



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي



Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة الشهيد حمه لخضر- الوادي

Université Echahid Hamma Lakhdar - El OUED

كلية علوم الطبيعة والحياة

Faculté des Sciences de la Nature et de Vie

قسم بيولوجيا خلوية وجزيئية

Département de Biologie Cellulaire et Moléculaire



MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

En vue de l'obtention du diplôme de Master Académique en

Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie appliquée

THEME

**Étude phytochimique et évaluation de l'effet
antidiabétique *in vivo* et *in vitro* de *Centaurium erythraea***

Présentés Par: Zellouma Asma et Beyat Meriem et Bouhelal Chaima

Devant le jury composé de :

President : Laiche Ammar Touhami	Pr.	Université d'El Oued
Encadreur : Tlili Mohammed Laid	MCA	Université d'El Oued.
Examineur : Touati Said	MCB	Université d'El Oued
Incubator Representor: Tei Ahmed	Pr.	Université d'El Oued
Economic Partner Representor: Kerkouri Ilhem	Dr.	Université d'El Oued

Année universitaire 2026/2027



REMERCIEMENTS

Nous tenons tout d'abord à exprimer notre gratitude envers Dieu tout-puissant, dont la force et la patience nous ont permis de mener à bien cette étude.

Nous souhaitons également remercier chaleureusement notre encadreur, le docteur **Tlili Mohammed Laid**, pour ses conseils précieux, son soutien constant et le temps qu'il a consacré à notre accompagnement.

Nos remerciements vont également aux membres du jury, qui ont manifesté un intérêt particulier pour notre travail en acceptant d'en examiner le contenu et de l'enrichir par leurs remarques et suggestions.

Nous tenons également à remercier sincèrement le **laborantin Khnoufa Omar** pour son aide et son soutien constants tout au long de nos recherches. Ses précieux conseils et son attention indéfectible ont été une source d'inspiration, et nous lui sommes profondément reconnaissants de tout le soutien qu'il nous a apporté.



Enfin, nous remercions toutes les personnes qui ont contribué, de près ou de loin, à la réalisation de ce travail, ainsi que tous les enseignants et informateurs qui ont participé à notre formation. Que chacun d'eux trouve ici l'expression de notre plus profonde gratitude.

﴿وَأَخِرْدَعَوَاهُمُ أَنْ الْحَمْدُ لِلَّهِ رَبِّ الْعَالَمِينَ﴾

À la lumière de mes jours, source de ma force, flamme de mon cœur et ce que je possède de plus précieux : à ma chère mère.

À mon modèle, mon soutien dans la vie et ma fierté éternelle, qui n'a jamais cessé de se sacrifier pour me voir réussir : à mon cher père.

À moi-même, à celle qui a résisté à la fatigue, aux nuits blanches et aux doutes sans jamais abandonner son rêve jusqu'à sa réalisation.

À ma seule et unique sœur, compagne de mon chemin et confidente de mon âme :
Kaouther.

À mes chers frères, mes piliers et compagnons de parcours : Abdelkader,
Abderrahmane et Koussai.

À ma famille paternelle et maternelle.

À mes fidèles amies qui ont partagé les rires et l'encouragement, et qui ont rendu ce parcours plus beau.

À mon encadrant, qui a été un précieux soutien, un appui constant et un guide tout au long de mon parcours académique.

À mes enseignants et à toute personne qui m'a transmis un savoir ou apporté son aide.
Et à toute personne qui a eu une influence positive sur moi, de près ou de loin, et qui a contribué, par un mot, un soutien ou un conseil, à la réussite de ce travail et de mon parcours.

Meriem





﴿وَأَخِرُّ عَوَاهِرَ أَنْ الْحَمْدُ لِلَّهِ الْعَالَمِينَ﴾

Après un parcours académique de plusieurs années, jalonné de difficultés, d'épreuves et de fatigue, me voici aujourd'hui au seuil de ma remise des diplômes, récoltant les fruits de mon labeur et soulevant mon chapeau avec une immense fierté.

Ô Dieu, louange à Toi avant la satisfaction, louange à Toi au moment de la satisfaction, et louange à Toi après la satisfaction, car Tu m'as guidée pour mener à bien ce travail et réaliser mon rêve... Je dédie ce succès

À mon cher père, **Bachir** (Mon honneur et ma fierté) :

À celui qui a paré mon nom des plus beaux titres, qui m'a soutenue sans limites et m'a donné sans rien attendre en retour. À celui qui m'a appris que la vie est un combat dont les armes sont la science et le savoir, à celui qui a enraciné en mon âme les plus nobles valeurs morales. Tu es mon premier soutien tout au long de mon parcours, mon pilier, ma force et mon refuge après Dieu.

À ma chère mère, **Fatma** (La lueur de ma vie) :

À celle sous les pieds de qui Dieu a placé le Paradis, dont le cœur m'a enveloppée avant ses mains, et qui a adouci mes épreuves par ses prières. Au cœur si tendre, à la bougie qui m'a éclairée dans les nuits les plus sombres. Tu es le secret de ma force, de ma réussite, et le flambeau qui illumine mon chemin.

À mes frères et sœurs : **Khadidja, Keltoum, Noureddine, Moadh, Mohammed et Hocine** (La prunelle de mes yeux)

À ma côte inébranlable et à la sécurité de mes jours, à ceux qui inspirent ma réussite et sur qui je me suis appuyée pour fortifier mes bras, devenant pour moi des sources intarissables où je me désaltère. Vous êtes le meilleur de mes jours et leur quintessence.

Remerciements et Clôture

À tous ceux qui ont été une aide et un soutien sur ce chemin... Je vous dédie cet accomplissement et le fruit de ce succès tant espéré.

Aujourd'hui, j'en cueille les premiers fruits, en priant Dieu Tout-Puissant de me faire profiter de ce qu'Il m'a enseigné, de m'apprendre ce que j'ignore, et de faire de ce savoir un argument en ma faveur et non contre moi.

﴿وَأَخِرَ دَعَوَاهُمْ أَنْ الْحَمْدُ لِلَّهِ رَبِّ الْعَالَمِينَ﴾

وآخر دعواهم أن الحمد لله رب العالمين... ها قد أصابت سهامنا هذه المرة ولم تحطى، ولفحت أعيننا من فرح الانتصار. لم تكن الرحلة قصيرة، ولا ينبغي لها أن تكون، ولم يكن الحلم قريباً، لكنني فعلتها ونلتها بفضل الله وتوفيقه.

أهدي نجاحي هذا أولاً إلى نفسي الطموحة، التي ابتدأت بحلم وسعت إليه حتى نالته بكل حب وفخر. ثم إلى من كُتِبَ في نهاية سطورنا... أننا نلنا ما صبرنا لأجله

...إلى أبي الغالي

إلى الذي زين اسمي بأجمل الألقاب، من دعمني بلا حدود وأعطاني بلا مقابل. من علمني أن الدنيا كفاح وسلاحه العلم والمعرفة، داعمي الأول، فخري واعتزازي وسندي وملذي بعد الله. لقد كنت طوق النجاة، وسلاحي الأول، وسندي الذي لا يميل

...إلى أمي الحبيبة ♥

إلى من جعل الله الجنة تحت أقدامها، واحتضني قلبها قبل يدها. الشمعة التي كانت لي في الليالي المظلمات، سر قوتي ونشأتي. إلى من علمتني الأخلاق قبل الحروف، وكانت بدعائها نوراً لطريقي وسكينة لقلبي. فوالله ما أنا عليه ما كان لولا دعاؤها؛ فهي سر توفيقِي وقوتي وبها فتحت لي الأبواب المغلقة، حفظها الله وعافاها وأكرمها

...إلى إخوتي وأخواتي

إلى من أكرمني وأعزني الله بهم، الذين قال فيهم: ﴿سَنَشُدُّ عَضُدَكَ بِأَخِيكَ﴾. من دعموني بكل حب في لحظات ضعفي، وكانوا لي درعاً وسنداً أزيح به المتاعب. أنتم ضلعي الثابت، وأمان أيامي، وملذي الدافئ

...إلى من غابوا عن دنيانا

إلى جدي رحمة الله عليه، إلى من كان يفتخر بي قبل أن أصل، وكان يؤمن بي قبل أن أنجح. نم قرير العين، فما قد أثمر غرسك، وأسأل الله العلي القدير أن يجعل قبرك روضة من رياض الجنة

...إلى أساتذتي الأفاضل

إلى معلمي الأفاضل الذين حملوا على عاتقهم رسالة الأنبياء، وغرسوا فينا القيم قبل المعارف. شكراً لعطائكم الذي أثار لنا دروب العلم

...إلى أصدقاء الدرب ورفاق السنين

إلى من قاسموني السهر والجهد، وتشاركنا معاً لحظات القلق وفرحة الإنجاز. شكراً لصحباتكم التي هونت التعب، ولأيديكم التي امتدت لي بالدعم دائماً. أهديكم هذا النجاح لأنكم كنتم السند والعائلة الثانية في هذا الطريق حتى وصلنا معاً إلى خط النهاية

وأخيراً، ما بين الصبر والعوض، أشكر نفسي على الصبر؛ فقد كانت أهلاً للمصاعب، وكان فضل الله عليها عظيماً. فالحمد لله على ما وهبني، والحمد لله من قبل ومن بعد

﴿وَمَا تَوْفِيقِي إِلَّا بِاللَّهِ عَلَيْهِ تَوَكَّلْتُ وَإِلَيْهِ أُنِيبُ﴾

شياء

RESUME

Cette étude s'inscrit dans le cadre d'un effort plus large visant à promouvoir l'utilisation des plantes algériennes. Elle a pour objectif d'évaluer, à travers des expérimentations *in vitro* et *in vivo*, les activités biologiques de certains extraits de plantes, en mettant l'accent sur l'investigation de l'activité antioxydante et d'antihyperglycémiant (antidiabétique) afin de confirmer scientifiquement leurs propriétés pharmacologiques et thérapeutiques. Plus précisément, elle vise à réaliser une analyse phytochimique approfondie et à évaluer les activités antioxydante et anti-hyperglycémiant de deux extraits de *Centaurium erythraea*, obtenus par extraction assistée par ultrasons (Ext 1) et par macération classique (Ext 2). À cet égard, l'analyse quantitative a révélé que l'extrait Ext 1 présentait des teneurs nettement plus élevées en polyphénols (4.01 ± 0.11 mg EAG/g MS), flavonoïdes (0.33 ± 0.002 mg QE/g) et tannins (2.53 ± 0.58 mg EC/g) par rapport à l'extrait Ext 2, qui a enregistré respectivement (3.7 ± 0.06 mg EAG/g MS), (0.26 ± 0.03 mg EAG/g MS) et (1.64 ± 0.17 mg EAG/gMS). En ce qui concerne le potentiel antioxydant, l'extrait Ext 1 a manifesté une excellente capacité de piégeage des radicaux libres et de réduction, avec une valeur IC₅₀ de 1.47 ± 0.025 mg/mL (test DPPH) et une valeur A_{0.5} de 1.53 ± 0.13 mg/mL (test FRAP), surpassant ainsi l'extrait Ext 2 (IC₅₀ = 4.89 ± 0.11 mg/mL ; A_{0.5} = 2.24 ± 0.29 mg/mL), comparativement à la vitamine C utilisée comme témoin standard (IC₅₀ = 0.21 ± 0.04 mg/mL ; A_{0.5} = 0.029 ± 0.009 mg/mL). De plus, l'effet antidiabétique a été validé *in vitro* via l'inhibition de l'enzyme alpha-amylase, et *in vivo* par la réduction de l'hyperglycémie induite par l'alloxane chez les rats, où les extraits ont montré une capacité remarquable à réguler la glycémie. Ces activités biologiques prometteuses sont étroitement corrélées à la richesse de ces extraits en composés phénoliques bioactifs, ce qui justifie l'utilisation traditionnelle de *C. erythraea* et ouvre de nouvelles perspectives pour son exploitation comme source naturelle dans l'industrie pharmaceutique.

Mots-clés : *Centaurium erythraea*, Extraction assistée par ultrasons, Polyphénols, Antioxydant, Antihyperglycémiant.

Abstract

This study is part of a broader effort to promote the use of Algerian plants. It aims to evaluate, through *in vitro* and *in vivo* experiments, the biological activities of certain plant extracts, focusing on the investigation of the antioxidant and Anti-hyperglycemic (antidiabetic) activities in order to scientifically confirm their pharmacological and therapeutic properties. More specifically, it aims to conduct an in-depth phytochemical analysis and evaluate the antioxidant and anti-hyperglycemic activities of two extracts of *C. erythraea*, obtained by ultrasound-assisted extraction (Ext 1) and classical maceration (Ext 2). In this regard, quantitative analysis revealed that the Ext 1 extract exhibited significantly higher contents of polyphenols (4.01 ± 0.11 mg EAG/g DM), flavonoids (0.33 ± 0.002 mg QE/g), and tannins (2.53 ± 0.58 mg EC/g) compared to the Ext 2 extract, which recorded (3.7 ± 0.06 mg EAG/g DM), (0.26 ± 0.03 mg EAG/g DM), and (1.64 ± 0.17 mg EAG/g DM), respectively. Regarding the antioxidant potential, the Ext 1 extract demonstrated an excellent free radical scavenging and reducing capacity, with an IC₅₀ value of 1.47 ± 0.025 mg/mL (DPPH assay) and an A_{0.5} value of 1.53 ± 0.13 mg/mL (FRAP assay), thus outperforming the Ext 2 extract (IC₅₀ = 4.89 ± 0.11 mg/mL; A_{0.5} = 2.24 ± 0.29 mg/mL), in comparison with vitamin C used as a standard reference (IC₅₀ = 0.21 ± 0.04 mg/mL; A_{0.5} = 0.029 ± 0.009 mg/mL). Furthermore, the antidiabetic effect was validated *in vitro* through the inhibition of the alpha-amylase enzyme, and *in vivo* by the reduction of alloxan-induced hyperglycemia in rats, where the extracts showed a remarkable capacity to regulate blood glucose levels.

These promising biological activities are closely correlated with the richness of these extracts in bioactive phenolic compounds, which justifies the traditional use of *C. erythraea* and opens up new perspectives for its exploitation as a natural source in the pharmaceutical industry.

Keywords : *C. erythraea*, Ultrasound-assisted extraction, Polyphenols, Antioxidant, Anti-hyperglycemic.

ملخص:

تُعدّ هذه الدراسة جزءاً من جهد أوسع نطاقاً لتعزيز استخدام النباتات الجزائرية، وتهدف إلى تقييم الأنشطة البيولوجية لبعض المستخلصات النباتية من خلال تجارب مخبرية وحيوانية، حيث رُكّز على دراسة النشاط المضاد للأوكسدة و مضاد لارتفاع السكر في الدم (المضاد لداء السكري) بهدف تأكيد خصائصها الدوائية والعلاجية علمياً. ويشكل أكثر دقة، تسعى الدراسة إلى إجراء تحليل فيتوكيميائي معمق وتقييم الأنشطة المضادة للأوكسدة والمضادة لارتفاع نسبة السكر في الدم لمستخلصين من نبات القنطاريون (*C. erythraea*) ، تم الحصول عليهما بواسطة الاستخلاص المدعم بالموجات فوق الصوتية (Ext 1) والنقع الكلاسيكي (Ext 2) وفي هذا الصدد، كشف التحليل الكمي أن المستخلص Ext 1 سجل محتويات أعلى بكثير من البوليفينولات (0.11 ± 4.01 ملغ/ع EAG مادة جافة)، والفلافونويدات (0.002 ± 0.33 ملغ $QE/$ غ)، والتانينات (0.58 ± 2.53 ملغ/ع EC غ) مقارنة بالمستخلص Ext 2 الذي سجل على التوالي (0.06 ± 3.7 ملغ $EAG/$ غ مادة جافة)، و (0.03 ± 0.26 ملغ/ع EAG غ مادة جافة)، و (0.17 ± 1.64 ملغ/ع EAG غ مادة جافة). وفيما يتعلق بالقدرة المضادة للأوكسدة، أظهر المستخلص Ext 1 قدرة ممتازة على كنس الجذور الحرة والإرجاع، حيث بلغت قيمة الـ IC_{50} له 0.025 ± 1.47 ملغ/مل (اختبار DPPH) وقيمة الـ $A_{0.5}$ بلغت 0.13 ± 1.53 ملغ/مل (اختبار FRAP)، متفوقاً بذلك على المستخلص Ext 2 الذي سجل ($IC_{50} = 4.89 \pm 0.11$ ملغ/مل؛ $A_{0.5} = 2.24 \pm 0.29$ ملغ/مل)، وذلك بالمقارنة مع فيتامين C المستخدم كشاهد قياسي ($IC_{50} = 0.21 \pm 0.04$ ملغ/مل؛ $A_{0.5} = 0.029 \pm 0.009$ ملغ/مل). علاوة على ذلك، تم إثبات التأثير المضاد للسكري مخبرياً (*in vitro*) من خلال تثبيط إنزيم ألفا-أميلاز، وحيوياً (*in vivo*) عن طريق خفض نسبة السكر في الدم المستحث بالألوكسان لدى الفئران، حيث أظهرت المستخلصات قدرة ملحوظة على تنظيم مستوى الغلوكوز في الدم. وترتبط هذه الأنشطة البيولوجية الواعدة ارتباطاً وثيقاً بغنى هذه المستخلصات بالمركبات الفينولية النشطة بيولوجياً، مما يبرر الاستخدام التقليدي لنبات *C. erythraea* ويفتح آفاقاً جديدة لاستغلاله كمصدر طبيعي في الصناعة الصيدلانية.

الكلمات المفتاحية: *C. erythraea* ، الاستخلاص المدعم بالموجات فوق الصوتية، البوليفينولات، مضاد للأوكسدة، مضاد لارتفاع السكر في الدم.

Résumés	
Sommaire	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
Introduction Générale.....	1
PREMIÈRE PARTIE:SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE	
Chapitre I : Généralités sur <i>Centaurium erythraea</i>	
1. Généralités sur la phytothérapie	3
2. Les plantes médicinales	3
3. La famille des Gentianaceae	3
4. Description botanique et caractéristiques morphologiques	4
5. Classification de la plante	5
6. Répartition géographique	6
7. Utilisations traditionnelles	7
Chapitre II : Généralités sur le diabète sucré	
1. Définition général	9
2. Classification du diabète :	9
2.1. Diabète de type 1	9
2.2. Diabète de type 2	10
2.3. Diabète gestationnel	11
2.4. Diabète monogénique	12
2.5. Symptômes du diabète:.....	12
Chapitre III : Généralités sur les activités biologiques et les antioxydants	
1. Activité antioxydante :	14
1.1. Stress oxydatif	14
1.2. Antioxydants.....	14
1.2.1. Antioxydants enzymatiques :.....	15
1.2.2.1. Les superoxydes dismutases (SOD).....	15
1.2.2.2. Les catalases (CAT).....	15

1.2.2. Les antioxydants exogènes:.....	16
1.2.3. Les antioxydants endogènes.....	16
2. Evaluation Des Activités Biologiques Des Extraits.....	16
2.1 .Généralités sur les métabolites secondaires des plantes:.....	16
2.2. Les flavonoïdes	17
2.3. Tanins	18
2.4. Les polyphénols	19
3. Méthodes d'evaluation des activités antioxydantes :	20
3.1.Activité antiradicalaire au DPPH•.....	21
3.2. Test du pouvoir réducteur (FRAP)	21
DEUXIÈME PARTIE : ÉTUDE EXPÉRIMENTALE	
Chapitre I : Matériel et Méthodes	
1. Matériel :	24
1.1. Matériel chimique	24
1.2. Matériel biologique :	25
1.2.1. Matériel végétal étudié	25
1.2.2. Matériel animal	26
2. Méthodes :	26
2.1. Extraction.....	26
2.1.1. Préparation Extraction assistée par ultrasons (EAU).....	26
2.1.2. Préparation des extraits par macération.....	27
2.2. Dosage des composés phénoliques.....	28
2.2.1. Dosage de polyphénols totaux.....	28
2.2.2. Dosage de flavonoïdes.....	28
2.2.3. Dosage de tanins condensés.....	28
2.3. Biosynthèse des nanoparticules d'argent (AgNPs).....	28
2.4. Evaluation des activités biologiques	29
2.3.1. Activité antioxydant	30
2.4.1.1. Test de DPPH:.....	30
2.4.1.2. Test de FRAP	31
2.5. Activité anti inflammatoire (BSA).....	31
2.6.Activité antidiabétique.....	31

2.6. 1. Test D'inhibition De L'alpha-Amylase <i>in vitro</i>	31
2.7. Activité antidiabétique <i>In vivo</i>	32
2.7.1. Test toxicité:.....	32
2.7.2. Induction du diabète	32
2.7.3. Répartition des groupes.....	34
2.7.4. Sacrifice des rats et prélèvement des échantillons.....	35
2.7.5. Étude histologique.....	36
2.8. Techniques d'exploration physiologique::.....	36
2.8.1 Dosage du taux de peroxydation lipidique tissulaire (TBARS).....	37
Chapitre II : Résultats et Discussion	
1. Rendement	39
2. Dosage des composés phénoliques.....	39
2.1. Dosage de polyphénols totaux.....	40
2.2. Dosage des flavonoïdes.....	41
2.3. Dosage de tanins condensé.....	42
3. Activité antioxydante :	44
3.1. test du test DPPH	44
3.2. test du FRAP	46
4.1. Test inhibition de alpha-amylase	47
5. Activité anti inflammatoire	49
5.1. Test de dénaturation de l'albumine sérique bovine (BSA)....	49
6. Test toxicité :	51
7. Etude histologique :	51
7.1. Étude histopathologique comparative du Foie.....	51
7.2. Étude histopathologique comparative du pancréas	53
7.3. Taux de la peroxydation lipidique.....	54
7.4. Étude des variations des paramètres biochimiques sériques	56
7.5. Évaluation des paramètres hématologiques.....	60
Conclusion Générale	64
Références Bibliographiques	67

○ **Liste des figures :**

Figure1 : Présentation des 6 genres de Basse-Normandie de la famille des Gentianacea	4
Figure 2 : <i>Centaureum erythraea</i>	5
Figure 3. Répartition mondiale du genre <i>Centaurea</i>	5
Figure 4 : Les stades de la pathogenèse et de la destruction des cellules β dans le diabète de type 1	10
Figure 5: Structure chimique de base des flavonoïdes	17
Figure 6: Structure chimique des différents groupes des Flavonoïdes.....	17
Figure 7: Structures chimiques des tanins hydrolysables et des tanins condensés.....	19
Figure 8 : Structures de base des composés phénoliques.....	20
Figure 9: Réduction de DPPH par un antioxydant.....	21
Figure 10: Réduction du fer ferrique en fer ferreux par un antioxydant	21
Figure 11: la plante de <i>Centaureum erythraea</i>	26
Figure 12 : Poudre des tiges, feuilles et fleurs.....	26
Figure 13: Extraction assistée par ultrasons (EAU).....	27
Figure 14 : Schéma montrant le processus d'extraction des parties de la plante <i>C. erythraea</i>	28
Figure 15: biosynthèses des nanoparticules d'argent (AgNPs).....	30
Figure 16 :Injection d'alloxane à Les rats.....	34
Figure17 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux.	40
Figure 18: Teneurs en polyphénols totaux	40
Figure 19: Courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonoïdes.	41
Figure 20 : Teneur en flavonoïde totaux.	42
Figure21 : Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des tanins.	43
Figure 22 : Teneurs en tanins condensés.....	43
Figure 23: Résultats des IC50 du radical DPPH	44
Figure24 : Résultats des A0,5 de la réduction de fer.....	46
Figure 25 : Activité inhibitrice de l'enzyme alpha-amylase de l'extrait de plante de <i>c.erythraea</i>	48

Figure26: Évaluation de l'activité anti-inflammatoire <i>in vitro</i> (BSA) des extraits de <i>C. erythraea</i> et du diclofénac sodique.	48
Figure 27 : Coupes histologie de tissu hépatique . Coloration hématoxyline éosine	52
Figure 28 : Coupes histologiques du pancréas coloré à l'hématoxyline.	54

- **Liste des tableaux :**

Tableau 1 : Données taxonomiques.....	6
Tableau2 : Appareillage, produits chimiques et réactifs.....	24
Tableau3 : Taux de la peroxydation lipidique.....	55
Tableau 4 : Effet des différents composés et extraits étudiés sur certains paramètres biochimiques et hématologie.....	56
Tableau 5: Effet des différents composés et extraits étudiés sur certains paramètres de la formule numération sanguine (FNS).....	60

- **Liste des abréviations:**

- **(%)** : Pourcentage.
- **Allox** : alloxane.
- **CAT** : Catalase.
- **°C** : degré Celsius.
- ***C. erythraea*** : *Centaurium erythraea* .
- **DPPH** : Diphényl-picrylhydrazyl.
- **Dic** : diclofénac.
- **Ex** : Extrait .
- **EAU**: Extraction assistée par ultrasons
- **FRAP** : Ferric Reducing Antioxidant Power.
- **g** : Grame.
- **HCL** : acide chlorhydrique.
- **IC50** : concentration inhibitrice de 50 %.
- **mg EAG/g** : milligramme équivalent d'acide gallique par gramme de l'extrait .
- **mg EC/g** : milligramme équivalent de la catéchine par gramme d'extrait.
- **mg/ml** : milligramme par millier.
- **mg/Kg** : milligramme par kilogramme
- **min** : minutes.
- **Met** : metformine.
- **PH** : Potentiel hydrogène.
- **MDA** : malondialdéhyde.
- **MAE**: Extraits par macération



Introduction

Les plantes médicinales font partie intégrante de la santé et du bien-être humains depuis des milliers d'années, constituant le fondement de nombreux systèmes de médecine traditionnelle à travers le monde. Elles sont définies comme des espèces végétales synthétisant des composés bioactifs aux propriétés thérapeutiques précises, capables d'intervenir efficacement dans la prévention et le traitement de diverses pathologies **(Chabrier, 2010)**. Ces connaissances empiriques, rigoureusement transmises au fil des générations, ont largement contribué à l'émergence de la phytothérapie moderne. Cette dernière continue d'explorer et d'exploiter rationnellement la biodiversité végétale pour le développement de nouvelles alternatives thérapeutiques **(Petrovska, 2012)**. D'ailleurs, selon l'Organisation mondiale de la santé (OMS), plus de 80% de la population mondiale dépend encore de la médecine par les plantes comme alternative naturelle aux molécules de synthèse **(Jamshidi-Kia et al., 2017)**. L'intérêt scientifique pour ces matrices biologiques réside dans leur immense potentiel pharmacologique, puisqu'elles peuvent être employées directement sous forme d'extraits bruts, modifiées pour l'hémisynthèse, ou servir de modèles structuraux pour la conception de nouveaux agents thérapeutiques plus ciblés **(Gurib-Fakim, 2006)**.

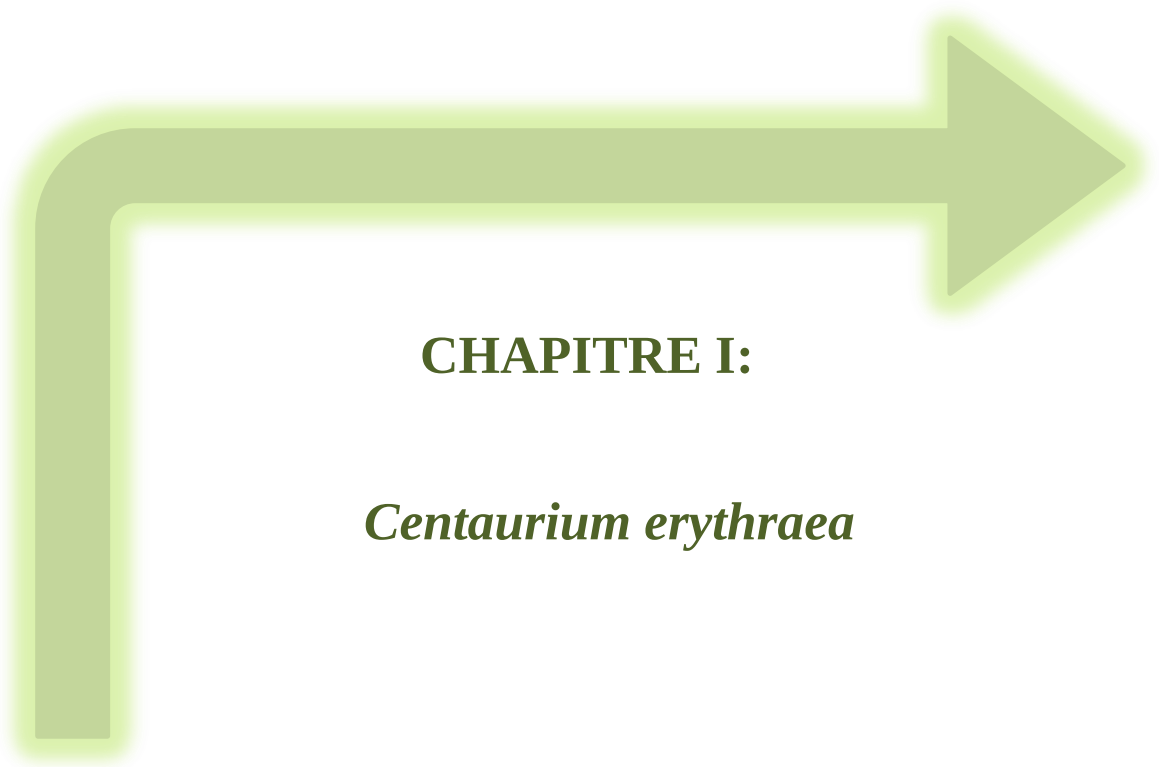
Au cœur des préoccupations actuelles de la recherche biomédicale se trouve le diabète, une affection métabolique chronique caractérisée par une hyperglycémie chronique résultant d'un défaut de sécrétion d'insuline, d'une anomalie de l'action de cette hormone, ou de ces deux mécanismes associés. Qu'il s'agisse du diabète de type 1, marqué par une destruction auto-immune des cellules pancréatiques, ou du diabète de type 2, qui est le plus répandu et lié à une insulino-résistance, cette pathologie engendre de profonds désordres métaboliques et est souvent exacerbée par un stress oxydatif systémique. À cet égard, les métabolites secondaires des plantes, notamment les composés phénoliques et les flavonoïdes, suscitent une attention croissante en raison de leur capacité multi-cible à moduler ces perturbations **(Rudrapal et al., 2022)**. En effet, ces biomolécules exercent une action protectrice majeure en améliorant l'expression et l'activité des enzymes antioxydantes endogènes, renforçant ainsi les défenses cellulaires **(Mannino et al., 2022)**. Parallèlement, leur aptitude à piéger les radicaux libres permet de réduire significativement la production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO), préservant ainsi l'intégrité fonctionnelle des tissus face aux complications à long terme du diabète **(Hunyadi, 2019)**.

C'est dans cette perspective de recherche purement scientifique que s'inscrit notre étude, qui est dédiée à la valorisation biochimique et pharmacologique d'une flore locale d'intérêt majeur : *Centaurium erythraea* (la Petite Centaurée). Reconnue traditionnellement pour ses vertus médicinales, cette plante requiert une évaluation scientifique rigoureuse afin de valider objectivement son efficacité antihyperglycémiant et son innocuité. Le but principal de ce travail est donc d'explorer le potentiel de ses extraits à travers des approches expérimentales complémentaires *in vitro* et *in vivo*. Il s'agit d'une part, de caractériser leur pouvoir antioxydant et leur capacité à inhiber les enzymes clés de la digestion des glucides, telles que l'alpha-amylase, et d'autre part, d'évaluer leur effet régulateur direct sur la glycémie chez des modèles animaux.

Pour répondre à ces objectifs, notre travail est structuré en deux grandes sections complémentaires : Une partie bibliographique qui dresse un état des lieux des connaissances actuelles sur les fondements de la phytothérapie, la catégorisation des métabolites secondaires, le potentiel thérapeutique des composés phénoliques, ainsi que la physiopathologie du diabète et ses enzymes clés, et une partie expérimentale qui est consacrée, quant à elle, à la mise en œuvre des protocoles opératoires et à l'analyse des résultats. Elle s'articule autour de cinq axes majeurs :

- L'extraction : la préparation des extraits phénoliques à partir de *C. erythraea* en utilisant de solvants (l'éthanol et l'eau distillée).
- La quantification : le dosage des teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes au sein des différents extraits.
- L'évaluation du potentiel antioxydant : la caractérisation *in vitro* de la capacité antioxydante par le DPPH, FRAP.
- L'étude enzymatique *in vitro* : la détermination du pouvoir inhibiteur des extraits vis-à-vis de l'enzyme alpha-amylase.
- L'évaluation biologique *in vivo* : l'étude de l'effet anti-hyperglycémiant de l'extrait aqueux suite à une administration orale chez des modèles de rats d'expérimentation.

PARTIE 01 :
SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE



CHAPITRE I:

Centaurium erythraea

1. Généralités sur la phytothérapie:

D'un point de vue étymologique, le terme « phytothérapie » dérive de deux mots grecs : « phyton » (plante) et « therapeia » (traitement). Ainsi, cette discipline se concentre sur l'utilisation des végétaux à des fins thérapeutiques, un domaine qui a toujours occupé une place centrale dans l'histoire de l'humanité (**Moatti, 1990**).

La phytothérapie constitue une méthode de soin ancestral basée sur l'exploitation des propriétés médicinales des plantes pour soulager divers symptômes et affections. Bien qu'elle soit l'une des approches thérapeutiques les plus anciennes, elle ne saurait se substituer aux traitements médicaux et chirurgicaux modernes dans le cas de pathologies graves, telles que les cancers, les maladies génétiques ou les troubles auto-immuns. Toutefois, elle peut jouer un rôle complémentaire dans la prise en charge de ces affections (**Gayet, 2013**).

Par ailleurs, la médecine par les plantes est reconnue comme la plus ancienne forme de médecine au monde, remontant à la préhistoire. Cependant, les fondements scientifiques expliquant les propriétés thérapeutiques des végétaux, ainsi que l'identification des molécules bioactives qu'ils contiennent, n'ont été pleinement exploités qu'à partir du 19^e siècle (**Jacquemard, 2019**).

2. Les plantes médicinales:

Les plantes médicinales désignent des végétaux supérieurs dont différentes parties telles que les racines, les feuilles, les fleurs, les graines ou l'écorce sont utilisées pour leurs propriétés bénéfiques sur la santé. Ces organes, qualifiés d'officinaux, jouent un rôle clé en phytothérapie et en naturopathie, où la guérison par les plantes occupe une place centrale. Parmi ces plantes, on retrouve notamment la petite centaurée (*Centaurium erythraea*), connue pour ses effets bénéfiques dans la régulation de la glycémie et son utilisation traditionnelle contre le diabète.

Leur efficacité thérapeutique repose sur la présence de composés chimiques actifs, qu'il s'agisse de métabolites primaires (comme les sucres ou les acides aminés) ou de métabolites secondaires (tels que les alcaloïdes, les flavonoïdes ou les tanins). Par ailleurs, l'action de ces plantes résulte souvent de la synergie entre ces différents composés, ce qui renforce leur potentiel curatif (**Boudjema, 2019**).

3. La famille Gentianaceae:

La famille Gentianaceae est une famille des plantes dicotylédones, comprend 100 genres et 1800 espèces, La famille des gentianaceae regroupe en Basse-Normandie 6 genres qui sont Respectivement (**Figure 1**) : *Blackstonia*, *Gentiana*, *Gentianella*, *Cicendia*, *Exaculum* et *Centaurium* (Provost., 1998).

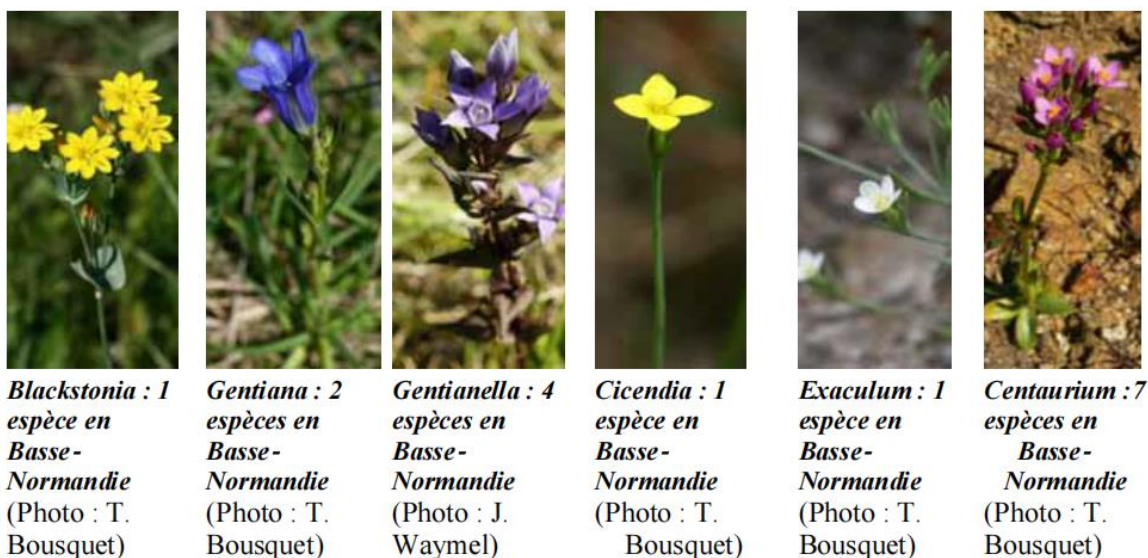


Figure1 : Présentation des 6 genres de Basse-Normandie de la famille des Gentianaceae (Waymel et al., 2015).

Gentianaceae réparties sur l'ensemble des continents sauf dans l'Antarctique. Les espèces membres de cette famille se développent dans des milieux divers : forêts tropicales savanes, forêts tempérées, prairies, régions alpines et arctiques et les communautés littorales et rudérales mais aussi parfois dans les marais mais jamais dans les zones aquatiques et marines (Pringle., 2014).

4. Description Botanique et Caractéristiques Morphologiques:

C. erythraea (Gentianaceae) est une plante herbacée, annuelle ou bisannuelle, dont la hauteur oscille généralement entre 20 et 60 cm. Le genre *Centaurium*, auquel elle appartient, englobe environ 28 espèces distinctes. Sur le plan morphologique, l'espèce se caractérise par une tige grêle, dressée et typiquement quadrangulaire. L'appareil foliaire présente un dimorphisme marqué :

- Les feuilles basales : Plus grandes et allongées, elles sont rigoureusement agencées en une rosette étalée sur le sol.
- Les feuilles caulinaires : De teinte vert pâle, elles sont entières, ovales-lancéolées, sessiles et disposées de façon opposée-décussée le long de la tige, montrant trois nervures longitudinales bien distinctes.
- L'inflorescence, particulièrement esthétique, se structure en un corymbe dense formant de véritables bouquets terminaux au sommet des ramifications. Chaque fleur, de type pentamère, est constituée d'un calice à 5 sépales étroits et aigus, et d'une corolle tubuleuse d'un rose soutenu, s'ouvrant en 5 lobes profonds. L'androcée est composé de 5 étamines dont les anthères présentent la particularité biologique de s'enrouler en spirale hélicoïdale à maturité. Le fruit est une capsule cylindrique déhiscente qui dépasse le calice ; elle abrite une placentation pariétale supportant une multitude de graines minuscules aux reflets rougeâtres **(Figure 2) (Baba Aissa, 1999)**.



Figure 2 : *Centaurium erythraea* (Tobyn et al., 2000).

5. Classification De La Plante:**Tableau 1 : Données taxonomiques (Arrecgros,1978).**

Règne	Plante
Division	Magnoliopsida
Ordre	Gentianales
Famille	Gentianaceae
Genre	<i>Centaurium</i>
Espèce	<i>C. erythraea</i>
Nom commun	Petite centaurée .
Français:	<i>Centaurium erythraea</i>
Anglais :	Rafn.; Erythraea
Arabe :	centaurium .
	Common centaury ou
	american centaury .
	Meraret el h'nech, goustt el haïa.

6. Répartition Géographique :

Sur le plan biogéographique, la Petite Centaurée (*C. erythraea*) présente une large répartition géographique ; elle est ainsi recensée à travers l'Europe, l'Asie, l'Amérique du Nord, ainsi qu'en Afrique du Nord.

En ce qui concerne ses exigences écologiques et son habitat local, cette espèce se retrouve communément dans la région du Tell (notamment au sein des broussailles), ainsi que dans les friches et les pâturages humides et ensoleillés. De plus, c'est une plante qui s'adapte préférentiellement aux biotopes caractérisés par des sols argileux, sablonneux ou encore calcaires (**Figure 3**) (Debuingne, 2013).

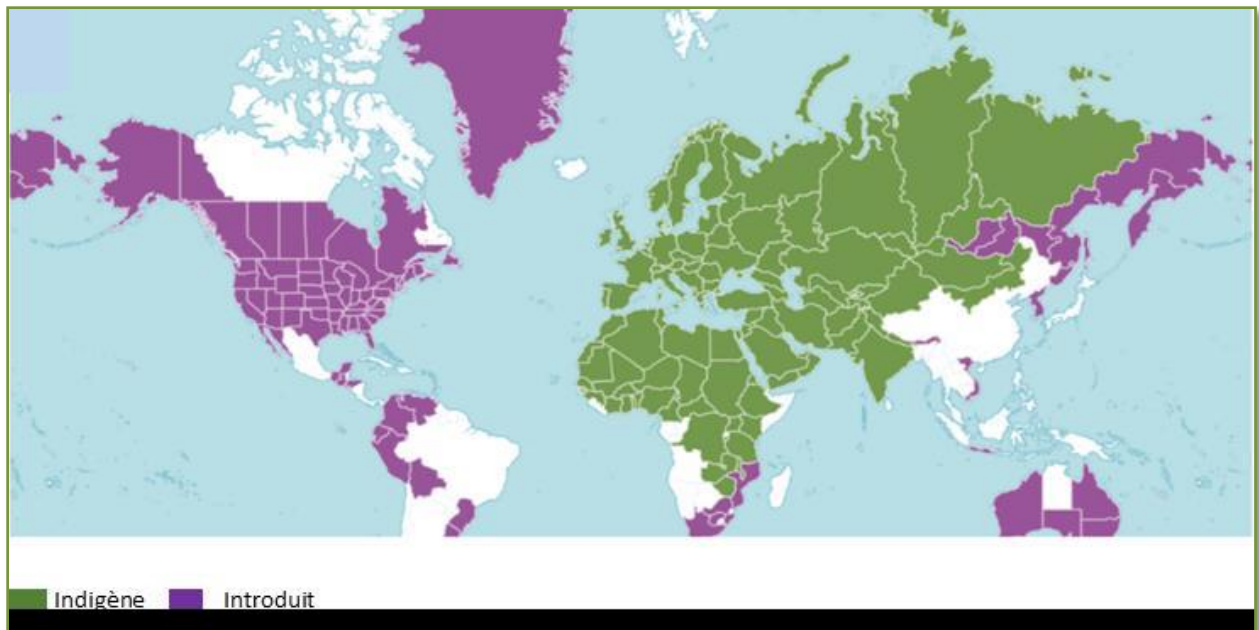
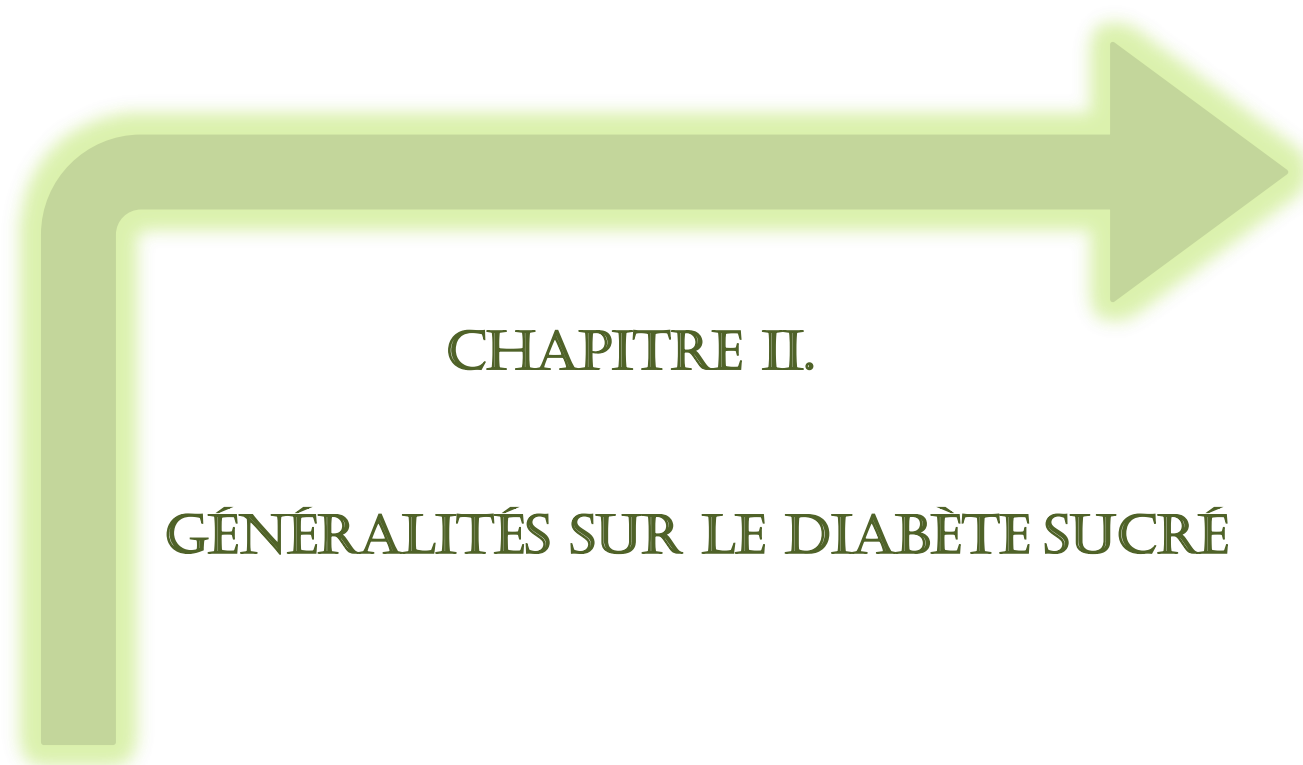


Figure 3. Répartition mondiale du genre *Centaurea* (Pelikan, W., 2003).

7.Utilisations Traditionnelles:

La Petite Centaurée (*C. erythraea*) jouit d'une réputation thérapeutique internationale, largement documentée pour ses diverses vertus médicinales. Historiquement, les herboristes allemands la préconisaient comme calmant nerveux pour traiter la mélancolie, tandis qu'elle entre aujourd'hui dans la composition de la poudre de Portland (Portland Powder) pour le traitement de la goutte. En Égypte, son usage traditionnel est plutôt orienté vers la prise en charge de l'hypertension artérielle et des calculs rénaux. En Algérie, bien que la plante soit empiriquement reconnue pour ses propriétés fébrifuges, toniques, stomachiques et cholérétiques contribuant à stimuler l'appétit, son application la plus remarquable réside dans son utilisation comme agent antidiabétique traditionnel (**Baba Aissa, 1999**). En effet, dans la médecine populaire algérienne, les infusions de cette plante sont particulièrement sollicitées pour leur capacité à réguler la glycémie. Le potentiel thérapeutique de *Centaurium erythraea* est traditionnellement attribué à son action stimulante sur le pancréas, favorisant ainsi la relance de la sécrétion d'insuline dans certains cas de diabète (**Baba Aissa, 1999**).



CHAPITRE II.

GÉNÉRALITÉS SUR LE DIABÈTE SUCRÉ

1. Définition du diabète:

Le diabète sucré est un désordre métabolique chronique, d'étiologies multiples, caractérisé par une hyperglycémie chronique due à un défaut de sécrétion d'insuline, à un défaut d'action de cette hormone (insulinorésistance), ou à la combinaison de ces deux phénomènes. Cette perturbation entraîne des anomalies majeures du métabolisme des glucides, des lipides et des protéines (OMS, 2019).

2. Classification du diabète:

Le diabète sucré regroupe plusieurs formes cliniques qui se distinguent par leurs mécanismes causes. Même si le point commun reste l'hyperglycémie, les raisons de l'apparition de la maladie ne sont pas les mêmes d'un patient à un autre. Selon l'OMS, on classe généralement le diabète en deux grands types principaux : le type 1 et le type 2, en plus d'autres formes comme le diabète gestationnel (diabète de grossesse) et Les diabètes monogéniques (génétiques) :

2.1. Diabète de type 1 :

Le diabète de type 1 représente environ 5 à 10 % des cas de diabète. Il s'agit d'une maladie auto-immune caractérisée par la destruction progressive des cellules β des îlots de Langerhans du pancréas, responsables de la production de l'insuline. Cette destruction résulte d'une réponse immunitaire anormale au cours de laquelle les lymphocytes T reconnaissent à tort les cellules β comme des éléments étrangers et déclenchent leur élimination. La perte progressive de ces cellules entraîne une diminution importante, puis une absence de sécrétion d'insuline, conduisant à une hyperglycémie chronique. Les cytokines pro-inflammatoires produites lors de cette réaction immunitaire contribuent également à l'aggravation des lésions pancréatiques. Le diabète de type 1 apparaît le plus souvent chez l'enfant et le jeune adulte, mais peut survenir à tout âge. La prise en charge repose principalement sur l'administration exogène d'insuline afin de maintenir un équilibre glycémique adéquat (**Figure 4**) (Knip et Siljander, 2008 ; DiMeglio et al., 2018).

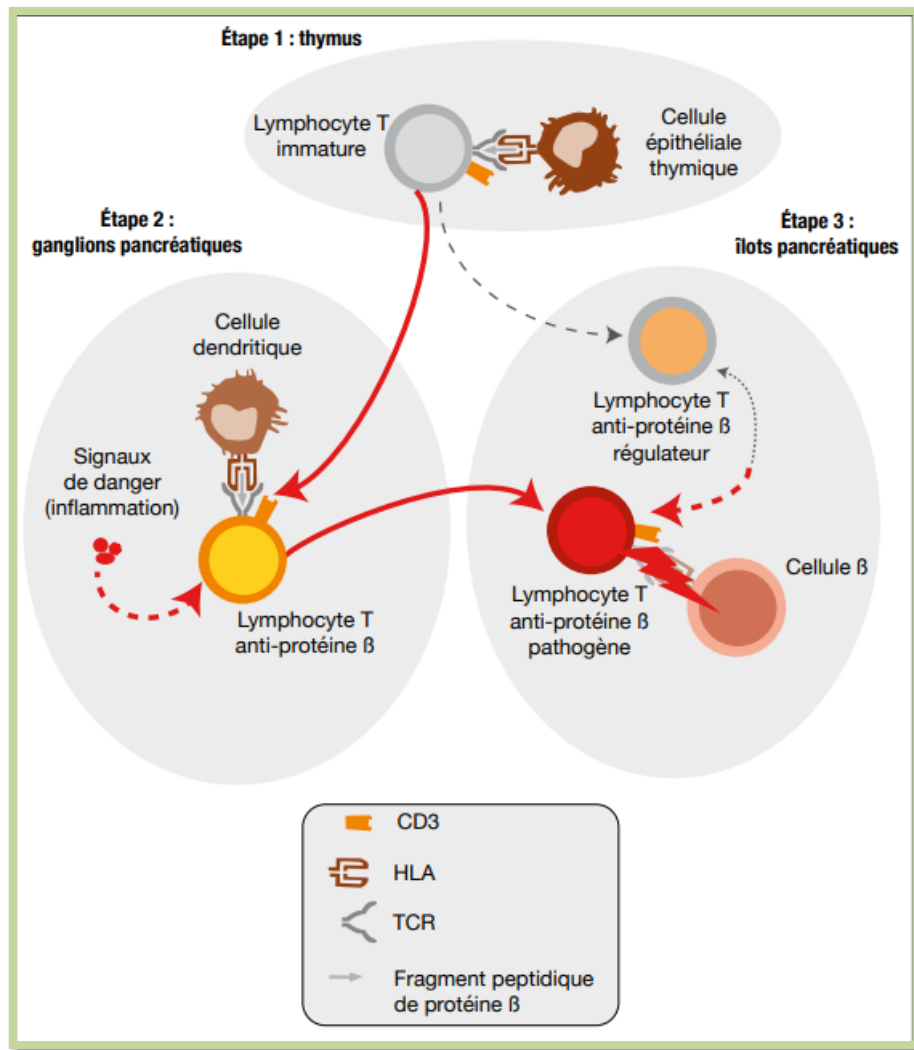


Figure 4 : Les stades de la pathogenèse et de la destruction des cellules \beta dans le diabète de type 1 (Inserm, 2025)

2.2. Diabète de type 2 :

Le diabète de type 2 (DT2) est la forme la plus répandue, touchant environ 90 à 95 % de la population diabétique mondiale. Sur le plan physiopathologique, cette pathologie se définit par la coexistence de deux anomalies majeures : l'insulinorésistance périphérique et le dysfonctionnement progressif des cellules \beta du pancréas.

-A. L'Insulinorésistance et le Rôle du Tissu Adipeux ;

Dans cette phase, les tissus cibles (principalement les muscles squelettiques et le tissu adipeux) perdent leur sensibilité normale à l'insuline.

Le mécanisme normal : L'insuline stimule le transport du glucose vers l'intérieur des cellules via la translocation des transporteurs GLUT4.

L'altération : Ce processus est fortement perturbé en présence d'une obésité viscérale. En effet, le tissu adipeux sécrète des cytokines pro-inflammatoires (telles que le TNF-alpha et l'IL-6). Ces molécules bloquent les voies de signalisation intracellulaires de l'insuline en modifiant la phosphorylation de ses substrats récepteurs, ce qui empêche le recrutement de GLUT4 à la membrane et provoque une hyperglycémie.

-B. Épuisement et Dysfonctionnement des Cellules \beta :

Pour surmonter cette résistance et maintenir une glycémie normale, le pancréas réagit initialement par une hyperinsulinémie compensatoire. Cependant, cette surcharge chronique mène à long terme à l'épuisement des cellules \beta.

Ce déclin fonctionnel, qui réduit la sécrétion d'insuline face à l'hyperglycémie, est stimulé par trois facteurs clés :

- La glycotoxicité : Une exposition continue à de fortes concentrations de glucose induit un stress oxydatif qui altère les fonctions cellulaires.
- La lipotoxicité : L'élévation chronique des acides gras libres (AGL) endommage directement les cellules beta.
- L'inflammation chronique : Les cytokines inflammatoires locales favorisent l'apoptose (mort cellulaire programmée) de ces cellules (Galicia-Garcia et al., 2020 ; Lu et al., 2024).

2.3. Diabète gestationnel :

Le diabète gestationnel (DG) correspond à une intolérance au glucose mise en évidence pour la première fois au cours de la grossesse, qu'elle apparaisse ou soit diagnostiquée pendant cette période. Cette affection métabolique, dont la fréquence est en augmentation, est étroitement liée aux modifications des habitudes de vie, notamment l'alimentation, à l'élévation de l'âge maternel ainsi qu'à la hausse de l'indice de masse corporelle (IMC). Sur le plan clinique, le DG regroupe à la fois les anomalies glycémiques induites par la grossesse et les cas de diabète de type 2 préexistant mais non diagnostiqué avant la conception. Il représente un enjeu de santé publique important en raison de son association avec un risque

accru de complications maternelles et fœtales, aussi bien à court terme qu'à long terme (**Senat et Deruelle, 2016**).

2.4. Diabète monogénique :

Le diabète monogénique est une forme rare de diabète causée par une mutation sur un seul gène, altérant directement le fonctionnement de la cellule bêta pancréatique. Ce défaut génétique peut bloquer la production d'insuline, comme c'est le cas lors d'une mutation du gène HNF1A, qui empêche la transcription et l'expression normale de l'insuline. Il peut également perturber la détection du sucre, à l'image des mutations du gène de la glucokinase (GCK) ; cette enzyme, qui sert de « capteur de glucose », ne parvient plus à déclencher correctement la cascade métabolique nécessaire à la sécrétion d'insuline, entraînant ainsi une hyperglycémie (**Tallapragada et al., 2015 ; Zhang et al., 2021 ; Serbis et al., 2024**).

2.5. Symptômes du diabète:

Les signes cliniques du diabète diffèrent selon le type de la maladie et les mécanismes physiopathologiques impliqués. Dans le diabète de type 1, l'apparition des symptômes est généralement rapide et marquée. Les manifestations les plus fréquentes correspondent à la triade classique associant une polyurie, une polydipsie et une perte de poids involontaire. Dans de nombreux cas, la maladie est révélée à l'occasion d'une complication métabolique aiguë, notamment l'acidocétose diabétique, qui constitue souvent le premier motif de consultation et de diagnostic.

En revanche, le diabète de type 2 évolue habituellement de manière progressive et silencieuse. Les patients peuvent demeurer asymptomatiques durant plusieurs années avant l'apparition de signes cliniques évocateurs. Lorsque des symptômes sont présents, ils sont généralement moins spécifiques et peuvent inclure une vision trouble, une fatigue persistante ou des manifestations liées à la déshydratation. Cette évolution insidieuse explique que le diagnostic soit fréquemment posé à un stade relativement avancé de la maladie.

Sur le plan diagnostique, la présence de symptômes typiques d'hyperglycémie ou d'une urgence hyperglycémique, associée à une glycémie plasmatique aléatoire ≥ 200 mg/dL (11,1 mmol/L), permet d'établir le diagnostic du diabète sans nécessité de confirmation par un second test biologique (**ADA, 2026**).



CHAPITRE II

GENERALITES SUR LES ACTIVITES BIOLOGIQUES

1. Activité antioxydant:

Un antioxydant peut être défini comme toute substance capable, à de faibles concentrations par rapport à celles du substrat oxydable, de retarder de façon importante ou d'inhiber l'oxydation de ce substrat **(Sies, 1997)**.

1.1. Stress oxydatif

Le stress oxydatif correspond à un déséquilibre entre, d'une part, la production des espèces réactives de l'oxygène (ERO) et, d'autre part, la capacité de l'organisme à neutraliser ces espèces ainsi qu'à réparer les dommages qu'elles induisent. Ce déséquilibre entraîne l'apparition de lésions cellulaires pouvant devenir souvent irréversibles **(Aravodis, 2005)**.

Les principaux éléments biologiques particulièrement sensibles à ce type d'endommagement sont :

- Acide désoxyribonucléique (ADN) (altération des bases, cassure des brins)
- Protéines (modifications structurales et fonctionnelles)
- Lipides (peroxydation lipidique) **(Hu et al., 2005)**.

Le stress oxydant joue un rôle important dans la survenue de nombreuses pathologies. Il est notamment associé à l'athérosclérose **(Harrison et al., 2003)**, au développement de la cancérogenèse, ainsi qu'à diverses maladies inflammatoires et neurodégénératives, comme l'arthrite, l'asthme, la maladie de Parkinson et la maladie d'Alzheimer. Par ailleurs, il intervient aussi dans certaines affections métaboliques et liées au vieillissement, telles que le diabète, l'arthrose, la chute des cheveux et le vieillissement **(Cavin, 1999 ; Pastre et Priymenko, 2007)**.

1.2. Antioxydants

Un antioxydant est une substance qui, présente à faible concentration, retarde ou prévient significativement l'oxydation d'un substrat oxydable **(Halliwell, 1990)**. Son mécanisme d'action repose sur la cession d'un électron au radical libre, stabilisant ce dernier pour permettre son élimination naturelle sans endommager les composants cellulaires. L'antioxydant ainsi oxydé devient inactif sans jamais se transformer en un nouveau radical libre. Ces molécules sont soit d'origine biologique (synthétisées par l'organisme), soit

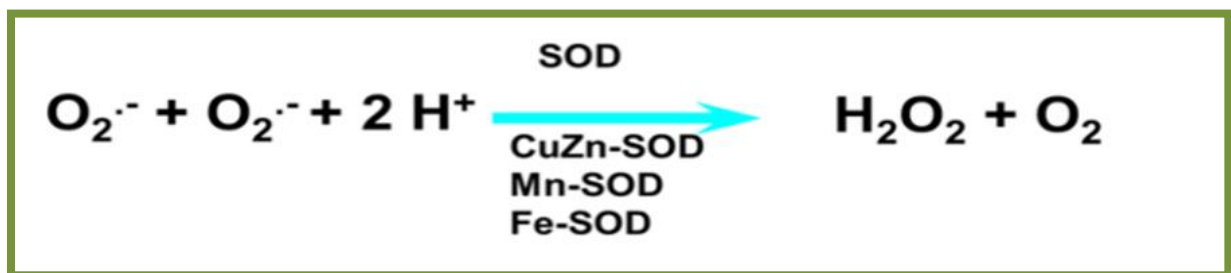
apportées par l'alimentation, chacune possédant une localisation bien spécifique et ciblant des radicaux libres particuliers (**Hennebelle, 2006**).

1.2.1. Antioxydants enzymatiques :

Les systèmes enzymatiques antioxydants comprenant principalement la superoxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT), la glutathion peroxydase (GPx) et la glutathion réductase (GR) constituent la première ligne de défense de l'organisme contre les espèces réactives de l'oxygène (ROS pour Reactive Oxygen Species) (**Garait, 2006**). Ces enzymes agissent de manière synergique pour neutraliser les radicaux libres avant qu'ils ne causent des dommages cellulaires irréversibles.

1.2.2.1. Les superoxydes dismutases (SOD):

Les superoxydes dismutases (SOD) sont des métalloenzymes ubiquitaires (**Jacquin-Porret, 1996**) qui catalysent la dismutation des anions superoxydes en dioxygène et en peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) (Arora et al., 2002) :



Chez les plantes, il existe trois types de SOD classés selon leur cofacteur métallique, dont la localisation cellulaire est stratégiquement proche des sites de production d' O_2^- - (**Gratão et al., 2006 ; Pourrut, 2008**) :

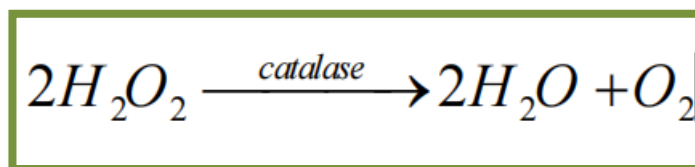
Les Fe-SOD : Localisées dans le stroma des chloroplastes.

Les Mn-SOD : Situées dans les mitochondries.

Les Cu/Zn-SOD : Présentes sous forme libre dans le cytosol, ainsi qu'au niveau des membranes thylakoïdiennes (PSI) pour intercepter les électrons de la chaîne photosynthétique.

1.2.2.2. Les catalases (CAT):

La catalase (EC 1.11.1.6) figure parmi les enzymes antioxydantes majeures de la cellule (Nandi et al., 2019). Principalement localisée dans les peroxysomes (**Mishra et al., 1993**), elle agit en étroite synergie avec les SOD. Son rôle consiste à catalyser la dismutation du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂), produit par l'action des SOD, en eau (H₂O) et en dioxygène (O₂) selon la réaction suivante (**Mesnoui, 2017**) :



1.2.2. Les antioxydants exogènes:

Les antioxydants d'origine exogène regroupent principalement les vitamines C et E, les caroténoïdes ainsi que les composés phénoliques (**McCall et Frei, 1999**). Parmi eux, les polyphénols et plus particulièrement les flavonoïdes possèdent une activité antioxydante remarquable. Celle-ci repose sur leur capacité à interrompre les réactions radicalaires en chaîne via des mécanismes de transfert d'électrons ou de protons. De plus, ils agissent comme des agents chélateurs des ions de métaux de transition, inhibant ainsi leur pouvoir catalytique lors du processus de peroxydation lipidique (**Leopoldini et al., 2011**).

1.2.3. Les antioxydants endogènes:

Les systèmes antioxydants non enzymatiques d'origine endogène comprennent de nombreux composés à groupement thiol. Parmi eux, le glutathion sous sa forme réduite (GSH) est le plus prédominant. Il joue un rôle crucial en réagissant directement avec une large variété d'espèces réactives, notamment les radicaux hydroxyles (HO•), peroxydes (RO₂•), alkoxydes (RO•), l'oxygène singulet (1O₂), le peroxyne (ONOO-), des radicaux centrés sur le carbone, ainsi que l'acide hypochloreux (HOCl) (**Masella et al., 2005**).

2. Evaluation Des Activités Biologiques Des Extraits:

2.1 .Généralités sur les métabolites secondaires des plantes:

Les plantes produisent deux types de métabolites : les métabolites primaires et les métabolites secondaires. Ces derniers jouent un rôle clé dans l'interaction entre la plante et son environnement, agissant comme des mécanismes de défense contre les herbivores et les agents pathogènes (**Quideau et al., 2008 ; Ramakrishna & Ravishankar, 2011 ; Filippis,**

2016). Ils sont présents dans toutes les parties de la plante (racines, tiges, feuilles, fleurs, graines), et leur concentration varie selon l'espèce végétale.

En plus de permettre aux plantes de s'adapter aux différentes conditions environnementales, les métabolites secondaires présentent des utilisations significatives en médecine et en cosmétique pour l'être humain (**Mansour, 2009 ; Ramakrishna & Ravishankar, 2011**). Les plantes constituent une source importante de ces métabolites, qu'elles produisent en grande quantité et en diversité. Ceux-ci sont généralement classés en trois grands groupes, selon leurs caractéristiques structurales (**Quideau et al., 2008 ; Samec et al., 2021**) : les composés phénoliques, les alcaloïdes, les terpènes et les stéroïdes.

2.2. Les flavonoïdes:

Parmi les composés polyphénoliques présents dans les plantes, les flavonoïdes forment une famille importante. Ils partagent une origine biosynthétique commune et possèdent une structure de base caractéristique : le noyau flavan, composé de 15 atomes de carbone, organisé en deux cycles aromatiques (C6) reliés par une chaîne de trois carbones (C3), d'où la formule simplifiée (C6-C3-C6) (**Bennick, 2002 ; Stalikas, 2007**).

Les flavonoïdes jouent des rôles essentiels dans la vie des plantes : ils les protègent contre les insectes herbivores et les agents pathogènes, et participent à l'attraction des pollinisateurs (**Hopkins, 2003 ; Bergeron, 2012**). On les retrouve dans divers organes végétaux, notamment les fruits, les graines, les tiges et les écorces (**Filippis, 2016**).

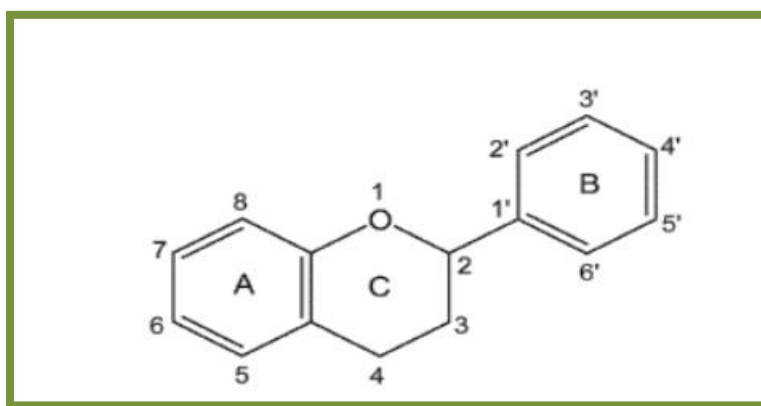


Figure 5: Structure chimique de base des flavonoïdes (**Stalikas, 2007**).

Ils peuvent être divisés sur la base de leur structural en six (06) groupes : les flavones, 14 les flavonols, les flavan-3-ols, les flavanones, les isoflavonols, les anthocyanines (**Figure 6**) 15 (**Samec et al., 2021**).

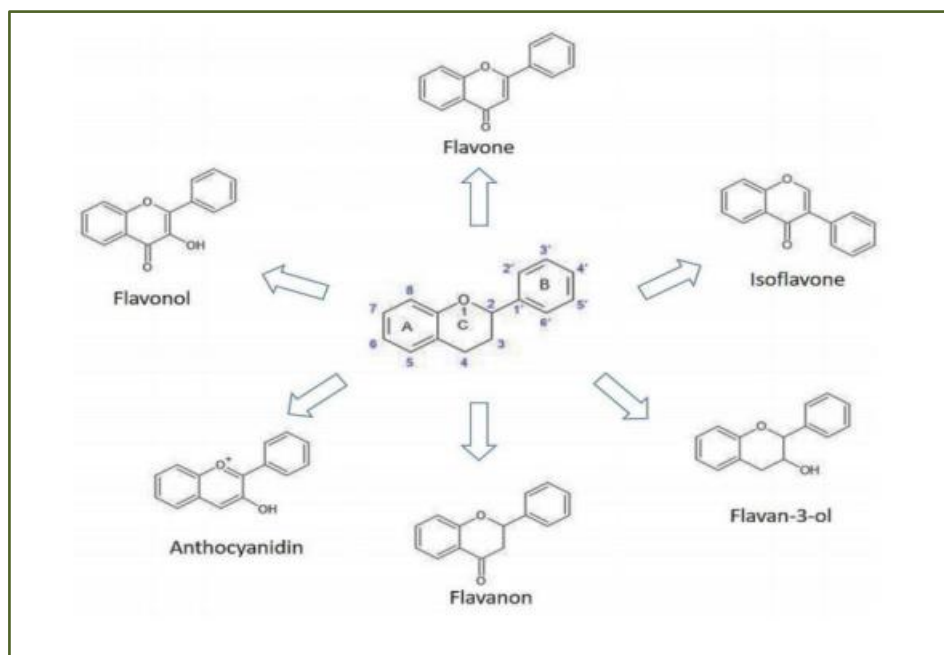


Figure 6: Structure chimique des différents groupes des Flavonoïdes (Stalikas, 2007).

2.3.Tannins:

Les tanins sont des composés phénoliques de masse moléculaire élevée, généralement comprise entre 500 et 3000 Da, largement présents dans le règne végétal (Gross, 1999 ; Kraus et al., 2003). Ils se caractérisent notamment par leur aptitude à précipiter les protéines (Hassanpour et al., 2011). Les tanins sont classés en deux grandes catégories : les tanins hydrolysables et les tanins condensés (Seresinhe et Pathirana, 2003).

Les tanins sont des métabolites secondaires jouant un rôle majeur dans la défense des plantes contre les agressions causées par divers phyto-pathogènes. Ils contribuent notamment à protéger la plante contre les insectes et les herbivores grâce à un mécanisme d'astringence (Mueller-Harvey et Mc Allan, 1992). En effet, leur présence favorise la formation de complexes tanins-protéines salivaires dans la bouche, ce qui entraîne un goût astringent souvent jugé désagréable et diminue ainsi l'appétence des plantes pour les prédateurs. Par ailleurs, les tanins peuvent perturber le fonctionnement des enzymes digestives chez ces organismes (figure 7) (Swain, 1979).

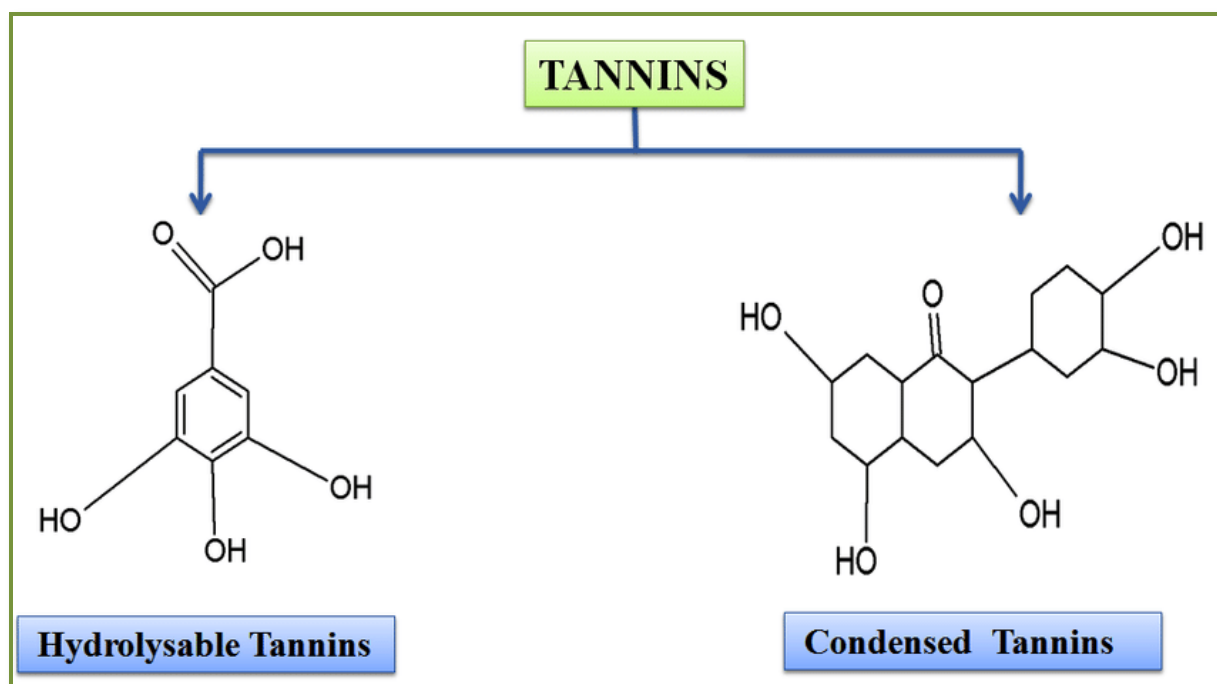


Figure 7: Structures chimiques des tanins hydrolysables et des tanins condensés.

2.4. Les polyphénols:

Les polyphénols, également appelés composés phénoliques, sont des métabolites secondaires spécifiques du règne végétal (**Mompon et al., 1996 ; He et al., 2008**). Ils sont largement distribués dans les différentes parties de la plante, allant des racines jusqu'aux fruits.

Bien qu'ils ne soient pas directement indispensables à la croissance et au développement du végétal, ces composés jouent un rôle essentiel dans les interactions entre la plante et son environnement (**Hynes et O'Coinceanainn, 2004**). Ils participent notamment aux mécanismes de défense contre les agressions extérieures et contribuent ainsi à la survie de la plante au sein de son écosystème.

Le terme « composés phénoliques » regroupe environ 10 000 molécules naturelles déjà identifiées (**Hynes et O'Coinceanainn, 2001 ; Mochizuki et al., 2001**). Leur structure chimique est caractérisée par la présence d'au moins un noyau aromatique à six atomes de carbone portant un ou plusieurs groupements hydroxyles (-OH), libres ou engagés dans d'autres fonctions chimiques telles que les éthers, les esters ou les hétérosides (**Figure 8**) (**Kakhlon et Cabantchik, 2002 ; Welch et al., 2002**).

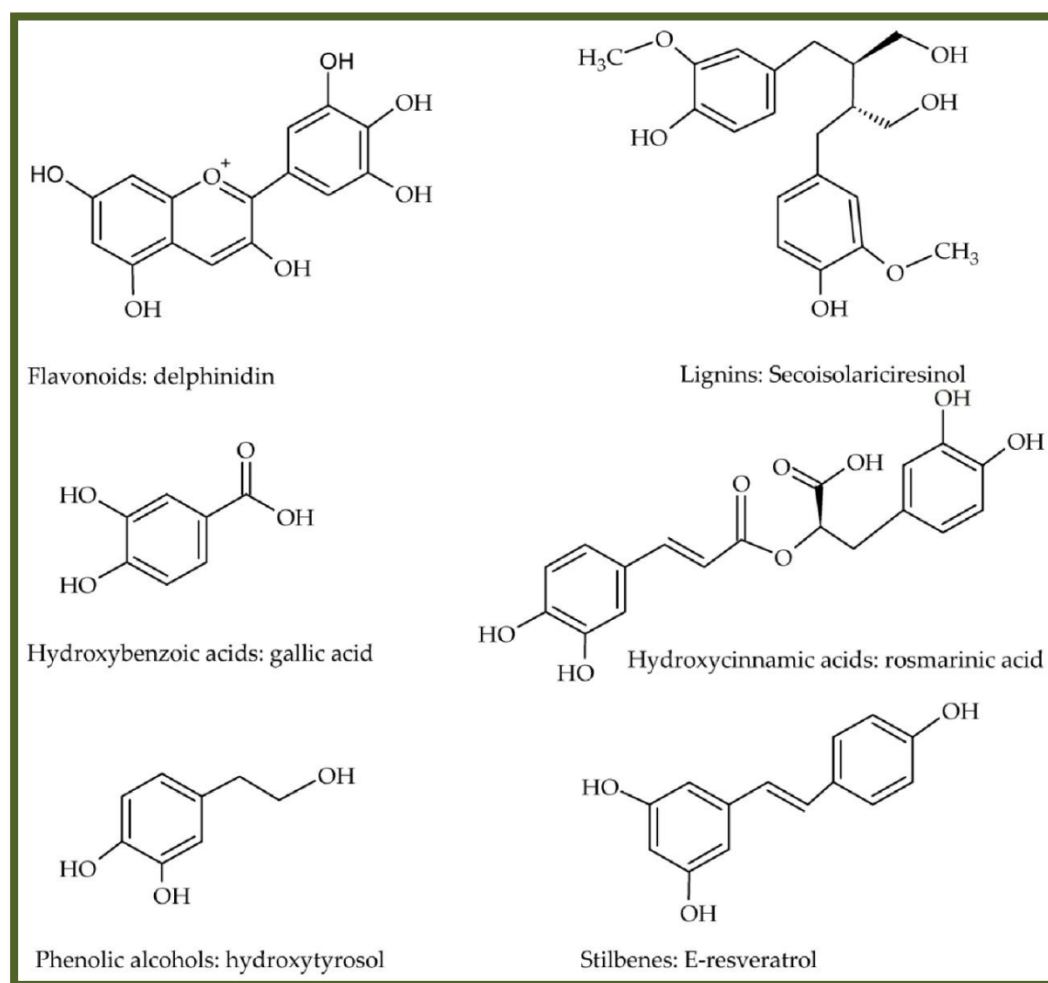


Figure 8 : Structures de base des composés phénoliques (Singla et al., 2019)

3. Méthodes d'évaluation des activités antioxydantes:

L'activité antioxydante de différents extraits a été évaluée à l'aide de deux méthodes : le piégeage des radicaux libres DPPH• (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle), ainsi que les tests FRAP (ferric reducing antioxidant power).

3.1. Activité antiradicalaire au DPPH• :

Le test au radical libre DPPH est une méthode recommandée pour évaluer l'activité antioxydante de composés contenant des groupes SH, NH ou OH (Salah et al, 1995). Réalisé à température ambiante, il préserve l'intégrité des molécules thermolabiles. Ce test est particulièrement adapté à l'analyse des extraits hydrophiles riches en composés phénoliques (Yi-Zhong, 2006). Selon la méthode de Mansouri et al, (2005), le radical DPPH, stable et violet, absorbe à 517 nm. En présence d'un antioxydant, il est réduit, entraînant une décoloration vers le jaune, observable par une diminution de l'absorbance (Figure 9).

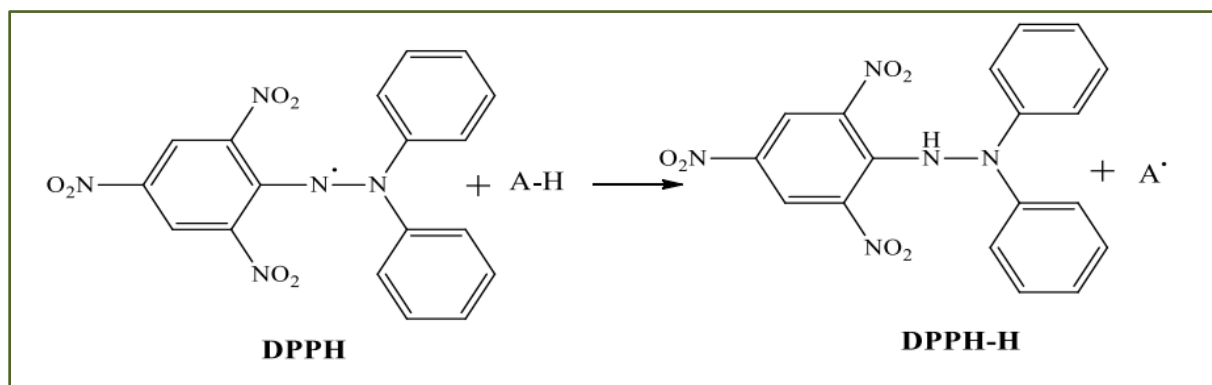


Figure 9: Réduction de DPPH par un antioxydant (Molyneux, 2004)

3.2. Test de pouvoir réducteur (FRAP) :

Le FRAP est un test qui mesure la capacité des antioxydants à transformer le fer ferrique (Fe^{3+}) en fer ferreux (Fe^{2+}) (**Figure 10**). Ce processus implique un échange d'électrons. Pour évaluer cette transformation, on mesure l'intensification de la coloration bleue (appelée bleu de Prusse) dans le mélange, à une longueur d'onde de 700 nm (Chung *et al.*, 2002).

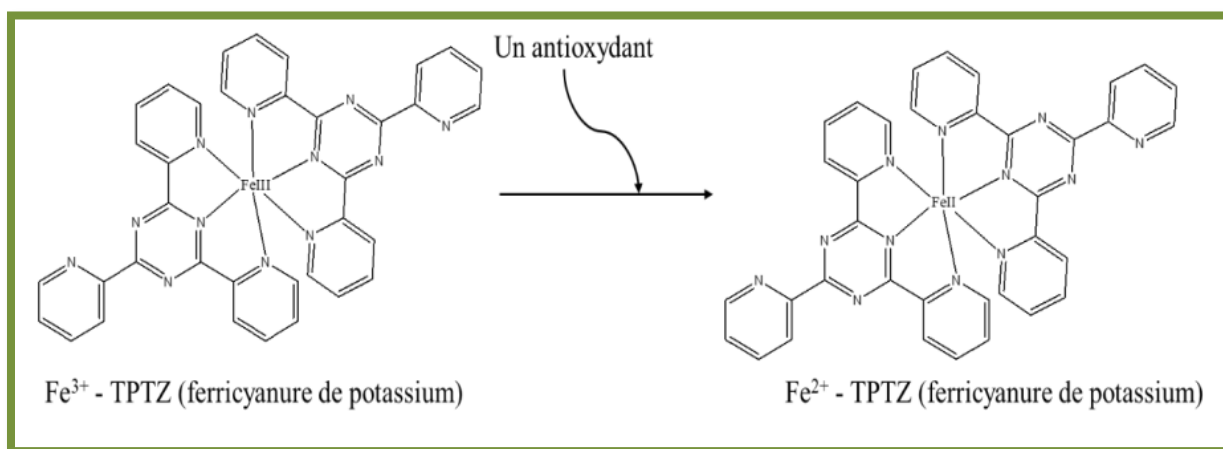
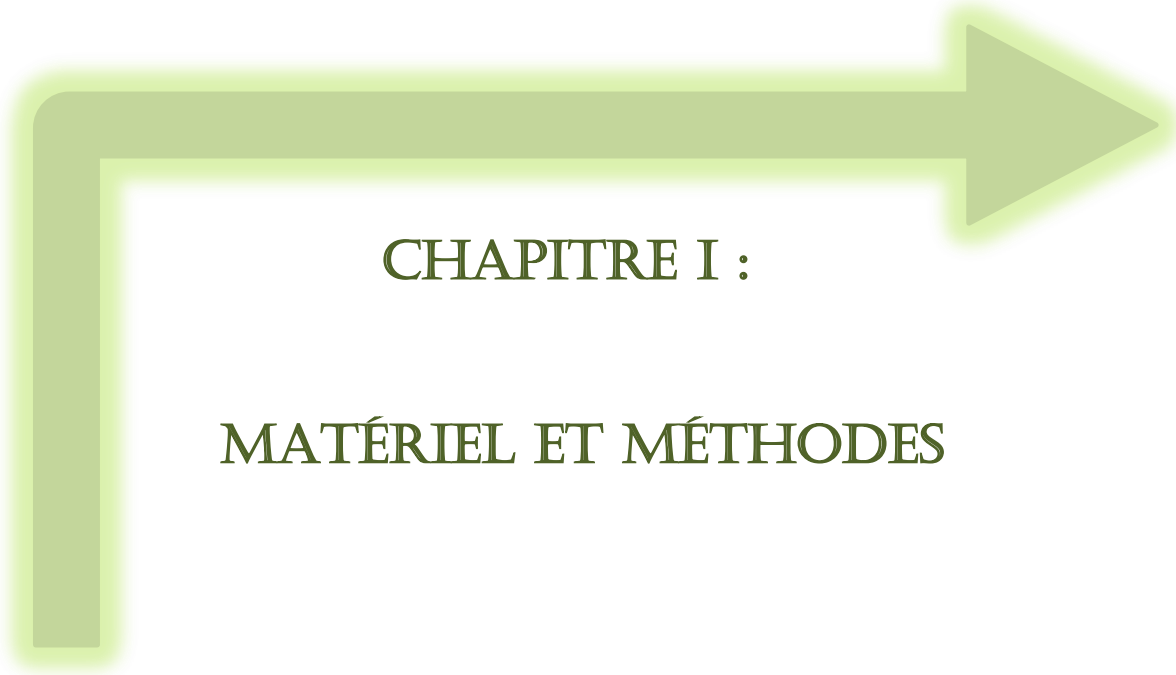


Figure 10: Réduction du fer ferrique en fer ferreux par un antioxydant (Chung *et al.*, 2002)

PARTIE 02 :

PARTIE EXPÉRIMENTALE



CHAPITRE I :

MATÉRIEL ET MÉTHODES

1. Matériel :

1.1. Matériel chimique:

Dans la partie appliquée de cette étude, nous avons utilisé une large gamme de produits chimiques et de réactifs, ainsi que divers équipements et instruments de laboratoire, comme indiqué dans le tableau 2.

Tableau 2 : Appareillage, produits chimiques et réactifs.

Produits chimiques et réactifs	Matériel et appareillage
▪ Acide ascorbique ▪ Acide gallique ▪ Acétate de potassium (CH₃COOK) ▪ Acide trichloracétique (C₂HCl₃O₂) à 10 % ▪ Amidon ▪ Acide thiobarbiturique (TBA) ▪ Acide trichloracétique (TCA) ▪ Acarbose ▪ AgNO₃ ▪ Bovine Serum Albumin (BSA) ▪ Carbonate de sodium (Na₂CO₃) %7.5 ▪ Carraghénane à 1% ▪ Catéchine ▪ Chloroforme ▪ Chlorure d'aluminium (AlCl₃) 2% ▪ Chlorure de calcium (CaCl₂) ▪ Chlorure ferrique (FeCl₃, 6H₂O pur) à 0,1 %	▪ Agitateur magnétique ▪ Bain de marie ▪ Balance électrique ▪ Bécher ▪ Broyeur électrique ▪ Centrifugeuse ▪ Cristalliseur ▪ Erlenmeyer ▪ Four ▪ Incubateur ▪ Micropipettes ▪ Papier aluminium

▪ Chlorure de sodium (NaCl) ▪ Diclofenac sodique ▪ DMSO ▪ DPPH ▪ Eau distillée ▪ Éthanol ▪ Ferricyanure de potassium (K₃Fe(CN)₆) ▪ Folin-ciocalteu (10 %) ▪ Enzyme α-amylase ▪ Glucose ▪ HCL (acide chlorhydrique concentré) ▪ H₂O₂ (peroxyde d'hydrogène) ▪ Iode ▪ Méthanol ▪ Solution saline ▪ Solution saline tamponnée au phosphate pH =6.4 ▪ Tampon phosphate à 0,2 mol/L (pH = 6,6) ▪ Tris-Buffered Saline (TBS)(Tampon salin de Tris) ▪ Vanilline	▪ Papier wattman ▪ PH mètre ▪ Pipette pasteur ▪ Plaque chauffante. ▪ Réfrigérateur ▪ Seringue graduée. ▪ Spectrophotomètre ▪ Thermomètre ▪ Tubes à essais ▪ Vortex
---	---

1.2. Matériel biologique

1.2.1. Matériel végétal étudié

L'espèce *Centaurium erythraea* a été récoltée au mois de novembre 2025 de la région Boumerdès, village de Rabah Adlan, Hachlaf (**Figure 11**) et identifiée par le professeur **Chouikh Atef** botaniste à l'université d'El Oued .



Figure 11: la plante de *Centaurium erythraea* (<https://www.healthbenefitstimes.com/centaury>)

Les parties aériennes (tiges, feuilles et fleurs) de la plante ont été prélevées après avoir été nettoyées, puis disposées sur des morceaux de tissu en une fine couche afin de faciliter l'aération et le séchage. Elles ont ensuite été placées dans un endroit sombre, à l'abri de la lumière directe du soleil et de l'humidité, pendant environ 3 semaines jusqu'à ce qu'elles soient sèches. Ensuite, les feuilles, les tiges et les fleurs sont broyées dans un mixeur électrique jusqu'à obtenir une poudre, puis conservées dans des bocaux en verre hermétiques jusqu'à leur utilisation (**figure 12**).



Figure 12 : Poudre des tiges, feuilles et fleurs. (**original**).

1.2.2. Matériel animal

L'étude a été menée sur des souris femelles de la souche Wistar pesant entre 155 et 240 grammes et âgées de 8 semaines, provenant de l'élevage de l'Institut Pasteur d'Alger. Les souris ont été placées dans le laboratoire animalier de l'université d'El Oued à une température de 22 ± 2 °C avec un cycle avec un cycle de 12 heures de lumière le jour et 12 heures d'obscurité la nuit. Les souris ont reçu une alimentation équilibrée et de l'eau (eau minérale). Tout au long de l'expérience, les animaux ont été traités conformément aux règles éthiques.

2. Méthodes

Cette étude a été menée sur des extraits préparés selon des protocoles d'extraction sélectives et spécifiques à certaines catégories de métabolites secondaires. Nous avons préparé un extrait végétal. Ensuite, nous nous sommes concentrés sur les tests biologiques, que nous avons commencés par l'évaluation de l'activité antioxydante.

2.1. Extraction

2.1.1. Préparation Extraction assistée par ultrasons (EAU)

Environ 10 grammes de matière végétale séchée et finement moulue ont été mélangés à 100 ml de solvant d'extraction (30 ml d'eau distillée ou 70 ml d'éthanol). Le mélange a ensuite été placé dans un bain à ultrasons à une fréquence d'environ 40 kHz, à une température de 40 °C, pendant 30 minutes afin d'améliorer l'extraction des métabolites secondaires. Après traitement, le mélange a été filtré pour éliminer les résidus solides, l'extrait est séché au four pendant au moins 48 à 72 heures à une température ne dépassant pas 45 °C. Enfin, il est recueilli dans des tubes en verre et conservé au réfrigérateur (**Figure 13**) (Albu et al., 2004).



Figure 13:Extraction assistée par ultrasons (EAU) (original).

2.1.2. Préparation des extraits par macération

L'extraction par macération (MAE) est réalisée conformément aux méthodes publiées (**Tlili et Benine, 2022**). On utilise 10 grammes de différentes parties de la plante *Centaureum erythraea* (tiges, feuilles et fleurs) avec 70 ml d'éthanol à 80 % et 30 ml d'eau distillée dans un flacon Erlenmeyer à température ambiante pendant 24 heures. Les flacons Erlenmeyer sont entièrement recouverts de papier d'aluminium afin d'éviter la dégradation des composés photosensibles. Après filtration à l'aide d'un filtre, l'extrait est séché au four pendant au moins 48 à 72 heures à une température ne dépassant pas 45 °C. Enfin, il est recueilli dans des tubes en verre et conservé au réfrigérateur (**Figure 14**).

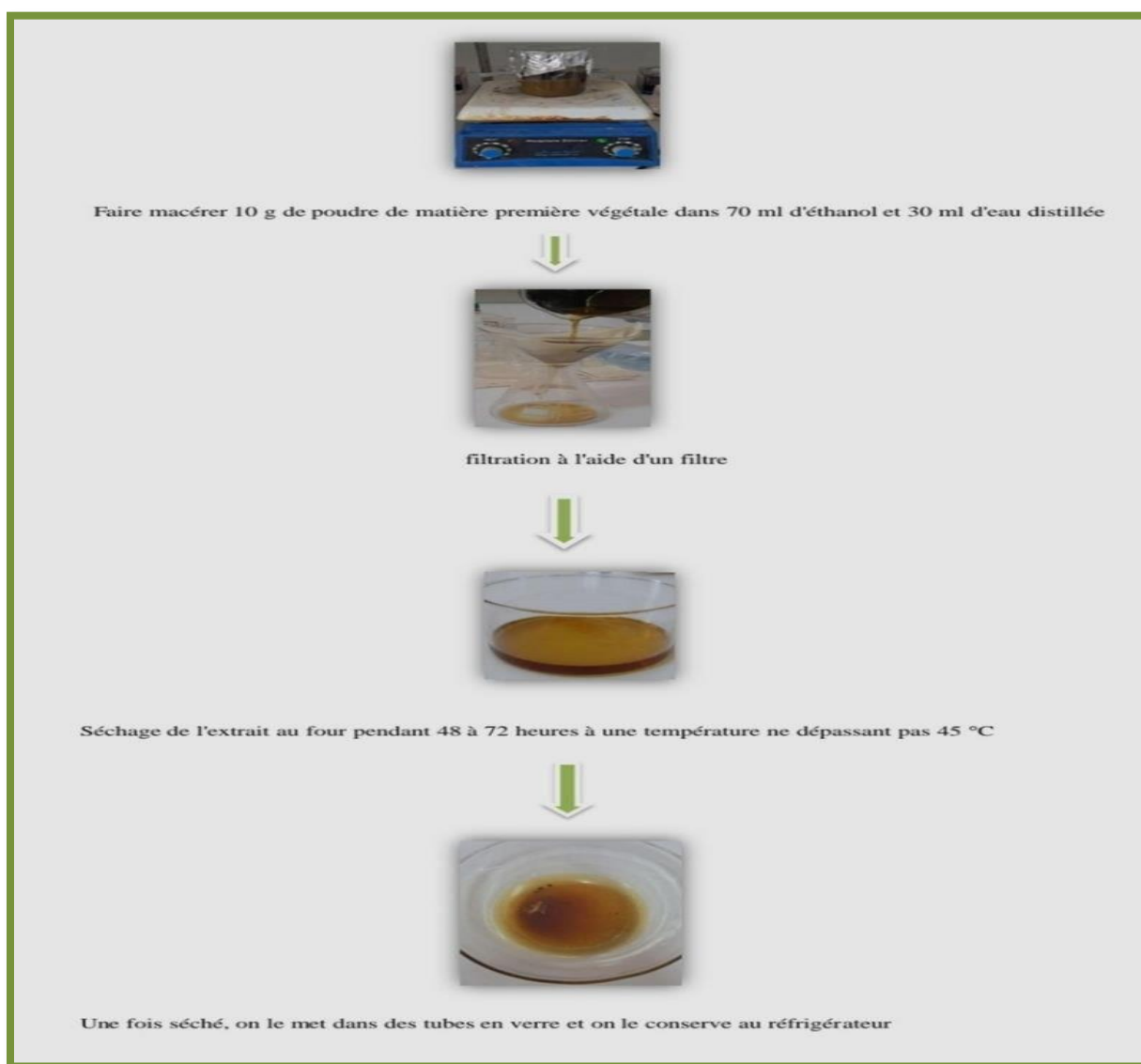


Figure 14 : Schéma montrant le processus d'extraction des parties de la plante *Centaureum erythraea*. (original).

2.2. Dosage des composés phénoliques:

2.2.1. Dosage de polyphénols totaux:

La méthode décrite par **Chouikh et Rebiai (2020)** a été adoptée, avec quelques légères modifications . Pour chaque extrait, 0,2 ml a été mélangé à 1 ml de réactif Folin-Ciocalteu (10 %). Ensuite, 0,8 ml d'une solution de Na_2CO_3 à 7,5 % ont été ajoutés à tous les mélanges dans chaque tube . Ces mélanges ont ensuite été incubés à température ambiante, à l'abri de la lumière, pendant 30 minutes. L'absorbance a été mesurée à 760 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. Une courbe d'étalonnage a été établie à l'aide de solutions d'acide gallique à des concentrations comprises entre 0,005 et 0,02 mg/ml.

2.2.2. Dosage de flavonoïdes:

La teneur en flavonoïdes a été déterminée par une méthode colorimétrique utilisant du chlorure d'aluminium (**Chouikh et al., 2018**). Nous avons apporté quelques modifications à cette méthode : 0,75 ml d'échantillon ont été mélangés à 0,75 ml d'une solution d' AlCl_3 (2 %). Après incubation pendant une heure à température ambiante dans l'obscurité, l'absorbance a été mesurée à $\lambda = 420$ nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Vis. La quercétine a été utilisée comme référence (0,01 à 0,04 mg/ml) .

2.2.3. Dosage de tanins condensés:

Conformément à la méthode décrite par **Tlili, (2015)** avec quelques modifications, on ajoute 0,1 ml de chaque échantillon ou étalon à 0,75 ml de solution de phénol (à 4 % dans du méthanol) et à 0,375 ml d'acide chlorhydrique concentré (HCl). Le mélange est incubé pendant 15 minutes, puis l'absorbance est mesurée à 500 nm. Les concentrations de tanins sont déterminées à partir des courbes d'étalonnage établies en utilisant la catéchine a été utilisée comme référence (0-0,5 mg/ml).

2.3. Biosynthèse des nanoparticules d'argent (AgNPs):

Le procédé de synthèse débute par la préparation d'une solution de nitrate d'argent (AgNO_3) à 10 mM, obtenue en dissolvant 2,5 g de nitrate d'argent dans 66 mL d'eau distillée. Le mélange doit être conservé à l'abri de la lumière dans un récipient opaque. Parallèlement, deux extraits végétaux (1 et 2) sont préparés à une concentration de 5 mg/mL chacun (50 mg d'extrait dans 10 mL d'eau). Pour la réaction, deux expériences distinctes sont réalisées : dans

la première, un mélange de 66 mL de solution de nitrate d'argent et de 6,6 mL d'extrait végétal 1 est préparé. Ce mélange est ensuite soumis à une agitation magnétique continue à 75 °C pendant 30 à 60 minutes. La formation de nanoparticules est confirmée par le changement de couleur de la solution, qui devient brun foncé, indiquant la bioréduction des ions argent. Les particules obtenues sont ensuite purifiées par centrifugation à 5 000 tr/min pendant 30 minutes, et le précipité est lavé trois fois à l'eau distillée afin d'éliminer tout résidu. Dans le second cas, toutes les mêmes étapes sont répétées en utilisant l'extrait de plante 2 (au lieu de 1) dans les mêmes conditions (**Figure 15**) (**Mahboub, 2023**).

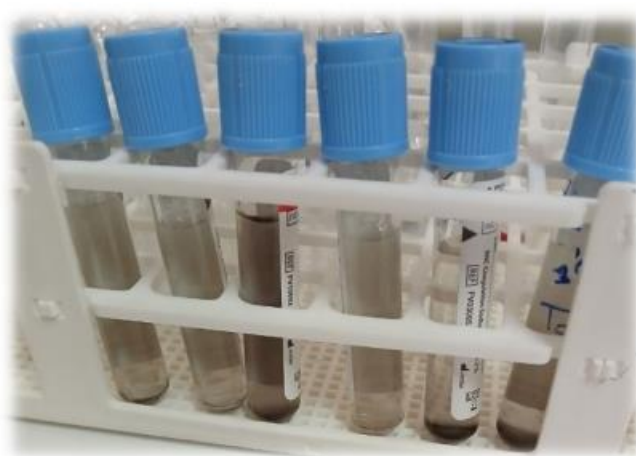


Figure 15: biosynthèses des nanoparticules d'argent (AgNPs) (**original**).

2.4. Evaluation des activités biologiques :

2.3.1. Activité antioxydant:

L'activité antioxydante a été évaluée par deux méthodes différentes : piégeage des radicaux libres (DPPH) et pouvoir antioxydant réducteur ferrique (FRAP)

2.4.1.1. Test de DPPH:

L'activité antioxydante des extraits a été évaluée selon la méthode décrite par **Alia et al. (2021)**, avec quelques légères modifications. Pour chaque extrait à différentes concentrations (1, 2.5, 5, 7.5, 10 mg/ml), 0,75 ml a été mélangé à 0,75 ml de solution de DPPH (0,1 mmol) dans de l'éthanol. Après incubation pendant 15 minutes à température ambiante dans l'obscurité, l'absorbance a été mesurée à 517 nm. L'activité inhibitrice a été calculée selon la méthode décrite par **Chaouche et al., (2013)**.

2.4.1.2. Test de FRAP :

La capacité antioxydant, c'est-à-dire le pouvoir réducteur du fer (Fe^{3+}), est évaluée dans les extraits selon le protocole décrit par **Bougandoura et Bendimerad, (2013)** avec quelques modifications. Dans des tubes à essai, on introduit 1 mL de l'extrait à différentes concentrations (0-0,7 mg/mL), ainsi que 0,625 mL d'une solution de ferricyanure de potassium ($\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$) à 1 % (m/v) et 0,625 mL d'une solution tampon phosphate à 0,1 mol/L (pH = 6,6). Après agitation, les tubes sont incubés au bain-marie à 50°C pendant 20 minutes. Ensuite, on ajoute 0,625 mL d'acide trichloracétique ($\text{C}_2\text{HCl}_3\text{O}_2$) à 10 % pour stopper la réaction, et le mélange est centrifugé à 3000 tr/min pendant 10 minutes. Par la suite, 0,625 mL de surnageant est mélangé à 0,625 mL d'eau distillée et 0,125 mL d'une solution aqueuse de chlorure ferrique ($\text{FeCl}_3, 6\text{H}_2\text{O}$ pur) à 0,1 % (m/v). La lecture est effectuée en mesurant l'absorbance à 700 nm par rapport à un blanc contenant les mêmes quantités de réactifs, en remplaçant l'extrait par de l'eau distillée. Une augmentation de cette absorbance correspond à un accroissement du pouvoir réducteur des extraits testés. La courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique dont l'absorbance a été mesurée dans les mêmes conditions que les échantillons (**Haddoudi et al., 2014**).

2.5. Activité anti inflammatoire (BSA):

Le test anti-dénaturation a été réalisé selon la méthode décrite par **Juvekar et al., (2009)**, comme suit, avec de légères modifications apportées par **Betote et al., (2020)**. Le mélange réactionnel était composé d'extraits aqueux, hydroéthanoliques et éthanoliques ou de diclofénac sodique à cinq concentrations (100, 250, 500, 750, 1000 $\mu\text{g/mL}$) et d'une solution aqueuse à 5 % d'albumine sérique bovine. Le mélange a été incubé à 37 °C pendant 20 min, puis chauffé à 70 °C pendant 15 min. Après refroidissement des échantillons, la turbidité a été mesurée à 660 nm à l'aide d'un spectrophotomètre Thermo-Fisher-Scientific (Evolution 300 UV-VIS). L'expérience a été répétée en trois exemplaires. Les données recueillies ont servi à calculer les pourcentages d'inhibition (%I) et la concentration inhibitrice 50 (CI50) pour chaque extrait (**Betote et al., 2024**).

2.6. Activité antidiabétique :

2.6. 1. Test D'inhibition De L'alpha-Amylase *in vitro*:

L'activité inhibitrice de l'enzyme α -amylase a été évaluée dans un extrait végétal obtenu par extraction par ultrasons et macération, à l'aide d'une méthode colorimétrique modifiée à

base d'amidon et d'iode, adaptée à un test sur plaque de microtitrage à 96 puits. Cette méthode repose sur la capacité de l'enzyme α -amylase à décomposer l'amidon en sucres plus simples. À mesure que l'amidon se décompose, l'intensité de la couleur bleue du composé formé entre l'amidon et l'iode diminue. Par conséquent, la quantité d'amidon restante après la réaction enzymatique peut être mesurée par spectrométrie à 630 nm, ce qui permet d'estimer l'inhibition de l'enzyme par l'extrait testé.

Une solution de substrat d'amidon a été préparée en dissolvant 200 mg d'amidon soluble dans 25 ml de solution 0,4 M d'hydroxyde de sodium (NaOH), puis en la chauffant à 100 °C pendant 5 minutes pour assurer une dissolution complète. La solution a ensuite été refroidie à température ambiante, son pH a été ajusté à 7,0 et le volume final a été porté à 100 ml à l'aide d'eau distillée (**Chakrabarti et al., 2014**).

L'extrait végétal obtenu par extraction ultrasonique a d'abord été préparé sous forme de solution mère à une concentration de 40 mg/ml à l'aide d'eau distillée stérile contenant 1 % de diméthylsulfoxyde (DMSO) afin d'améliorer la solubilité et d'assurer une dispersion homogène. À partir de cette solution mère, une série de concentrations de travail a été préparée pour obtenir des concentrations de 20, 10, 5 et 2,5 mg/ml en vue du test d'inhibition (**Granados-Guzmán et al., 2022**). Pour le test sur microplaque, 40 μ L de substrat d'amidon ont été ajoutés à chaque puits d'une plaque à 96 puits, suivis de 20 μ L d'extrait végétal à la concentration spécifiée. L'acarbose a été utilisé comme inhibiteur témoin positif, tandis que le puits La réaction a été arrêtée par l'ajout de 80 μ L d'HCl 0,1 M, suivi de l'ajout de 100 μ L d'une solution d'iode-iodure de potassium (IKI) (2,5 mM) afin de faire apparaître la coloration bleue de l'amidon résiduel. L'absorbance de chaque puits a ensuite été mesurée à 630 nm à l'aide d'un lecteur de microplaques. Le pourcentage d'inhibition de l' α -amylase a été calculé à l'aide de l'équation suivante :

$$\% \text{ d'inhibition} = ((A - B) / A) \times 100$$

où A représente l'absorbance de la réaction témoin contenant l'enzyme et le substrat sans inhibiteur, et B représente l'absorbance mesurée en présence de l'extrait végétal. Toutes les expériences ont été réalisées en trois exemplaires, et les résultats ont été exprimés sous forme

de moyenne $\pm$ écart-type afin de garantir la fiabilité et la reproductibilité des données (Khadayat et al., 2020).

2.7. Activité antidiabétique *In vivo*:

2.7.1. Test toxicité:

Une étude de toxicité aiguë a été menée afin de déterminer la dose létale médiane (DL50) d'extrait. Les souris ont été mises à jeun pendant la nuit, avec uniquement de l'eau à disposition, puis l'extrait leur a été administré par voie orale en dose unique à une concentration différente (3 000 mg/kg). Les animaux ont été placés individuellement dans des cages transparentes et surveillés pendant 24 heures afin de détecter toute mortalité potentielle ainsi que tout changement de comportement, tel qu'une augmentation ou une diminution de l'activité motrice, une ataxie, des tremblements, des convulsions, une sédation, un larmoiement ou une mort subite. Le poids a été contrôlé quotidiennement pendant 14 jours. Ce type d'étude vise à déterminer l'indication thérapeutique d'un médicament donné et à garantir son innocuité *in vivo* (Lachkar et al., 2016).

2.7.2. Induction du diabète:

Pour induire le diabète expérimental, les rats ont d'abord été soumis à un jeûne de 12 heures minimum. Par la suite, une solution d'alloxane monohydraté (Sigma, USA) a été préparée en dissolvant le produit dans une solution saline ajustée à pH 4,5. Chaque rat a reçu une injection intrapéritonéale unique d'alloxane à la dose de 150 mg/kg de poids corporel. Six heures après l'administration, une solution glucosée à 20 % (5 à 10 mL) a été administrée par voie orale à chaque rat afin de prévenir l'hypoglycémie aiguë. Ensuite, durant les 24 heures suivant l'injection, les animaux ont eu libre accès à une solution de glucose à 5 %. Après une période de sept jours, la glycémie des rats a été déterminée à l'aide d'un glucomètre (Bionime, Suisse) après prélèvement sanguin au niveau de l'extrémité de la queue. Les rats présentant une glycémie supérieure à 2 g/L ont été considérés comme diabétiques et retenus pour l'étude (Figure 16) (Belhadj et al., 2015).



Figure 16 : Injection d'alloxane(original).

2.7.3. Répartition des groupes:

Les rats adultes mâles sont subdivisés en 7 groupes selon le traitement qu'ils reçoivent.

Chaque groupe (3 rats) reçoit une alimentation standard et une eau ordinaire à volonté. On distingue 7 groupes distincts :

- Un groupe 1 de rats contrôle (**Témoin**) ; Elle a reçu une alimentation standard et de l'eau normale, ainsi qu'une administration orale de solution saline physiologique.
- Un groupe 2 de rats rendus diabétique par l'alloxane à raison de 150 mg/kg de PC ; Elle a reçu une alimentation standard et de l'eau normale, ainsi par gavage orale de solution saline physiologique.
- Un groupe 3; Rats diabétiques traités par voie orale avec 2 mg/kg de poids corporel de metformine.
- Un groupe 4 (Allox + extrait 1 de *C. erythraea*) ; Elle a reçu par gavage voie orale un extrait *C. erythraea* dissous dans une solution saline, à une dose de 300 mg/kg de poids corporel, pendant 15 jours.

- Un groupe 5 (Allox + extrait 2 de *C. erythraea*) ; Elle a reçu par gavage voie orale un extrait *C. erythraea* dissous dans une solution saline, à une dose de 300 mg/kg de poids corporel, pendant 15 jours.
- Un groupe 6 Rats diabétiques induits par l'alloxane traités avec un nano-extrait 1 de *C. erythraea* ; Ce groupe a reçu, par voie orale (gavage), un extrait nano-forme de la plante *C. erythraea* dissous dans une solution saline, pendant 15 jours.
- Un groupe 7 Rats diabétiques induits par l'alloxane traités avec un nano-extrait 2 de *C. erythraea* ; Ce groupe a reçu, par voie orale (gavage), un extrait nano-forme de la plante *C. erythraea* dissous dans une solution saline, pendant 15 jours.

L'évolution du poids des rats des différents lots a été contrôlée durant toute l'expérience : avant et après l'induction du diabète alloxanique ainsi que pendant toute la durée du traitement.

2.7.4. Sacrifice des rats et prélèvement des échantillons:

a. Sacrifice des animaux

À l'issue de la période de traitement, les animaux sont soumis à un jeûne hydrique d'une nuit entière. Le lendemain matin, leur poids corporel terminal est enregistré. Les rats sont ensuite légèrement anesthésiés par inhalation de chloroforme, puis immédiatement sacrifiés par décapitation. Cette procédure est menée avec rigueur afin de minimiser le stress des animaux, de garantir une exhalation sanguine maximale et de permettre une excision rapide des organes.

b. Prélèvement et préparation des échantillons

Échantillons sanguins : Le sang est collecté immédiatement après le sacrifice dans des tubes à essai. Les échantillons sont ensuite centrifugés à 5000 tr/min pendant 10 minutes. Le sérum ainsi décanté est délicatement aliquoté, puis congelé et conservé à -20 °C en vue des différents dosages biochimiques ultérieurs.

Échantillons tissulaires (Foie et Pancréas) : Juste après le prélèvement sanguin, le foie et le pancréas sont rapidement excisés. Ils sont immédiatement rincés dans une solution saline

physiologique glacée (NaCl 0,9 %) pour éliminer les résidus de sang, puis pesés après séchage sur papier filtre. Les organes sont ensuite conditionnés selon les besoins analytiques :

Des fragments sont immédiatement immergés dans une solution de formol à 10 % pour les examens histopathologiques.

Le reste des tissus est congelé pour les analyses biochimiques.

2.7.5. Étude histologique :

À la fin de l'expérimentation, les rats ont été sacrifiés et les organes d'intérêt ont été soigneusement prélevés. Les tissus ont été immédiatement fixés dans une solution de formol à 10 % afin de préserver leur architecture cellulaire et tissulaire. Après la fixation, les échantillons ont été préparés selon les techniques histologiques conventionnelles comprenant la déshydratation progressive, la clarification et l'inclusion en paraffine. Des coupes fines ont ensuite été réalisées à l'aide d'un microtome et déposées sur des lames de microscope.

Pour mettre en évidence les différentes structures cellulaires et tissulaires, les coupes ont été soumises à une coloration à l'hématoxyline-éosine (H&E), méthode de référence en histopathologie. Cette coloration permet une visualisation claire des noyaux cellulaires, colorés en bleu-violet par l'hématoxyline, ainsi que du cytoplasme et des structures extracellulaires, qui prennent une teinte rose sous l'action de l'éosine.

Les lames histologiques ainsi préparées ont été observées au microscope optique équipé d'une caméra numérique. Les images obtenues ont été visualisées sur un écran d'ordinateur et utilisées pour l'évaluation des éventuelles modifications histopathologiques induites par le diabète ainsi que pour l'appréciation de l'effet du traitement administré.

2.8. Techniques d'exploration physiologique:

Les fragments du foie (1 g) ont été broyés dans 9 ml de sérum salé (NaCl 0,9%) à l'aide d'un homogénéisateur Ultra-Turax. Les contenus des tubes ont été centrifugés à 10 000 tours/min à froid durant 10 min afin de récupérer le cytosol (surnageant). Ce dernier servira par la suite pour le dosage des protéines totales tissulaires, la détermination du taux de peroxydation lipidique (TBARS) ainsi que la mesure de l'activité de la catalase (CAT). Cet antioxydant enzymatique, hautement conservé et présent chez l'ensemble des mammifères,

représente une composante majeure des systèmes de défense cellulaires contre les attaques oxydatives (Réggami, 2016).

2.8.1. Dosage du taux de peroxydation lipidique tissulaire (TBARS):

La peroxydation lipidique a été évaluée par la méthode des substances réactives à l'acide thiobarbiturique (TBARS). Cette méthode repose sur la réaction du malondialdéhyde (MDA), principal marqueur de la peroxydation lipidique, avec l'acide thiobarbiturique (TBA) pour former un complexe chromogène mesurable par spectrophotométrie (Yagi, 1976).

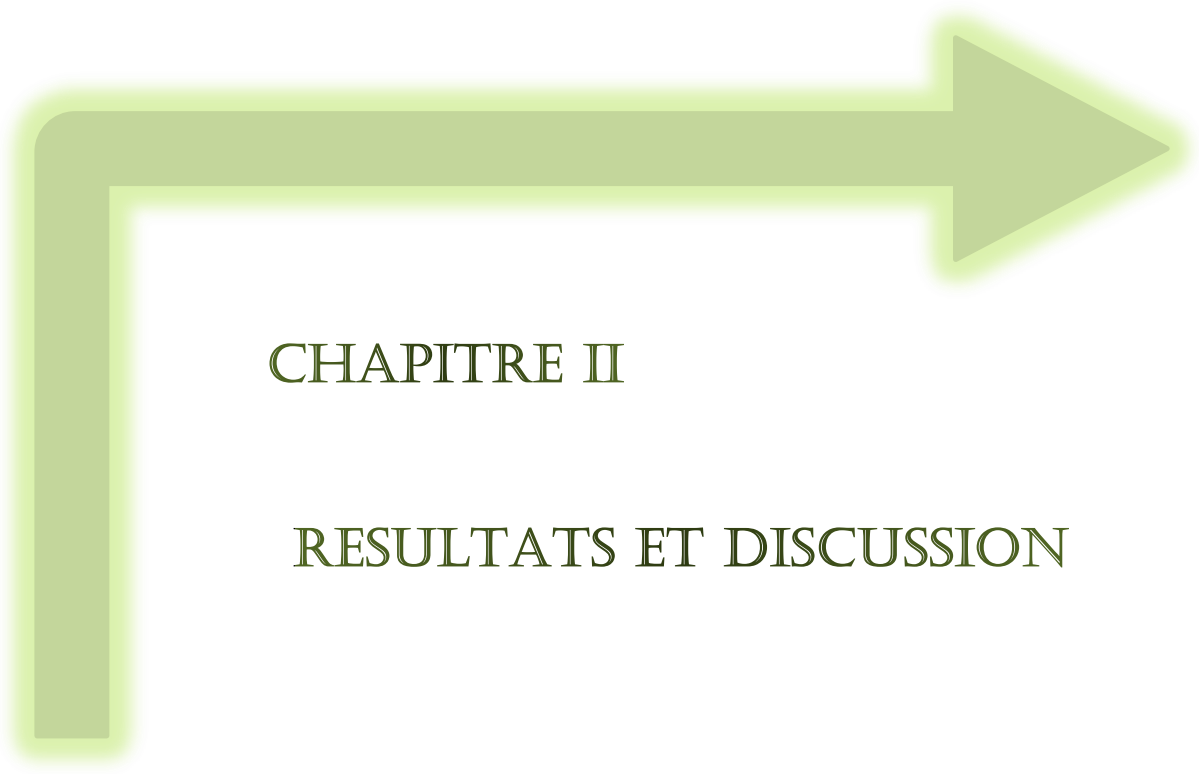
L'analyse a été effectuée dans des tubes en plastique maintenus à froid. Les réactifs ont été ajoutés successivement comme suit :

_125 µL de cytosol hépatique .

_50 µL de tampon TBS (Tris 50 mM, NaCl 150 mM, pH 7,4) .

_125 µL d'acide trichloroacétique (TCA) destiné à la déprotéinisation du cytosol.

Après homogénéisation au vortex, les échantillons ont été centrifugés à 1000 tours/min pendant 10 minutes. Ensuite, 200 µL du surnageant ont été récupérés et mélangés à 40 µL de HCl (0,6 M) ainsi qu'à 160 µL de TBA. Les mélanges obtenus ont été incubés à 80 °C durant 10 minutes. L'absorbance a été mesurée à une longueur d'onde de 530 nm. L'intensité de cette absorbance, correspondant à la formation du complexe TBA–MDA, est directement proportionnelle à la concentration en MDA et reflète ainsi le degré de peroxydation lipidique des tissus (Tlili, 2020).



CHAPITRE II

RESULTATS ET DISCUSSION

Dans cette partie, les résultats obtenus au cours de l'étude expérimentale seront présentés et analysés, avec une discussion des différentes variations observées et une comparaison avec les résultats d'autres études, afin d'évaluer l'efficacité du traitement étudié et son impact sur les différents paramètres biologiques.

1. Rendement:

Nos résultats expérimentaux ont révélé un rendement d'extraction de 30,2 % pour l'extraction assistée par ultrasons (UAE) et de 28,5 % pour la macération. En comparant nos valeurs avec l'étude menée sur *Centaureum erythraea* par **El Ouadni et al. (2024)**, nous constatons que nos rendements sont supérieurs à leurs résultats, qui étaient de 21,3 % pour la décoction et 18,03 % pour le Soxhlet. Sur le plan technique, cette différence s'explique par l'efficacité de la cavitation acoustique des ultrasons qui brisent les parois cellulaires, évitant ainsi la saturation rapide du solvant observée lors d'une décoction classique. Par ailleurs, ces variations de rendement ne sont pas uniquement liées aux méthodes extractives, mais dépendent également de facteurs environnementaux. En effet, le climat, la nature du sol, la période de récolte ainsi que les conditions de séchage de la matière végétale influencent directement la concentration des métabolites secondaires dans la plante, ce qui explique les écarts de rendement d'une étude à l'autre.

2. Dosage des composés phénoliques:

Les composés phénoliques représentent des métabolites secondaires d'origine végétale dotés d'une importante activité antioxydante, largement reconnue pour leurs effets bénéfiques sur la santé. Les teneurs en polyphénols totaux, en flavonoïdes totaux ainsi qu'en Tannins totaux des extraits (Extraction assistée par ultrasons et extraits par macération) les résultats obtenus mettent en évidence une variabilité du contenu en polyphénols totaux entre les différents extraits étudiés (**Del Rio D et al., 2013**).

2.1. Dosage de polyphénols totaux :

La teneur totale en polyphénols a été déterminée par une méthode spectroscopique, adaptée de celle décrite par **Chouikh et Rebiai (2020)**, à l'aide du réactif de Folin-Ciocalteu. Les résultats ont été exprimés en milligrammes d'équivalents d'acide gallique par gramme d'extraits (mg EAG/g). La quantité de polyphénols a été déterminée à l'aide de l'équation de

régression linéaire obtenue à partir de la courbe d'étalonnage établie avec de l'acide gallique (figure 17).

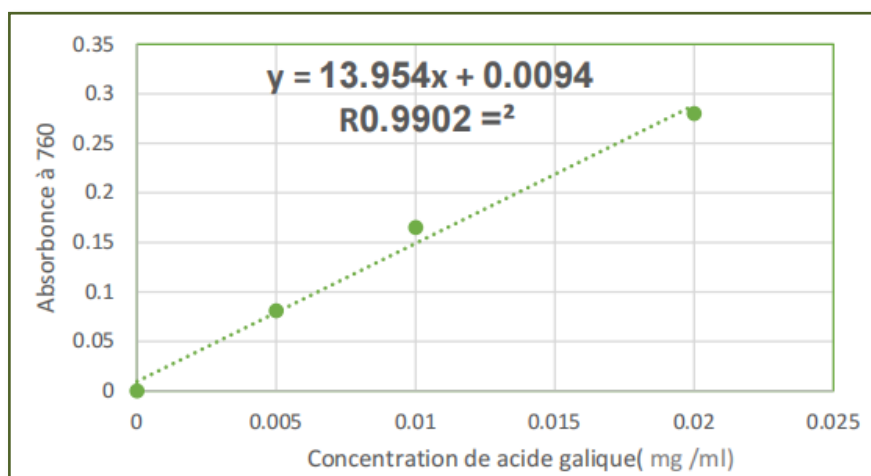


Figure 17 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux.

Le dosage des polyphénols totaux des deux extraits étudiés a révélé la présence de quantités variables de composés phénoliques. D'après les résultats présentés dans le **Figure 18**, l'extrait 1 (Préparation Extraction assistée par ultrasons) a enregistré la teneur la plus élevée avec une valeur de $4,01 \pm 0,11$ mg EAG/g, tandis que l'extrait 2 (Préparation des extraits par macération) a présenté une teneur légèrement inférieure estimée à $3,7 \pm 0,06$ mg EAG/g. Cette différence entre les deux extraits indique une variation dans leur capacité à extraire ou à concentrer les composés phénoliques présents dans la matière végétale étudiée. Toutefois, les deux extraits montrent la présence notable de polyphénols, ce qui confirme la richesse relative de la plante en métabolites secondaires.

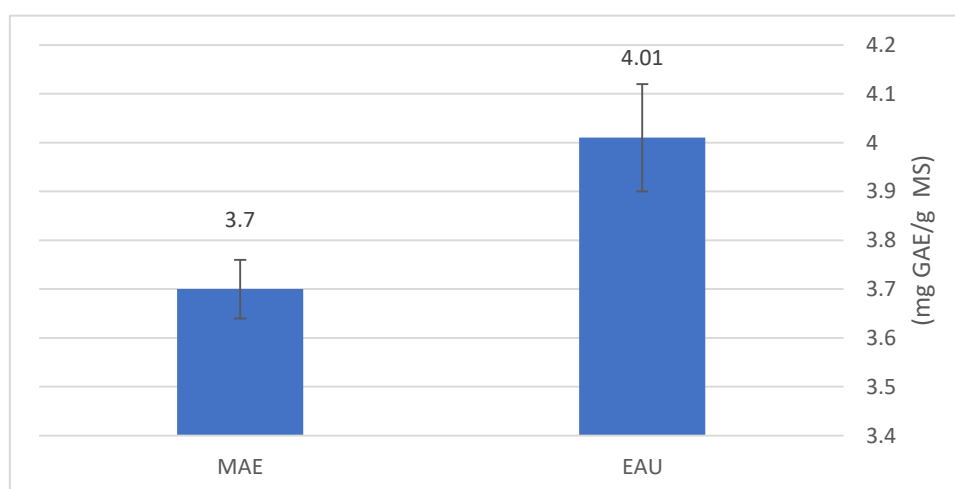


Figure 18: Teneurs en polyphénols totaux

La comparaison de ces deux valeurs avec celles rapportées dans des études antérieures **Merghem, et Dahamna,(2020)** révèle que nos valeurs dépassent significativement celles précédemment enregistrées, qui n'excédaient pas $61,52 \pm 5,93 \mu\text{g/mL}$ (environ $0,0615 \text{ mg/mL}$), malgré l'utilisation du méthanol comme solvant d'extraction commun à toutes les études comparatives. Ceci exclut l'influence du type de solvant pour expliquer cette différence importante.

La différence observée entre les deux extraits peut s'expliquer par plusieurs facteurs, notamment la méthode et la durée d'extraction, ainsi que la polarité des composés phénoliques présents dans l'échantillon végétal. Certains solvants ont une plus grande capacité à dissoudre ces composés, ce qui influe directement sur le rendement de l'extrait. De plus, les conditions

environnementales de croissance de la plante peuvent influencer la biosynthèse de ces métabolites secondaires (**Alara et al., 2021**).

2.2. Dosage des flavonoïdes

Les flavonoïdes ont été dosés par colorimétrie (**Chouikh et al., 2018**). À partir d'une courbe d'étalonnage, leur teneur dans les parties aériennes de la plante a été calculée (**Figure 19**).

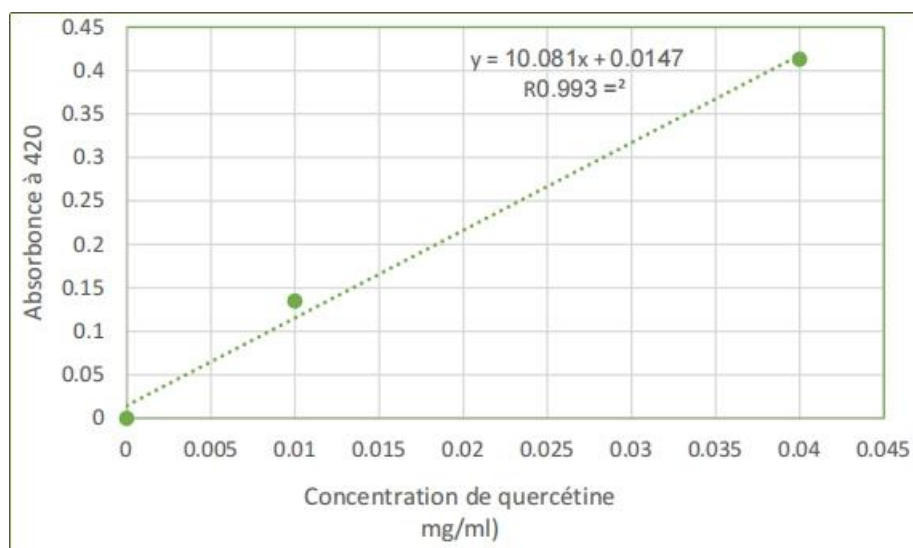


Figure 19: Courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonoïdes.

La teneur en flavonoïdes (**le Figure 20**) montre que le premier extrait contient une grande quantité de flavonoïdes, estimée à $0,33 \pm 0,002 \text{ mg équivalent quercétine/g}$, ce qui est la

quantité la plus élevée par rapport au deuxième extrait, estimée à $0,26 \pm 0,03$ mg équivalent quercétine/g.

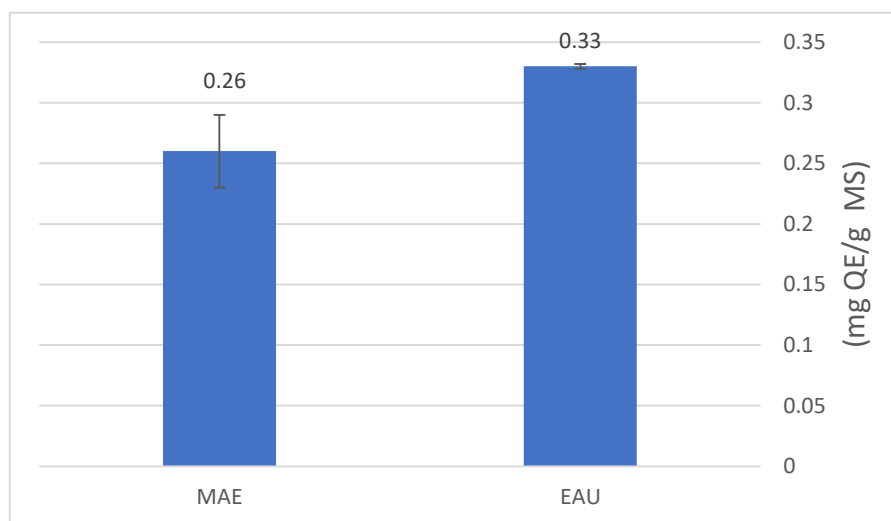


Figure 20 : Teneur en flavonoïde totaux.

En comparant la teneur en flavonoïdes totaux obtenue dans cette étude, qui varie entre (0.26 ± 0.03) et (0.33 ± 0.002 mg QE/g dw), il apparaît qu'elle est nettement inférieure à celle rapportée par l'étude de **Mihaylova et al. (2019)** sur les extraits de *C. erythraea* Rafn. En effet, leurs valeurs oscillaient entre (1.18 ± 0.07 mg QE/g dw) pour l'extrait assisté par micro-ondes et (3.35 ± 0.03 mg QE/g dw) pour la teinture.

Cette divergence notable peut être attribuée à plusieurs facteurs, notamment l'origine géographique de la plante, les conditions environnementales, ainsi que les méthodes et les solvants d'extraction utilisés dans chaque étude.

2.3. Dosage de tanins condensé

La détermination de la teneur en tanins s'est appuyée sur une courbe d'étalonnage préparée avec la catéchine. Les résultats finaux, présentés dans **la Figure 21**, sont formulés en milligramme (mg) d'équivalent catéchine par gramme d'extrait (mg EC/g).

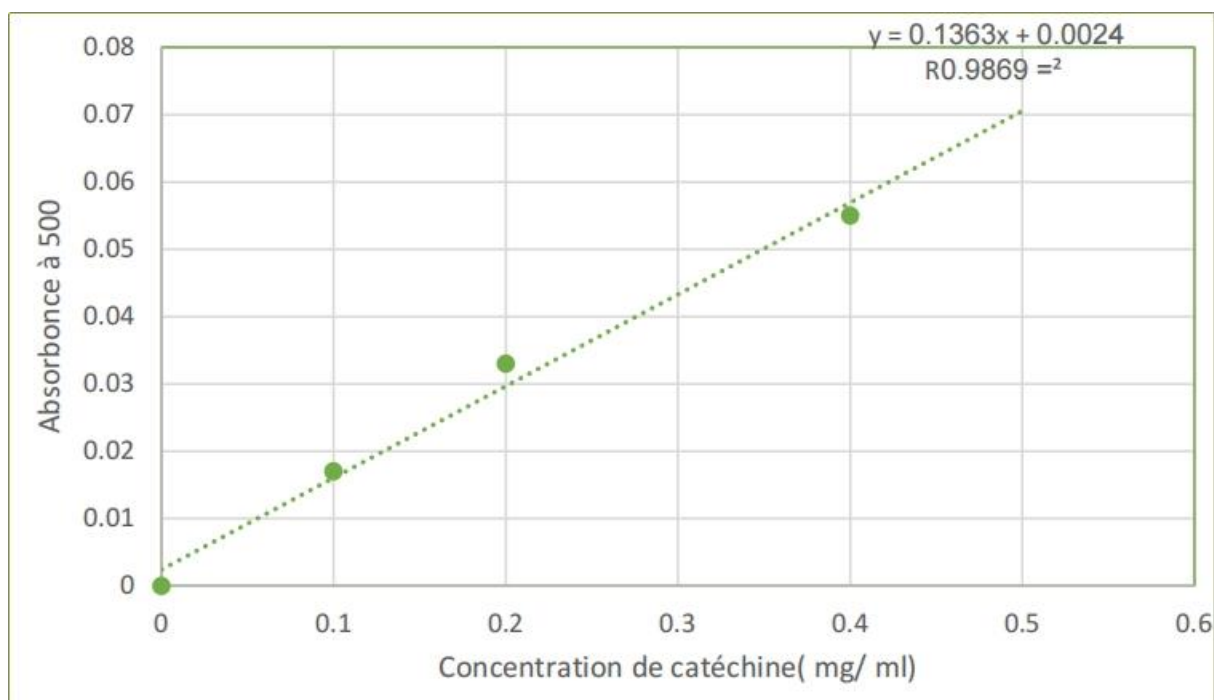


Figure 21 : Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des tanins.

Les résultats de notre étude dans le **Figure 22**, menée sur les parties aériennes de *C. erythraea*, ont révélé une variation quantitative significative de la teneur en tannins condensés selon la méthode d'extraction utilisée. Plus précisément, l'extrait obtenu par ultrasons a présenté la valeur la plus élevée ($2,53 \pm 0,58$ mg EC/ g), comparativement à l'extrait obtenu par macération ($1,64 \pm 0,17$ mg EC/ g). Cette augmentation quantitative démontre l'efficacité de l'extraction par ultrasons.

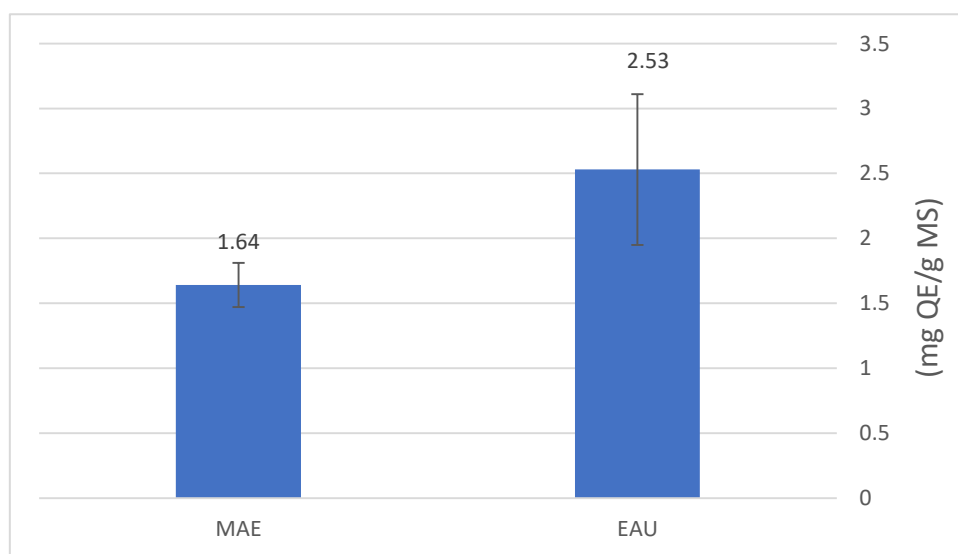


Figure 22 : Teneurs en tanins condensés.

En comparant nos résultats à la valeur de $12,07 \pm 0,97$ mg EC/g rapportée par **Sultani (2024)** pour les parties aériennes de *C. erythraea*, un écart quantitatif a été observé. Bien que l'extraction par ultrasons ait amélioré le rendement ($2,53 \pm 0,58$ mg EC/g) par rapport au trempage ($1,64 \pm 0,17$ mg EC/g), nos deux concentrations restent significativement inférieures à celle rapportée dans l'étude de référence.

Cette variation quantitative peut s'expliquer par plusieurs facteurs, notamment environnementaux et techniques. Sur le plan environnemental, les variations climatiques, le type de sol et le stade phénologique de la plante influencent directement la biosynthèse et l'accumulation des tanins. Sur le plan technique, le choix du solvant, le rapport solide/liquide et les conditions de séchage de la biomasse demeurent des facteurs clés expliquant la différence de rendement observée entre les deux études.

3. Activité antioxydante :

3.1. Test du DPPH

Le test du DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle) a été utilisé pour évaluer l'activité antioxydante des différents extraits de *Centaurium erythraea*. Ce test repose sur la mesure spectrophotométrique de la réduction du radical DPPH•, qui se manifeste par un changement de couleur, passant du violet (DPPH•) au jaune (DPPH-H). Cette réduction est attribuée à la présence de composés antiradicalaires dans les extraits. Une valeur d'IC₅₀ plus faible indique une activité antioxydante plus élevée (**Kandouli C, 2017**) **Figure 23**.

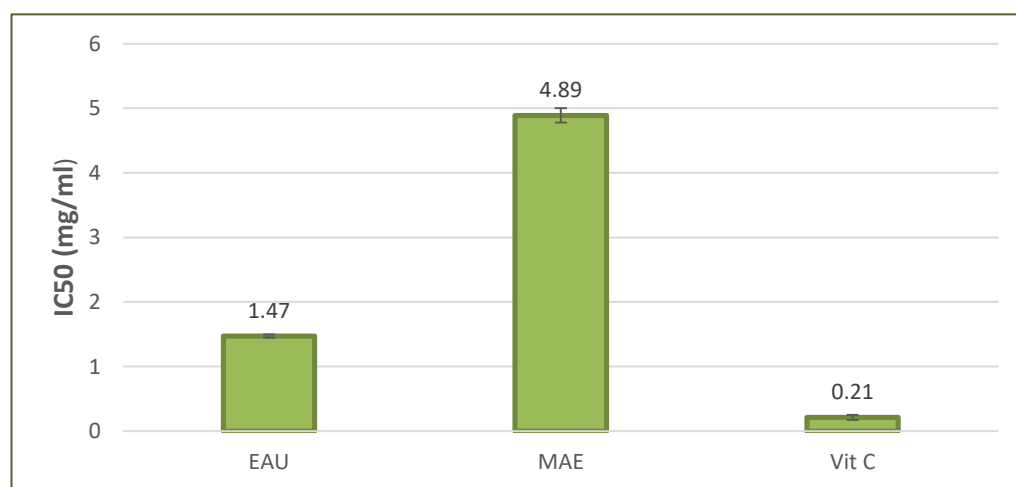


Figure 23: Résultats des IC₅₀ du radical DPPH

Les résultats du test DPPH ont montré une différence de capacité antioxydante entre les deux échantillons ;

L'Ext 1 a présenté une valeur d'IC₅₀ de $1,47 \pm 0,025$ mg/ml, une valeur relativement faible par rapport à l'Ext 2, ce qui indique que cet extrait possède une activité antioxydante notable ainsi qu'une bonne capacité de neutralisation des radicaux libres .

En revanche, l'Ext 2 a enregistré la valeur d'IC₅₀ la plus élevée, soit $4,89 \pm 0,11$ mg/ml, ce qui traduit une activité antioxydante plus faible comparativement à l'extrait 1 , puisqu'il nécessite une concentration plus importante pour atteindre le même pourcentage d'inhibition (50 %).

Les résultats de l'évaluation de l'activité antioxydante par le test DPPH ont révélé une variation significative de la capacité inhibitrice entre les deux extraits étudiés et le composé de référence (Vitamine C). La vitamine C a enregistré la plus faible concentration inhibitrice médiane (IC₅₀) avec une valeur de $0,21 \pm 0,04$ mg/mL, confirmant ainsi sa haute efficacité en tant qu'antioxydant standard.

En ce qui concerne les extraits testés, le premier extrait (Ext 1) a montré une bonne efficacité en enregistrant une valeur d'IC₅₀ de $1,47 \pm 0,025$ mg/mL, surpassant nettement le second extrait (Ext 2) qui a marqué une valeur plus élevée de $4,89 \pm 0,11$ mg/mL. Ces résultats indiquent que l'extrait Ext 1 possède une plus grande capacité de piégeage des radicaux libres par rapport à l'Ext 2. Bien que les deux extraits soient moins efficaces que le composé de référence, l'Ext 1 reste prometteur, affichant une activité environ trois fois supérieure à celle de l'autre extrait. Les résultats du test d'inhibition des radicaux libres (DPPH) pour les extraits étudiés ont montré une différence marquée par rapport aux études précédentes réalisées sur la même espèce végétale (*Centaurium erythraea*) (El Ouadni,et al., 2024). Les extraits étudiés ont enregistré des valeurs IC₅₀ de $1,47 \pm 0,025$ mg/mL et $4,89 \pm 0,11$ mg/mL pour le premier et

le deuxième extrait, respectivement, valeurs qui reflètent une activité antioxydante modérée. À l'inverse, les résultats de référence indiquaient une activité très élevée avec des valeurs IC₅₀ proches de $0,208 \pm 0,002$ mg/mL.

La variation d'activité biologique observée dans notre étude résulte de l'influence d'une interaction complexe de facteurs internes et externes. Sur le plan phytochimique, la composition en métabolites secondaires est étroitement liée aux conditions pédologiques et

climatiques spécifiques de la région de récolte. Le type de sol, l'altitude et le stress hydrique jouent un rôle crucial dans la régulation de la synthèse des métabolites secondaires, tels que les composés phénoliques et les flavonoïdes, caractérisés par leurs propriétés antioxydantes.

Les paramètres d'extraction — tels que la température, la durée d'extraction et la polarité du solvant — affectent significativement l'efficacité d'extraction de ces composés. Bien que nos résultats présentent une marge d'erreur plus importante que les études de référence, ils confirment sans équivoque la présence de molécules biologiquement actives dotées d'une remarquable capacité antioxydante.

3.2. Test de FRAP :

L'efficacité des composés trouvés dans les deux extraits étudiés a été évaluée en utilisant la méthode de réduction du ferrique (Fe^{3+}) en ferreux (Fe^{2+}) (**figure24**).

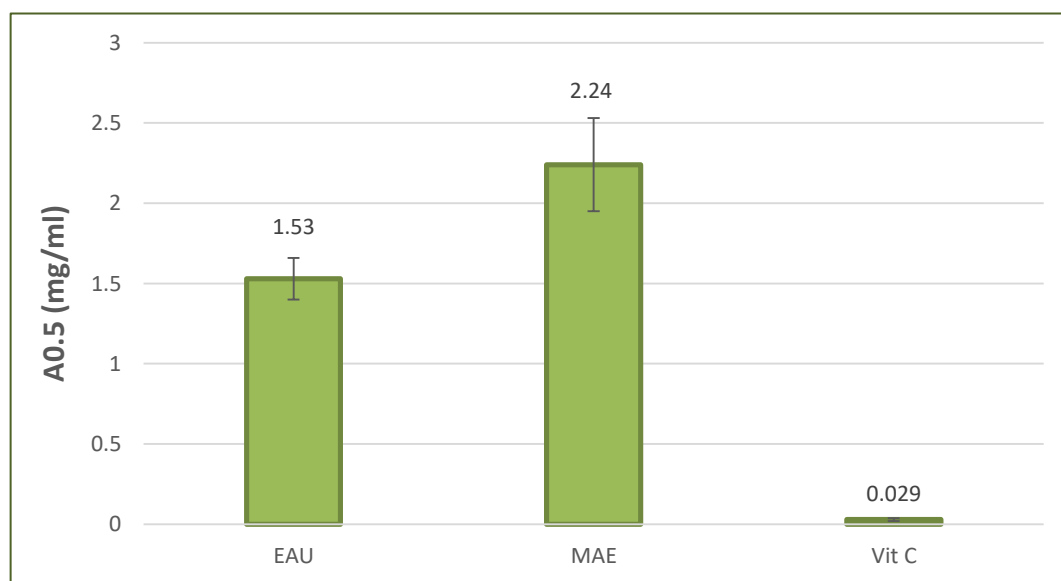


Figure24 : Résultats des A0,5 de la réduction de fer.

Les résultats du test de pouvoir réducteur ferrique (FRAP) ont indiqué que les deux extraits possèdent une activité antioxydante, se manifestant par leur capacité à réduire les ions ferriques, avec une différence nette d'efficacité entre eux. L'Ext 1 a présenté une valeur A0.5 de $1,53 \pm 0,13$ mg/mL, tandis que l'Ext 2 a affiché une valeur A0.5 plus élevée de $2,24 \pm 0,29$ mg/mL. Étant donné qu'une valeur A0.5 plus faible reflète une plus grande capacité réductrice, l'extrait 1 a montré une activité antioxydante plus prononcée que l'extrait 2.

Lors de la comparaison des résultats du test FRAP (facteur de chélation du fer) entre les deux extraits étudiés, une différence significative des valeurs A0,5 a été observée. La vitamine C, en revanche, a présenté la valeur la plus faible, estimée à $0,029 \pm 0,009$ mg/ml.

Conformément au principe du test, qui indique qu'une valeur A0,5 plus faible reflète une capacité de chélation du fer plus élevée, la vitamine C présente l'activité antioxydante la plus importante des deux extraits, suivie de l'extrait 1, puis de l'extrait 2. De plus, la différence significative entre les deux extraits végétaux souligne l'efficacité supérieure de chélation du fer de l'extrait 1 par rapport à l'extrait 2.

Les résultats révèlent que la Vitamine C testée présente le pouvoir réducteur le plus puissant (29 ± 9 ug/mL}), surpassant le Trolox de référence ($54,74 \pm 3,85$ ug/mL}), ce qui atteste de la sensibilité du système réactionnel. En revanche, l'huile essentielle de référence (CEEEO) affiche une efficacité antioxydante nettement supérieure ($65,34 \pm 3,71$ ug/mL}) à celle de nos extraits bruts, Ext 1 (1530 ± 130 ug/mL}) et Ext 2 (2240 ± 290 ug/mL}). Cette supériorité quantitative, documentée par **Aanniz et al. (2025)**, s'explique par la richesse du CEEEO en composés volatils purs (tels que le Menthol et le Carvacrol), contrairement à la complexité matricielle de nos extraits bruts. Néanmoins, l'Ext 1 se distingue par une meilleure dynamique réductrice que l'Ext 2, suggérant une concentration plus élevée en composés phénoliques.

Cette différence est due à la nature des extraits : l'huile essentielle (CEEEO) est un concentré pur de molécules actives (menthol, carvacrol) qui réagissent immédiatement. En revanche, nos extraits sont bruts et complexes, contenant d'autres substances qui diluent les composés phénoliques, ce qui nécessite une concentration plus élevée pour réduire le fer.

4. Test de dénaturation de l'albumine sérique bovine (BSA) :

Le test d'inhibition de la dénaturation des protéines sériques (BSA) vise à évaluer la capacité anti-inflammatoire des extraits de plantes en mesurant leur capacité à stabiliser les protéines et à empêcher leur dénaturation sous l'influence de facteurs stimulants Voir l'image ci-dessous.

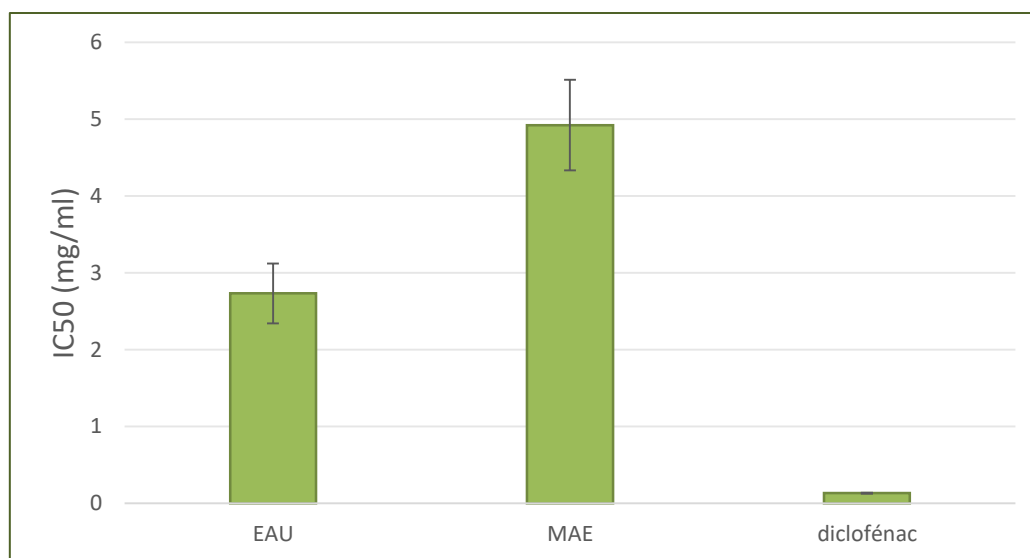


Figure25: Évaluation de l'activité anti-inflammatoire *in vitro* (BSA) des extraits de *C. erythraea* et du diclofénac sodique.

Les résultats du test d'inhibition de la dénaturation de l'albumine sérique bovine (BSA) ont montré une différence notable entre les deux extraits végétaux étudiés en termes d'activité anti-inflammatoire. L'EAU a présenté une valeur de $2,73 \pm 0,39$ mg/mL, tandis que l'MAE a enregistré une valeur plus élevée de $4,92 \pm 0,59$ mg/mL.

Ces résultats indiquent que l'EAU possède une activité inhibitrice plus importante que l'MAE, en raison de sa plus faible concentration nécessaire pour obtenir l'effet recherché. Globalement, les deux extraits ont présenté une capacité à inhiber la dénaturation des protéines, avec une meilleure efficacité observée pour EAU.

Par rapport au diclofénac utilisé comme référence, les deux extraits végétaux ont présenté des valeurs plus élevées. Le dic a enregistré une valeur de $0,13 \pm 0,0049$ mg/mL, tandis que celles des extraits EAU et MAE étaient nettement supérieures. Ces résultats montrent une différence

entre les échantillons étudiés en termes de capacité inhibitrice de la dénaturation des protéines, le dic restant la valeur la plus faible par rapport aux extraits végétaux, ce qui indique une activité inhibitrice plus élevée du dic par rapport aux extraits étudiés.

La comparaison entre les valeurs d'EC₅₀ obtenues dans notre étude et celles rapportées dans l'étude de référence de **Bensaad et al. (2022)** montre une bonne concordance pour le composé de référence (diclofénac sodique), avec une valeur de $0,13 \pm 0,0049$ mg / ml dans notre travail contre $0,116 \pm 0,00019$ mg / ml publiée par ces auteurs.

En ce qui concerne les extraits végétaux, notre étude a enregistré des valeurs d'EC₅₀ plus élevées, soit 2,73±0.28 mg / ml pour EAU et 4,92±0.59 mg / ml pour l'MAE, comparativement aux valeurs obtenues par **Bensaad et al., (2022)** qui sont de 0,335±0.00003 et 0,338±0.00007 mg / ml respectivement.

Cette différence peut être attribuée à plusieurs facteurs chimiques et botaniques majeurs notamment, la différence liée au lieu et à l'origine de la récolte (origine géographique), aux conditions environnementales et climatiques auxquelles la plante a directement participé jusqu'à présent, en plus de la nature des contributeurs aux technologies et de la pureté des solvants utilisés, qui est devenue la caractéristique la plus importante pour concentrer le composé phénolique qui agit encore pour combattre l'inflammation.

5. Test d'inhibition de l'alpha-amylase :

Notre étude révèle que les parties aériennes de *C. erythraea* inhibent efficacement l'enzyme alpha-amylase *in vitro* (**Figure 26**).

Les résultats de l'activité inhibitrice de l'α-amylase montrent une différence marquée entre les deux méthodes d'extraction étudiées. La préparation par extraction assistée par ultrasons a présenté une forte capacité d'inhibition avec une valeur d'IC₅₀ de 11,09 ± 0,24 µg/mL , indiquant une activité biologique importante vis-à-vis de l'enzyme. En revanche, la préparation des extraits par macération a enregistré une valeur d'IC₅₀ beaucoup plus élevée, estimée à 146,21 ± 2,60 µg/mL , traduisant une faible activité inhibitrice. Étant donné que l'efficacité inhibitrice est inversement proportionnelle à la valeur d'IC₅₀, les résultats obtenus démontrent clairement que l'extraction assistée par ultrasons possède un potentiel antidiabétique nettement supérieur à celui de la macération.

Les résultats de l'évaluation de l'activité inhibitrice de l'α-amylase ont révélé une variation significative de la capacité inhibitrice entre les deux extraits étudiés et le composé de référence (Acarbose). L'Acarbose a enregistré la plus faible concentration inhibitrice médiane (IC₅₀) avec une valeur de 2,79 ± 0,39 µg/mL, confirmant ainsi sa haute efficacité en tant qu'inhibiteur de référence de l'α-amylase.

En comparant nos résultats avec ceux rapportés dans l'étude réalisée par **Bouyahya et al. (2019)** sur les huiles essentielles de *C. erythraea*, une différence notable de l'activité inhibitrice de l'α-amylase a été observée. Dans notre étude, EAU a présenté une forte activité

inhibitrice avec une IC_{50} de $11,09 \pm 0,24 \mu\text{g/mL}$, valeur inférieure à celles enregistrées pour les huiles essentielles aux différents stades végétatifs dans l'étude de **Bouyahya et al. (2019)**, notamment le stade végétatif ($31,91 \pm 0,336 \mu\text{g/mL}$), le stade post-floraison ($94,99 \pm 1,263 \mu\text{g/mL}$) et le stade floraison ($168,62 \pm 0,636 \mu\text{g/mL}$). Ces résultats suggèrent que Ex1 possède une activité inhibitrice plus importante que les extraits rapportés dans cette étude comparative. En revanche macération, avec une IC_{50} de $146,21 \pm 2,60 \mu\text{g/mL}$, a montré une activité plus faible, proche de celle observée au stade de floraison dans l'étude de **Bouyahya et al. (2019)**. Par ailleurs, l'Acarbose utilisé dans notre étude a présenté une activité inhibitrice très élevée ($IC_{50} = 2,79 \pm 0,39 \mu\text{g/mL}$), contrairement à l'étude comparative où l'Acarbose a enregistré une valeur beaucoup plus élevée ($396,42 \pm 3,54 \mu\text{g/mL}$).

Cette différence peut s'expliquer par plusieurs facteurs dont la nature des extraits utilisés, la composition phytochimique de la plante et les conditions expérimentales appliquées. Notre travail portait en effet sur des extraits végétaux, alors que l'étude comparative concernait des huiles essentielles de *C. erythraea* dont la composition chimique diffère considérablement. De plus, la teneur en composés bioactifs, particulièrement les polyphénols et les flavonoïdes connus pour leur pouvoir inhibiteur de l' α -amylase, varie selon le stade de développement de la plante, la méthode d'extraction et la polarité du solvant utilisé. Par ailleurs, des facteurs environnementaux tels que les conditions climatiques, la nature du sol et la période de récolte peuvent également influencer la biosynthèse des métabolites secondaires et entraîner des variations dans l'activité biologique observée.

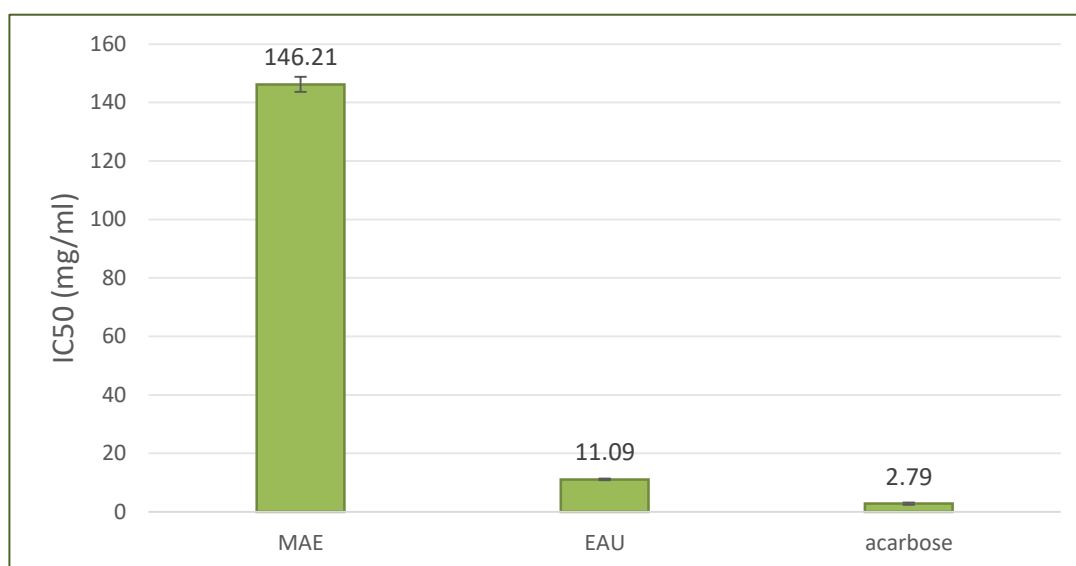


Figure 26 : Activité inhibitrice de l'enzyme alpha-amylase de l'extrait de plante de *C. erythraea*

6. Test toxicité :

L'évaluation de la toxicité aiguë *in vivo* des extraits des parties aériennes de *C. erythraea* a été menée par voie orale (gavage) chez des souris, en administrant une dose limite unique de 3000 mg/kg. Ce protocole standardisé permet d'estimer la dose létale 50 (DL50), correspondant à la dose minimale capable d'induire la mortalité de la moitié de la population animale dans les 24 à 48 heures, avec un suivi prolongé sur 14 jours.

Durant la période de suivi, aucune différence statistiquement significative de poids corporel n'a été observée entre les groupes contrôle et traité. De plus, l'administration de l'extrait n'a entraîné aucun décès ni signe manifeste de toxicité, tels que convulsions, ataxie, diarrhée ou modification du volume urinaire, même au cours des 48 premières heures d'observation. Aucun comportement anormal n'a été observé chez les animaux testés. Par conséquent, nous pouvons conclure que la DL50 orale médiane de nos extraits est supérieure à 3 000 mg/kg chez la souris. Ces résultats préliminaires indiquent la relative innocuité et l'efficacité de *C. erythraea*.

7. Etude histologique :

7.1. Étude histopathologique comparative du Foie:

L'analyse histopathologique comparative met en évidence l'impact délétère de l'alloxane ainsi que l'efficacité variable des stratégies thérapeutiques testées :

Groupe témoin : Architecture hépatique parfaitement préservée. Les travées d'hépatocytes s'organisent de façon radiaire autour de la veine centrale, les sinusoides sont intacts et aucune lésion n'est visible.

Groupe diabétique non traité : Présente des lésions sévères signant un stress oxydatif intense. On observe une désorganisation tissulaire, une vacuolisation cytoplasmique diffuse, une nécrose nucléaire et une congestion sinusoidale.

Groupe Metformine : Amélioration significative de l'histoarchitecture. Cela se traduit par une réduction de l'inflammation péri-portale, une diminution des altérations cellulaires et une restauration partielle des travées d'hépatocytes.

Extraits de *C. erythraea* : Effet hépatoprotecteur avéré. L'extrait assisté par ultrasons (AUE) se montre supérieur à l'extrait aqueux conventionnel pour atténuer les lésions dégénératives et préserver la structure lobulaire.

Nanoémulsions : Elles boostent littéralement l'efficacité des extraits. La nanoformulation de l'extrait aqueux induit une nette amélioration tissulaire avec une quasi-disparition de la stéatose. Quant à la nano de l'extrait AUE, elle offre la protection la plus puissante, restaurant une structure proche du groupe témoin, avec une activité comparable à celle de la metformine (**Figure 26**).

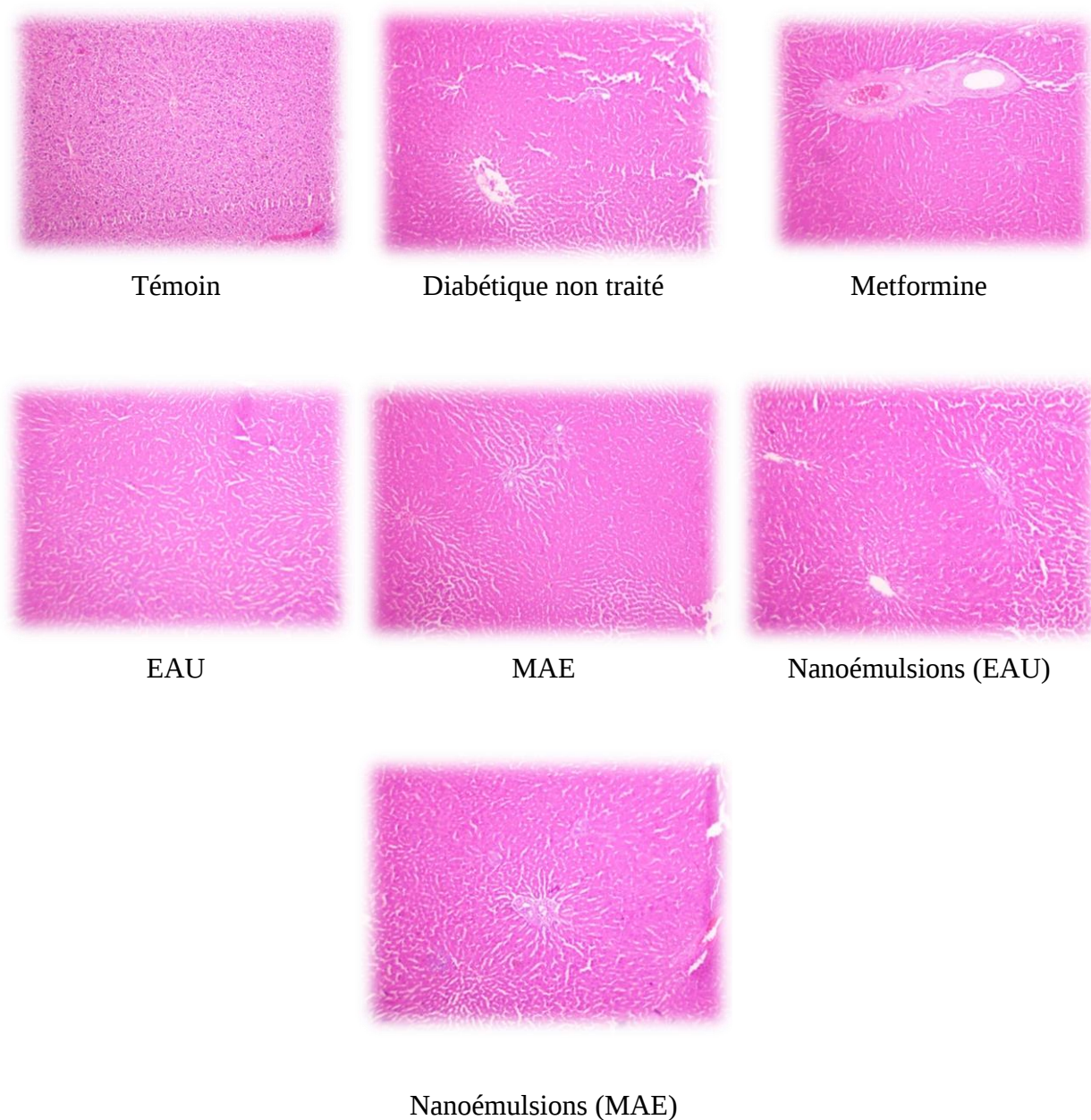


Figure 27 : Coupes histologie de tissu hépatique. (original).

7.2. Étude histopathologique comparative du pancréas:

L'examen histopathologique des coupes pancréatiques des différents groupes expérimentaux a mis en évidence des altérations morphologiques variables en fonction des traitements administrés. Le lot témoin a présenté une architecture pancréatique normale, caractérisée par des acini exocrines bien organisés et des îlots de Langerhans bien individualisés, présentant une cellularité dense et une morphologie régulière. En revanche, le lot diabétique non traité a montré d'importantes lésions histologiques, se traduisant par une réduction de la taille et du nombre des îlots de Langerhans, une désorganisation cellulaire marquée ainsi que des phénomènes de vacuolisation et de nécrose, témoignant de l'effet cytotoxique de l'allox sur les cellules β pancréatiques.

Le traitement par la metformine a permis une amélioration notable de l'intégrité du tissu pancréatique, avec une restauration partielle de la structure des îlots endocrines et une diminution des lésions observées. Les groupes traités par les extraits de *C. erythraea* ont également montré une récupération progressive de l'architecture pancréatique. Cette amélioration était modérée chez les animaux ayant reçu l'AUE, tandis qu'elle était plus prononcée dans le groupe traité par l'extrait MAE, caractérisé par des îlots plus volumineux et une cellularité accrue. Par ailleurs, les formulations nano-émulsionnées ont présenté les effets les plus marqués, notamment la nano-émulsion de MAE qui a permis une restauration quasi complète de l'organisation histologique du pancréas, avec des îlots de Langerhans bien développés et une nette réduction des altérations tissulaires.

Dans l'ensemble, ces observations suggèrent que les extraits de *C. erythraea*, particulièrement sous forme nano-émulsionnée, exercent un effet protecteur vis-à-vis des lésions pancréatiques induites par l'alloxane. Cette activité pourrait être attribuée à la richesse de la plante en composés bioactifs à propriétés antioxydantes, capables de limiter le stress oxydatif et de préserver l'intégrité des cellules β pancréatiques (**Figure 28**).

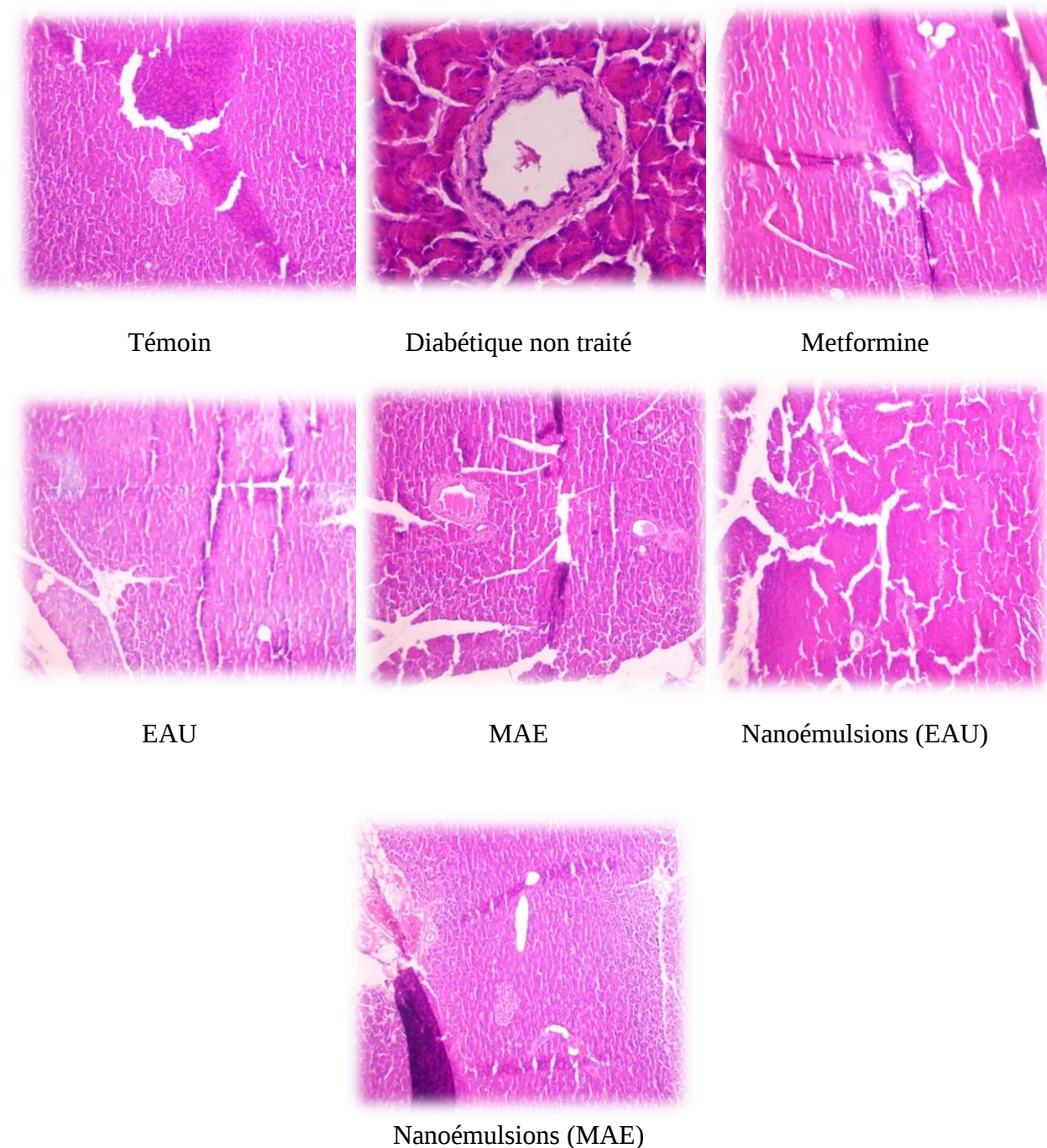


Figure 28 : Coupes histologiques du pancréas coloré à l'hématoxyline. **(original).**

7.3.Taux de la peroxydation lipidique :

L'analyse des taux du malondialdéhyde (MDA) au sein de notre étude, exprimés en nmoles de MDA/mg de protéine, révèle un impact direct et délétère du diabète expérimental sur l'intégrité membranaire. Le groupe témoin affiche une valeur physiologique basale et stable de 4.326, témoignant d'une balance oxydative parfaitement équilibrée en conditions normales. En revanche, l'induction du diabète chez le groupe allox provoque une élévation critique et

massive du taux de MDA qui culmine à 15.97, confirmant une peroxydation lipidique intense des membranes cellulaires sous l'effet du stress oxydatif aigu. Cependant, l'application de nos traitements permet de fléchir significativement cette toxicité; l'administration du traitement de référence met ramène le MDA à 7.49, tandis que l'EAU libre et l' MAE libre réduisent ces taux à 6.86 et 7.51 respectivement. De manière remarquable, nos formulations innovantes à base de nano1 et nano 2 stabilisent solidement la peroxydation lipidique à des valeurs respectives de 8.03 et 7.25, démontrant la haute performance de nos vecteurs nanoparticulaires (**le tableau 3**) .

tableau3 : Taux de la peroxydation lipidique

Nano2	Nano1	MAE	EAU	Met	Alox	Te	Parametres
7.25	8.03	7.51	6.86	7.49	15.97	4.326	nmoles de MDA/mg

Ces observations et cette dynamique globale de correction corroborent parfaitement les données de l'étude de référence d'**Athaya et al. (2026)**. Dans leur travail, converti selon notre unité de mesure (nmoles de MDA/mg de protéine), l'hyperglycémie induite par l'allox a généré une hausse hautement significative de 50.6% des concentrations de MDA, faisant passer les valeurs d'un taux basal de 4.32 chez les témoins à un pic pathologique de 6.51 chez les diabétiques, traduisant une accumulation majeure de radicaux libres et une altération flagrante de la balance antioxydante. De plus, l'étude d'**Athaya et al. (2026)** a démontré que l'utilisation d'extraits végétaux permet de restaurer l'équilibre oxydatif de façon dose-dépendante en induisant une baisse du MDA allant jusqu'à 48.5% (soit une valeur équivalente à 3.35), rejoignant ainsi l'efficacité protectrice et la réduction drastique que nous avons enregistrées avec nos extraits libres et nos formulations de nano 1 et nano 2. Ce parallélisme scientifique rigoureux confirme indubitablement que les agents thérapeutiques employés dans notre étude possèdent des propriétés antioxydantes et piégeuses de radicaux libres hautement performantes.

Ces écarts s'expliquent principalement par la variation des doses, la nature et la concentration des extraits utilisés, la durée de l'expérimentation, ainsi que les différences de souches animales et des conditions expérimentales, ce qui justifie les divergences observées tout en conservant le même profil biologique global.

7.4. Étude des variations des paramètres biochimiques sériques :

Le tableau présente les résultats des analyses biochimiques effectuées sur les différents groupes étudiés, où les taux des biomarqueurs liés au diabète ainsi qu'aux fonctions rénale et hépatique (tels que l'HbA1c, la glycémie, l'urée, la créatinine, les TGO et les TGP) ont été mesurés (**Tableau 4**).

Tableau 4 : Effet des différents composés et extraits étudiés sur certains paramètres biochimiques et hématologie.

Analyse	HbAc %	Gly g/l	Uréé g/L	Creat mg/L	TGO UI/L	TGP UI/L
Te	5±0	1±0	0.2±0	7±0	20±0	10±0
Allox	6.55±0.25	1.5±0.1	0.7±0.1	21±1	45±5	24.5±0.5
Met	6.1±0.06	1.05±0.1	0.35±0.04	12.33±1.11	22±0.66	12±0.66
EAU	5.15±0.03	0.83±0.07	0.18±0.06	7±0.66	18±0.66	12.7±0.2
MEA	5.35±0.03	0.73±0.06	0.12±0.06	8.83±0.88	18±1.33	10±0.66
Nano1	5.02±0.01	0.69±0.01	0.19±0.06	7±0.66	12.66±1.55	9±0.66
Nano2	5.12±0.08	0.72±0.02	0.22±0.06	8.16±0.77	11±0.66	9.33±1.11

❖ Hémoglobine glyquée (HbA1c) :

L'induction par l'alloxane provoque une hausse significative du taux d'HbA1c ($6,55 \pm 0,25\%$) par rapport au témoin ($5 \pm 0\%$), traduisant une hyperglycémie prolongée. La metformine induit une réduction modérée ($6,1 \pm 0,06\%$), alors que les extraits de *C. erythraea* affichent une baisse plus marquée, atteignant $5,15 \pm 0,03\%$ (EAU) et $5,35 \pm 0,03\%$ (MEA). La formulation nanoparticulaire Nano1 démontre la meilleure efficacité avec un quasi-retour à la normale ($5,02 \pm 0,01\%$), confirmant un excellent contrôle glycémique à long terme.

En confrontant nos observations avec les données de l'étude de référence publiée par **Arshad et al. (2022)**, de fortes convergences pharmacologiques apparaissent, bien que des divergences d'amplitude thérapeutique subsistent. Dans le modèle d'**Arshad et al. (2022)**, l'induction du diabète a provoqué une hausse drastique de l'HbA1c atteignant environ 11% chez le groupe témoin non traité (soit une augmentation de 95,5% par rapport aux rats sains), révélant un état pathologique initial plus sévère que notre contrôle établi à 6,55%. Sur le plan

thérapeutique, cette étude indique que l'administration prolongée de l'extrait méthanolique et de la fraction d'acétate d'éthyle de *Saussurea hypoleuca* a réduit l'HbA1c de 35,7% et 36,8% respectivement, stabilisant les valeurs finales autour de 7,2% et 7,0%. Comparativement, nos formulations avancées en particulier les nanosystèmes et les extraits fractionnés surpassent ces performances en abaissant l'HbA1c à des seuils optimaux compris entre 5,02% et 5,35%, des valeurs plus proches des normes physiologiques. Néanmoins, les deux travaux s'accordent sur le plan mécanistique : l'usage de principes actifs d'origine végétale contribue efficacement à préserver l'intégrité des cellules bêta pancréatiques et à stimuler la sécrétion d'insuline, limitant ainsi de manière significative le processus de glycation de l'hémoglobine.

❖ Glycémie:

L'analyse des variations de la glycémie à jeun met en évidence une activité hypoglycémiant importante des différents traitements administrés. L'induction du diabète par l'alloxane a provoqué une augmentation marquée de la glycémie chez le lot diabétique, atteignant 1.5 ± 0.1 g/l, comparativement au lot témoin sain qui a conservé une valeur physiologique normale de 1 ± 0 g/l. Cette hyperglycémie est principalement attribuée à l'action cytotoxique de l'alloxane sur les cellules β pancréatiques, entraînant une diminution de la sécrétion insulinaire.

Le traitement par la metformine a permis une réduction significative de la glycémie, avec une valeur de 1.05 ± 0.1 g/l, traduisant l'efficacité du traitement de référence et la validité du modèle expérimental utilisé. Par ailleurs, les extraits aqueux et méthanoliques ont montré une activité antidiabétique notable, en abaissant respectivement la glycémie à 0.83 ± 0.07 g/l et 0.73 ± 0.06 g/l.

Les formulations nanoparticulaires ont présenté l'effet hypoglycémiant le plus prononcé, avec des valeurs de 0.69 ± 0.01 g/l pour nano1 et 0.72 ± 0.02 g/l pour nano2. Cette amélioration de l'efficacité thérapeutique pourrait être liée à une meilleure biodisponibilité des composés actifs, favorisant une libération plus contrôlée ainsi qu'une meilleure interaction cellulaire.

La comparaison avec l'étude de **Saberi-Hasanabadi et al. (2026)** révèle une concordance importante des résultats obtenus. Les valeurs glycémiques du lot témoin ainsi que celles du traitement par la metformine sont très proches entre les deux études, confirmant la reproductibilité du modèle expérimental. Toutefois, contrairement au Diméthylfumarate utilisé dans l'étude de référence, dont l'effet hypoglycémiant demeurerait limité avec une valeur

minimale de 1.53 ± 0.84 g/l, nos formulations, particulièrement les nano-formulations, ont permis un retour vers des valeurs glycémiques quasi physiologiques.

❖ Urée et la Créatinine :

L'évaluation des biomarqueurs de la fonction rénale au cours de notre étude, à savoir l'urée et la créatinine, révèle des variations hautement significatives entre les différents lots expérimentaux. Chez notre lot témoin sain (Te), les concentrations sériques d'urée et de créatinine sont maintenues à des valeurs physiologiques normales, enregistrant respectivement $0,2 \pm 0$ g/L et 7 ± 0 mg/L. À l'inverse, l'induction du diabète par l'alloxane chez notre lot pathologique (allox) a provoqué une altération rénale sévère, objectivée par une élévation drastique et concomitante de l'urée ($0,7 \pm 0,1$ g/L) et de la créatinine (21 ± 1 mg/L). Cette hyperazotémie associée à une augmentation de la créatininémie traduit manifestement l'installation d'une insuffisance rénale aiguë, consécutive à la toxicité cellulaire de l'alloxane et au stress oxydatif induit par l'état hyperglycémique chronique.

L'administration de la metformine comme molécule de référence dans notre protocole (lot met) engendre une réduction notable de ces paramètres ($0,35 \pm 0,04$ g/L pour l'urée et $12,33 \pm 1,11$ mg/L pour la créatinine). Néanmoins, l'aspect le plus remarquable de nos résultats réside dans l'efficacité thérapeutique supérieure des lots traités par nos propres extraits, particulièrement le lot aqueux (EAU) et nos formulations nanoparticulaires (nano1 et nano2). Ces derniers ont induit un rétablissement quasi-total des fonctions rénales, ramenant l'urée à des taux oscillant entre 0,18 et 0,22 g/L, et la créatinine à des valeurs physiologiques optimales comprises entre 7 et 8,16 mg/L, surpassant ainsi l'effet de la metformine seule.

une comparaison avec menée par **Atanu et al. (2021)**, après conversion de leurs unités (mg/dl) vers le système métrique adopté dans notre travail (g/L pour l'urée et mg/L pour la créatinine).

Dans cette étude de référence, l'état diabétique non traité (Diabetic untreated) induit une néphropathie nettement plus agressive, caractérisée par une urée plasmatique s'élevant à $1,35 \pm 0,04$ g/L ($135,50 \pm 4,38$ mg/dl) et une créatinine à $26,3 \pm 1,1$ mg/L ($2,63 \pm 0,11$ mg/dl). Cette comparaison inter-études révèle que l'atteinte rénale initiale était plus sévère dans le modèle de **Atanu et al. (2021)** par rapport au nôtre ($0,7$ g/L et 21 mg/L). En outre, le traitement par la metformine seule dans l'étude de référence montre une correction modérée (Urée = $0,82 \pm 0,02$

g/L ; Créatinine = $17,0 \pm 0,6$ mg/L), tandis que dans notre expérimentation, la metformine a manifesté une meilleure efficacité protectrice.

L'analyse comparative majeure repose sur le potentiel thérapeutique des extraits végétaux. Chez **Atanu et al. (2021)**, l'administration isolée des extraits d'*Annona muricata* (AME) ou de *Tapinanthus globiferus* (TGE) n'a pas permis une rémission complète des biomarqueurs rénaux, nécessitant une co-administration synergique avec la metformine pour abaisser l'urée à une valeur minimale de $0,69 \pm 0,01$ g/L ($69,25 \pm 1,32$ mg/dl). À l'inverse, nos formulations originales (notamment nos extraits aqueux et nos systèmes nano-engagés) ont démontré une performance thérapeutique nettement supérieure. Sans aucune association médicamenteuse, nos extraits ont réussi à restaurer l'intégrité glomérulaire de manière monothérapeutique, se révélant plus efficaces pour normaliser la clairance de la créatinine et la filtration de l'urée que les thérapies combinées de l'étude de référence.

❖ (TGO/TGP)

Les analyses biochimiques révèlent un impact direct du diabète expérimental sur l'intégrité hépatique, suivi d'une correction remarquable par les traitements. Chez le groupe témoin, le taux de TGO est physiologiquement stable à 20 ± 0 UI/L. En revanche, le groupe diabétique non traité (Diabetic Model) présente une hausse critique à 45 ± 5 UI/L (liée à l'augmentation de la TGP), traduisant une cytolyse hépatique aiguë induite par le stress oxydatif hyperglycémique. L'application des traitements (met, EAU, MEA, nano1, nano2) engendre une réduction progressive et significative de cette activité enzymatique, ramenant la TGO de $22 \pm 0,66$ UI/L jusqu'à une valeur optimale de $11 \pm 0,66$ UI/L. Ce rétablissement confirme l'effet hépatoprotecteur des agents testés et la restauration des membranes cellulaires. Ces variations de la fonction hépatique (TGO/AST et TGP/ALT) concordent parfaitement avec les mécanismes décrits par **Kimsanova et al. (2025)**. Selon ces auteurs, le diabète induit par l'allox génère un stress oxydatif aigu qui altère les membranes hépatocytaires, élevant sévèrement les aminotransférases plasmatiques ; ce qui corrobore le doublement de la TGO (45 ± 5 UI/L) chez nos rats diabétiques. De plus, la chute drastique de la TGO ($22 \pm 0,66$ à $11 \pm 0,66$ UI/L) sous l'effet de nos traitements est superposable à l'action correctrice de la metformine et des complexes de taurine rapportée par **Kimsanova et al. (2025)**. Cela confirme que les agents employés dans notre étude possèdent de puissantes propriétés antioxydantes et hépatoprotectrices.

Nos résultats sont proches de ceux des autres études, mais nos extraits et nos nanoparticules (nano1 et nano2) ont montré une efficacité légèrement supérieure. Ce succès est lié à plusieurs facteurs, notamment le climat et la région de récolte de la plante qui influencent la qualité des principes actifs. De plus, la précision de nos matériels et produits utilisés a permis d'obtenir une meilleure préparation. Enfin, la technologie nano a facilité l'absorption des substances actives dans le corps, ce qui a mieux corrigé les analyses biologiques.

7.5.Évaluation des paramètres hématologiques :

Les résultats de la numération formule sanguine (FNS) présentés dans **le tableau** ci-dessus mettent en évidence des modifications notables entre les différents groupes expérimentaux.

le tableau 5:Effet des différents composés et extraits étudiés sur certains paramètres de la formule numération sanguine (FNS).

FNS	GB× 10 ³ /μL	HB g/dL	PLT× 10 ³ /μL
Te	5±0	12±0	250±0
allox	16.5±0.7	8.5±0.7	175±7.07
met	8±2	12.66±1.53	246.66±25.16
EAU	7.33±1.53	12±1	250±17.32
MEA	9.33±3.21	11.66±0.58	220±10
Nano1	8.33±1.53	11±1	270±20
Nano2	9.33±1.53	11±1	262±40.2

❖ Globules blancs (GB) :

Dans notre étude, le lot témoin sain (Te) présente une valeur physiologique normale des leucocytes de $5 \pm 0 \times 10^3/\mu\text{L}$. À la suite de l'induction du diabète par l'alloxane, une augmentation importante et significative est observée ($16,5 \pm 0,7 \times 10^3/\mu\text{L}$), traduisant un état inflammatoire marqué et un stress immunitaire aigu. Après traitement, une diminution nette du taux de GB est enregistrée chez les groupes traités par la metformine (8 ± 2), l'extrait aqueux ($7,33 \pm 1,53$), l'extrait méthanolique ($9,33 \pm 3,21$) ainsi que les formulations nanoparticulaires Nano1 ($8,33 \pm 1,53$) et Nano2 ($9,33 \pm 1,53 \times 10^3/\mu\text{L}$), ce qui indique une tendance claire vers la normalisation du profil leucocytaire.

En comparaison avec l'étude de **Johnson et al. (2014)**, une tendance similaire a été rapportée

: leur groupe sain présentait une valeur de $8,1 \pm 1,2 \times 10^3/\mu\text{L}$, tandis que le groupe diabétique non traité atteignait $13,2 \pm 2,1 \times 10^3/\mu\text{L}$. Suite au traitement par l'extrait de *Jatropha curcas*, ils ont enregistré une réduction des leucocytes à $8,8 \pm 2,1$ et $9,5 \pm 1,2 \times 10^3/\mu\text{L}$. La confrontation des données montre une parfaite concordance globale quant à l'effet correcteur des extraits végétaux sur la leucocytose induite par le diabète.

❖ Hémoglobine (HB) :

Concernant l'hémoglobine, notre lot témoin sain affiche un taux de 12 ± 0 g/dL. L'induction diabétique entraîne une baisse significative de ce paramètre à $8,5 \pm 0,7$ g/dL, révélant l'installation d'un état anémique. L'administration des différents traitements permet une restauration remarquable de l'hémoglobine, avec des valeurs optimales enregistrées chez le lot metformine ($12,66 \pm 1,53$ g/dL), suivi de l'extrait aqueux (12 ± 1 g/dL), de l'extrait méthanolique ($11,66 \pm 0,58$ g/dL), et des formulations Nano1 (11 ± 1 g/dL) et Nano2 (11 ± 1 g/dL).

Ces résultats concordent avec les observations de **Johnson et al. (2014)**, où le taux d'hémoglobine du groupe sain était de $11,2 \pm 2,3$ g/dL et chutait sévèrement à $6,7 \pm 3,2$ g/dL chez les rats diabétiques non traités. De même, leurs groupes traités par *Jatropha curcas* ont montré une amélioration progressive atteignant $10,5 \pm 2,2$ et $11,5 \pm 3,1$ g/dL, confirmant que les agents antidiabétiques exercent un effet protecteur contre l'altération des paramètres érythrocytaires.

❖ complète Plaquettes (PLT) :

Pour la numération plaquettaire, notre groupe témoin sain présente une valeur de $250 \pm 0 \times 10^3/\mu\text{L}$, qui diminue à $175 \pm 7,07 \times 10^3/\mu\text{L}$ après induction du diabète, ce qui indique une thrombocytopenie modérée. Les traitements administrés corrigent efficacement ce défaut en favorisant une récupération progressive des valeurs, qui se stabilisent entre 246,6 (pour la metformine) et $250 \pm 17,32 \times 10^3/\mu\text{L}$ (pour l'extrait aqueux), avec un effet d'optimisation marqué pour les formulations Nano1 (270 ± 20) et Nano2 ($262 \pm 40,2 \times 10^3/\mu\text{L}$).

Dans l'étude comparative de **Johnson et al. (2014)**, l'évaluation s'est basée sur le plaquettocrite (PCT), qui a diminué chez le groupe diabétique non traité ($0,423 \pm 0,082$ %) par rapport au groupe contrôle ($0,473 \pm 0,061$ %), suivie d'une simple stabilisation sous l'effet du traitement. Malgré la différence des paramètres mesurés (numération absolue vs

plaquettocrite), la tendance générale reste identique, confirmant que le diabète perturbe la lignée plaquettaire et que les traitements corrigent cette anomalie.

La supériorité des résultats obtenus dans notre étude par rapport à celle de **Johnson et al. (2014)** s'explique par l'efficacité de nos extraits, notamment l'extrait aqueux et les formulations nanoparticulaires (Nano1 et Nano2), riches en composés antioxydants et anti-inflammatoires tels que les polyphénols et les flavonoïdes. Ces composés ont permis de réduire le stress oxydatif et l'inflammation induits par l'alloxane, entraînant une amélioration des globules blancs (GB), une restauration de l'hémoglobine (HB) et une correction des perturbations plaquettaires (PLT). De plus, la nanotechnologie a amélioré la biodisponibilité et la libération prolongée des principes actifs, ce qui explique l'efficacité supérieure observée dans notre travail par rapport à l'étude de référence.

CONCLUSION

Conclusion

Les résultats obtenus au cours de cette étude confirment le potentiel pharmacologique de *Centaurium erythraea* et apportent une justification scientifique à son utilisation traditionnelle dans la prise en charge du diabète ainsi que des troubles métaboliques associés.

Les différentes investigations phytochimiques, biologiques et toxicologiques réalisées ont mis en évidence plusieurs propriétés thérapeutiques majeures des extraits de cette plante.

Sur le plan antioxydant et anti-inflammatoire, les essais *in vitro* basés sur les méthodes DPPH et FRAP ont démontré une forte capacité de piégeage des radicaux libres ainsi qu'un pouvoir réducteur important, reflétant la richesse des extraits en composés phénoliques. De plus, l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire à travers le test de dénaturation thermique de la sérum-albumine bovine (BSA) a révélé une inhibition significative du processus inflammatoire, témoignant de l'efficacité biologique des extraits étudiés.

Concernant l'activité antidiabétique, les résultats obtenus ont été particulièrement encourageants. Les essais *in vitro* ont montré une inhibition notable de l' α -amylase, suggérant une limitation de la digestion et de l'absorption des glucides. Par ailleurs, l'étude *in vivo* réalisée sur des rats diabétiques induits par l'alloxane a mis en évidence une réduction significative de la glycémie à jeun ainsi qu'une amélioration marquée du taux d'hémoglobine glyquée (HbA1c). Les extraits de *C. erythraea* ont également présenté une efficacité antihyperglycémiant très importante, comparable, voire supérieure, à celle observée avec la metformine utilisée comme traitement de référence.

L'évaluation des paramètres biochimiques et hématologiques a révélé une amélioration générale de l'état physiologique des animaux traités, traduisant un effet bénéfique sur le métabolisme et les fonctions organiques. En outre, l'étude de la toxicité aiguë n'a montré aucun signe clinique de toxicité ni aucune mortalité chez les animaux expérimentaux, indiquant une bonne tolérance et une sécurité d'emploi satisfaisante des extraits testés.

Dans l'ensemble, ces résultats démontrent que *C. erythraea* représente une source prometteuse de composés bioactifs possédant des propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et antihyperglycémiantes remarquables. Cette plante pourrait ainsi constituer une alternative naturelle intéressante ou un complément thérapeutique dans la prévention et la prise en charge du diabète, tout en offrant des perspectives encourageantes pour le développement futur de phytomédicaments sûrs et efficaces.

Afin de poursuivre ce travail et d'approfondir les connaissances sur le potentiel thérapeutique de *C. erythraea*, plusieurs perspectives de recherche peuvent être proposées :

- Approfondissement phytochimique :

Réaliser l'isolement, la purification et l'identification des principaux composés bioactifs à l'aide de techniques analytiques avancées telles que la chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse (LC-MS) et la résonance magnétique nucléaire (RMN), afin de déterminer les molécules responsables des effets observés.

- Étude des mécanismes d'action moléculaires :

Explorer les mécanismes impliqués dans l'activité antidiabétique de l'extrait au niveau cellulaire et moléculaire, notamment à travers l'étude de l'expression des transporteurs du glucose (GLUT-4) et des voies de signalisation de l'insuline.

- Évaluation de la toxicité à long terme :

Compléter l'étude toxicologique par des investigations subchroniques et chroniques sur une durée prolongée afin d'évaluer la sécurité d'un usage continu des extraits végétaux.

- Évaluation histopathologique :

Effectuer des analyses histologiques des organes cibles (pancréas, foie et reins) afin d'apprécier l'effet protecteur des extraits et la régénération éventuelle des cellules β des îlots de Langerhans.

- Études cliniques :

Après validation des étapes précliniques, envisager des essais cliniques préliminaires afin d'évaluer l'efficacité thérapeutique et la tolérance de *C. erythraea* chez l'être humain.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques:

A

- **Aanniz, T., El Omari, N., Bakrim, S., Balahbib, A., Elhrech, H., Benali, T., Amanullah, M., Ming, L. C., Moshawih, S., & Bouyahya, A. (2025).** Biological activities of *Centaurium erythraea* and its main chemotypes: menthol, carvacrol, and tricosane. *AMB Express*, 15(1), 152.
- **Alara, O. R., Abdurahman, N. H., & Ukaegbu, C. I. (2021).** Extraction of phenolic compounds: A review. *Current Research in Food Science*, 4, 200–214.
- **ALLOUNI, R. (2018).** Etude des aspects morphologiques, phytochimiques et pharmacotoxicologiques de la plante *Ruta montana*.
- **American Diabetes Association Professional Practice Committee. (2026).** 2. Diagnosis and Classification of Diabetes: Standards of Care in Diabetes—2026. *Diabetes Care*, 49(Suppl. 1), S527–S549.
- **Aravodis E., (2005)-** Antioxidant potential of African medicinal plants. *African Journal of Biotechnology*, 4(2) : 128-133.
- **Arshad, N., Ishtiaq, S., Kamran, S. H., Sajid-ur-Rehman, M., Akbar, S., Rehman, S., Rahman, S. H., Fadil, S. A., Youssef, F. S., & Elhady, S. S. (2022).** Evaluation of the Antihyperglycemic and Antihyperlipidemic Activity of *Saussurea hypoleuca* Root in Alloxan-Induced Diabetes in Rat Model and Correlation to Its Major Secondary Metabolites. *Life*, 12(12), 1451.
- **Arrecgros.D ,(1978),** Je reconnais les fleurs. Montagnes. Ed. Lesson A. p. 87
- ;<http://fr.wikipedia.org/wiki/Centaurium> (1978.)
- **Athaya, Z. S., Yerizel, E., Aprilia, D., Abdullah, R., Fadrian, W. P. W., & Yetti, H. (2026).** Dose-dependent effects of *Stevia rebaudiana* leaf extract on malondialdehyde and catalase activity in alloxan-induced hyperglycemic rats. *Acta Biochimica Indonesiana*, 9(1), 1-8. <https://doi.org/10.32889/actabioina.232>

B

- **Baba Aissa, F. (1991).** Les plantes médicinales en Algérie. coédition Bouchene et ad. Diwan, Alger, 29.
- **Baba Aissa, F. (1999).** Encyclopedie des plantes utiles: Flore d'Algérie et du Maghreb. Rouiba : Librairie moderne; p : 243 - 244.

- **Baba Aissa, F. (2000).** Encyclopédie des plantes utiles, flore d'Algérie et du Maghreb, substances végétales d'Afrique, d'Orient et d'Occident. Ed Librairie moderne Rouiba, 46.
- **Bennick Anders (2002).** Interaction of plant polyphenols salivary proteins, Crit Rev Oral Biol Med 13(2): pp184-185.
- **Bensaad, M. S., Dassamiour, S., Hambaba, L., Melakhessou, M. A., Sami, R., Al-Mushhin, A. A. M., Benajiba, N., & Al Masoudi, L. M. (2022).** In silico investigation and BSA denaturation inhibitory activity of ethyl acetate and N-butanol extracts of *Centaurea tougourensis* Boiss. and Reut. International Journal of Pharmacology, 18(6), 1296–1308.
- **Bergeron Chantal. (2012).** Overview of the Chemistry of Primary and Secondary Plant Metabolites, Tom's of Maine, Kennebunk, Maine, USA, Chapitre 2, Biorefinery.Co-products 18: pp24-30.
- **Betote, P. H. D., Abdoulaye, M. G., Ngolsou, F., Moni, E. D. F. N., Yadang, A. S. F., Weyepe, F. C. L., Agbor, G. A., Nnanga, N., & Nyegue, M. A. (2024).** Modulation of the *in vitro* Oxidative Stress and Erythrocyte Cell Membrane Integrity Using Aqueous, Hydroethanolic and Ethanolic Stem-Barks Extracts of *Greenwayodendron suaveolens* (Engl. & Diels) Verdc. Pharmacology & Pharmacy, 15(3), 39-61.
- **Boudjema, N. (2019).** Etude ethnobotanique des plantes médicinales utilisées dans la région de Biskra. mémoire fin d'étude. 36. biskra, Université Mohamed Khider de Biskra.
- **Bougandoura, N., & Bendimerad, N. (2013).** Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha* ssp. *Nepeta* (L.) Briq. Revue Nature & Technologie, B-Sciences Agronomiques et Biologiques, 15.

C

- **Cavin A., (1999)-** Investigation phytochimique de trois plantes indonésiennes aux propriétés antioxydantes et antiradicalaires, *Tinospora crispa* (Menispermaceae) ; *Merremia emarginata* (convolvulaceae) et *Orphea enneandra* (Annonaceae). Thèse de doctorat en Phytochimie. Université de Lausanne. 243p.
- **Chabrier, J.-Y. (2010).** Plantes médicinales et formes d'utilisation en phytothérapie. <https://hal.univ-lorraine.fr/hal-01739123v1>

- **Chakrabarti, R., Singh, B., Vanchhawng, L., & Thirumurugan, K. (2014).** Screening of nine herbal plants for *in vitro* α -amylase inhibition. *Screening*, 7(4), 84-89.
- **Chouikh, A., Alia, F., Neffar, S., Rebiai, A., Adjal, E. H., & Chefrour, A. (2018).** Evaluation of phenolic contents (quantitative and qualitative) and antioxidant activities in different physiological phases of *Genista saharae* Coss. & Dur. growing in the Sahara of Algeria. *Annals of Oradea University, Biology Fascicle / Analele Universității din Oradea, Fascicula Biologie*, 25(2).
- **Chouikh, A. & Rebiai, A. (2020).** The influence of extraction method on the composition and analgesic activity of *Calligonum comosum* phenolic extracts. *Ovidius University Annals of Chemistry*, 31(1), 33-37.
- **Chung, Y.-C., Chang, C.-T., Chao, W.-W., Lin, C.-F., and Chou, S.-T. (2002).** Antioxidative activity and safety of the 50 ethanolic extract from red bean fermented by *Bacillus subtilis* IMR-NK1. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50(8): 2454-2458.

D

- **Del Rio D., Rodriguez-Mateos A., Spencer J. P., Tognolini M., Borges G., & Crozier A. (2013).** Dietary (poly)phenolics in human health: structures, bioavailability, and evidence of protective effects against chronic diseases. *Antioxid. Redox. Signal.* 18: 1818-1892.
- **DiMeglio, L. A., Evans-Molina, C., & Oram, R. A. (2018).** Type 1 diabetes. *The Lancet*, 391(10138), 2449–2462.

E

- **El Ouadni, H., Ouaamr, A., Zair, T., Cherrah, Y., & Alaoui, K. (2024).** Phytochemical, Antioxidant, and Antidiabetic Activity of *Centaurium erythraea* Rafn. Decoction and Soxhlet Extraction. Preprints.

F

- **Filippis De L. F. (2016).** Plant secondary metabolites: From molecular biology to health products *School of the Environment*, Chapitre 15: pp263-272.

G

- **Galicia-Garcia, U., Benito-Vicente, A., Jebari, S., Larrea-Sebal, A., Siddiqi, H., Uribe, K. B., Ostolaza, H., and Martín, C. (2020).** Pathophysiology of Type 2 Diabetes Mellitus. *International Journal of Molecular Sciences*. 21(17): 6275. <https://doi.org/10.3390/ijms21176275>

- **Garait, B. (2006).** Le stress oxydant induit par voie métabolique (régimes alimentaires) ou par voie gazeuse (hyperoxie) et effet de la glisodin.
- **Gayet, C. (2013).** Guide de poche de phytothérapie. Paris : quotidien malin. 165.
- **Gehin, A., Guyon, C., & Nicod, L. (2006, juillet).** Glyphosate-induced antioxidant imbalance in HaCaT : The protective effect of Vitamins C and E. *Environmental toxicology and pharmacology.*, 22(1), 27-34.
- **Granados-Guzmán, G., Alanis, B., Castro-Ríos, R., Waksman, N., & Salazar-Aranda, R. (2022).** ASSESSMENT OF α -AMYLASE INHIBITION ACTIVITY BY AN OPTIMIZED AND VALIDATED *IN VITRO* MICROSCALE METHOD. *Química Nova*, 45. <https://doi.org/10.21577/0100-4042.20170919>
- **Gratão, P. L., Pompeu, G. B., Cardoso, P. F., Lea, P. J., & Azevedo, R. A. (2006).** Plant antioxidant responses to toxic elements. *Current Topics in Biochemical Research*, 15.
- **Gross G.G. (1999).** Biosynthesis, biodegradation, and cellular localization of hydrolysable tannins In: *Phytochemicals in Human Health Protection, Nutrition, and Plant Defense*. Romeo J.T. (Ed.), Springer Science and Business Media New York. 1999. pp. 185-223.
- **Gurib-Fakim, A. (2006).** Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of tomorrow. *Molecular Aspects of Medicine*. 27(1): 1-93. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2005.07.008>

H

- **Haddoudi, M., Mellouk, H., Bejjany, B., Dani, A., & Digua, K. (2014).** Valorisation du marc du café: Extraction de l'huile et évaluation de son activité antioxydante. *Les Technologies de Laboratoire*, 8 (36).
- **Halliwell B., (1990)-** How to characterize a biological antioxidant. *Free Radical Research Communications*, 9(1) : 1-32.
- **Harrisson D., Griendling K.K., Landmesser U., Hornig B. et Drexler H., (2003)-** Role of oxidative stress in atherosclerosis. *The American Journal of Cardiology*, 91(3) : 7-11.
- **Hassanpour S., Maheri-Sis N., Eshratkhah B., Baghbani Mehmandar F.(2011).** Plants and secondary metabolites (Tannins): A Review. *Int. J. Forest, Soil and Erosion*. 1 (1): 47-53.

-
- **Hatzidimitriou, E, F., Nenadis, N., Tsimidou, M, Z., (2007).** Changes in the catechin and epicatechin content of grape seeds on storage under different water activity (aw) conditions. *Food Chemistry*, 105: 1504-1511.
 - **He Z., Xia W., Chen J., (2008).** Isolation and structure elucidation of phenolics compounds in Chinese olive (*Cnarium album* L.) fruit. *European Food Research and Technology*. 226: 1191-1196.
 - **Hennebelle T., (2006)-** Investigation chimique, chimiotaxonomique et pharmacologique de la lamelles productrices d'antioxydants : *Marrubium peregrinum*, *Ballota larendana*, *Ballota pseudodictamnus* (Lamiacées) et *Lippia alba* (Verbenacées). Thèse de doctorat en Chimie organique et macromoléculaire. Université Lille1. 304p.
 - **Hu S.G., Li L. et He X.W., (2005)-** Solid-phase extraction of esculetin from the ash bark of chinese traditional medicine by using molecularly imprinted polymers. *Journal of Chromatography A*, 1062 : 31-37.
 - **Hunyadi, A. (2019).** The mechanism(s) of action of antioxidants: From scavenging reactive oxygen/nitrogen species to redox signaling and the generation of bioactive secondary metabolites. *Medicinal Research Reviews*. 39(6): 2505-2533. <https://doi.org/10.1002/med.21592>
 - **Hynes M.J., O'Coinceanainn M., (2004).** The kinetics and mechanisms of reactions of iron (III) with caffeic acid, chlorogenic acid, sinapic acid, ferulic acid and naringin. *Journal of Inorganic Biochemistry*. 98: 1457–1464.

I

- **Inserm (Institut national de la santé et de la recherche médicale). (2025).** Diabète de type 1 : Une maladie auto-immune de la cellule bêta. Dossier d'information, Paris. Disponible sur : <https://www.inserm.fr/dossier/diabete-type-1/> [Consulté en Mai 2026].

J

- **Jacquemard, K. (2019).** Le guide de la phytothérapie au quotidien. Paris : rustica. 384.
- **Jacquin-Porretlz, M. C. (1996).** Mise au point des mesures et détermination des activités superoxyde dismutases totales chez *UNIO TUMIDU*, bivalve dulçaquicole en conditions physiologiques et de stress chimique.

- **Jamshidi-Kia, F., Lorigooini, Z., and Amini-Khoei, H. (2017).** Medicinal plants: Past history and future perspective. *Journal of Herbmmed Pharmacology*. 7(1): 1-7. <https://doi.org/10.15171/jhp.2018.01>
- **Jean, B. (2005).** Plantes toxiques - Végétaux dangereux pour l'homme et les animaux (éd. 3e). (T. e. Doc, Éd.) Lavoisier. 632.
- **Berkeley Jepson eFlora,(2012).** The University and Jepson Herbaria. University of California,(<https://ucjeps.berkeley.edu>)
- **Johnson, M., Olufunmilayo, L. A., Adegboyega, C. C., & Adetayo, O. M. (2014).** Evaluation of Antidiabetic and the Effect of Methanolic Leaf Extract of *Jatropha curcas* on Some Biochemical Parameters in Alloxan-induced Diabetic Male Albino Rats. *European Journal of Medicinal Plants*, 4(12), 1501-1512.

K

- **Kakhlon O., Cabantchik Z.I., (2002).** The labile iron pool: characterization, measurement, and participation in cellular processes¹. *Free Radical Biology and Medicine*. 33(8): 1037– 1046.
- **Kandouli C., Mathieu Cassien, Anne Mercier, Caroline Delehedde, Emilie Ricquebourg, et al. (2017).** Antidiabetic, antioxidant and anti-inflammatory properties of water and n-butanol soluble extracts from Saharian *Anvillea radiata* in high-fat-diet fed mice. *Journal of Ethnopharmacology*. Elsevier.
- **Khadayat, K., Marasini, B. P., Gautam, H., Ghaju, S., & Parajuli, N. (2020).** Evaluation of the alpha-amylase inhibitory activity of Nepalese medicinal plants used in the treatment of diabetes mellitus. *Clinical Phytoscience*, 6, 1-8.
- **Knip, M., & Siljander, H. (2008).** Autoimmune mechanisms in type 1 diabetes. *Autoimmunity Reviews*, 7(7), 550–557.
- **Kraus T.E.C., Dahlgren R.A., Zasoski R. J. (2003).** Tannins in nutrient dynamics of forest ecosystems - a review. *Plant and Soil* 256: 41–66.
- **Kimsanova Nilufar, Nodira Boltayeva, Sohijon Abdusamatov, Umarova Gulbakhor, Sobir Hamroyev, Sunnat Urinov, Sherali Kuziev, (2025).** Change of Antioxidant System in Diabetic Model Rat Liver Cells and Its Correction with Complex Compounds. *Journal of Neonatal Surgery*, 14 (7s), 148-156.

L

- **Lachkar, N., Al-Sobarry, M., El Hajaji, H., Lamkinsi, T., Lachkar, M., Cherrah, Y., & Alaoui, K. (2016).** Anti-inflammatory and antioxidant effect of *Ceratonia siliqua* L. methanol barks extract. *J Chem Pharm Res*, 8(3), 202-210.

- **Leopoldini M., Russo N. et Toscano M., (2011)-** The molecular basis of working mechanism of natural polyphenolic antioxidants. *Food Chemistry*, 125(2) : 288-306.
- **Lu, X., Xie, Q., Pan, X., Zhang, R., Zhang, X., Peng, G., Zhang, Y., Shen, S., and Tong, N. (2024).** Type 2 diabetes mellitus in adults: Pathogenesis, prevention and therapy. *Signal Transduction and Targeted Therapy*. 9(1): 1-25.
<https://doi.org/10.1038/s41392-024-01951-9>

M

- **MAHBOUB, Sara. (2023).** Biosynthèse et application des nanoparticules (Ag, CuO et ZnO) à partir des plantes sahariennes [Thèse de Doctorat LMD, Université Kasdi Merbah Ouargla]. Faculté des Sciences Appliquées, Département de Génie des Procédés.
- **Mannino, G., Serio, G., Asteggiano, A., Gatti, N., Berteà, C. M., Medana, C., and Gentile, C. (2022).** Bioactive Compounds and Antioxidant Properties with Involved Mechanisms of *Eugenia involucrata* DC Fruits. *Antioxidants*. 11(9): 1769.
<https://doi.org/10.3390/antiox11091769>
- **Mansour A., (2009)** – Investigation phytochimique de l'extrait n-butanol de l'espèce *centaurea africana*. Mémoire de magister, Univ. Constantine, p7.
- **Mansouri, A., Guendez, E., Kokkalou, E et Kefalas, P. (2005).** Phenolic profile and antioxidant activity of Algerian ripe date palm (*Phoenix dactylifera*). *Food.Chem*, 89:411-420.
- **Masella R., Di Benedetto R., Vari R., Filesi C. et Giovannini C., (2005)-** Novel mechanisms of natural antioxidant compounds in biological systems: Involvement of glutathione and glutathione-related enzymes. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 16 : 577-586.
- **McCall M.R. et Frei B., (1999)-** Can antioxidant vitamins materially reduce oxidative damage in humans. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(7-8) : 1034-1053.
- **Merghem, M., & Dahamna, S. (2020).** Antioxidant activity of *Centaureum erythraea* extracts. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, 10(2), 171–174.
- **Mesnoui, M. (2017).** Stress abiotiques sur *Atriplex halimus* L : Effet des métaux lourds et caractérisation des biomarqueurs et bioindicateurs. Thèse de doctorat en sciences, Université Abdelhamid Ben Badis-Mostaganem.
- **Mihaylova, D., Vrancheva, R., & Popova, A. (2019).** Phytochemical profile and *in vitro* antioxidant activity of *Centaureum erythraea* Rafn. *Bulgarian Chemical Communications*, 51(Special Issue A), 95-100.

- **Mishra, N. P., Mishra, R. K., & Singhal, G. S. (1993).** Changes in the Activities of Anti Oxidant Enzymes during Exposure of Intact Wheat Leaves to Strong Visible Light at Different Temperatures in the Presence of Protein Synthesis Inhibitors. *Plant Physiol.*, 102, 906.
- **Moatti, R. (1990, décembre).** La Phytothérapie. *Revue des deux mondes.* 80-89.
- **Mochizuki M., Yamazaki S.I., Kano K., Ikeda T., (2001).** Kinetic analysis and mechanistic aspects of autoxidation of catechins. *Biochim. Biophys. Acta -General Subjects.* 1569: 35-44.
- **Mompon B., Lemaire B., Mengal P., Surbel D., (1996).** Extraction des polyphénols : du laboratoire à la production industrielle. In : *Polyphénols 96.* Ed INRA. 31-35.
- **Mueller-Harvey I., McAllan A.B. (1992).** Tannins: their biochemistry and nutritional properties. *Adv. Plant Cell Biochem. Biotechnol.* 1: 151-217.

O

- **OMS (Organisation Mondiale de la Santé). (2019).** Classification du diabète sucré. Genève : Organisation mondiale de la santé. Disponible sur <https://apps.who.int/iris/handle/10665/329432>
- **Oyaizu, M. (1986).** Studies on products of browning reaction. *The Japanese journal of nutrition and dietetics.* 44(6): 307-315.

P

- **Pastre J. et Priymenko N., (2007)-** Intérêt des antioxydants de l'alimentation des carnivores domestiques. *Revue de Médecine Vétérinaire*, 158 : 180-189.
- **Petrovska, B. B. (2012).** Historical review of medicinal plants' usage. *Pharmacognosy Reviews.* 6(11): 1-5. <https://doi.org/10.4103/0973-7847.95849>
- **Pelikan, W., 2003 ;** l'homme et les plantes (Vol. 02). (G. Clartie, Trad.) éditions triades .page 317
- **Pourrut, B. 2008.** Implication du stress oxydatif dans la toxicité du plomb sur une plante modèle, *Vicia faba*.

Q

- **Quideau Stéphane, V Lattanzio, Paul A. Kroon and Dieter Treutte (2008).** Plant Phenolics –Secondary Metabolites with Diverse Functions, *Recent Advances in Polyphenol Research, Volume 1, Chapitre 1:* pp1-11.

R

- **Ramakrishna Akula and Gokare A. Ravishankar (2011).** Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants Plant Cell; Central Food Technological Research Institute, Plant signaling et Behavior 6: 11, pp1720-1721.
- **Réggami Y., (2016)-** Evaluation biochimique et immunologique d'une nouvelle classe de sulfonamides chez le rat diabétique. Thèse de doctorat en Biochimie Appliquée. Université d'Annaba. 231p.
- **Rudrapal, M., Khairnar, S. J., Khan, J., Dukhyil, A. B., Ansari, M. A., Alomary, M. N., Alshabrmi, F. M., Palai, S., Deb, P. K., and Devi, R. (2022).** Dietary Polyphenols and Their Role in Oxidative Stress-Induced Human Diseases : Insights Into Protective Effects, Antioxidant Potentials and Mechanism(s) of Action. Frontiers in Pharmacology. 13: 806470. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.806470>

S

- **Salah, N., Miller, N. J., Paganga, G., Tijburg, L., Bolwell, G. P et Rice-Evans, C, A., (1995).** Polyphenolic flavanols as scavengers of aqueous phase radicals and as chain-breaking antioxidants. Archives of Biochemistry and Biophysics. 339-346.
- **Samec Dunja, Erna Karalija, Ivana Šola, V. Bok and Branka S. Sondi (2021).** Review the Role of Polyphenols in Abiotic Stress Response: The Influence of Molecular Structure 1, Plants, 10, 118: pp1-15.
- **Saberi-Hasanabadi, P., Shaki, F., Karami, M., Bagheri, A., Ranaee, M., & Ataee, R. (2026).** Hepato-Renal Protective Potential of Dimethyl Fumarate in Alloxan-Induced Diabetic Mice Model by Modulating of Sirt1, Nrf2 and Inflammatory Genes Expressions. Endocrinology, Diabetes & Metabolism, 9(2), e70146.
- **Senat, M.-V., & Deruelle, P. (2016).** Le diabète gestationnel. Gynécologie Obstétrique & Fertilité, 44(2), 244-247. <https://doi.org/10.1016/j.gyobfe.2016.01.009>
- **Seresinhe T., Pathirana K.K. (2003).** Forage tannins in ruminant nutrition. Tropical Agricultural Research and Extension. 6: 39-43.
- **Sies, H. (1997).** Oxidative stress: oxidants and antioxidants. Exp. Physiol., 82, 291-295. doi:10.1113/expphysiol.1997.sp004024.
- **Singla, R. K., Dubey, A. K., Garg, A., Sharma, R. K., Fiorino, M., Ameen, S. M., Haddad, M. A., & Al-Hiary, M. S. (2019).** Natural Polyphenols: Chemical Classification, Definition of Classes, Subcategories, and Structures. Journal of AOAC International, 102(5), 1397–1400.

- **SOLTANI, Fatima Zohra, (2024).** Activités biologiques de quelques plantes médicinales de la région de Mascara (Algérie). Thèse de Doctorat en Sciences Biologiques. Mascara : Université Mustapha Stambouli.
- **Stalikas Constantine D. (2007).** Extraction, separation, and detection methods for phenolic acids and flavonoids, J. Sep. Sci. 30, pp3269 – 3270.
- **Swain T. 1979.** Tannins and lignins. In: Herbivores, their interaction with secondary plant metabolites. Rosenthal G.A., Janzen D.H. (Eds.), pp. 657-682. Academic Press, New York.

T

- **Tlili, M. L. (2015).** Contribution à la caractérisation physico-chimique et biologique des extraits de *Pergularia tomentosa* issue de quatre sites sahariens différents (Sahara septentrional) (Doctoral dissertation, Université Kasdi Merbah-Ouargla).
- **Tlili, M. L. (2020).** Contribution à la caractérisation structurale et biologique de quelques principes actifs extraits de deux plantes médicinales du Sahara Algérien *Salvia chudaei* Batt. & Trab. (Lamiaceae) et *Pergularia tomentosa* L. (Asclepiadeceae) (Thèse de doctorat, Université Kasdi Merbah – Ouargla).
- **Tlili, M. L., & Benine, C. (2022).** Comparison of ultrasound and maceration methods on antioxidant and antimicrobial efficacy of phenolic compounds extracted from *Cynodon dactylon* L. of Algeria. Ovidius University Annals of Chemistry, 33, 121-128. 10.2478/auoc-2022-0018.
- **Tobyn G, Denham A, Whitelegg M. (2010).** *Centaurium erythraea*, centaury. In The Western Herbal Tradition: 2000 Years of Medicinal Plant Knowledge. Elsevier. 135-144. doi: 10.1016/B978-0-443-10344-5.00018-5.

W

- **WAYMEL J., DUFAY S., ZAMBETTAKIS C., (2015)** – Plan de conservation de la Petite centaurée vivace (*Centaurium portense*). ANDRA. Villers-Bocage : Conservatoire botanique national de Brest, 38p + annexes.
- **Welch K.D., Davis T. Z., Aust S.D., (2002).** Iron Autoxidation and Free Radical Generation: Effects of Buffers, Ligands, and Chelators. Archives of Biochemistry and Biophysics. 397(02): 360–369.
- **Web.** <https://www.healthbenefitstimes.com/centaury>

Y

- **Yagi K., (1976)-** A Simple Fluorometric Assay for Lipoperoxide in Blood Plasma. Biochemical medicine, 15 : 212-216.

Références bibliographiques:

- **Yi-Zhong, C., Mei, S., Jie, X., Qiong, L., Corke, H., (2006).** Structure-radical scavenging activity relationships of phenolic compounds from traditional Chinese medicinal plants. *Life Sciences*, 78(25): 2872-2888.

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

وزارة الاقتصاد المبرورة والمؤسسات الناشئة
والمؤسسات الصغيرة

NESDA

الوكالة الوطنية لدعم وتنمية المقاولاتية



جامعة الشهيد حمدة لغفور - الوادي
الرقم: CDE-UELO/Z16SRVUC

شهادة تكوين في المقاولاتية

سلمت هذه الشهادة الى السيد (ة): **مريم بيات** **الحامل (ة) للرقم التعريفي الوطني الوحيد: 110031284000310003**

إبتداءا لتتابعته (ها) للدورة التكوينية في المقاولاتية وإنشاء المؤسسات الصغيرة، المنظمة خلال الفترة الممتدة من 04/05/2026 الى 24/05/2026.

في 24/05/2026 **حورث الوادي**

عن مدير المؤسسة الجامعية

عن الخبير العام للوكالة الوطنية لدعم وتنمية

المقاولاتية **سليم**

المختار **الخبير العام للوكالة الوطنية**



حوت هذه الشهادة الإقتضائية في إطار التكوين قصير المدى من قِبل المؤسسة المبرورة والمؤسسات الناشئة والمؤسسات الصغيرة، والتي تمتد من 04/05/2026 الى 24/05/2026. يتم تنظيم هذه الدورة التدريبية وتنسيقها من قبل الخبير العام للوكالة الوطنية لدعم وتنمية المقاولاتية وحورث الوادي. وكذا كليات معاهد ومؤسسات التعليم العالي والبحث العلمي.

الجمهورية العربية السورية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

وزارة الاقتصاد المبررة والمؤسسات الناشئة
والمؤسسات المصغرة



الوكالة الوطنية لدعم وتنمية المفاولة



جامعة الشهيد حمزة لطف - الوادي
الرقم: CDE-UTEO/GS3NNF2W

شهادة تكوين في المفاولة

سلمت هذه الشهادة إلى السيد (ة): **شيماء بوهلال** **العام (ة) للرقم التعريفي الوطني الوحيد: 110021284006270005**

إثباتا لمتابعته (ها) للندوة التكوينية في المفاولة وإنشاء المؤسسات المصغرة، المنظمة خلال الفترة الممتدة من 05/05/2026 إلى 24/05/2026.

في 24/05/2026

حرمه الوادي

عن مدير المؤسسة الجامعية

عن المدير العام للوكالة الوطنية لدعم وتنمية
المفاولة



حيث تمت شهادتها التكوينية في إطار البرامج السانحة من طرف القضاء الوطني والمؤسسات الجامعية وبمؤسسات تعليمية الخيرة في 24 رجب عام 1448 الموافق لـ 24 أيار سنة 2026. بهذه التلميح ونسب لجهة التلميح والتمتع
وتسليم التلميح الاستثنائية المصنفة من مستوى الوكالة الوطنية لدعم وتنمية المفاولة وكذا كلياتها معاهدة ومضمون التلميح المصنفة هذه التلميح