'animal un diabète caractérisé par une élévation significative des marqueurs du stress oxydant et une diminution du système de défense antioxydant.

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, avec 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 en flavonoïdes plus que *Bêta vulgaris*.

Dans la deuxième partie de ce travail, nous avons évalué l'activité antioxydante de l'extrait méthanolique de *Ruta chalapensis* et *Bêta vulgaris*, nos résultats ont montré que l'extrait de deux plantes provoque une nette amélioration du statut antioxydant hépatique, rénal et cardiaque en effet, diminution de la concentration du MDA, et accroissement du taux du GST et Px dans les tissus hépatique, cardiaque et rénal.

En effet, il ressort du présent travail que *Ruta chalapensis* et *Bêta vulgaris* sont des produits très intéressants et riches en possibilités thérapeutiques. Nos résultats sont pour nous remarquables car ils ouvrent dans le futur des perspectives expérimentales qui devraient nous permettre d'identifier clairement les molécules impliquées dans l'effet antioxydant et antidiabétique de *Ruta chalapensis* et *Bêta vulgaris* et d'avancer vers une meilleure connaissance du (des) mécanisme(s) moléculaire(s) intervenant dans les effets pharmacologiques observés.

Liste des références bibliographiques

❖ **AFNOR, 1986.** Recueil des Normes Français « huiles essentielles », AFNOR .Paris.P57. **AIBOUD. K.**, étude de l'efficacité de quelques huiles essentielles a l'égrad de buche de niébé *callosobuchus moculatus* (coleoptera : buchidea) , impact des traitement sur la germination des graines de vigna unguiculata (L) walp, maloire en vue l'obtention de doplome de magister en biologie et écologie des population des communautés , option : interaction « plantes-environnement », P 19,2012.

Andersen Ø.M et Markham K.R. (2006). Flavonoids: Chemistry, Biochemistry and and phenolic Compounds of Swiss chard (Beta vulgaris sub species cycla)

❖ **André Grimaldi et al, (2001).** Guide pratique du diabète, *édition Masson. Paris*, 1 - 415.

❖ **Antihyperlipidemic and Antioxidant Effect of *Phyllanthus rheedii* on Applications;** Ed: CRC PRESS: TAYLOR & FRANCIS; p: 1-247.

❖ **Armstrong AM, Young IS (1996).** The effect of dietary treatment on lipid peroxidation and antioxidant status in newly diagnosed noninsulin dependant diabetes. *Free Radic Biol Med*, 21: 719 - 735.

Associated biochemical parameter in STZ induced diabetic rats by detary autoimmune diabetes. *J Clin Invest*, 109 : 79 - 87.

❖ **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.

❖ **Battacharya SK, Satyan KS, Ghosal S (1997).** Antioxidant activity of glycowithanolides from *Withania somnifera*. *Indian Journal of Experimental Biology*, 35: 236 - 239.

Between insulin release and Zn65efflux from perfused islet. *Endocr*.117,p:

- ❖ **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.

- ❖ **Bonnefont-Rousselot D, Bastard JP, Jaudon MC, Delattre J (2000).**
Consequences of the diabetic status on the oxidant/antioxidant balance. *Diabetes & Metabolism (Paris)*, 26: 163-176. Bonnefont-Rousselot, D., Beaudoux, J.L., Thérond, P., Peynet, J., Legrand, A., Delattre, J. (2004). Diabète sucré, stress oxydant et produits de glycation avancée. *Annales Pharmaceutiques Françaises* 62: 147-157.

- ❖ **Bradford, M.** (1976). A rapid and sensitive method for the quantities of microgram quantities of protein utilizing the principle of proteinbinding, *Anal. Biochem.* 72, 248–254.

- ❖ **Brownlee M (2005).** The pathobiology of diabetic complications. A unifying mechanism, *Diabetes*, 54: 1615 - 1625.

- ❖ **Bruneton J., 1999.** Pharmacognosie-Phytochimie-Plantes médicinales. Technique et documentation. Lavoisier 3ème édition.

- ❖ **Burk RF (2002).** Selenium, an antioxidant nutrient. *Nutr Clin Care*, 5: 47-49.

- ❖ **Cantin PA (1999).** Oxidant and antioxidants in lung injury. In: *Lam and Other Diseases Characterized by Smooth Muscle Proliferation*, Moss J. New York:

- ❖ **Dekker,** 519 - 531. cationizedantioxidants. *J. Agric. Food. Chem.* 49, p: 5178.5185
Cells in streptozotocindiabetic Rats: a morphological and biochemical study. *J. Ethnopharmacol*, 73, p: 251.259. Cells in streptozotocindiabetic Rats: a morphological and biochemical study. *J.*

Références bibliographiques

- ❖ **Chandra A., Mahdi A.A., ahmed S., sigh R.K. (2007).** Indian herbs result in hypoglycemic responses in STZ induced diabetic rats. *Nutrition research* 27; p: 161-168.

- ❖ **Chausmer A.B. (1998).** Zinc, insulin and diabète. *Am. Coll. Nutr* .17, p: 109-
Chem. 85; p: 19–26.

- ❖ **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 74 streptozotocin-induced diabetic rats by supplementation of dandelion water extract. *Clinica Chimica Acta*, **317** : 109 - 117

- ❖ **Combs T .C., Grant P.T et Frank R.H. (1971)** .Differences in the binding 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.
copper.Prasad, A.S and Oberleas, D. (Ed). Academic Press. New York. 1; p:

- ❖ **COUSSIO J.D. (1974).** Plantas reguladoras de la fecundidad segun la medicina folklórica; *Revista de la Sociedad Cientifica* 14, p: 37.

- ❖ **Dagogo-Jack S, Santiago JV (1997).** Physiopathology of type 2 diabetes and modes of action of therapeutic interventions. *Arch intern med*, **157**:1802 - 1817.
Damaged pancreatic beta cells activates autoreactive T cells in virus-mediated

- ❖ **Daycem K., Rabiaa M.S., Sameh A., Dhafer L., Mokhtar H et Bouajila J. (2013).** De jardins .*Larousse*, Ed: PROTEA, p: 7-50.

- ❖ **Delattre J, Beaudeau JL, Bonnefont-Rousselot (2005).** Radicaux libres et stress oxydant : aspects biologiques et pathologiques. *Lavoisier édition TEC & DOC éditions médicales internationales Paris*, 1 - 405.

Références bibliographiques

- ❖ Diabète Atlas résumé, Seconde édition 2003, IDF. Diabetic Vascular Complications. *Physiol. Res.* **53** : 131 - 142. diagnostic de diabète insulino-dépendant. MEMOIRE LICENCE biochimie,

- ❖ **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.

- ❖ **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. *ELSEVIER SCIENTIFIC*,p: 305-3012.

- ❖ **Engelbart K et Kief H. (1970).** Ulber das funktionnelleverhalten von zinec *Ethnopharmacol*, 73, p : 251.259. extracts.*Food Chem.* 85, p : 19.26.

- ❖ **Favier A (2003).** Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité Chimique*, 108 - 115.

- ❖ **Feillet CC, Rock E, Coudray C, Grzelkowska K, Azais BV, Dardevet D (1999).** Lipid peroxidation and antioxidant status in experimental diabetes. *Clinica Chimica Acta*, 284: 31 - 43.

- ❖ **Féry F, Paquot N (2003).** Etiopathogénie et physiopathologie du diabète de type 2. *La revue de médecine interne*, **24** : 730 - 737.

- Flohe, L., Gunzler, W.A. (1984). Analysis of glutathione peroxidase, *Methods Enzymol.* 105, 114–121.

- Fondamentaux aux applications thérapeutiques, Genève, Slatkine ; p : 481-493.

- future Ed : *WORLD SCIENTIFIC*,p: 401 . 416

- ❖ **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.

Références bibliographiques

- ❖ **Georgé S., Brat P., Alter P et Amiot J.M. (2005)** .Rapid determination of polyphenols and Vitamin C in plant-derived products. *J. Agr. Food Chem.* 53; p: 1370-1373.

- ❖ **Gillery P, Monboise JC, Maquart FX, Borel JP (1988)**. Glycation of proteins as a source of superoxide. In **Delattre J, Beaudoux JL, Bonnefont-Rousselot (2005)**. Radicaux libres et stress oxydant : aspects biologiques et pathologiques. *Lavoisier édition TEC & DOC éditions médicales internationales Paris*, 353 - 376.

- ❖ **Goudable J, Favier A (1997)**. Radicaux libres oxygénés et antioxydants. *Nutr Clin Mdtabol*, **11**:115 - 120.

- ❖ **Gribe A et Merzougui I. (2009)**. Mémoire de master biochimie : etude de L'effet antidiabetique de l'extrait aqueux de la graine de lipinusalbus. Université BadjiMokhtar, Annaba p : 2-5.

- ❖ Grassi D, Lippi C, Necozione S, Desideri G, Ferri C. Short-term administration of dark chocolate is followed by a significant increase in insulin sensitivity and a decrease in blood pressure in healthy persons. *Am. J*

- ❖ **Grimaldi A.** Livre « Diabète de type 2 »EMC Référence, 2004.

- ❖ **Grodsky G.M et Schmid Y.F. (1985)**. Kinetics and quantitative relationship between insulin release and Zn65efflux from perfused islet. *Endocr.*117, p: 704-711.

- ❖ **Habig, W.H., Pabst, M.J., Jacobi, W.B. (1974)**. The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J.Biol. Chem.* 249, 7130-7139.

- ❖ **Halliwell B (1989)**. Free radicals, reactive oxygen species and human disease: a critical evaluation with special reference to atherosclerosis. *Br J Exp Pathol*, **70** : 737 - 757.

- ❖ **Halliwell B.** Free radicals and antioxidants: A personal view. *Nutr. Rev.* 1994; 52: 253-265.

Références bibliographiques

- ❖ **Hartmann T., 2007.** From waste products to ecochemicals: Fifty years research of plant secondary metabolism. *Phytochemistry*; 68: 2831-2846.

- ❖ **Hayes, J.D., Pulford, D.J. (1995).** The glutathione S-transferase supergene family: regulation of GST and the contribution of the isoenzymes to cancer chemoprotection and drug resistance. *Biochemistry and Molecular Biology* **30**: 445-600.

- ❖ **Hempel A (1997).** High glucose concentrations increase endothelial cell permeability via activation of protein kinase C alpha. *Circ. Res*, 81: 363 - 371.

- ❖ **HNATYSZYN O., ARENAS P., MORENO A.R., RONDINA, R et Horwitz MS, Ilic A, Fine C, Rodriguez E, Sarvetnick N (2002).** Presented antigen from

- ❖ **Horwitz MS, Ilic A, Fine C, Rodriguez E, Sarvetnick N (2002).** Presented antigen from damaged pancreatic beta cells activates autoreactive T cells in virus-mediated autoimmune diabetes. *J Clin Invest*, **109** : 79 - 87. Wichtl M., Anton R. *Plantes thérapeutiques – Tradition, pratique officinale, science et thérapeutique*, 2ème édition, Ed. TEC & DOC, 2003.

- ❖ **Hunt JV, Dean RT, Wolff SP (1988).** Hydroxyl radical production and autoxidative glycosylation Glucose autoxidation as the cause of protein damage in the xperimental glycation model of diabetes mellitus and ageing. *Biochem. J*, 256: 2052 - 212. Insulin regulates apolipoprotein B turnover and phosphorylation in rat hepatocytes. ionizationmass spectrometry. *J. Agric. Food Chem.* 52, p: 2975.
J. Clin. Invest. 1990, 86(5):1746-51.

- ❖ **Jackson TK, Salhanick AI, Elovson J, Deichman ML, Amatruda JM.**
Insulin regulates apolipoprotein B turnover and phosphorylation in rat hepatocytes.
J. Clin. Invest., 1990, 86(5) :1746-51.

- ❖ **Jakuš V, Rietbrock N (2004).** Advanced Glycation End-Products and the Progress of Diabetic Vascular Complications. *Physiol. Res.* 53: 131 - 142.

Références bibliographiques

- ❖ **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

- ❖ **KarumiY., Onyeyili P.A Ogugbuaja V.O (2004)** Identification of active principles of *M. balsamina* (Balsam Apple) leaf extract. *J Med Sci*; 4 (3):179-182

- ❖ **KOECHLIN-RAMONATXO C., 2006**. Oxygène, stress oxydant et suppléments anti-oxydants ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. *Nutrition clinique et métabolisme*. 20: 165-177.-

- ❖ **Koya D, Jirousek MR, Lin YW, Ishii H, Kuboki K, King GL (1997)**. Characterization of protein kinase C beta isoform activation on the gene expression of transforming growth factor-beta, extracellular matrix components, and prostanooids in the glomeruli of diabetic rats, *J. Clin. Invest.*, 100: 115 - 126.

- ❖ **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 ionization mass spectrometry. *J. Agric. Food Chem.* 52, p: 2975. 2981.

- ❖ **LAIB.T.,** étude des activités antioxydant et antifongique de l'huile essentielle des fleurs sèches de *lavandula officinalis* sur les moisissures des légumes secs, Mémoire présenté pour l'obtention du diplôme de magister en Sciences Alimentaires Option : Technologie alimentaire, Université Mentouri Constantine, 2011, P21-30.

Références bibliographiques

- ❖ **Lamba S.S., Buch K.Y., Lewis H., Lamba H.J., 2000.** Phytochemicals as potential hypoglycemic agents. *Studies in Natural Products Chemistry*; 21: 457-496.
Le diagnostic de diabète insulino-dépendant. mémoire licence biochimie leaves. *Food Chem.* 117, p: 342.348.

- ❖ **Li H.B., Cheng K.W., Wong C.C., Fan K.W., Chen F et Jiang Y. (2007).** Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fractions of selected microalgae. *Foodchem.* 102; p: 771-776.

- ❖ **Lindau-Sehpard B, Shaffer J (1993).** Expression of human catalase in acatalasemic murine SVB2 cells confers protection from oxidative damage. *Free Rad Biol Med*, **15** : 581 - 8. Maghreb. Ed : LIBRAIRIE MODERNE. ROUIBA, p : 243 - 244.

- ❖ **Mansour S. (1990).** Studies on *Ruta chalepensis*, an ancient medicinal herb still used in traditional medicine. *Journal of Ethnopharmacology* 28, Ed:ELSEVIER SCIENTIFIC,p: 305-3012.

- ❖ **Mansouri A., Embarek G., Kokkalou E et Kefalas P. (2005).** Phenolic profile and antioxidant activity of the Algerian ripe date palm fruit (*Phoenix dactylifera*); *Food Chemistry* 89; p: 411-420.

- ❖ **Marles R.J., Farnsworth N.R., 1995.** Antidiabetic plants and their active constituents. *Phytomedicine* 2: 13-189.

- ❖ **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.
medicina folklórica; Revista de la Sociedad Científica 14, p: 37.

- ❖ **MIOULANE P. (2004).** Encyclopédie Universelle des 15000 plantes et fleurs de jardins .*Larousse*, Ed : PROTEA, p : 7-50.

Références bibliographiques

- ❖ **Mooradien A.D et Morley J.E. (1987).** Micro nutrient status in diabetes mellitus. *Am. Clin .Nutr .45*, p: 877-895.
- ❖ **Mukherjee P.K., Maiti K., Mukherjee K., Houghton P.J., 2006.** Leads from Indian medicinal plants with hypoglycemic potentials. *J. of Ethnopharmacol.*, 106: 1-28. *Nutr.58*; p: 371-380. of zinc ion by insulin and pro-insulin . *Bioch.125*, p: 62.
- ❖ **Palsamy P et Subramanian S. (2008).** Resveratrol, a natural phytoalexin, Normalizes hyperglycemia in STZ-nicotinamide induced experimental diabetic rats. *Biomedicine*
- ❖ **Peter-Riesch B, Philippe J, Stalder H (2002).** Découverte d'un diabète sucré.
- ❖ **Powell SR (2000).** The antioxidant properties of zinc, *J. Nutr*, **130**: 1447S-54S.
- ❖ **Prakasam A, Sethupathy S, Pugalendi KV (2005).** Antiperoxidative and Antioxidant Effects of *Casearia Esculenta* Root Extract in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats .*yale journal of biology and medicine*, **78** : 15 - 23.* principles of *M balsamina*(Balsam Apple) beaf extract. *J Med Sci ;4 (3):179*.
- ❖ **Pyo, Y., Lee, T., Logendra, L et Rosen, R.T. (2004).** Antioxidant activity and phenolic Compounds of Swiss chard (*Beta vulgaris* subspecies *cycla*) extracts.*Food Chem.* 85; p: 19–26.
- ❖ **Rajnerayanama K., Reddy M., Charluvadi M.R., Krishna D.R., 2001.** Bioflavonoids: Classification, pharmacological, biochemical effect and therapeutic potential. *Indian Journal of Pharmacology*; 33: 2-16.
- ❖ **Ramasamy R, Yan SF, Schmidt AM (2006).** Glycation and RAGE: Common Links in the Pathogenesis of Microvascular and Macrovascular Complications of Diabetes. *Canadian Journal Of Diabetes*, **30 (4)** : 422 - 429.

Références bibliographiques

- ❖ **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.

- ❖ **Rodier M., 2001.** Définition et classification du diabète. Médecine Nucléaire vol.25 - n°2 : 91-93.

- ❖ **Sakurai T, Tsuchiya S (1988).** Superoxide production from nonenzymatically glycated protein. In **Delattre J, Beaudoux JL, Bonnefont-Rousselot (2005).** Radicaux libres et stress oxydant : aspects biologiques et pathologiques. *Lavoisier édition TEC & DOC éditions médicales internationales Paris*, 353 - 376.

- ❖ **SANCHEZ-MORENO C. (2002).** Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *International Journal of food Science and Technology* .8; p: 121-137.

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

- ❖ **SBAIA.M , BOUDALI.M.,** la phytothérapie entre confiance et méfiance, mémoire professionnel infirmier de la sante publique, institut de formation paramédicale CHETTIA,2009-2012,p 7-10,15. scavenging activity in foods and biological systems. *International Journal of Food*

- ❖ **SCHORDERET M et collaborateurs. (1988).** Pharmacologie des concepts fondamentaux aux applications thérapeutiques, Genève, Slatkine ; p: 481-493.

- ❖ **Schultz, A. (1984).** Uric acid. *Clin. Chem*; p: 1261-1266 and 418. *Science and Technology* .8; p: 121-137.

- ❖ **Shirwaikar A, Rajendran K, Dinesh Kumar C, Bodla R (2004).** Antidiabetic activity of aqueous leaf extract of *Annona squamosa* in streptozotocin-nicotinamide type 2 diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*, **91**: 171 - 175.

Références bibliographiques

- ❖ **Singh N, Kamath V et Rajini P.S. (2005).** AH, enuation of hyperglycemia and associated biochemical parameter in STZ induced diabetic rats by detary supplementation of potato peel powder. *Clinca chemical Acta.* 353 ; p : 165-175.

- ❖ **Sivajothi V, Dey A, Jayakar B, Raj Kapoor B (2008).** **Antihyperglycemic**

- ❖ **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.

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

- ❖ **Southon, S., Geo, J et Jhosen, T.T. (1984).** System diet for mice and rats. *Brit* still used in traditonal medicine. *Journal of Ethnopharmacology* 28, Ed: **Streptozotocin Induced Diabetic Rats.** Iranian Journal of Pharmaceutical Research,

- ❖ **Studer RK, Craven PA, Derubertis FR (1993).** Role for protein kinase C in the mediation of increased fibronectin accumulation by mesangial cells grown in high-glucose medium, *Diabetes*, 42: 118 - 126.
Supplementation of potato peel powder. *Clinca chemical Acta.* 353 ; p : 165-175.
- ❖ **TAKHTAJAN A. (2009).** Flowering Plants; Ed 2: *SPRINGER*, p: 33 - 41, 375.

- ❖ **Uchimura K., Nagasaka A., Hayachi R., Makino M., Nagata M., Kakisawa H. (1999).** Changes in superoxide dismutase activities and concentrations and myeloperxodase activities in leukocytes from patients with diabetes mellitus. *Diabetes, its Complicat*;13:264-70.
And insulin inder B-Zellen das ruten pancreas. *Virchouus .Arch.* 4, p: 249
UniversitéBadjiMokhtar, Annaba p: 2-5.
univrsité Badji Mokhtar, Annaba. P: 39.

- ❖ **WIART C. (2006).** Medicinal Plants of the Asia. Pacific: Drugs for the future Ed: *WORLD SCIENTIFIC*,p: 401 . 416

- ❖ **Xia P, Inoguchi T, Kern TS, Engerman RL, Oates PJ, King GL (1994).** Characterization of the mechanism for the chronic activation of diacylglycerol-protein kinase C pathway in diabetes and hypergalactosemia. *Diabetes*, 43: 1122 - 1129.

- ❖ **Yim SH, Kang SA, Hah YC, P. Chock B, Yim MB (1995).** Free Radicals Generated during the Glycation Reaction of Amino Acids by Methylglyoxal. *The Journal of Biological Chemistry*, 47: 28228 - 28233.

- ❖ **Yoshida K, Kondo I (1998).** Weakened cellular scavenging activity against oxidative stress in diabetes mellitus: regulation of glutathione synthesis and efflux. *Diabetologia*, 88: 201 - 211.

- ❖ **Yousef, M.I., El Hendy, H.A., El-Demerdash, F.M., Elagamy, E.I. (2002).** Dietary zinc deficiency induced-changes in the activity of enzymes and the levels of free radicals, lipids and protein electrophoretic behavior in growing rats. *Toxicology* **175**: 223-234.

- ❖ **Zhang F ,Ye Li G, Ding W, Zhu H, Chen G , Luo T , Guang , Liu Y Zhangz D, Zheng S, Yang j , Gu Y , Xie X, Luo M**
The rat model of type 2 diabetic mellitus and its glycometabolism characters. *Clin. Nutr.*, 2005, 81(3):611-4

- ❖ **Zhang XF, Tan BK (2000).** Antihyperglycaemic and anti-oxidant properties of *Andrographis paniculata* in normal and diabetic rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, **27**: 358 - 363.

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 var cicla* chez des rats mâles wistar recevant 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 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 de *Ruta chalepensis* et de *Bêta vulgaris* pendant 21 jours à une dose journalière de 500 mg/kg a entraîné une nette amélioration du statut antioxydant dans les tissus étudiés (foie, cœur et reins). En effet, la diminution de la concentration du malonyldialdéhyde (MDA) et l'accroissement du taux du glutathion peroxydase (GPx) et glutathion s transférase.

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

In diabetes, oxidative stress and lipid abnormalities are frequent, pronounced and represent important factors involved in the development of diabetic complications. Several isolated plant secondary metabolites showed antioxidant activity and ability to prevent the toxic effects of oxidative stress in diabetes. The objective of this study is the research of the antidiabetic effect of two local species *Ruta chalepensis* and *Beta vulgaris* var *cicla* in male Wistar rats receiving a diet low in zinc.

The results obtained in this study clearly show that the streptozotocin induced diabetes in animals characterized by an increase in biomarkers of oxidative stress and decreased antioxidant defenses.

However, deficiency of zinc in the diet of diabetic rats favored the complications of diabetes. Oral administration of the methanol extract of *Ruta chalepensis* and *Beta vulgaris* for 21 days at a daily dose of 500 mg / kg resulted in a significant improvement in antioxidant status in tissues studied (liver, heart and kidney). Indeed, the decrease in the concentration of malonyldialdehyde (MDA) and the increased rate of glutathione peroxidase (GPx) and glutathion s transferase.

In conclusion, the two methanol extracts (*Ruta chalepensis* and *Beta vulgaris*) are endowed with remarkable anti-diabetic and antioxidant activity. Therefore, it may be a natural resource for future studies on diabetes mellitus and its complications.

Keywords :

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

الملخص

يعتبر الاجهاد التأكسدي والاختلال في الليبيدات في مرض السكري امر معتاد واضح وتعتبر هذه الاضطرابات من العوامل الهامة التي تؤدي الى ظهور المضاعفات المرتبطة بداء السكري. اثبتت كثير من المركبات الثانوية المستخلصة من النباتات انها تملك تأثير مضاد للتأكسد وقدرة في تحسين اثار الاجهاد التأكسدي اثناء مرض السكري.

الهدف من هذه الدراسة هو اختبار الأثر المخفض والمضاد للأكسدة للمستخلص الميثانولي لنباتي السلق والفجل على جردان سليمة وأخرى حرض فيها داء السكري بواسطة ستربتوزوتوزين.

النتائج المتحصل عليها في هذه الدراسة أظهرت جليا ان الستربتوزوتوزين يحرض عند الحيوان مرض السكري ويتميز بارتفاع مؤشرات الاجهاد التأكسدي وانخفاض في نظام الدفاع المضادة للأكسدة.

أدى المستخلص الميثانولي أيضا الى تحسن كبير في الوضع المضاد للأكسدة في الانسجة المدروسة مثل الكبد والقلب والكلى. في الواقع انخفاض تركيز MAD وزيادة معدل TSG و xPG وبطريقة هامة جدا في الجردان المصابة بداء السكري تبين ان المستخلص الميثانولي للنباتين لديهم تأثير هام لرفع النشاط المضاد للأكسدة.

الكلمات المفتاحية: مرض السكري نوع 1 , النشاط المضاد للأكسدة , المستخلص الميثانولي, *Ruta chalepensis*, *Beta vulgaris*, النشاط المضاد لمرض السكري.

