



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

N série:...

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة الشهيد حمزة لخضر الوادي

Université Echahid Hamma Lakhdar -El OUED

كلية علوم الطبيعة والحياة

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

قسم البيولوجيا الخلوية والجزيئية

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

Etude de l'activité antidiabétique et antioxydante de l'extrait aqueux d'*Oudneya africana* R. Br. de la région d'El Oued chez des rattes rendues diabétiques par l'alloxane

Présentés Par :

M^{elle} SEGHEIRI Imane

M^{elle} ZEBIDI Maroua

Devant le jury composé de :

Président :	Mr Khelef .Y	M.A.B	Université d'El Oued.
Examinatrice :	M ^{me} Mahboub .N	M.C.B	Université d'El Oued.
Promoteur :	Mr Derouiche .S	M.C.A	Université d'El Oued.

Année universitaire : 2017/2018.

Remerciements

*Avant toute chose, Je remercie Dieu tout puissant de m'avoir donné
santé, courage et patience tout au long de mes études.*

J'exprime d'abord mes profonds remerciements à mon promoteur

Dr : DEROUICHE Samir

*pour accepter d'être mon promoteur, pour sa confiance, son soutien,
son attention, ses bons conseils, ses qualités humaines.*

*Pour tout cela, Je veux qu'il trouve ici l'expression
de ma profonde gratitude.*

Je remercie Khelef . Y et Mahboub . N

*d'avoir bien voulu accepter de juger ce travail, je vous en suis très
reconnaissant et en espérant être à l' hauteur de votre confiance.*

Nous adressons nos plus sincères remerciements

*M^{elle} GOUBI . S, responsable du laboratoire de la Faculté des Sciences
de la Nature et de la vie à*

L'université d' Echahid Hamma Lakhdar EL OUED.

*Un grand merci collectif à tous les enseignants qui nous ont formés, je
leur adresse mes sincères remerciements pour leur patience et pour
tout ce qu'il mon offert comme enseignements et leurs conseils durant
se long cycle de formation .*

*Nous tenons également à remercier infiniment tous ceux qui nous ont
aidés de près ou de loin pour la réalisation de ce modeste travail.*

IMANE ET MAROUA

Résumé

Notre étude a porté sur la recherche de l'effet antidiabétique in-vitro , hypoglycémiant et antioxydant des extraits aqueux des feuilles d' *Oudneya africana* R. Br. sur un modèle de rattes Wistar rendues diabétiques par l'injection d'une dose unique de (150 mg/kg pc) d'alloxane par voie intra-péritonéale. L'étude réalisée sur 16 rattes femelle de la souche Wistar albinos répartis en trois groupe; groupe témoin sain (TS), groupe diabétique non traité (DNT), groupe diabétique traité par l'extraits aqueux d' *Oudneya africana* R. Br. (400 mg/kg p.c) pendant 21 jours. Le poids corporel et la glycémie sont mesurés régulièrement. Après 21 jours de traitement, les rattes sont sacrifiées et quelques paramètres biochimiques sont déterminés. Les résultats de test de toxicité montrent que la plante d'*Oudneya africana* R. Br. ne présente aucune toxicité ou effet néfaste avec des doses élevées sur la physiologie générales des rattes. De plus l'analyse des résultats montre clairement que le traitement par extraits aqueux d' *Oudneya africana* R. Br. diminue de manière significatif la glycémie des rattes diabétiques , et aussi provoque une amélioration de profil lipidique (diminution très hautement significative ($P<0.001$) du taux plasmatique de triglycéride et VLDL) et l'activité des transaminases (TGO, TGP). D'autre part l'administration de l'extrait aqueux a également diminué ($p>0.05$) du taux plasmatique d'acide urique, urée et créatinine. On a observé aussi une amélioration de l'état de stress oxydatif dans les tissus étudiés, traduit par la diminution ($P<0.01$) des concentrations de l'MDA et augmentation du taux de GSH dans le groupe traité par la plante. D'autre part, l'examen histologique du tissu pancréatique montre que l'extrait aqueux d'*Oudneya africana* R. Br. a un effet protecteur de la structure et la fonction des cellules β de Langerhans et améliore l'architecture histologique des îlots de Langerhans. En conclusion, la présente étude suggère que *Oudneya africana* R. Br. a un effet bénéfique contre le développement du diabète et ces complications.

Mots clés : *Oudneya africana* R. Br, stress oxydatif, diabète, hypoglycémiant, polyphénol.

ملخص

ركزت دراستنا في البحث عن التأثير المضاد لداء السكري في المختبر ، نقص نسبة السكر في الدم و الفعالية المضادة للأكسدة للمستخلص المائي لأوراق نبات العلقه (*Oudneya africana* R. Br.) لدى جرذان من نوع ويستار مريضة بالسكري عن طريق حقن جرعة واحدة من مادة الألوكسان (150ملغ/كغ) داخل الصفاق ، أجريت هذه الدراسة على 16 أنثى جرذان من سلالة ويستار ألبينوز (Wistar albinos) مقسمة إلى ثلاث مجموعات ،مجموعة شاهدة سليمة ،مجموعة مريضة بالسكري وغير معالجة و مجموعة مريضة بالسكري وعولجت بالمستخلص المائي لأوراق نبات العلقه (400ملغ/كغ) لمدة 21 يوم . يتم قياس وزن الجسم ونسبة السكر في الدم يوميا لمدة 21 يوم, بعد 21 يوم من المعالجة تنبج الجرذان لتحديد بعض المعايير البيوكيميائية . تظهر نتائج اختبار السمية أن نبات العلقه ليس له سمية او تأثيرات جانبية بجرعات عالية على الفسيولوجيا العامة للجرذان. من جهة أخرى النتائج المتحصل عليها أظهرت بوضوح أن العلاج بواسطة المستخلص المائي لأوراق نبات العلقه ينقص مستوى السكر في الدم للجرذان المصابة بداء السكري وكذلك يحسن من مستوى الدهون في الدم (نقصان مهم جدا $P<0.001$ الجليسيريدات الثلاثية و VLDL) ولنشاط (TGO, TGP) ،لاحظنا أيضا انخفاض ($p>0.05$) مستوى حمض اليوريك، حمض البولة و الكرياتينين في الدم ، كما لاحظنا أن هناك تحسين في الإجهاد التأكسدي في الأنسجة المدروسة و الذي انعكس في انخفاض تركيز MDA و زيادة مستوى GSH. كما يظهر الفحص النسيجي لأنسجة البنكرياس أن المستخلص المائي لأوراق نبات العلقه له تأثير وقائي على بنية ووظيفة خلايا β البنكرياسية ويحسن البنية النسيجية لجزر لانجر هانس . في الختام، تظهر هذه الدراسة بأن نبات العلقه *Oudneya africana* R. Br له القدرة على الحد من تطور مرض السكري ومضاعفاته .

الكلمات المفتاحية: العلقه ، الإجهاد التأكسدي ، داء السكري ، نقص السكر في الدم ، بولي فينول .

Liste des figures

Figure	Titre	Page
01	Balance d'équilibre entre les systèmes pro et antioxydants.	09
02	Mécanisme de protection antioxydante.	14
03	Conséquences pathogènes du stress oxydant.	15
04	Morphologie d' <i>Oudneya africana</i> R. Br.	17
05	<i>Oudneya africana</i> R. Br.	21
06	Protocole expérimentale.	24
07	Protocole d'obtention de l'extrait aqueux d' <i>Oudneya africana</i> R. Br.	26
08	Pourcentage d'inhibition pour l'extrait aqueux d' <i>Oudneya africana</i> R. Br. et l'acide ascorbique.	36
09	IC50 de l'extrait aqueux d' <i>Oudneya africana</i> R. Br.	36
10	IC50 de L'acide ascorbique.	36
11	Valeurs d'IC50.	37
12	Variation de la concentration du glucose en fonction de la concentration de l'extrait aqueux d' <i>Oudneya africana</i> R. Br.	37
13	Pourcentage d'augmentation de l'absorption du glucose par les cellules de levure.	38
14	Concentration plasmatique de cholestérol, triglycérides, HDL , VLDL et LDL chez le groupe témoins et les groupes Traités.	40
15	Concentration des triglycérides et cholestérol dans les tissus adipeux chez le groupe témoins et les groupes Traités.	41
16	Variation du nombre des globules blancs , lymphocytes ,nombre des globules rouges, plaquettes et le taux d'hémoglobine chez le groupe	42

Liste des figures

	témoin et les groupes traités.	
17	Variation de la concentration sérique d'urée, créatinine et d'acide urique chez le groupe témoin et les groupes traités pendant 21 jours.	44
18	Variation de l'activité des transaminases (TGO, TGP) chez le groupe témoin et les groupes traités pendant 21 jours.	44
19	Variation de la peroxydation lipidique au niveau tissulaire chez le groupe témoin et les groupes traités pendant 21 jours.	45
20	Variation de glutathion réduit(GSH) au niveau tissulaire chez le groupe témoin et les groupes traités pendant 21 jours.	46
21	Pancréas de ratte témoin sain : (A) couleur HEx40, (B) couleur HEx100. (i) : îlots de Langerhans.	47
22	Pancréas de ratte diabétique non traité: (A) et (B) couleur HEx100, (C) couleur HEx40. (i) : îlots de Langerhans (n) : Atrophie des îlots de Langerhans (h) : hémorragie.	47
23	Pancréas de ratte diabétique traité par l'extrait aqueux d' <i>Oudneya africana</i> R. Br. (A) et (B) couleur HEx100, (C) couleur HEx40. (i) : îlots de Langerhans (n) : Atrophie des îlots de Langerhans (h) : hémorragie.	48

Liste des tableaux

Tableaux	Titre	Page
01	Composition de régime standard.	22
02	Rendement de l'extrait aqueux d' <i>Oudneya africana</i> R.Br.	33
03	Tests phytochimiques d'extrait aqueux d' <i>Oudneya africana</i> R. Br.	33
04	Contenue en polyphénols et flavonoïdes dans l'extrait aqueux d' <i>Oudneya africana</i> R. Br.	33
05	Effet de l'extrait aqueux de d' <i>O. africana</i> sur des paramètres physiologiques des rattes.	38
06	Poids initial , gain du poids et poids relatif des organes chez les groupes expérimentaux.	39
07	Pourcentage de variation glycémique chez le groupe témoin et les groupes traités.	43

Sommaire

Remerciements

Résumés

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction générale

Première partie: Synthèse bibliographique

Chapitre I : Diabète et stress oxydatif

1. Diabète	5
1.1. Définition.....	5
1.2. Classification	5
1.2.1. Diabète de type 1.....	5
1.2.2. Diabète de type 2.....	5
1.3. Symptômes	6
1.4. Traitement.....	6
1.5. Diabète expérimental.....	6
2. Stress oxydatif	8
2.1. Définition.....	8
2.2. Les radicaux libres	9
2.2.1. Définition.....	9
2.2.2. Sources des radicaux libres	9
2.2.2.1. Sources endogènes	9
2.2.2.2. Sources exogènes	10
2.3. Conséquences du stress oxydatif.....	10
2.3.1. Oxydation de l'ADN	10
2.3.2. Oxydation des protéines	10
2.3.3. Oxydation des lipides	10
2.4. Antioxydants.....	11
2.4.1. Antioxydants enzymatiques	11
2.4.2. Antioxydants non enzymatique.....	12
2.5. Stress oxydatif et diabète	13

Chapitre II : *Oudneya africana* R.Br.

1.Présentation de la plante.....	16
2. Position systématique.....	16
3. Description botanique	17
4. Propriétés et utilisations thérapeutiques	17

Deuxième partie : Partie expérimentale

Chapitre I :Matériels et méthodes

1. Matériels.....	20
1.1. Matériels biologiques	20
1.1. 1.Matériel végétal.....	20
1.1.2. Matériel animal	20
1.1.2.1.Étude de la toxicité d'extrait aqueux d' <i>Oudneya africana</i> R.Br.	21
1.1.2.2.Étude de l'effet antidiabétique et antioxydant de l'extrait aqueux d' <i>Oudneya africana</i> R.Br. ...	22
1.2.Réactifs et produits utilisés	24
1. Méthodes	24
1.1. Préparation de l'extrait aqueux.....	24
2.2. Calcul du rendements d' <i>Oudneya africana</i> R. Br. en extrait sec	25
2.3.Tests phytochimiques	26
2.4. Dosage des polyphénols et flavonoïdes.....	27
2.5. Mesure de l'activité antioxydant in vitro	28
2.6. Mesure de l'activité antidiabétique in vitro.....	28
2.7. Sacrifice et prélèvement de sang et des organes	29
2.8. Méthode de dosage des paramètres biochimique	30
2.9. Méthode de dosage de hémoglobine glyquée	30
2.10. Méthode de dosage des paramètres hématologiques	30
2.11. Méthode de dosage des paramètres de stress oxydatif	30
2.11.1. Préparation de l'homogénats des organes	30
2.11.2. Méthode de dosage du Malondialdéhyde (MDA)	31
2.11.3. Méthode de dosage de glutathion réduit (GSH).....	31
2.12. Analyse histologique	32
2.13. Méthode d'analyse statistiques	33

Chapitre II: Résultats et discussion

1. Résultats	35
1.1. Rendement de l'extrait aqueux d' <i>Oudneya africana</i> .R.Br.....	35
1.2. Etude phytochimique et dosage de polyphénols et flavonoïdes.....	35
1.3.Activité anti-radicalaire d'extrait aqueux d' <i>Oudneya africana</i> R.Br.	36

Sommaire

1.4. Test de glycosylation.....	37
1.5. Absorption du glucose dans les cellules de levure	38
1.6. Étude de Test de toxicité d' Oudneya africana R. Br.....	38
1.7. Etude de la croissance corporelle et les poids relatif des organes	39
1.8 . Profil lipidique sérique	39
1.9. Teneurs lipidique des tissus adipeux	41
1.10. Effet du traitement par Oudneya africana R. Br. sur des paramètres hématologiques et biochimiques	41
1.11. Étude de l'effet d'Oudneya africana R. Br sur le stress oxydatif	45
1.12. Etude histopathologique	47
2. Discussion	49
Conclusion générale	59
Références bibliographiques.....	62

Liste des abréviations

Liste des abréviations

8-OHdG : 8-hydroxy-2' déoxyguanosine.

Abs: Absorbance.

ADN : Acide désoxyribonucléique.

AG: Acide gallique.

AR-GLP1: Aagoniste du récepteur du glucagon-like peptide-1.

BHT : Butyl hydroxy toluene.

CAT: Catalase.

DKA : Diabetic ketoacidosis

DM : Diabète mellitus.

DNT : Diabétique nom traité.

DPP-4 : Dipeptidyl peptidase-4.

DPPH : 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyle.

DT : Diabétique traité.

DT1: Diabète de type 1.

DT2: Diabète de type 2.

DTNB : Acide 5,5'-dithiobis (2-nitrobenzoïque) ou réactif d'Ellman.

E.AG : Equivalent en acide gallique.

E.Q: Equivalent Quercétine.

EDTA : Ethylène diamine tétra-acétique acid.

ES: Ecart-types.

G: guanine.

GB : Globules blanches.

GLP-1: Glucagon-like peptide-1.

GR: Globules rouges.

GSH : Glutathion réduit.

GSH-Px: Glutathion peroxydase.

H₂O : Eau distillée.

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène.

H₂SO₄: Acide Sulfurique.

HB glyquée : Hémoglobine glyquée.

HDL : Hight density lipoproteins (lipoprotéines de haute densité)

HGB : Hémoglobine.

Liste des abréviations

HMG-CoA réductase : 3-hydroxy-3-méthyle-glutaryl coenzyme A réductase.

IC50: Concentration inhibitrice de 50% (Inhibitory Concentration of 50%).

LDL: Low density lipoproteins.

M : Molaire.

MDA : Malondialdéhyde.

mg/kg p.c : milligramme/ kilogramme de poids corporel.

MS : Matière Sèche.

N : Normalité.

NADPH : Reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate.

NO: L'oxyde d'azote.

NO₂: dioxyde d'azote .

O₂: Oxygène.

OH: anions superoxydes.

OH[•] : Radical hydroxyle O₂ Oxygène singulet.

OMS : Organisation mondiale de la santé.

PLT : Plaquettes.

RE : Réticulum endoplasmique.

RNS : Reactive Azote Species.

ROS : Reactive Oxygen Species.

SGLT2 : Sodium-glucose co-transporter-2.

SOD : Superoxyde dismutase.

T: thymine.

TBA : Thiobarbituric acid: L'acide thiobarbiturique

TCA : Trichloroacétique.

TG : Triglycérides.

TGO : Transaminase glutamique oxaloacétique.

TGP: Transaminase glutamique pyruvique.

UV: Ultra violet.

VLDL: Very Low Density Lipoprotein.

Introduction générale

Le diabète est une maladie métabolique caractérisée par un désordre au niveau de la régulation du métabolisme des glucides entraînant une hyperglycémie (ADA,2010) . Selon l'OMS, on estime plus de 135 millions de diabétiques dans le monde avec une prévision de 300 millions de personnes susceptibles d'être atteintes en 2025. En Afrique, les estimations sont évaluées à 7 millions de diabétiques (Bouchenak et *al.*, 2018). Par ailleurs, Le diabète sucré est un trouble métabolique caractérisé par une hyperglycémie et une insuffisance de sécrétion ou d'action d'insuline endogène (Derouiche et *al.*,2017). Le diabète est généralement accompagné par une augmentation de la production des radicaux libres ou des défenses antioxydantes altérées (Ceriello et *al.*, 2000) ce qui provoque un état de stress oxydatif qui est participe largement dans le développement et la progression du diabète et ses complications (Kumar et Pandey, 2013)

Le stress oxydant est une circonstance anormale que traversent parfois nos cellules ou tissus lorsqu'ils sont soumis à une production, endogène ou exogène, de radicaux libres oxygénés qui dépasse leurs capacités antioxydantes (Gillery, 2006). L'excès de radicaux libres non neutralisés par les défenses est très dommageable pour les macromolécules essentielles de nos cellules, entraînant anomalies d'expression des gènes et des récepteurs membranaires, prolifération ou mort cellulaire, troubles immunitaires, mutagenèse, dépôts de protéines dans les tissus (Duana et *al.*, 2017) . Par la création de molécules biologiques chimiquement et irréversiblement anormales et la surexpression de certains gènes (Morsi et *al.*, 2016), le stress oxydant sera la cause initiale essentielle de plusieurs maladies : diabète , cancer, cataracte, sclérose latérale amyotrophique, syndrome de détresse pulmonaire aigu, oedème pulmonaire, vieillissement accéléré (Birben et *al.*, 2012.)

Les plantes sont largement utilisés dans le traitement d'une variété de troubles dans la médecine populaire arabe (Djeridane et *al.*, 2005). Ils ont été utilisées depuis long temps comme sources de médicament contre diverses maladies , dont le diabète sucré. Ces propriétés sont généralement attribués à des métabolites secondaires qui sont les sujet de beaucoup de recherche dans ce domaine (Khacheba et *al.*,2014).

Parmi les plantes médicinales les plus utilisées et qui ont un grand intérêt antidiabétique et hypoglycémiant pour l'Algérie et les pays voisins (Tunisie et Maroc), on trouve *Oudneya africana* R. Br. Cette plante appartenant à la famille des Brassicacées, est communément connue sous le nom de "Alga" ou "Henat l'ibel". Cette dernière est recommandée pour le traitement de plusieurs maladies (Ouici et Djoudi, 2014).

Introduction générale

L'objectif essentiel de notre travail consiste à étudier l'effet antidiabétique et antioxydant de l'extrait aqueux d' *Oudneya africana* R. Br. chez des rattes de la souche Wistar rendus diabétiques par l'alloxan.

Ce travail qui est subdivisé en deux parties essentielles :

*La partie théorique ; une synthèse bibliographique où nous apportons dans :

- La première chapitre «diabète et stress oxydative »,
- La deuxième chapitre présentation de la plante médicinale choisie «*Oudneya africana* R. Br.»

*La partie pratique ; qui concernée par les matériels et les méthodes utilisées pour l'évaluation de l'activité antidiabétique d' *Oudneya africana* R. Br.in vitro et in vivo, chez des rattes rendues diabétiques par l'alloxane. Enfin la discussion des résultats obtenus suivi par conclusion.

Première partie

Synthèse bibliographique

Chapitre I

Diabète et stress oxydatif

1. Diabète

1.1. Définition

Le diabète sucré est une crise sanitaire mondiale qui affecte l'humanité indépendamment du profil socio-économique et emplacement géographique de la population (Derouiche et *al.*, 2017). Le diabète sucré est un trouble métabolique chronique résultant d'une carence en insuline, caractérisé par une hyperglycémie, un métabolisme altéré des glucides, des protéines et des lipides, et un risque accru de complication vasculaire (Laxmi et *al.*, 2010). ce qui conduit à l'hyperglycémie chronique et les complications aiguës et chroniques subséquentes (Canivell et Gomis, 2014) .

Le diabète est définie par une glycémie supérieure à 1,26 g/l (7 mmol/l) après un jeûne de 8 heures et vérifiée à deux reprises. Il est aussi définie par la présence de symptômes de diabète (polyurie, polydipsie, amaigrissement) associée à une glycémie (sur plasma veineux) supérieure ou égale à 2 g/l (11,1 mmol/l) ainsi que par une glycémie supérieure ou égale à 2 g/l (11,1 mmol/l) 2 heures après une charge orale de 75 g de glucose (OMS, 2007).

1.2. Classification

Deux formes majeures du diabète sont généralement identifiés , à savoir le diabète de type 1, également connu sous le nom de diabète juvénile et le diabète de type 2, anciennement appelé diabète de l'adulte (William et Cefalu, 2006).

Une proportion relativement faible (10%) de patients souffrant a un diabète de type 1 ou insulino-dépendant. Cependant, la majorité des patients diabétiques ne sont pas insulino-dépendants et moins initialement, pour produire l'hormone. Ce type de diabète sucré est appelé diabète de type2(Rochette et *al.*,2014).

1.2.1. Diabète de type 1

Le diabète de type 1 (DT1) est le trouble métabolique chronique le plus fréquent chez les enfants (Principi et *al.*, 2017). Le diabète de type 1 est un trouble chronique auto-immun résultant de la progression de destruction et dysfonctionnement des cellules β productrices d'insuline dans les îlots pancréatiques, ce qui entraîne en outre une grave carence en insuline, hyperglycémie et complications secondaires (Chih-Wei et *al.*, 2017).

1.2.2. Diabète de type 2

Le diabète de type 2 (DT2) est un trouble métabolique complexe qui résulte d'altérations chroniques associées à l'insensibilité correspondante des tissus aux actions de l'insuline (Brendan et *al.*, 2017). Le diabète de type 2 est la forme la plus fréquente du

diabète, Il est caractérisé par une résistance à l'insuline et une carence en insuline, conduisant à un état d'hyperglycémie (Wenzhen et *al.*, 2018), l'une ou l'autre de ces deux caractéristiques pouvant dominer à un degré variable. Il peut évoluer sans symptôme pendant plusieurs années et générer des complications sans avoir été diagnostiqué (Fagot, 2010). L'obésité est considérée comme la principale cause du diabète de type 2 chez les sujets sont génétiquement prédisposés à la maladie (Mercaldo et *al.*, 2017).

1.3. Symptômes

Les symptômes cliniques sont la polydipsie, la polyurie, la perte inexplicée de poids corporel, la faiblesse et susceptibilité à certaines infections (Canivell et *al.*, 2014), les patients atteints de diabète de type 2 peuvent présenter une acidocétose diabétique (DKA). Les enfants atteints de diabète de type 1 présentent généralement les symptômes de la marque de polyurie / polydipsie et occasionnellement avec DKA. L'apparition du diabète de type 1 peut être variable chez les adultes et ne peut pas présenter les symptômes classiques observés chez les enfants (William et Cefalu, 2015).

1.4. Traitement

Améliorer l'efficacité des traitements antidiabétiques devrait avoir pour l'objectif de réduire l'hyperglycémie ambiante, le poids corporel et la variabilité glycémique, de limiter le risque d'hypoglycémie, de préserver la qualité de vie et la satisfaction du patient (Monnier et *al.*, 2018).

Parmi les antidiabétiques disponibles, sont distingués les antidiabétiques oraux biguanides, sulfamides hypoglycémisants, inhibiteurs des alpha glucosidases, glinides, inhibiteurs du cotransporteur de la dipeptidyl-peptidase-4 (DPP-4) et inhibiteurs de sodium-glucose de type 2 (SGLT2) et les antidiabétiques injectables analogues des glucagon-like peptide-1 (GLP-1), insuline (Pillon, 2014). Quand il s'agit de thérapeutiques « injectables » associant insuline et agoniste du récepteur du glucagon-like peptide-1 (AR-GLP1) (Monnier et *al.*, 2018).

Actuellement, diverses classes thérapeutiques permettent de traiter le diabète Inhibiteurs de la DPP-4 , Biguanides, sulfonylurées, thiazolidinediones (Paneni et *al.*, 2017).

1.5. Diabète expérimental

Les modèles animaux de diabète représentent un outil important dans l'investigation du diabète qui nous aide pour éviter des études inutiles et éthiquement difficiles sur des sujets

humains, ainsi que obtenir un point de vue scientifique complet de cette maladie. Bien qu'il existe plusieurs méthodes à travers lequel le diabète peut être induit (Miroslav et *al.*, 2015)

Le diabète sucré expérimental chez les animaux de laboratoire peut être induit en utilisant manipulation chimique, chirurgicale et génétique / immunologique. Cela peut également être considéré comme un des méthodes de classification du diabète expérimental, qui est dans ce cas basé sur méthode d'induction (Kim et *al.*, 2002). Le produit chimique le plus important et le plus fréquemment utilisé pour l'induction du diabète expérimental sont l'alloxane et la streptozotocine. Pourtant, ces produits chimiques sont les plus couramment utilisés pour l'induction du diabète de type 1 parce qu'ils sont incapables d'induire directement une résistance à l'insuline (Lenzen, 2008).

➤ Alloxane

L'alloxane (2,4,5,6-tétraoxypyrimidine, 5,6-dioxyuracile) est un dérivé de la pyrimidine synthétisé par oxydation de l'acide urique. C'est un hydrophile composé instable avec une structure similaire au glucose. Ces propriétés d'alloxan sont essentielles pour le développement du diabète (Lenzen, 1988, Wattiez et *al.*, 2012).

A savoir, son hydrophilie empêche l'alloxane de pénétrer la bicouche lipidique de la membrane plasmique, tandis que la structure de type glucose permet une entrée de alloxane dans les cellules bêta (Lenzen et Munday, 1991). La diabétogénicité de l'alloxane est soulignée par sa sélectivité l'absorption cellulaire par les cellules bêta du pancréas et consécutive accumulation dans ces cellules (Ighodaro et *al.*, 2018). Il peut produire spécifiquement un nécrose des îlots pancréatiques et provoque une réduction massive des cellules β des îlots de Langerhans et induit une hyperglycémie (Stanely et Venugopal, 2000).

L'alloxan est l'un des diabétogène commun agents souvent utilisés pour évaluer le potentiel antidiabétique des composés purs et extraits de plantes dans des études impliquant diabète (Ighodaro, 2018). Il est une cytotoxiques analogues du glucose (Lenzen, 2008). Il agit comme une cytotoxine pour les cellules β de l'îlot de langerhans, provoque le diabète par l'induisant du nécrose cellulaire. Le ROS médie la action cytotoxique conduisant à la destruction rapide des cellules β ainsi diminution de la sécrétion d'insuline avec augmentation chronique du glucose (Owolabi et *al.*, 2011). L'alloxane induit une hyperglycémie par génération de ROS et inhibition de l'activité de la glucokinase (Kamran et *al.*, 2017).

➤ La streptozotocine

La streptozotocine (STZ, 2-désoxy-2-(3-méthyl-3-nitrosouréido)-D-glucopyranose) est synthétisée par *Streptomyces achromogenes* et est utilisée pour induire à la fois le diabète sucré insulino-dépendant (Szkudelski, 2001). Le mécanisme par lequel la streptozotocine provoque le diabète sucré comprend la destruction sélective des cellules β pancréatiques sécrétant l'insuline et minimise l'absorption du glucose par les tissus périphériques (Assefa et al., 2017). Après l'absorption streptozotocine dans les cellules bêta pancréatiques insulino-sécrétantes par GLUT-2 (transporteurs fortement exprimé). La streptozotocine produit la mort cellulaire par désoxyribonucléique méthylation acide (ADN). Cela entraîne un diabète insulino-dépendant avec hyperglycémie chronique et hypoinsulinémie (Ho et al., 2011).

2. Stress oxydatif

2.1. Définition

Les espèces réactives de l'oxygène (ROS) ou les radicaux libres sont naturellement formés à l'intérieur de l'organisme, en raison de l'activité cellulaire. Le déséquilibre entre la production physiologique de radicaux libres et la capacité des cellules à les piéger favorise un état d'oxydation, appelé stress oxydatif (Scicchitano, 2017). Donc le stress oxydatif se définit comme le déséquilibre entre la production des ROS / RNS générées dans le métabolisme aérobie et leur élimination par la défense antioxydante incluant des enzymes telles que la superoxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT) et la glutathion peroxydase (GSH-Px), ou par des particules non enzymatique qui sont des récepteurs d'électrons tels que le glutathion (GSH) et la vitamine C/E (Duan et al., 2017).

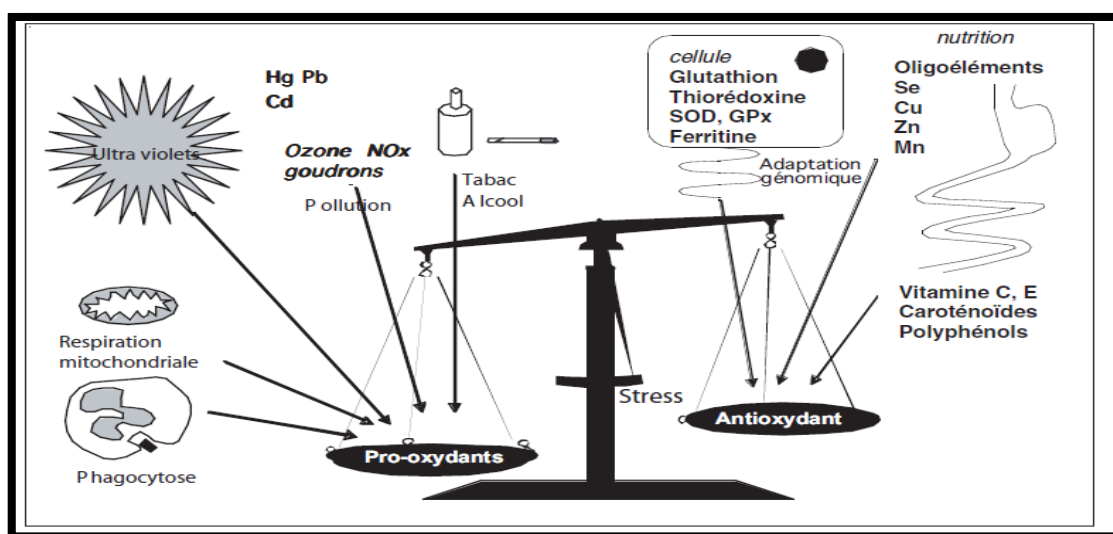


Figure (01) : Balance d'équilibre entre les systèmes pro et antioxydants (Favier et al., 2006).

2.2. Les radicaux libres

2.2.1. Définition

Les radicaux libres sont des atomes ou des molécules qui sont capables d'avoir un indépendant existence qui contiennent un ou plusieurs électrons non appariés (Derouiche et Djouadi, 2017). Les radicaux libres sont produits dans le métabolisme de la cellule normale, dans les réactions biochimiques impliquant l'oxygène pour le but de détruire les bactéries et autres organismes vivants pris dans la cellule par phagocytose (Sharique et Maqbool, 2017). Cependant, ils peuvent également être produits excessivement par l'exposition aux rayonnements, au tabac et à d'autres polluants et avec hyperoxie, exercice excessif et ischémie. Excessif concentration de radicaux libres dans l'environnement cellulaire peut conduire à les dommages cellulaires et la mort. Ce dommage peut être évité ou atténué par la présence de molécules antioxydantes (Ersan et *al.*, 2006). Les radicaux libres peuvent être formés à partir de molécules neutres par l'absorption ou la libération d'un électron. Un autre possibilité de formation de radicaux réside dans l'homolytique clivage d'une liaison covalente, une réaction qui normalement nécessite une quantité substantielle d'énergie (Maged, 1999).

Dans les différents domaines de la biologie et de la médecine, les radicaux libres sont plus généralement appelés espèces réactives d'oxygène ROS ou espèces réactives de l'azote (RNS). Radicaux libres peuvent donc être des espèces anioniques, cationiques ou neutre, une charge nette négative ou une charge nette positive ou étant électriquement neutre (Firuzi et *al.*, 2011). Parmi les ROS les plus importants figurent le radical hydroxyle ($\text{OH}\cdot$), l'anionradicalaire superoxyde ($\text{O}_2\cdot^-$), le monoxyde d'azote ($\text{NO}\cdot$) et les radicaux peroxyde ($\text{ROO}\cdot$), ainsi que des espèces non-radicalaires telles que peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), oxygène singulet ($^1\text{O}_2$), acide hypochloreux (HOCl) et peroxynitrite (ONOO^-) (Valko, 2007).

2.2.2. Sources des radicaux libres

Les radicaux libres peuvent être produits à partir de sources endogènes et / ou exogènes.

2.2.2.1. Sources endogènes

les sources endogènes les plus importantes de radicaux libres sont : NADPH oxydase, cytochromes P450, les enzymes de la mitochondrie chaîne respiratoire (Poprac et *al.*, 2017).

NADPH oxydases peuvent conduire à la formation de radicaux O_2 , aussi de la détoxification des xénobiotiques (toxiques, médicaments) par le système des cytochromes P450 présents au niveau du réticulum endoplasmique, aussi la membrane mitochondriale

externe renferme une monoamine oxydase capable de catalyser la désamination oxydative de certaines amines, avec production simultanée de H₂O₂ (Monique et *al.*, 2003) .



2.2.2.2. Sources exogènes

Les facteurs exogènes jouent un rôle important dans la production de ROS. Leur présence est principalement une conséquence de pollution industrielle; par exemple. composés présents dans l'air tels que l'ozone, l'amiant et surtout la fumée de cigarette. Certains d'autres facteurs contribuant à la production de ROS comprennent: exercice intense (qui provoque une inhalation accrue, et donc une augmentation de la quantité d'oxygène dans le corps) (Kleniewska et Pawliczak, 2017).

2.3. Conséquences du stress oxydatif

Le stress oxydatif est capable de causer des dommages à divers constituants cellulaires, tels que l'ADN, les protéines et les lipides (Kawanishi et *al.*, 2001).

2.3.1. Oxydation de l'ADN

L'ADN, est sensible à l'attaque des EOA et se transforme en 8-hydroxy-2' déoxyguanosine (8-OHdG) Lors de la réplication de l'ADN, la 8-OHdG se couple avec l'adénine, ce qui provoque une mutation G-T dans le brin fille de l'ADN. Il existe des systèmes de réparation efficaces qui permettent d'éliminer par voie urinaire cette forme indésirable de l'ADN (impliquée dans le développement du cancer) (Pincemail et *al.*, 2009).

2.3.2. Oxydation des protéines

L'oxydation des protéines par ROS / RNS peut produire une gamme de produits stables ainsi que réactifs tels que les hydroperoxydes de protéines qui peuvent générer des radicaux supplémentaires en particulier lors de l'interaction avec des ions de métaux de transition. Bien que la plupart des protéines oxydées qui sont fonctionnellement inactifs soient rapidement retirés, certains peuvent progressivement s'accumuler avec le temps et de contribuer ainsi aux dommages liés au vieillissement ainsi que diverses maladies (Devasagayam et *al.*, 2004).

2.3.3. Oxydation des lipides

Les lipides représentent le composant majeur des structures biologiques (membrane cytoplasmique et organites intra-cellulaires) (Khelfi et *al.*, 2017). En ce qui concerne les lipides, de telles modifications oxydatives aboutissent à la séquence de réaction en chaîne

connue sous le nom de peroxydation lipidique, impliquant la dégradation des acides gras polyinsaturés et des phospholipides. L'évaluation de la peroxydation lipidique *in vivo* a inclus l'étude des diènes conjugués ainsi que des hydroperoxydes lipidiques (LOOH), en tant que produits précoces de propagation et de terminaison, respectivement (Richard et Goldfarb, 2004). En ce qui concerne les produits finaux spécifiques de peroxydation lipidique, il y a eu une mesure étendue des réactifs à l'acide thiobarbiturique (TBARS), un marqueur indirect de la peroxydation lipidique, en plus de l'évaluation d'un aldéhyde majeur, le malondialdéhyde à 3 carbones (MDA). Le MDA est généralement considéré comme une mesure plus précise de la peroxydation des lipides que le TBARS. En effet, le test du TBARS mesure les produits de dégradation de l'aldéhyde. Certains des produits d'aldéhyde sont MDA (Jenkins, 2000).

2.4. Antioxydants

Exposition aux radicaux libres provenant de diverses sources a conduit les organismes à développer une série de mécanismes de défense parmi ces mécanismes le mécanisme de défense antioxydante (Firuzi et *al.*, 2001). Qui joue un rôle très important dans l'élimination et la diminution des effets nocifs de ROS et donc prévenir ou traiter les maladies liées au stress oxydatif (Valko et *al.*, 2007). Ces antioxydants sont de nature diverse et agissent en synergie soit en se sacrifiant pour piéger l'électron célibataire d'un radical libre et le neutraliser en le délocalisant soit en réduisant enzymatiquement les espèces réactives de l'oxygène (Favier et *al.*, 2006).

2.4.1. Antioxydants enzymatiques

➤ Superoxydes dismutases (SOD)

C'est métalloprotéines, jouant un rôle important dans la première ligne de la défense. SOD catalyse la réaction de disproportionation d'un anion superoxyde en hydrogène peroxyde et oxygène moléculaire (Iwona et *al.*, 2018; Babula et *al.*, 2012).

➤ Catalase

La catalase est une enzyme antioxydante intracellulaire qui est principalement située dans les peroxysomes cellulaires et dans une certaine mesure dans le cytosol, il existe sous forme de tétramère composé de 4 monomères identiques, contenant chacun un groupe hème sur le site actif (Wassmann et *al.*, 2004). Il catalyse la réaction du peroxyde d'hydrogène à l'eau et l'oxygène moléculaire dans une réaction en deux étapes impliquant composé I. En

éliminant le peroxyde d'hydrogène, il indirectement détoxifie les radicaux superoxydes qui sont transformés en hydrogène peroxyde par SOD (Kirkman et *al.*, 1999).

➤ **Glutathion peroxydases (GPx)**

La glutathion peroxydase (GPX) est un antioxydant contenant le sélénium, enzyme qui réduit efficacement le peroxyde d'hydrogène et les lipides peroxydes en eau et aux alcools lipidiques, respectivement, et le tour oxyde le glutathion en disulfure de glutathion (Kirkman et *al.*, 1999). Dans l'absence d'activité adéquate de GPX ou de niveaux de glutathion, le peroxyde d'hydrogène et les peroxydes lipidiques ne sont pas détoxifiés et peut être converti en radicaux hydroxyle et des radicaux peroxydes lipidiques, respectivement, par des métaux de transition (par exemple, Fe²⁺). Les GSH-Px sont également importants pour la protection de la membrane cellulaire de la peroxydation lipidique. Le système GPX / glutathion est considéré comme un moyen de défense majeur contre le stress oxydatif (Wassmann et *al.*, 2004; Birben et *al.*, 2012).

3.4.2. Antioxydants non enzymatique

➤ **Glutathion (GSH)**

Le GSH est un tripeptide g-glutamyl-cysteinyl-glycine (Samet et Wages, 2017). Le GSH est très abondant dans tous les compartiments cellulaires et est l'antioxydant soluble majeur. Le GSH est un cofacteur de plusieurs enzymes détoxifiantes tels que GSH-Px et transférase. Il a un rôle dans la conversion la vitamine C et E à leurs formes actives. GSH montre son effets antioxydant par plusieurs façons. Il détoxifie le peroxyde d'hydrogène et peroxydes lipidiques via l'action de GSH-Px. GSH peut donner son électron à H₂O₂ pour le réduire en H₂O et O₂ (Curello et *al.*, 1985; Masella et *al.*, 2005).

➤ **Vitamine C**

La plupart des mammifères sont capables de synthétiser la vitamine C dans leur foie ou dans leurs reins. Il est l'antioxydant le plus important présent dans les compartiments hydrophiles, son activité est exprimée à travers une variété de mécanismes (May, 2000). En principe, il agit en piégeant ROS directement, et parmi ces espèces probablement le plus importants sont le superoxyde et le peroxyde nitrite. Deuxièmement, il a été montré que l'ascorbate peut recycler l'alpha-tocophérol, ce qui à son tour aide à prévenir l'oxydation des lipides. Sans ascorbate, le radical alpha-tocophéroxyle peut prendre un pro-oxydant rôle et

continuer ou même améliorer la réaction en chaîne de la peroxydation lipidique (Vertuani, 2004). Il est, aussi, un excellent piègeur des EOA ($\text{HO}\cdot$ ou $\text{O}_2\cdot^-$). Elle inhibe également la peroxydation lipidique en régénérant la vitamine E à partir de la forme radicalaire issue de sa réaction avec des radicaux lipidiques (Cadenas, 1997).

➤ Les polyphénols

Les polyphénols comprennent un grand nombre de substances naturelles d'origine végétale. Presque tous exposent une activité antioxydante marquée. Les polyphénols possèdent la structure chimique idéale gratuitement activité de piégeage des radicaux, et ils ont été montrés pour être antioxydants plus efficaces in vitro que les tocophérols et ascorbate (Arora et *al.*, 2000). Les propriétés antioxydantes des polyphénols proviennent de leur haute réactivité en tant que donneurs d'hydrogène ou d'électrons, de la capacité du radical dérivé de polyphénol à se stabiliser et délocaliser l'électron non apparié (rupture de chaîne fonction), et de leur capacité à chélater la transition ions métalliques (fin de la réaction de Fenton) (Vertuani et *al.*, 2004) .

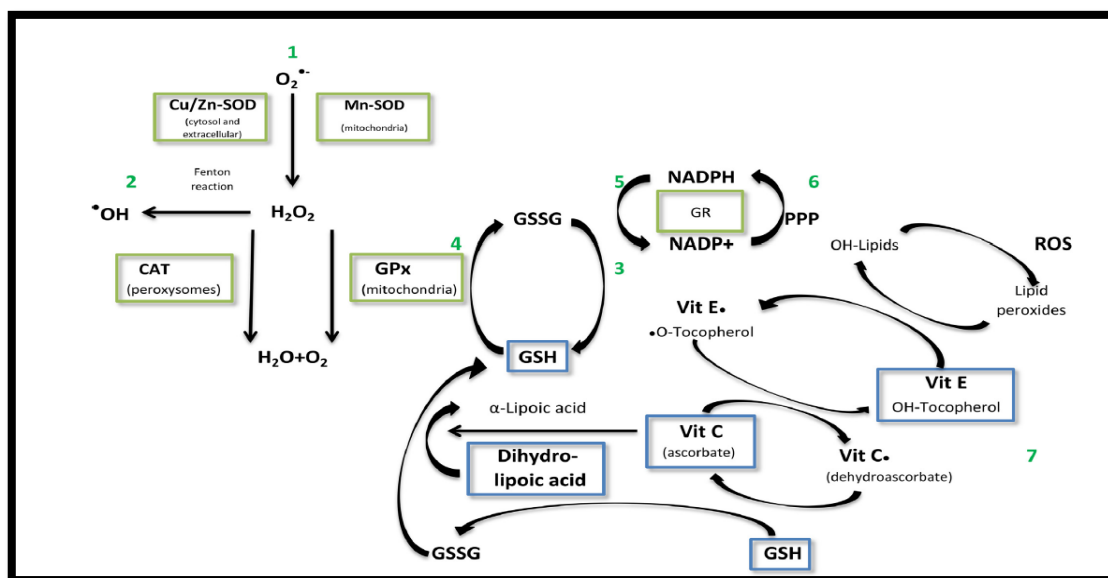


Figure (02) : Mécanisme de protection antioxydante(Iwona et *al.*, 2018).

2.5. Stress oxydatif et diabète

Le stress oxydatif joue le rôle principal dans la pathogenèse du diabète et leurs complications microvasculaires et macrovasculaires comme la rétinopathie diabétique, la néphropathie, la neuropathie, l'athérosclérose, et la maladie coronarienne (Zujko et *al.*, 2014) .

L'état d'hyperglycémie chronique du diabète sucré conduit à un stress oxydant, c'est-à-dire un déséquilibre entre pro-oxydants et anti-oxydants au profit des premiers. Plusieurs mécanismes semblent impliqués dans la genèse de ce stress oxydant : auto-oxydation du glucose, glycation des protéines, voie des polyols, surproduction de radicaux superoxyde au niveau de la mitochondrie et de la NAD(P)H oxydase. L'équilibre glycémique joue un rôle très important dans la balance pro-oxydants/ anti-oxydants (Rousselot et *al.*, 2004) . Le diabète est fréquemment caractérisé par une augmentation des taux d'espèces réactives de l'oxygène(ROS) comme les radicaux superoxyde, H₂O₂, radical hydroxyle etc. Augmentation anormale soit dans le niveau de ROS ou la baisse simultanée des niveaux d'antioxydants conduisent à des dommages cellulaires par entraver le réticulum endoplasmique (RE) et la fonction mitochondriale, augmentant la peroxydation des lipides et induisant une perturbation de l'ADN. Les organites endommagés déclenchent l'apoptose en cascade de signalisation en conséquence de l'augmentation du stress cellulaire. Les rapports suggèrent également que l'immunodéficiência est l'une des principales causes de complications associées au diabète (Kahkashan et *al.*, 2017).

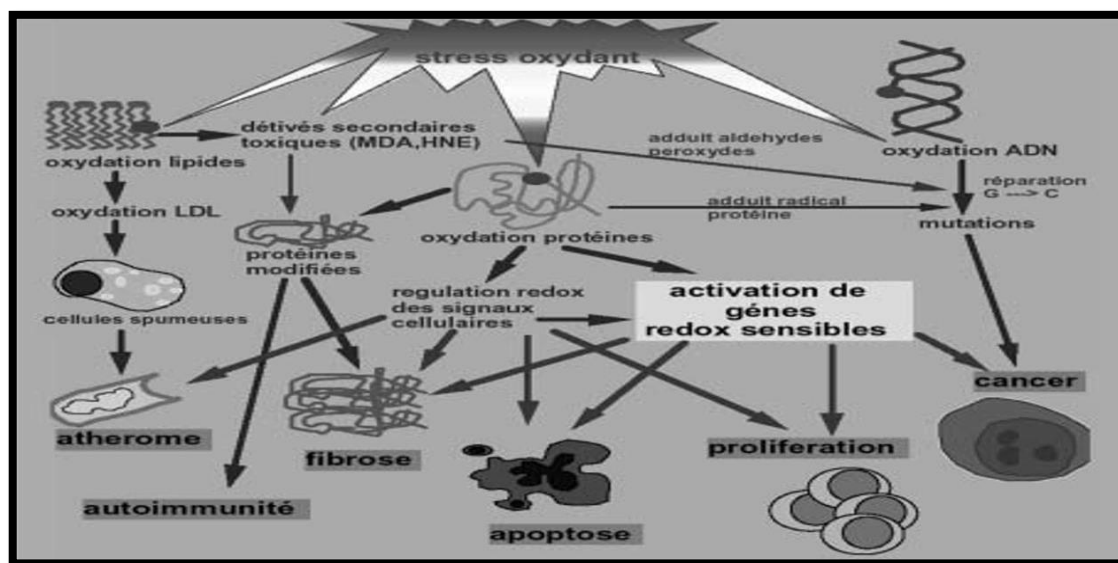


Figure (03) : Conséquences pathogènes du stress oxydant (Favier et *al.*, 2006)

Chapitre II

Oudneya africana R.Br.

1.Présentation de la plante

Le genre *Oudneya* appartient à la famille des Brassicacées et comprend quatre mille espèces. Ils se produisent principalement dans les régions tempérées et froides de l'hémisphère Nord (Salhi et *al.*, 2013). *Oudneya africana* R. Br. est une espèce sauvage de cette genre qui croît spontanément dans la région aride (Hammami et *al.*,2009). Cette plante est une plante saharienne endémique qui est distribué dans le désert libyen, tunisien, algérien et marocan (Talbi et *al.*, 2014). Elle vive dans le sol de gypse et dans la roche du désert, et répandue dans le nord du Sahara (Zakaria et Belhattab, 2016).

Le rôle principal de cette plante dans le désert est la stabilisation de dunes mobiles (Talbi et *al.*, 2014).



Figure (04) : Morphologie d'*oudneya africana* R. Br.(photo original,2017).

2. Position systématique (Quezel et Santa, 1962) .

Embranchement	Spermaphyte
Classe	Dicotylédone
Ordre	Pariétales
Famille	Brassicaceae ou Cruciferae
Sous Famille	Brassicoideae
Genre	Oudneya
Espèce	Africana

3. Description botanique

Oudneya africana R.Br. est une espèce vivace formant des bourgeons en profondeur au ras de sol (Benbrahim, 2015). *Oudneya africana* R.Br. est un Arbrisseau très rameux. Feuilles entières, charnues-spathulées. Fleurs en grappe courte, rose pourpré, assez grandes (10-15 mm). (Quezel et Santa, 1962). Cette plante est un arbuste avec de longues feuilles (2 à 3 cm) et des fleurs dans des racèmes courts (Ozenda, 1991).

4. Propriétés et utilisations thérapeutiques

Oudneya africana R.Br. localement nommée "Alga" ou "Henat l'ibel" . (Chehma et Djebbar, 2008). Cette plante médicinale est traditionnellement utilisées depuis long temps en médecine populaire par les populations locales de Ouargla, Ghardaïa et El-Oued (Algérie) pour traiter la cicatrisation des plaies et contre les piqûres du scorpion (effet dermatologique) (Zakaria et Belhattab, 2016), les feuilles, les tiges de cette plante utilisées comme un compresse pour le traitement de maladie de la peau. (Ould el Hadj et *al.*, 2003). Les populations du Sahara utilisent cette plante pour traiter les problèmes digestifs, l'arthrite, le rhume, la grippe et la fièvre (feuilles et graines) (Derbel et *al.*, 2010). Cette plante est utilisée aussi dans le traitement du diabète et les problèmes de pieds souvent développé par les personnes atteintes le diabète par une décoction ou comme poudre (Telli et *al.*, 2015). Les tests phytochimiques des parties aériennes d'*Oudneya africana* R.Br. ont montré la présence de saponosides, de flavonoïdes, de stérols, de stéroïdes et de tanins en quantités différentes (Salhi et *al.*, 2013).

Deuxième partie

Partie expérimentale

Chapitre I

Matériel et méthodes

1. Matériel

1.1. Matériels biologiques

1.1.1. Matériel végétal

Récolte d'*Oudneya africana* R. Br.

La plante étudiée dans ce travail; *Oudneya africana* R. Br. a été récolté à partir la région d'EL-OUED (EL- FOULIYA) en Octobre 2017. Après la récupération de la plante, les feuilles sont nettoyées, puis mis à sécher à l'abri des rayons solaires et une température ambiante. Les feuilles sèches, sont ensuite finement broyées.



Figure (05) : *Oudneya africana* R. Br. (photo originale, 2017)

1.1.2. Matériel animal

➤ Entretien des animaux

Notre étude a été réalisée sur seize (16) rattes femelles *Wistar albinos* âgés 8 semaines pesant entre 132 et 200 g au début de l'expérimentation. Ces animaux amenés de l'institut pasteur d'Alger, et élevés à l'animalerie au niveau de la faculté de sciences de la nature et de vie à l'Université Echahid Hamma Lakhdar d' El OUED, dans des conditions environnementales standard: température 25C°. Les animaux ont un accès libre à l'eau et à la nourriture standards (tableau 01).

Tableau (01): Composition de régime standard (Southon et *al.*, 1984).

Matières premières	Quantité (g/kg)	Pourcentage (%)
Mais	326	32.6
Saccharose	326	32.6
Protéine (Soja)	168	16.8
Cellulose	40	4
Minéraux	20	2
Vitamine	20	2
Huile	40	4

➤ **Élevage et mesure du poids**

Les rattes sont logées dans des cages plastiques, chaque cage regroupe quatre rattes. Ces cages contiennent de Sciure de bois. Elle est changée deux fois chaque semaine jusqu'à la fin de l'expérimentation. Et on a mesuré le poids de chaque ratte de façon régulière, deux fois chaque semaine et la glycémie une fois chaque semaine.

1.1.2.1. Étude de la toxicité d'extrait aqueux d'*Oudneya africana* R.Br.

➤ **Les animaux de tests de toxicité**

L'étude de la toxicité aiguë est une analyse qualitative et quantitative de l'altération irréversible des fonctions vitales après administration unique d'une substance dans un délai de quelques minutes à quelques jours. C'est le premier test qu'un toxicologiste effectue sur un nouveau composé destiné à être utilisé comme médicament (Ruckebusch, 1981). Selon la méthode Taziebou et *al.*, (2007) nous avons utilisé 6 rattes Wistar (femelle) à jeun d'alimentation sauf l'eau ou l'extrait pendant 16 heures répartis en 3 lots de 2 rattes dans chacun gardés dans des mêmes conditions le poids a été enregistré pendant la durée de l'expérimentation (7 jours):

Groupe 01: rattes recevant eau distillée (lots témoins).

Groupe 02: rattes recevant l'extrait aqueux d'*Oudneya africana* R. Br. 1000 mg/kg p.c.

Groupe 03: rattes recevant l'extrait aqueux d'*Oudneya africana* R. Br. 5000mg/kg p.c.

Des observations ont été effectuées et remarquées régulièrement 1h, 2h, 4h et 24h après l'administration de la solution.

Les observations visuelles comprenaient la motilité, la respiration, la sensibilité aux sons et pincée, l'odeur de la nourriture et les fèces de cohérence. Le nombre de survivants ont été enregistrées après 24h et les animaux ont été observés quotidiennement pendant les prochains 7 jours. Le bio-essai a été réalisé conformément à la directrice Organisation Mondiale de la Santé pour l'évaluation de l'innocuité et de l'efficacité des médicaments à base de plantes (O.M.S., 2000).

1.1.2.2. Étude de l'effet antidiabétique et antioxydant de l'extrait aqueux d'*Oudneya africana* R.Br.

➤ Induction du diabète expérimental

Après une mise à jeun pendant une nuit. L'induction du diabète chez les groupes diabétique a été réalisé par l'injection intra péritonéale d'alloxane (Alloxane; Sigma, UK) préparée fraîchement dans une solution d'eau physiologique avec une dose de 150 (mg/kg p.c). Après l'injection, les bouteilles d'eau ont été remplacées par des bouteilles contenant une solution de glucose 5% afin de surmonter l'hypoglycémie induite par l'alloxane.

➤ Traitement des animaux

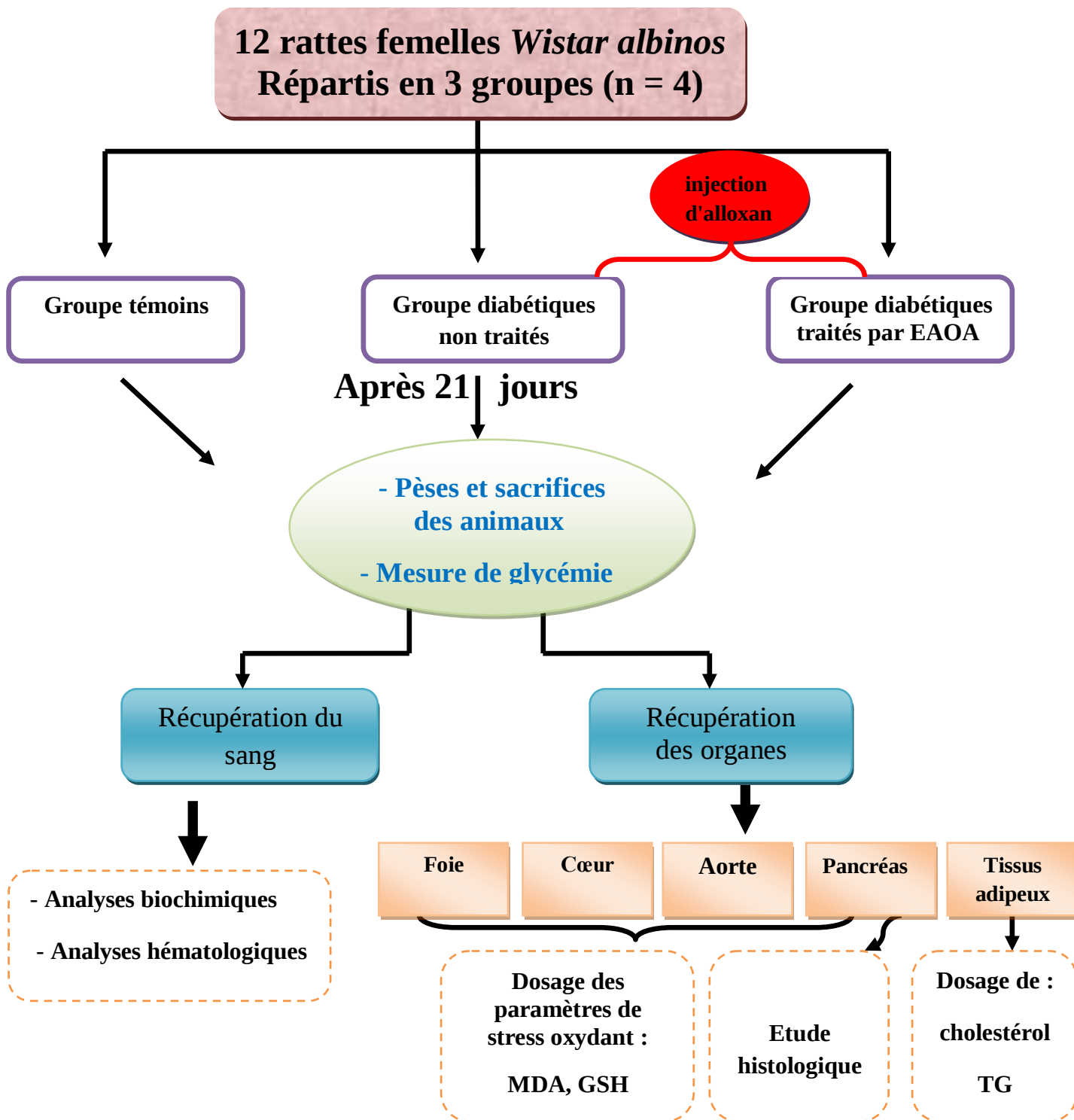
Après l'induction du diabète, les groupes sont gardés dans les mêmes conditions. Le début du traitement par l'extrait aqueux d'*Oudneya africana* R. Br. commence 72 heures après l'induction du diabète. La durée totale de traitement est 21 jours.

Groupe 01 (Témoins): 4 rattes témoins soumises à un régime alimentaire standard pendant 21 jours.

Groupe 02 (Diabétiques non traités): 4 rattes diabétiques soumises à un régime alimentaire standard pendant 21 jours.

Groupe 03 (Diabétiques traitées par *Oudneya africana* R. Br.): 4 rattes diabétiques soumises à un régime alimentaire standard et traitées par 400 mg/Kg p.c de l'extrait aqueux

d'*Oudneya africana* R. Br. pendant 21 jours.



EAOA :Extrait aqueux d'*oudneya africana* R.Br.

Figure (06): Protocole expérimentale

1.2. Réactifs et produits utilisés

Plusieurs réactifs et produits chimiques ont été utilisés dans ce travail, parmi ces produits: Magnésium, HCl, FeCl₃, réactif de Fehling, d'acide acétique, H₂SO₄, réactif de Dragendorff, chlorure de fer, méthanol, Folin-Ciocalteu, Na²CO₃, AlCl₃, d'acétate de sodium, glucose, levure commerciale de boulanger, alloxane, eau physiologique, chloroforme, EDTA, formol, TBA, TCA, BHT, acide salicylique, tampon tris, DTNB.

1. Méthodes

1.1. Préparation de l'extrait aqueux

10g de poudre des feuilles dissous dans 150ml d'eau distillée ont été chauffés à une plaque chauffante pendant 2 heures, puis macérer dans la température ambiante pendant 24 heures. Après la filtration sur papier filtre, ce filtrat a ensuite été évaporé dans l'étuve à une température 50 °C.

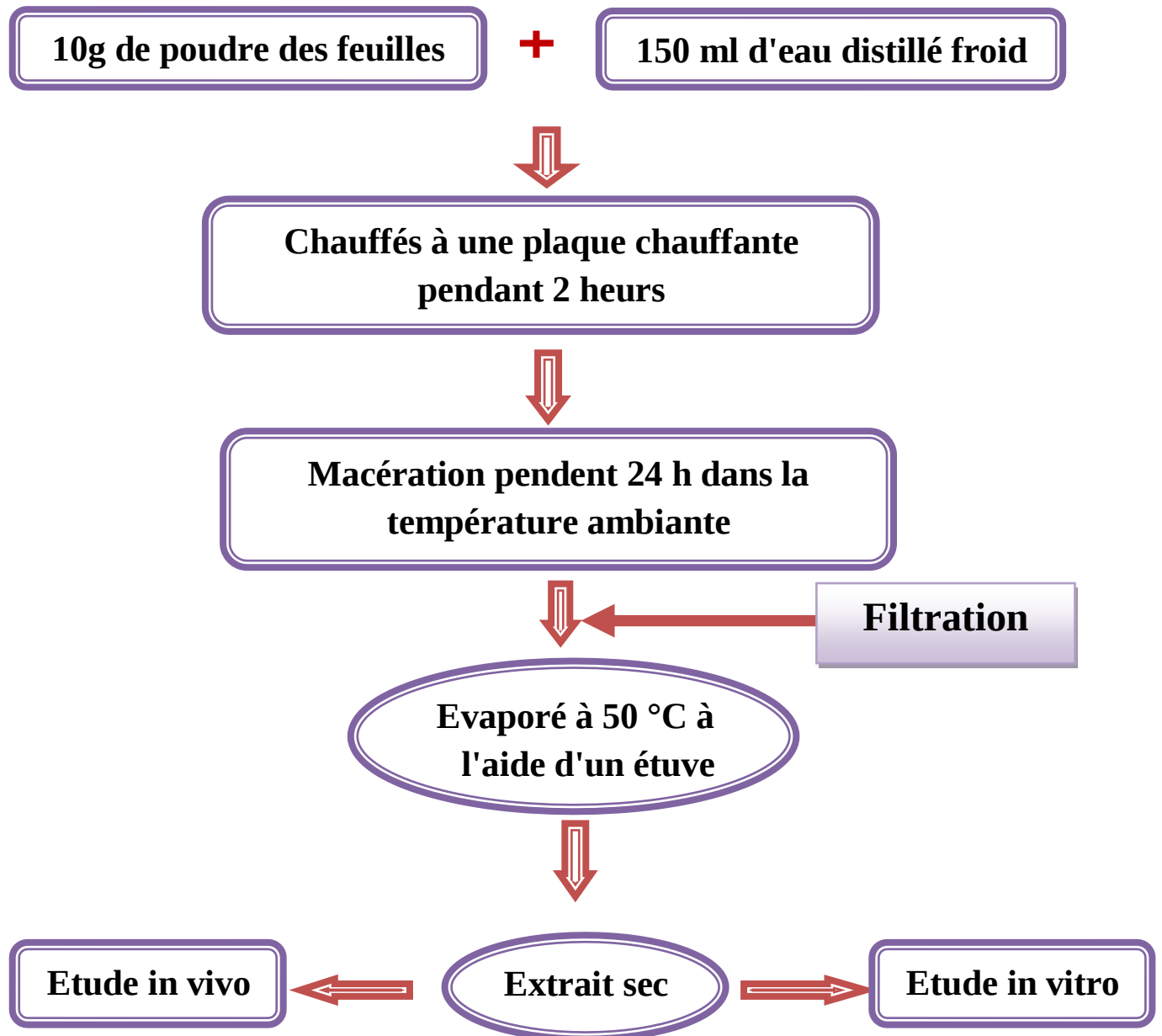


Figure (07) : Protocole d'obtention de l'extrait aqueux d'*Oudneya africana* R. Br.

2.2. Calcul du rendements d'*Oudneya africana* R. Br. en extrait sec

La rendement d'*Oudneya africana* R. Br. en extrait sec est le rapport entre le poids d'extrait sec obtenue (en gramme) et le poids de la plante utilisé (en gramme) (Harborne, 1998).

Le rendement qui est exprimé en pourcentage , a été calculé par la formule suivante:

$$\text{Rdt \%} = [\text{PE} / \text{PA}] \times 100$$

R= Rendement de l'extrait en pourcentage.

PE = Poids de l'extrait en gramme.

PA= Poids de la plante en gramme.

2.3. Tests phytochimiques

Les tests phytochimiques (criblage) sont des tests qualitatifs utilisés pour la révélation de la présence de différentes familles de composés chimiques contenus dans un organe végétal, tels que les tanins, les sucres réducteurs, les flavonoïdes, les alcaloïdes....ect (Gheffour et *al.*, 2015)

Les tests phytochimiques ont été réalisés sur les extraits aqueux d'*Oudneya africana* R. Br. par des techniques de caractérisation qualitative.

*Test de flavonoïdes

Dans l'extrait à tester, peu de fragments de Magnésium sont ajoutés et du HCl concentré est ajouté goutte à goutte, du rose écarlate, du rouge cramoisi parfois du vert au bleu apparaît après quelques minutes (Sanjay et *al.*, 2015).

*Test de tanins

Les tanins sont mis en évidence à partir de 0.5 ml d'extrait placé dans un tube en présence de quelques gouttes de FeCl₃ (1% préparé au méthanol). Après l'agitation de l'extrait, la couleur vire au bleu noir en présence de tanins galliques et au brun verdâtre en présence de tanins catéchiques (Karumi et *al.*, 2004).

*Test des saponines

Pour mettre en évidence les saponines, nous avons introduit 10 ml de l'extrait aqueux dans un tube à essai. Le tube est agité pendant 15 secondes puis laissé au repos pendant 15min. Une hauteur de mousse persistante, supérieure à 1 cm indique la présence de saponosides (Bidie et *al.*, 2011).

* Test des sucres réducteurs

Les sucres réducteurs ont été mis en évidence dans les extraits végétaux par le réactif de Fehling. Pour 5ml d'extrait brut sont additionnés 5 ml de liqueur de Fehling. La formation

d'un précipité rouge brique après 2-3min de chauffage au bain-marie à 70°C indique une réaction positive (Békro et *al.*, 2007).

***Test des stéroïdes**

Pour 1ml d'extrait végétal ajouter 0,5ml de solution d'acide acétique, est suivi par 0,5ml de H₂SO₄ concentré. Si la solution ne donne aucune couleur verte cela prouve la présence de stéroïdes non saturés. Dans un 2eme tube, le même volume de H₂SO₄ est ajouté. La présence de la couleur rouge indique la présence des dérivés des stéroïdes (Harborne et *al.*, 1973).

***Test des alcaloïdes**

1ml d'extrait végétal aqueux est additionné d'une goutte de HCl concentré, la solution obtenue est ajoutée 2 goutte de réactif de Dragendorff. L'apparition d'un précipité ou d'une coloration brun-rougeâtre indique la présence d'alcaloïdes (Bagre et *al.*, 2007).

***Test des phenols**

Aux 5 ml d'extrait, quelques gouttes de solution de chlorure de fer naturelle (5%) sont ajoutées. Une couleur vert foncé indique la présence de composés phénoliques. (Sanjay et *al.*, 2015) .

2.4. Dosage des polyphénols et flavonoides

***Méthode de dosage des Polyphénols totaux**

Le dosage des polyphénols totaux a été effectué selon la méthode de Folin-Ciocalteu (FC) (Boizot, Charpentier, 2006): 100 µl d'extrait d'*Oudneya africana* R. Br. sont mélangés avec 500 µl du réactif FC et 400 µl de Na₂CO₃ à 7,5 % (m/v). Le mélange est agité et incubé à l'obscurité et à température ambiante pendant dix minutes et l'absorbance est mesurée à 760 nm par un spectrophotomètre UV. Les résultats sont exprimés en mg équivalent acide gallique/g de matière végétale sèche en se référant à la courbe d'étalonnage de l'acide gallique. La courbe d'étalonnage est effectuée par l'acide gallique à différentes concentrations (50- 100- 150 - 200 µg/ml), dans les mêmes conditions et les mêmes étapes du dosage. Les résultats sont ainsi exprimés en milligramme d'acide gallique par gramme d'extrait sec (mg d'EAG/g). Toutes les mesures sont répétées 3 fois.

***Méthode de dosage des Flavonoïdes**

La détermination des flavonoïdes totaux a été effectuée selon la méthode décrite par Dehpeur et *al.*, (2009) : 500 µl d'extrait à analyser est ajoutés à 1500 µl de méthanol à 95 %, 4100 µl de AlCl₃ à 10 % (m/v), 100 µl d'acétate de sodium 1 M et 2,8 ml d'eau distillée. Le mélange est agité puis incubé à l'obscurité et à température ambiante pendant 30 min. Le blanc est réalisé par remplacement de l'extrait par du méthanol à 95 % et l'absorbance est mesurée à 415 nm en utilisant un spectrophotomètre UV. Les résultats sont exprimés en mg équivalent quercétine/g de matière végétale sèche en se référant à la courbe d'étalonnage de la quercétine. La courbe d'étalonnage de la quercétine est effectuée par quercétine à différentes concentrations (10 - 20 - 30 - 40 µg/ml), dans les mêmes conditions et les mêmes étapes du dosage.

2.5. Mesure de l'activité antioxydant in vitro

L'activité antioxydante in vitro a été évaluée en mesurant le pouvoir piègeur du radical DPPH (1,1-diphényl-2-picrylhydrazyle) selon la méthode décrite par Burits et Bucar (2000), où 3ml de différentes concentrations (1,2,5,10,15,25,35,50,60 et 70 µg/ml) d'échantillons d'*Oudneya africana* R. Br. ont été ajoutés à 75 µl de solution méthanolique de DPPH (1,3 mg / ml). Les mesures d'absorbance ont été lues à 517 nm après 30 min de temps d'incubation à température ambiante (A1). L'absorbance d'un échantillon blanc contenant la même quantité de méthanol et de solution de DPPH a servi de témoin négatif (A0). Le pourcentage d'inhibition $[(A0-A1 / A0) \times 100]$ a été porté en fonction de la teneur en phénol et la CI50 a été déterminée.

2.6. Mesure de l'activité antidiabétique in vitro***Test du glycosylation**

Le but de ce test est d'estimer la capacité de l'extrait aqueux d'*Oudneya africana* R. Br. à complexer le glucose libre *in vitro*, donc démontrer leur rôle de "glucophage". Bien que les conditions *in vivo* et *in vitro* soient différentes, ce test pourra nous renseigner sur un des mécanismes hypoglycémiant de l'extrait aqueux d'*Oudneya africana* R. Br. Pour cela, 10 µl d'une solution glucosée (0.61g/l) est mélangé avec 10 µl de chaque extrait d'*Oudneya africana* R. Br. à différentes concentrations : 1 mg, 2mg, 4 mg et 5mg/ml. Le mélange ainsi obtenu est incubé à 37°C pendant 15 min. Le dosage de glucose non lié aux extraits est mesuré par le glucomètre.

***Absorption du glucose dans les cellules de levure**

Le dosage de l'absorption du glucose à l'aide de cellules de levure a été effectué selon la méthode de Cirillo et *al.*, (1963). La levure commerciale de boulanger dissous dans de l'eau distillée a été soumise à une centrifugation répétée (3000 tours par min pendant 5 min) jusqu'à l'obtention de surnageant clairs. et 10% (v / v) de la suspension ont été préparés dans l'eau distillée. Différentes concentrations de l'extrait d'*Oudneya africana* (50-250 µg / ml) ont été ajoutées à 1 ml de solution de glucose (5 mmol) et incubées ensemble pendant 10 min à 37 C°. La réaction a été démarrée en ajoutant 100 µl de suspension de levure suivie d'un vortex et d'une incubation supplémentaire à 37 C° pendant 60 minutes. Après 60 min, les tubes ont été centrifugés (2500 tours par min pendant 5 min) et la quantité de glucose a été estimée dans le surnageant. Le Novoformine a été utilisé comme médicament standard. Le pourcentage d'augmentation de l'absorption du glucose par les cellules de levure a été calculé à l'aide de la formule suivante : Toutes les expériences ont été réalisées en trois exemplaires.

$$\text{Augmentation de l'absorption de glucose (\%)} = \left(\frac{\text{Abs d' Échantillon} - \text{Abs de Contrôle}}{\text{Abs d' Échantillon}} \right) 100$$

Où Abs d' Échantillon est l'absorbance de l'échantillon et Abs contrôle l'absorbance de la réaction de contrôle (contenant tous les réactifs sauf l'échantillon d'essai).

2.7. Sacrifice et prélèvement de sang et des organes

A la fin du traitement (après 21 jours de traitement) les ratte sont anesthésiées par chloroforme après 16 h de jeûne et sont sacrifiées (par décapitation). Au moment du sacrifice, la récupération du sang s'effectue pour toutes les ratte, donc le sang est collecté dans des tubes secs et des tubes EDTA (contre la coagulation). La glycémie est mesurée par un glucomètre pour chaque ratte.

Après chaque prélèvement sanguin, le sang qui mis dans des tubes secs est centrifugé à 3000 tours/minute pendant 15 minutes puis le sérum est récupéré et utilisé pour le dosage des paramètres biochimiques (glycémie, cholestérol, TG, LDL, HDL, VLDL, acide urique, créatinine, urée, TGO, TGP), et le sang mis dans des tubes EDTA utilisé pour le dosage des paramètres hématologiques (FNS, HB glyquée).

Après le prélèvement sanguin, on passe à la dissection et prélèvement des organes (Foie, Rein, Cœur, Pancréas, Tissus adipeux, Aorte) qui sont récupérés, rincés par l'eau physiologique puis pesés à l'aide d'une balance. Une Partie du pancréas a été mis dans le

formol pour l'étude histologique et l'autre partie du pancréas est conservé au congélateur avec les autres organes pour le dosage des paramètres du stress oxydatif tissulaires pour (Foie, Cœur, Pancréas, Aorte) et le dosage de cholestérol , TG tissulaire pour (Tissus adipeux).

2.8. Méthode de dosage des paramètres biochimique

Les activités du glutamate-oxaloacétate transaminase (GOT) et de la glutamate pyruvate transaminase (GPT) ont été déterminées en utilisant des kits commerciaux de Spinreact (Girona, Espagne) (réf: GOT-1001161, réf: GPT-1001171). Les concentrations de triglycérides (TG), de cholestérol total (TC), de lipoprotéines de haute densité (HDL) ont également été mesurées en utilisant des kits commerciaux (Spinreact) (réf: TG-1001311, réf : TC-1001090, et réf : HDL-C-1001096). Le taux de LDL-cholestérol et de VLDL-cholestérol a été calculé indirectement par la formule classique. Les niveaux sérique d'urée, de créatinine et d'acide urique ont été estimés en utilisant des kits commerciaux des laboratoires Spinreact, Espagne (réf : urée-1001332, réf : créatinine- 1001113 et réf : acide urique-1001013).

2.9. Méthode de dosage de hémoglobine glyquée

L'hémoglobine glyquée (HbA1c) a été mesurée par une méthode immunoturbidimétrique, en utilisant un manuel (CERA-STATTM Analyseur 2000).

2.10. Méthode de dosage des paramètres hématologiques

Les paramètres hématologiques (hémoglobine, globules rouges, globules blanches, plaquettes) sont déterminés par l'utilisation d'un autoanalyseur d'hématologies de type "Mindry BC 2800" spécifique de l'FNS (formule de numération sanguine).

2.11. Méthode de dosage des paramètres de stress oxydatif

2.11.1. Préparation de l'homogénats des organes

Un gramme de tissu (Foie, Cœur, Pancréas, Aorte, Tissus adipeux) de chaque ratte des différents groupes étudiés, a été utilisé. Après broyage et homogénéisation des tissus dans le TBS (Tris 50 mM, NaCl 150m M, pH 7.4), on a procédé à une centrifugation de la suspension cellulaire (3000 tours/min, 15 min), puis le surnageant obtenu est conservés à -20°C et utilisés pour le dosages des paramètres du stress oxydatif .

2.11.2. Méthode de dosage du Malondialdéhyde (MDA)

*Principe

Les composés carbonylés à l'instar du malondialdéhyde réagissent avec l'acide thiobarbiturique (TBA) pour donner des chromophores de couleur rose absorbant à 532nm. (Yagi., 1976).

*Réactif

375 mg de TBA, 20g de TCA, 0.01g de BHT, 25 ml de HCL 1 N et 50 ml d'eau distillée ont été introduit dans un bécher. La solution obtenue a été chauffée à 40°C dans un bain Marie jusqu'à dissolution complète du TBA, puis transférée dans une fiole de 100ml et le volume complété à l'eau distillé jusqu'au de jauge.

*Mode opératoire

Pipeter dans les tubes à essai en verre et à vis, 200µl d'échantillon, 800 µl de réactif TBA et fermer hermétiquement. Chauffer le mélange au bain Marie à 100°C pendant 15 minutes. Puis refroidir dans un bain d'eau froide pendant 30 minutes en laissant les tubes ouverts pour permettre l'évacuation des gaz formés lors de la réaction. Centrifuger à 3000 tours/minutes pendant 5 minutes et lire l'absorbance du surnageant à 532 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

*Expression des résultats

La concentration de TBARS a été déterminée en utilisant le coefficient d'extinction moléculaire du MDA ($\epsilon = 1.53 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$). Les résultats ont été exprimés en µmol/l.

$$\text{MDA } (\mu\text{mol/mg de protéine}) = (\text{Do échantillon} / 1.53 \times 10^{-5}) / \text{mg de protéine}$$

2.11.3. Méthode de dosage de glutathion réduit (GSH)

*Principe

Le dosage de la concentration de glutathion réduit par la mesure de la densité optique résulte de la formation de l'acide 2-nitro-5 mercapturique à partir de la réduction de l'acide

dithio-bis2-nitrobenzoïque ce qu'on appelle réactif de d'Ellman avec les groupements SH existent dans le GSH (Weckbercker, Cory, 1988).

***Mode opératoire**

A 800 µL d'homogénat érythrocytaire ou sérum sont ajoutés 200 µL de l'acide salicylique (0.25%). Mélanger avec l'agitateur et laisser 15 minutes dans le réfrigérateur puis centrifuger à 1000 t/min pendant 5 minutes. 500 µL de surnageant sont ensuite mélangés avec 1000 µL de tampon tris (tris 0.4 mol, NaCl 0.02 mol pH=8,9) et 25 µL de DTNB (0,01 mol.L⁻¹). Après 5 minutes d'incubation, la lecture de l'absorbance s'effectue à $\lambda = 412$ nm.

***Expression des résultats**

La concentration du glutathion est obtenue par la formule suivante :

$$(\text{GSH})(\text{nM} / \text{mg de protéine}) = (\text{D.O} \times 1 \times 1.525) / (13133 \times 0.8 \times 0.5 \times \text{mg de protéine})$$

13133: constante d'absorption des groupes SH à 412 nm.

DO: la lecture d'absorbance par le spectrophotomètre.

1.525ml: volume total de mélange.

0.5ml: volume de solution surnageant.

1: volume de mélange de protéine.

0.8ml: volume de solution homogène sans protéine existe dans 1ml.

(GSH): concentration de glutathion.

2.12. Analyses histologiques

A la fin de la période expérimentale, les rats ont été sacrifiés après anesthésie par inhalation et les tissus de pancréas ont été prélevés et immergés pendant 48h dans une solution fixative (solution de formaldéhyde à 4%, tampon phosphate, pH = 7,6), déshydratés en gradient ascendant. série d'éthanol, nettoyé avec du toluène, immergé dans la paraffine et coloré avec de l'hémaréine et de l'éosine. L'évaluation histopathologique a été réalisée avec un microscope optique.

2.13. Analyses statistiques

L'évaluation statistique est effectuée par le test *Tstudent*. Les résultats sont donnés sous forme de moyennes et écart-types pour 16 rats. $n=4$. Alors, on utilise des logiciels *MINITAB* et *EXCEL* qui nous aide pour faire ce travail, * : Différence significative ($p<0.05$), ** : Différence hautement significative ($p<0.01$), *** Différence très hautement significative ($p<0.001$).

Chapitre II

Résultats et discussion

1. Résultats

1.1. Rendement de l'extrait aqueux d'*Oudneya africana* .R.Br

Le rendement moyen de l'extrait aqueux a été calculé en fonction de la matière végétale sèche de feuille d'*Oudneya africana* R.Br.

Tableau (02) : Rendement de l'extrait aqueux d'*Oudneya africana* R.Br.

Plante	Rendement %
<i>Oudneya africana</i> R.Br.	35%

1.2. Etude phytochimique et dosage de polyphénols et flavonoïdes

Tableau(03): Tests phytochimiques d'extrait aqueux d'*Oudneya africana*. R.Br.

Composés	Extrait aqueux d' <i>Oudneya africana</i> R.Br
Polyphénol	+++
Flavonoïdes	+++
Tanins	+
Alcaloïdes	-
Saponines	+
sucres réducteurs	++
Stéroïdes	++

- Présence (+), - Absence (-)

Tableau (04) : Contenance en polyphénols et flavonoïdes dans l'extrait aqueux d'*Oudneya africana* R.Br.

Plante	Polyphénols (mg d'EAG/g MS)	Flavonoïde (mg de Querc /g MS)
L'extrait aqueux de <i>Oudneya africana</i> R.Br.	Moy ± ES	Moy ± ES
	19,35 ± 1,03	6,4330 ± 0,088

1.3. Activité anti-radicalaire d'extrait aqueux d'*Oudneya africana* R.Br.

Dans ce test on utilise l'acide ascorbique comme standard, les résultats obtenus (pourcentage d'inhibition %) sont représentés dans la figure (08).

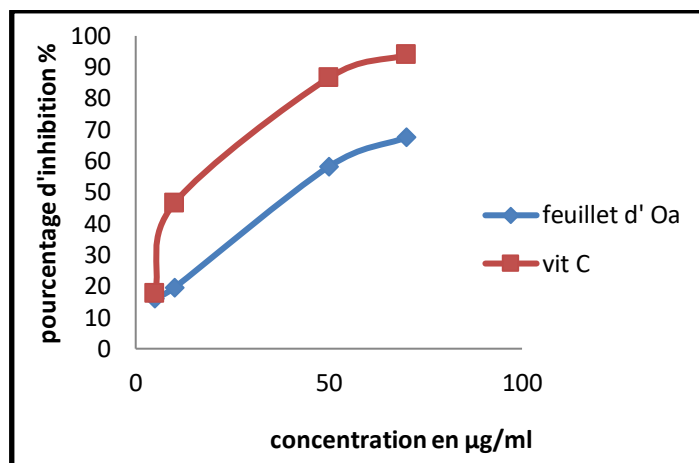


Figure (08) : Pourcentage d'inhibition pour l'extrait aqueux d'*Oudneya africana* R.Br. et l'acide ascorbique

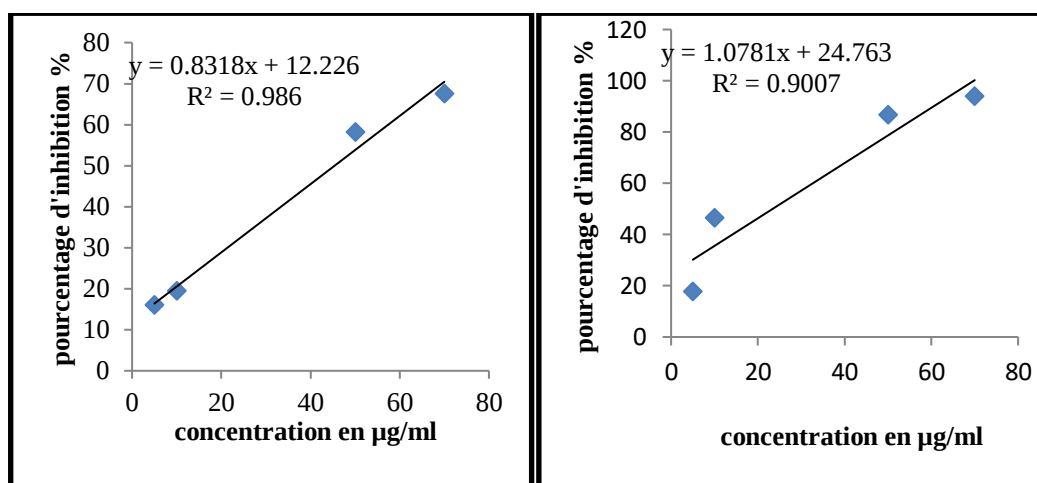


Figure (09) : IC50 de l'extrait aqueux d'*Oudneya africana* R. Br

Figure (10) : IC50 de L'acide ascorbique

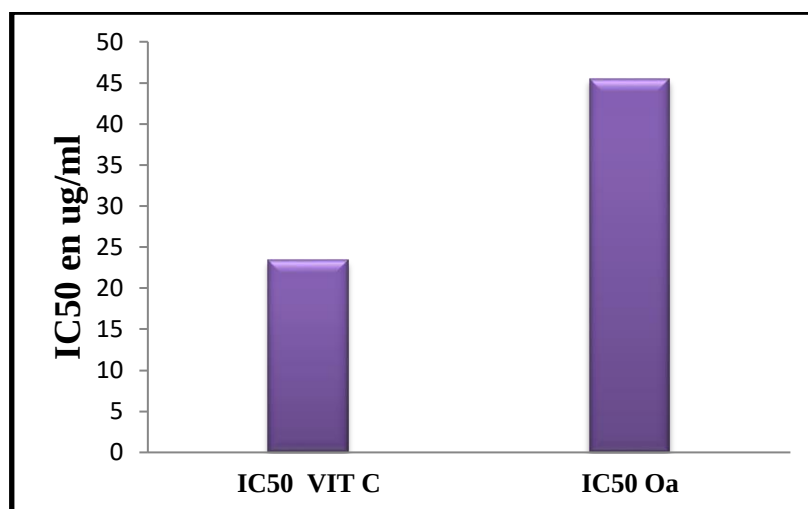
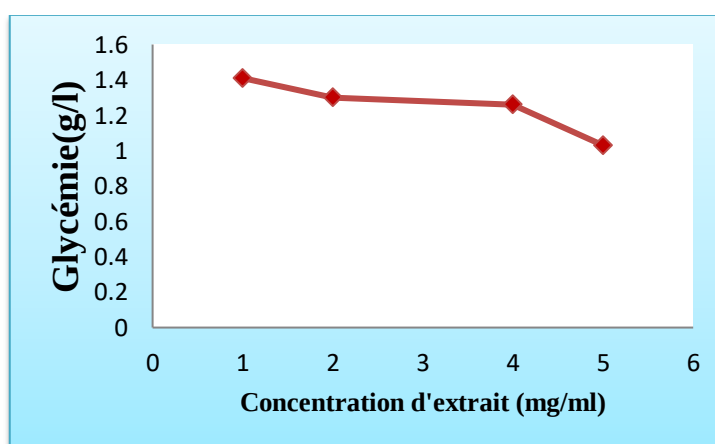


Figure (11): Valeurs d'IC50

A partir des résultats obtenus, on a observé que l'extrait aqueux d'*Oudneya africana* R. Br. a un pouvoir d'inhibition des radicaux libres (DPPH)(figure08) avec une valeur (IC50=45.41) qui est plus proche à la valeur de l'acide ascorbique (IC50=23.41) (figure 11) ce qui montre une importante activité anti-oxydant de l'extrait aqueux d'*Oudneya africana* R. Br.

1.4. Test de glycosylation

Les résultats du test de glycosylation présentent une diminution de la concentration de glucose en fonction des différentes concentrations de l'extrait aqueux d'*Oudneya africana* R.Br.



Figure(12): Variation de la concentration du glucose en fonction de la concentration de l'extrait aqueux d'*Oudneya africana* R.Br.

1.5. Absorption du glucose dans les cellules de levure

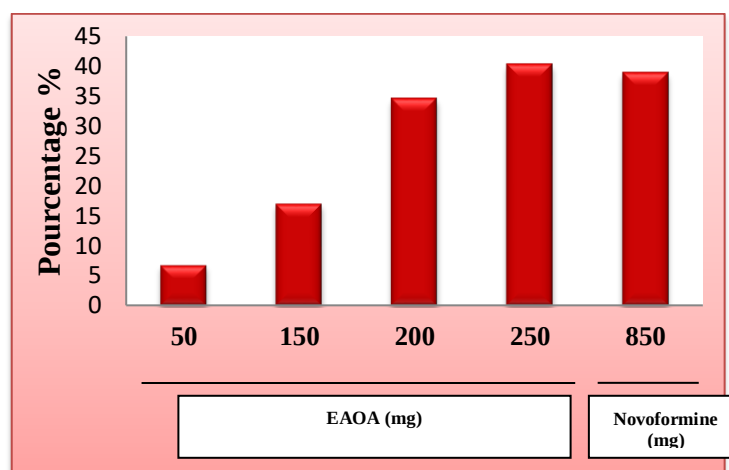


Figure (13): Pourcentage d'augmentation de l'absorption du glucose par les cellules de levure

Les résultats obtenues montrent que l'absorption du glucose par les cellules de levure augmente avec l'augmentation de concentration l'extrait aqueux d'*Oudneya africana* R.Br., dont on observé dans la concentration(250µg /ml) de l'extrait aqueux d'*Oudneya africana*R.Br la pourcentage de l'absorption du glucose par les cellules de levure plus proche à la pourcentage de l'absorption du glucose par les cellules de levure à la présence de Novoformine de concentration 850mg .donc l'extrait aqueux d'*Oudneya africana* R.Br. facilite l'absorption du glucose par les cellules de levure.

1.6. Étude de Test de toxicité d' *Oudneya africana* R. Br.

Avec le test de toxicité aiguë à la dose limite de 5000 mg / kg, ni la mortalité ni les changements liés aux profils comportementaux, neurovégétatifs, neurologiques et physiques n'ont été observés dans les 24 heures de suivi.

Tableau (05): Effet de l'extrait aqueux de d'*O. africana* R. Br. sur des paramètres physiologiques des rattes.

Paramètres	0 h		3 h		24 h		7jours	
	témoin	Test	témoin	Test	témoin	Test	témoin	Test
Mortalité	0	0	0	0	0	0	0	0
yeux	N	N	N	N	N	N	N	N
Dormir	N	N	N	N	N	N	N	N
Diarrhée	N	N	N	N	N	N	N	N

1.7. Etude de la croissance corporelle et les poids relatif des organes

Les résultats présentés dans le tableau (04) montre une diminution non significative ($P>0.05$) de Gain des poids chez les rats diabétique par rapport au témoin et chez le groupe traité par rapport au rats diabétiques.

Les résultats obtenus de poids relatif des organes montrent une augmentation hautement significative ($P<0.01$) de poids relatif du foie, reins et cœur chez les groupes diabétique par rapport au groupe témoin. Par contre, le traitement par l'extrait aqueux d'*O. africana* n'a aucun effet significative ($P<0.05$) sur le poids relatif de foie et rein mais il augmente significativement le poids de cœur par rapport au rats diabétiques. (tableau 04)

Tableau (06): Poids initial, gain du poids et poids relatif des organes chez les groupes expérimentaux.

Paramètres		Témoin (n=4)	Diabétiques (n=4)	Diabétiques+Oa (n=4)
		Moy± Es	Moy± Es	Moy± Es
Poids initial (g)		182±4,52	173,25±3,78 ^{NS}	163,75±7,56 ^{NS}
Gain du poids (g/j)		0,944±0,050	0,736±0,123 ^{NS}	0,535±0,236 ^{NS}
Poids relatif(%)	Foie	3,001±0,069	3,35±0,0927 ^{**}	3,942±0,256 ^{**}
	Rein	0,297±0,003	0,365±0,018 ^{**}	0,420±0,033 ^{**}
	cœur	0,316±0,003	0,373±0,012 ^{**}	0,443±0,03 ^{**a}

Comparaison avec groupe témoin (T): ^{**}p < 0.01

Comparaison avec groupe diabétique(D): ^a p < 0.05

1.8 . Profil lipidique sérique

Les résultats obtenus montrent une augmentation non significative ($p>0.05$) de la concentration sérique de cholestérol, triglycérides et VLDL chez le groupe diabétique (D) par rapport au groupe Témoin (T). De plus les résultats montre aussi que la concentration de HDL est augmenté statistiquement significative dans le groupe diabétique par rapport au groupe témoin. Le traitement par l'extrait aqueux d'*O. africana* R.Br. diminue significativement ($P<0.001$) le taux de triglycéride et VLDL et de façon non significative la concentration de

cholestérol et HDL par contre l'extrait de plante n'a aucun effet sur le taux de LDL en comparaison avec le groupe diabétiques.

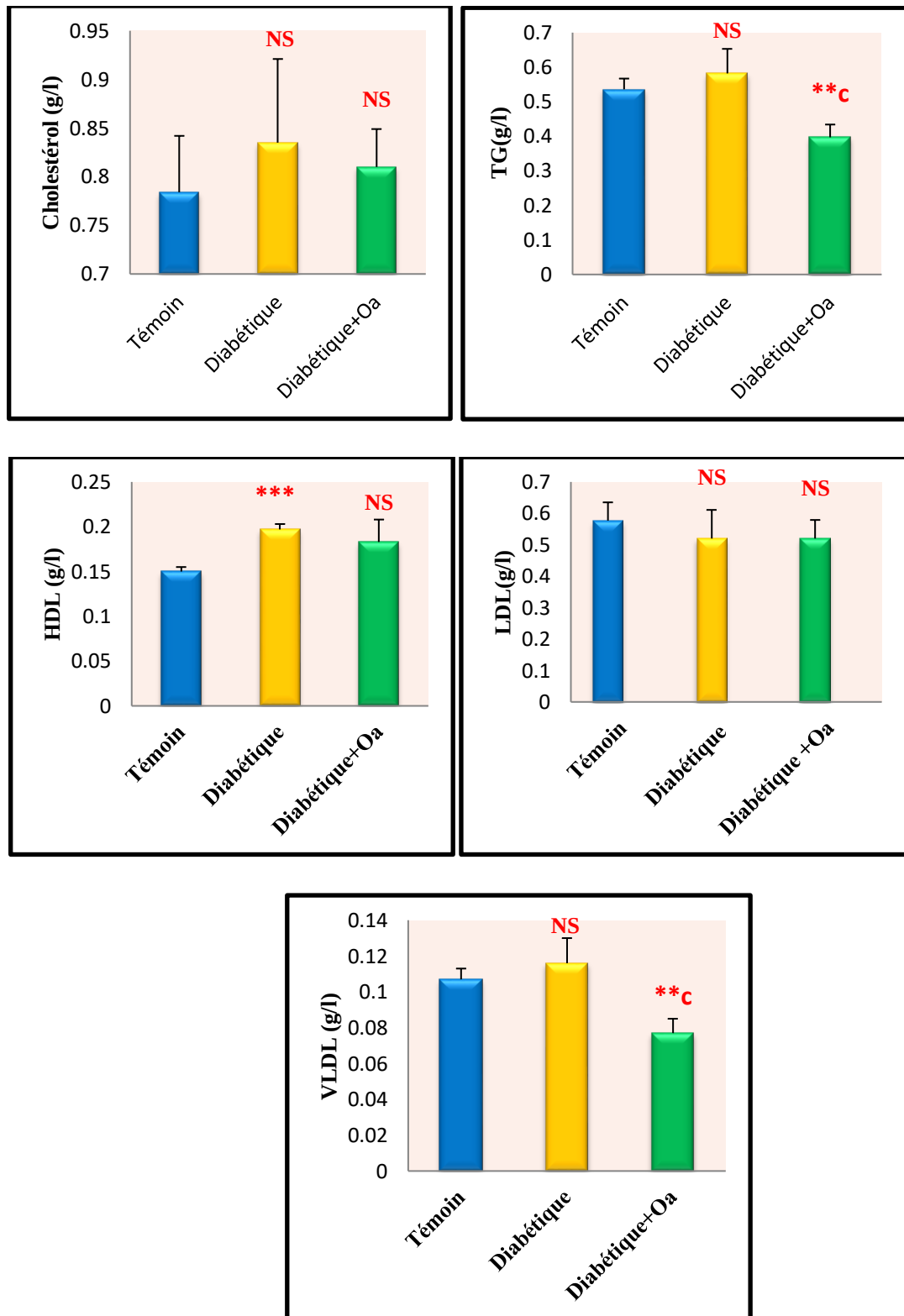


Figure (14): Concentration sérique de cholestérol, triglycérides , HDL , VLDL et LDL chez le groupe témoins et les groupes Traités.

1.9. Teneurs lipidique des tissus adipeux

Les résultats illustrés dans la figure (15) montrent que la concentration des triglycérides dans les tissus adipeux est diminuée de façon très hautement significative ($p < 0.001$) chez le groupe diabétique (D) par rapport au groupe témoin mais pour le taux de cholestérol tissulaire on n'observe aucune variation significative entre le groupe diabétique et témoin. Par ailleurs, nos résultats montrent une augmentation hautement significative ($p < 0.01$) de teneur en triglycérides et une diminution très hautement significative ($p < 0.001$) chez le groupe diabétique traité par l'extrait aqueux d'*O. africana* par rapport au groupe diabétique (D).

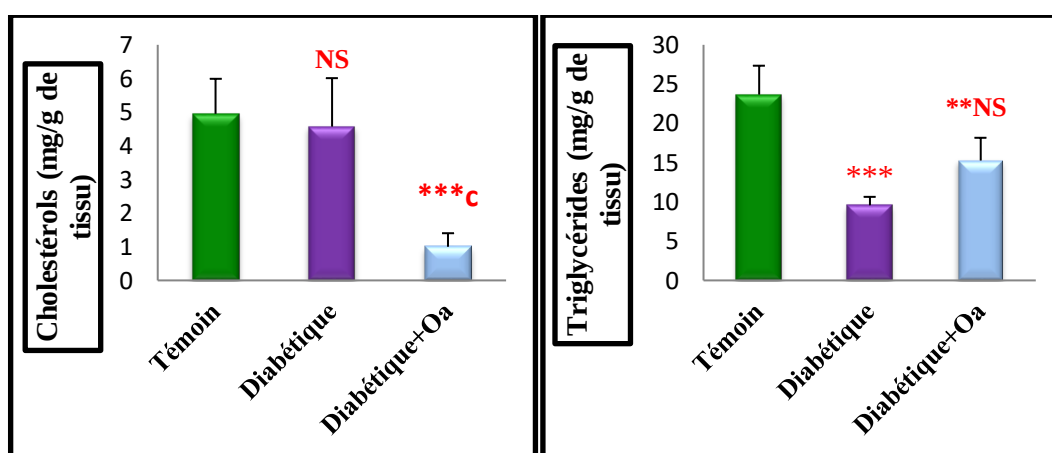


Figure (15) : Concentration des triglycérides et cholestérol dans les tissus adipeux chez le groupe témoins et les groupes Traités.

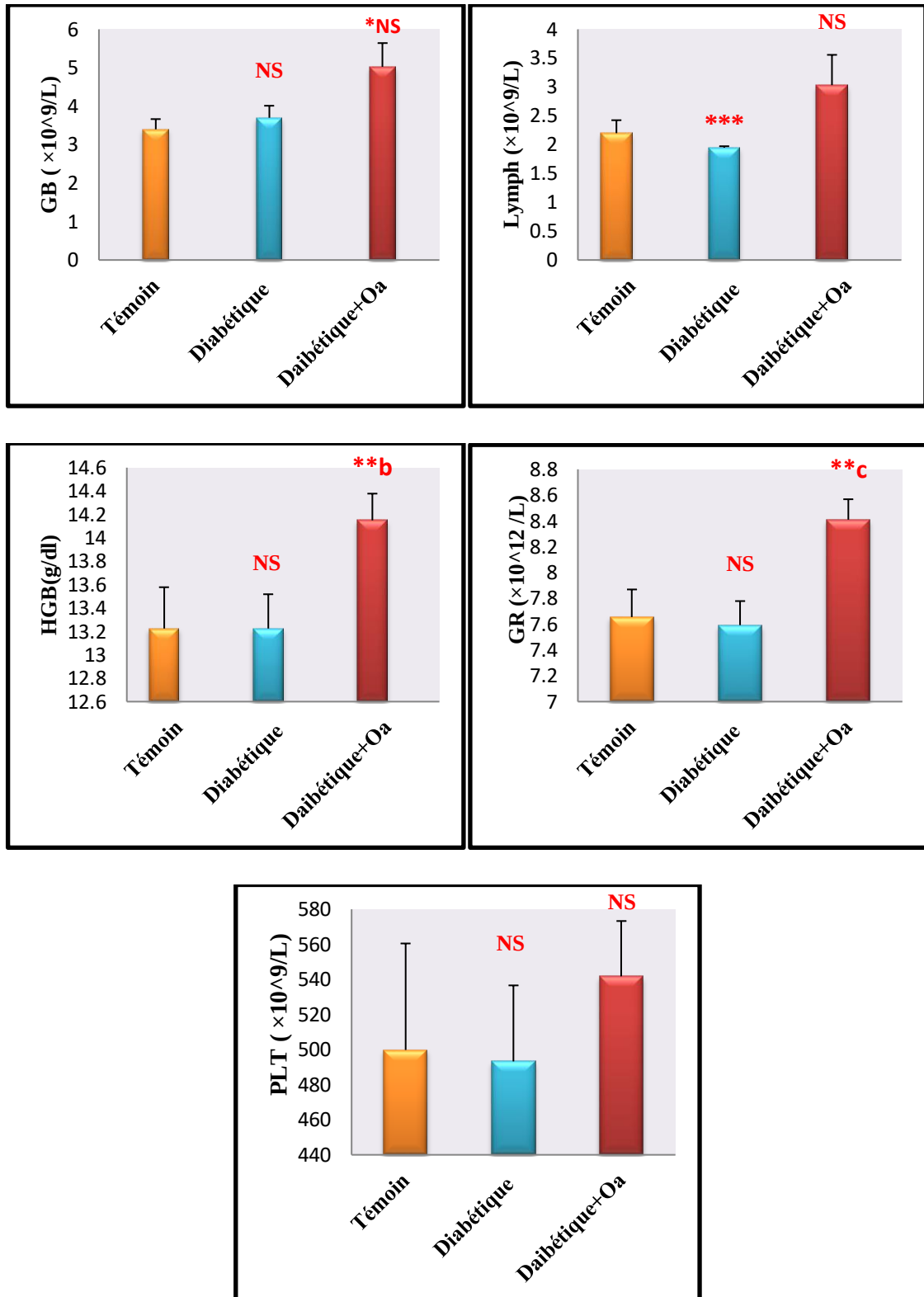
1.10. Effet du traitement par *Oudneya africana* R. Br. sur des paramètres hématologiques et biochimiques

- **Étude des paramètres hématologiques**

Les résultats obtenus concernant les paramètres hématologiques illustrés dans la figure (16), montrent qu'il existe une diminution très hautement significative ($p < 0.001$) du nombre des lymphocytes chez les rats diabétiques en comparaison avec le témoin. Par contre les résultats ne montrent aucune variation significative du nombre des globules blancs, globules rouges, plaquettes et le taux d'hémoglobine chez le groupe diabétique par rapport au témoin.

Cependant le traitement par l'extrait aqueux d'*O. africana* R.Br. pendant 21 jours augmente de façon significative le nombre des globules rouges (GR) ($p < 0.001$) et le taux d'hémoglobine ($p < 0.01$) chez les rats diabétiques et augmente de façon non significative

($p>0.05$) le nombre des lymphocyte, des globule blancs et le nombre des plaquettes sanguins (PLT) chez les rats diabétiques.



Figure(16) : Variation du nombre des globules blancs, lymphocytes, nombre des globules rouges, plaquettes et le taux d'hémoglobine chez le groupe témoin et les groupes traités

- Étude des paramètres biochimiques

Etude de la glycémie et hémoglobine glyquée

Les résultats obtenue (tableaux 05) montre une augmentation de la glycémie(16.14%) et du taux de l'hémoglobine glyquée (6.6%)chez le groupe des diabétiques par rapport au groupe témoin(0.93% et 5.2%) respectivement. Le traitement par la plante *O. africana* R.Br. améliore ces paramètres par une diminution de la glycémie (23.24%) et hémoglobine glyquée (5.3%) après 21 jours de traitement.

Tableau(07) : Pourcentage de variation glycémique chez le groupe témoin et les groupes traités

paramètres	Témoin	Diabétique	Diabétique +Oa
Variation Glycémique %	+ 0.93	+ 16.14	- 23.24
Hémoglobine Glyquée %	5.2	6.6	5.3

Etude des paramètre de la fonction rénale et hépatique

Pour les marqueurs de la fonction rénale, les résultats obtenus figure(17) montrent une augmentation significative de la concentration de l'urée ($P<0.05$) et l'acide urique ($P<0.01$) mais une augmentation non significative de la concentration de la créatinine ($P>0.05$) chez les rats diabétique par rapport au rats témoins. Le traitement par l'extrait aqueux d'*O. africana* R.Br. diminue significativement le taux de l'acide urique et de façon non significative ($P>0.05$) pour urémie et créatininémie chez les rats diabétiques.

Concernant les marqueurs enzymatique de la fonction hépatique notre résultats illustrés dans la figure (18) révèle une augmentation très hautement significative($P<0.001$) de l'activité de TGO et TGP chez le groupe des rats diabétiques par rapport au témoin. Le traitement par l'extrait aqueux de notre plante améliore ces changes de l'activité enzymatique de façon très hautement significative ($P<0.001$)chez les rats diabétiques.

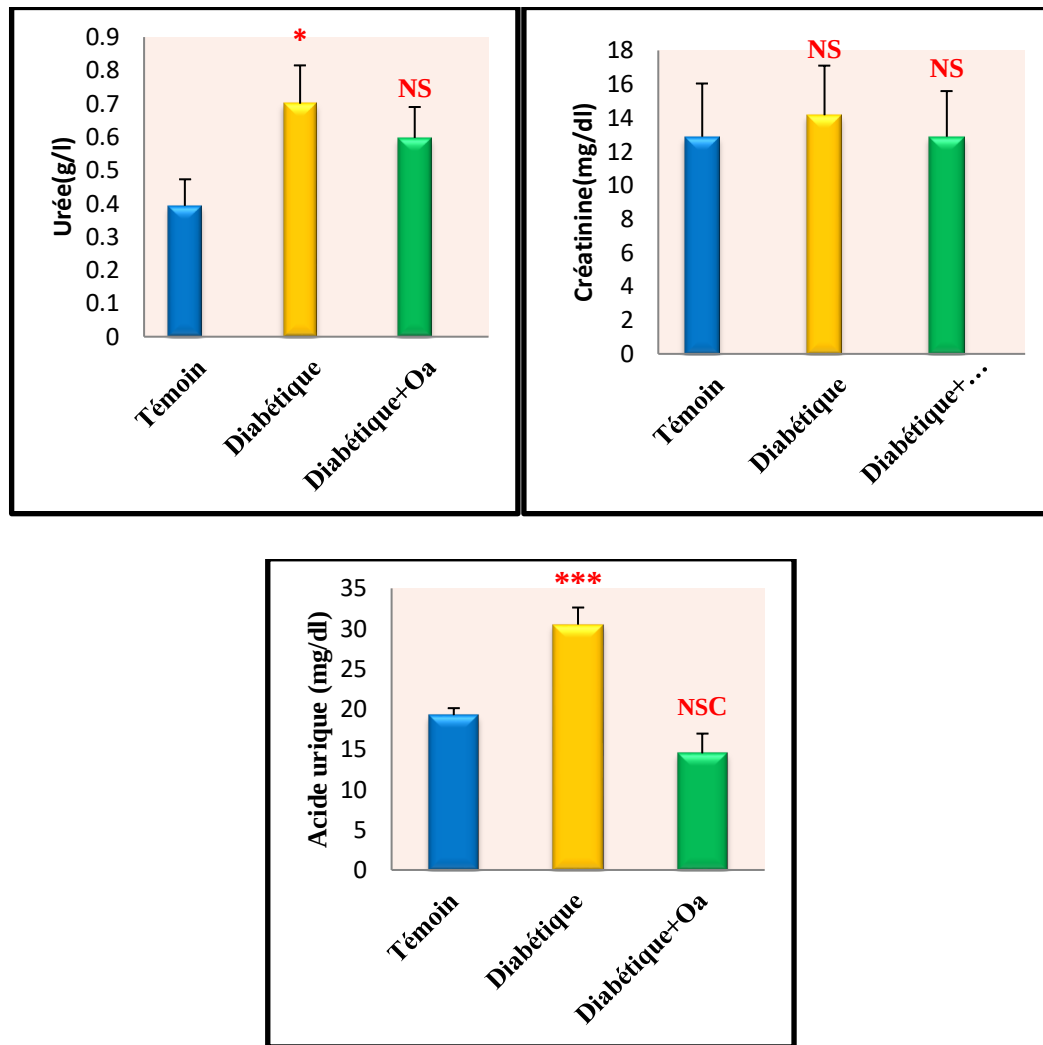


Figure (17) : Variation de la concentration sérique d'urée, créatinine, et d'acide urique chez le groupe témoin et les groupes traités pendant 21 jours.

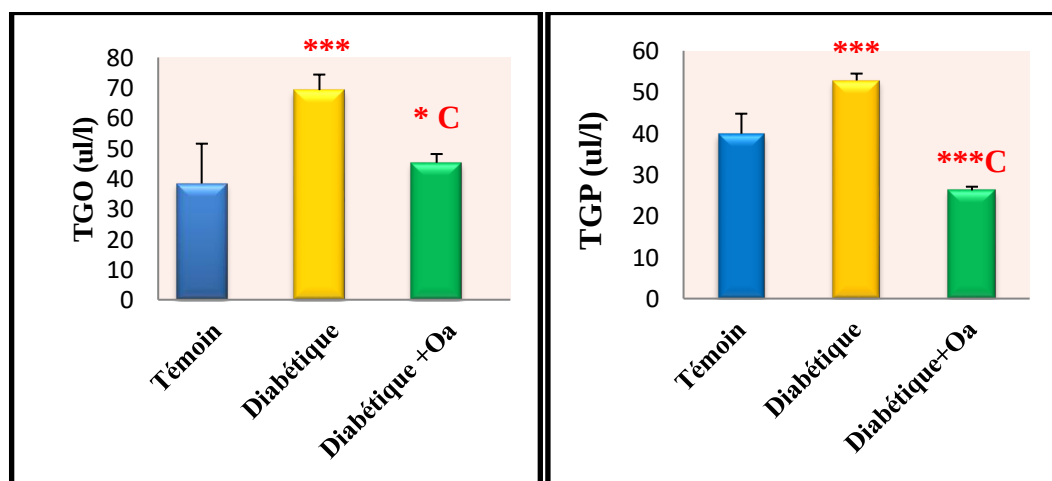
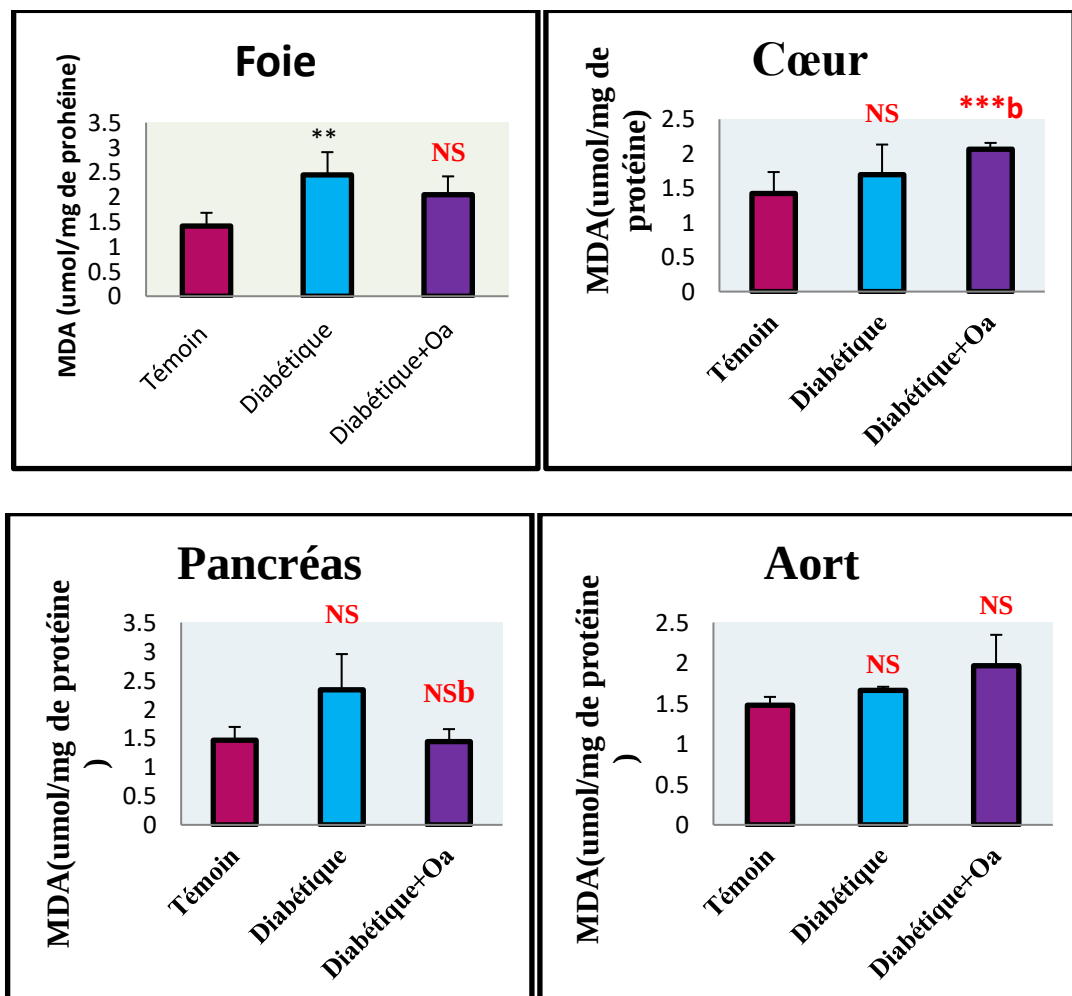


Figure (18) : Variation de l'activité des transaminases (TGO, TGP) chez le groupe témoin et les groupes traités pendant 21 jours.

1.11. Étude de l'effet d'*Oudneya africana* R.Br sur le stress oxydatif

- Étude de la peroxydation lipidique (MDA)

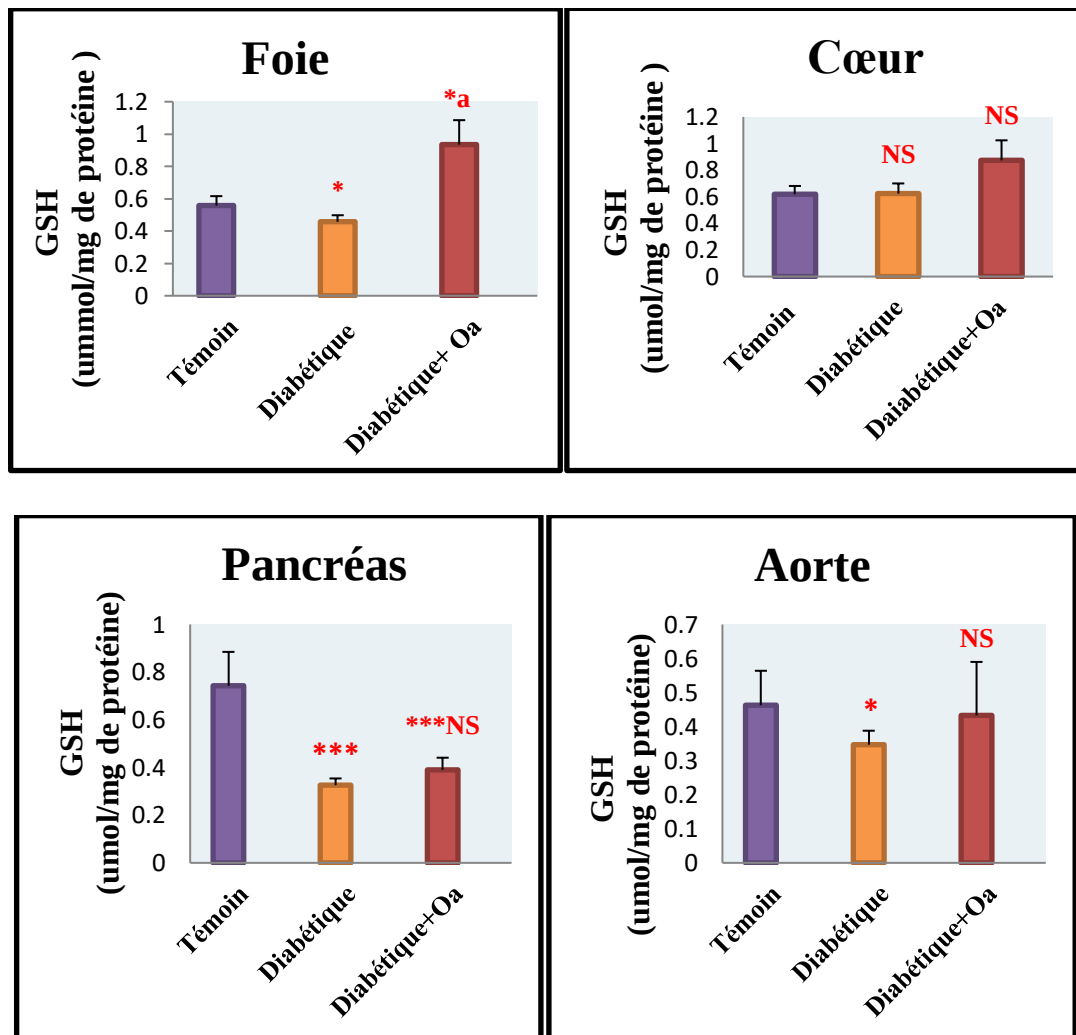
Les résultats du stress oxydatif présentés dans la figure(19) montrent une augmentation significative de la peroxydation lipidique dans le foie ($P < 0.01$) et le pancréas ($P < 0.01$) mais pas de variation de la concentration de MDA au niveau du cœur et aorte chez les rats diabétique par rapport au témoin. L'ajout de l'extrait aqueux d'*O. africana* R.Br. pendant 21 jours diminue la peroxydation lipidique mais de façon non significative ($P > 0.05$) au niveau hépatique et de pancréas d'autre part on observe une augmentation de MDA dans le cœur et l'aorte chez les rats diabétiques.



Figure(19): Variation de la peroxydation lipidique au niveau tissulaire chez le groupe témoin et les groupes traités pendant 21 jours.

Étude de Glutathion réduit (GSH)

Concernant les résultats de glutathion réduit notre étude montrent une diminution significative du taux de GSH dans le foie ($P < 0.05$), le pancréas ($P < 0.001$) et l'Aorte ($P < 0.05$) mais pas de variation de la concentration de GSH au niveau du cœur chez les rats diabétique par rapport au témoin. L'ajout de l'extrait aqueux d'*O. africana* R.Br pendant 21 jours augmente significativement le taux de GSH hépatique mais de façon non significative ($P > 0.05$) au niveau cœur, pancréas et aorte chez les rats diabétiques.



Figure(20) : Variation de Glutathion réduit (GSH) au niveau tissulaire chez le groupe témoin et les groupes traités pendant 21 jours.

1.12. Etude histopathologique

L'observation microscopique du pancréas des rattes traitées par l'alloxane révèle une modification cellulaire bien visible, qui traduit par une atrophie cellulaire, un hémorragie et nécrose cellulaire. Alors que l'étude histologique du pancréas des rattes traitées par l'extrait aqueux d'*Oudneya africana* R. Br. présente une légère amélioration au niveau cellulaire.

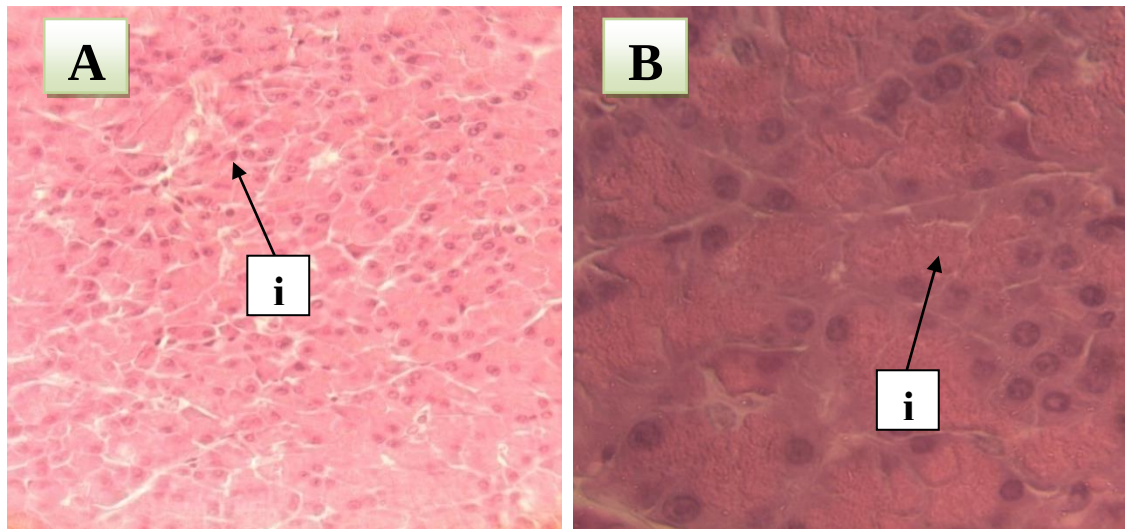


Figure (21) : Pancréas du ratte témoin sain : (A) couleur HEx40, (B) couleur HEx100
(i) : îlots de Langerhans.

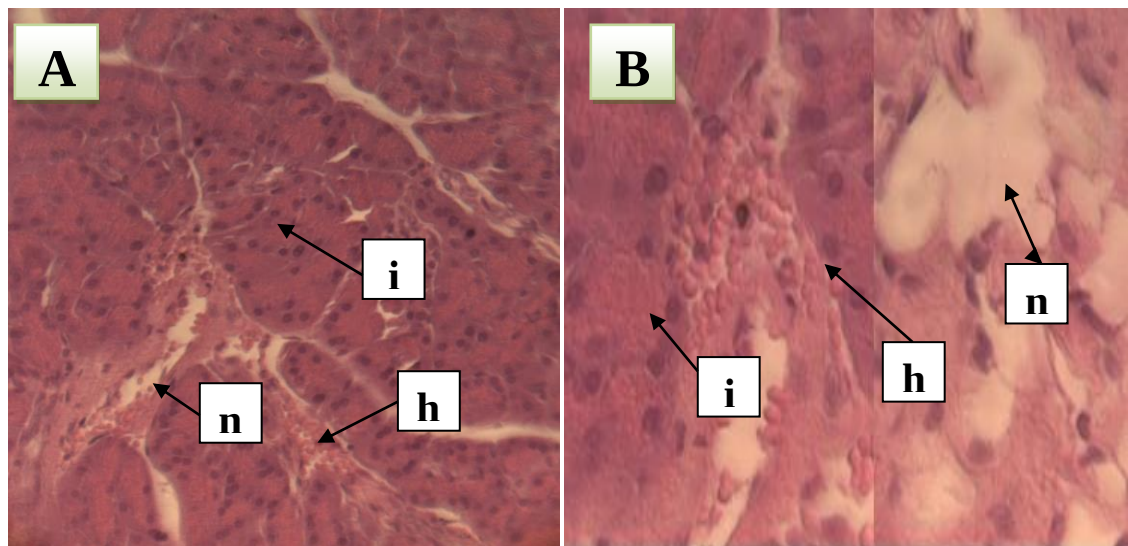


Figure (22) : Pancréas du rat diabétique non traité: (A) et (B) couleur HEx100, HEx40.
(i) : îlots de Langerhans (n) : Atrophie des îlots de Langerhans (h) : hémorragie.

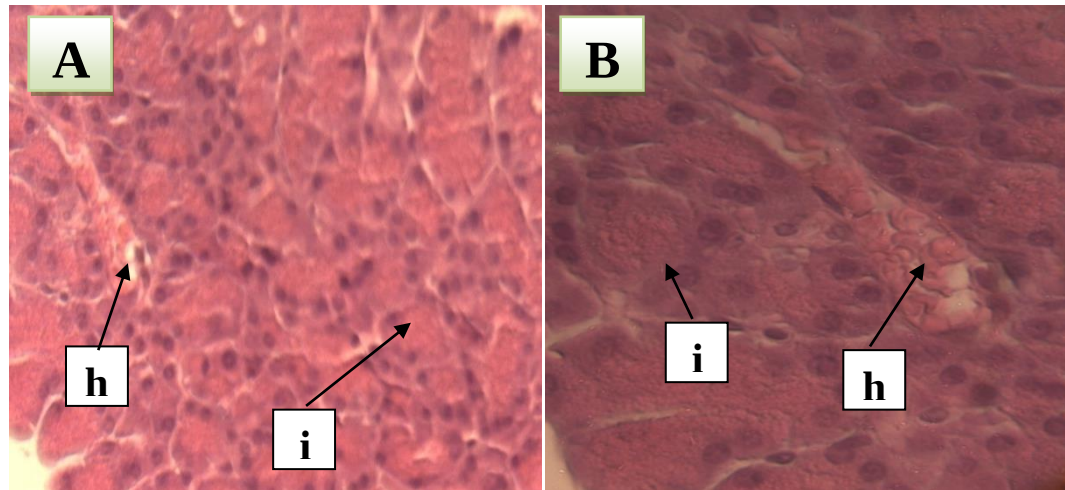


Figure (23) : Pancréas du ratte diabétique traité par l'extrait aqueux d'*Oudneya africana* R.Br. (A) et (B) couleur HEx100, (i) : îlots de Langerhans (n) : Atrophie des îlots de Langerhans (h) : hémorragie.

2. Discussion

Le diabète sucré (DM) est un groupe de troubles métaboliques caractérisé par une maladie hypoglycémique chronique résultant de défauts dans la sécrétion d'insuline, l'action de l'insuline ou les deux (Ozougwu et *al.*, 2014). Il est défini par l'élévation chronique de la concentration de glucose dans le sang (hyperglycémie) (Rodier, 2001). L'hyperglycémie chronique est associée avec des complications organiques spécifiques touchant particulièrement les yeux, les reins, les nerfs, le cœur et les vaisseaux (Drouin et *al.*, 1999). Le stress oxydatif a été rapporté à jouer un rôle important dans la pathogenèse du diabète et ses complications (Duan et *al.*, 2017).

L'objectif de ce travail est l'étude de l'activité antidiabétique de l'extrait aqueux d'*Oudneya africana* R. Br. (avec une dose de 400mg/ kg p.c pendant 21 jours) chez des rattes rendus diabétique par l'injection de 150 mg/kg .p.c d'Alloxane.

Dans cette étude, le choix de la plante, la voie d'administration et la méthode de préparation d'extrait est basé sur l'utilisation traditionnel pour le traitement du diabète chez la population locale dans la région d'Oued souf.

Analyses qualitative et quantitative de la plante

Les résultats obtenus pour les tests phytochimiques réalisés sur les feuilles d'*Oudneya africana* R. Br. montrent sa richesse en plusieurs composés bioactifs pouvant être lié avec son activité antidiabétique qui est étudié dans ce travail.

L'analyse phytochimique de la plante a révélé la présence des flavonoïdes qui pourraient être responsables de l'effet hypoglycémiant de cette plante. Des recherches récentes ont démontré que les hétérosides flavoniques sont responsable a l'effet hypoglycémiant (Chabane et *al.*, 2013). Aussi que les flavonoïdes peut jouent un rôle protectrice de l'organisme contre les effets délétères des apports environnementaux oxydants (Stoclet et Kerth, 2011). Les flavonoïdes sont reconnus aussi pour leurs activités hépato protectrices (Sangare et *al.*, 2012). Les polyphénols a un effet protecteur qui été attribué à leurs propriétés antioxydants, susceptibles de prévenir des dommages oxydatifs moléculaires et cellulaires induisant diverses pathologies (cancers, diabète de type 2, maladies cardiovasculaires et neurodégénérative) (Amiot et *al.*, 2009). Par contre on remarque l'absence des alcaloïdes, ces substances chimiques connues par leurs effet toxiques, ils peuvent être dangereux pour l'homme à cause de leur hépatotoxicité et néphrotoxicité (Brahima et *al.*, 2017). D'autre part, les tanins ayant une activité antidiabétique qui signalée par son action sur le diabète lui-même au niveau cellulaire, en

favorisant l'action de l'insuline (en diminuant la résistance à l'insuline) et sur les complications du diabète par leur pouvoir antioxydant et anti enzymatique, neutralisant l'effet des radicaux libres et limitant la réaction inflammatoire dans les différents tissus (Mangambu et *al.*, 2014).

L'analyse quantitative de la plante a révélé la présence d'un teneur considérables des phénols totaux et flavonoides (19,35 mg EAG/g MS et 6,433 mg E Querc /g MS) respectivement dans l'extrait aqueux d'*Oudneya africana* R. Br. de la région d'El Oued (algérie), ceci contre un teneur de 7.75 mg EAG/g MS (polyphenol) et 7.66 mg E Querc /g MS (flavonoides) pour l'extrait aqueux d'*Oudneya africana* R. Br. issue de la région de laghouat (Djeridane et *al.*, 2006) et un teneur 275.37 mg EAG/g poids sec d'extraits et 181.2 mg E Querc / g poids sec d'extraits (polyphenol et flavonoides) pour l'extrait méthanolique d'*Oudneya Africana* R. Br issue de la région de Bir Soltan situé dans le Grand Erg Oriental (Derbel et *al.*, 2010).

Etude de l'activité antioxydant in-vitro

Selon les résultats enregistrés dans notre étude concernant l'évaluation antioxydant de la plante , on peut dire que l'extraits aqueux d'*Oudneya africana* R. Br. a un pouvoir antioxydant très important ($IC_{50}=45.41$ mg/ml) en comparant avec le pouvoir antioxydant d'acide ascorbique ($IC_{50}= 23.41$ mg/ml). Les valeurs IC_{50} déterminées en mg/ml ; qui exprimant la concentration efficace de l'extrait antioxydant nécessaire pour le piégeage et la réduction de 50% de moles de DPPH en dissolution dans du methanol, plus la valeur de IC_{50} est petite plus l'extrait est considéré comme un antioxydant puissant. (Bougandoura et Bendemerad, 2013). Par ailleurs, l'étude de Zakaria et Belhattab (2016) trouve que d'*Oudneya Africana* de la région de l'ouest de Ouargla a montré une importante activité antioxydant avec une valeur de CI_{50} ($12,05 \mu g / ml$) pour l'extrait méthanolique, IC_{50} ($14,91 \mu g/ml$) pour l'extrait aqueux et IC_{50} ($24,57 \mu g/ml$) pour l'extrait hydro-alcoolique. Ces résultats indiquent que *Oudneya africana* R. Br. a un potentiel très intéressant en tant que plante avec une grande activité de piégeage des radicaux.

Les polyphénols sont les principaux composés végétaux ayant une activité antioxydante. Cette activité est principalement due à leurs propriétés redox , qui jouent un rôle important dans l'adsorption et la neutralisation des radicaux libres, l'extinction de l'oxygène singulet et triplet ou la décomposition des peroxydes (Zheng et Wang, 2001). La DPPH est un radical stable qui peut accepter l'hydrogène d'un antioxydant pour former une

DPPH réduite (Zakaria et Belhattab, 2016). L'effet des antioxydants sur la DPPH est dû à leur capacité à donner de l'hydrogène (Adedapo et al., 2008). Les groupements fonctionnels présents dans les composés phénoliques en général peuvent céder facilement un électron ou un proton pour neutraliser les radicaux libres (Amarowicz et al., 2004). Les composés Phénoliques qui possèdent une activité antioxydante sont principalement les acides phénoliques et les flavonoïdes (Marja et al., 1999).

Etude de toxicité de la plante

Concernant l'étude de la toxicité de la plante, les résultats obtenus montrent bien que l'extrait aqueux d'*Oudneya africana* R. Br (1000 mg/kg p.c , 5000 mg /kg p.c) . n'a aucun signe de toxicité ; pas de mortalité, pas de comportement neurologiques ou physiologiques anormale et pas d'effet néfaste sur l'organisme. L'absence des alcaloïdes dans l'extrait de notre plante peut expliquer les résultats de test toxicité, ce qui nous encourageons d'utiliser la plante dans l'étude antidiabétique in-vivo.

Etude de paramètres de croissances

L'étude de l'effet du traitement par l'extrait aqueux d'*Oudneya africana* R. Br. Pendant 21 jours sur le poids corporel des ratte montre une différence non significative entre le gain du poids des ratte diabétique traitées par l'extrait aqueux d'*Oudneya africana* R. Br., et des ratte diabétique non traitées. L'extrait aqueux d'*Oudneya africana* R. Br. n'a aucun rôle dans l'altération du poids corporel et améliore le gain du poids des ratte diabétiques, donc on peut dire que cette plante protéger les ratte contre la perte de poids associée à la maladie du diabète et assurer leur croissance normale. Cette modération de la perte de poids corporel due au contrôle de l'hyperglycémie et de l'activation de la synthèse protéique structurale (Gandhi et al., 2012). L'extrait aqueux d'*Oudneya africana* R. Br. Peut stimuler la sécrétion pancréatique de l'insuline qui favorise le stockage des lipides et triglycérides (Sung et al., 2006). La capacité de l'extrait aqueux d'*Oudneya africana* R. Br. à protéger la perte de poids corporel semble être le résultat de sa capacité à réduire l'hyperglycémie (Stanely et Venugopal, 2000).

Etude de l'activité antidiabétique in-vitro et in-vivo

L'évaluation de l'effet hypoglycémiant de l'extrait aqueux de d'*Oudneya africana* R. Br. Est fait par des études in-vitro et in-vivo.

Les résultats de l'étude in-vitro montrent bien une importante activité hypoglycémiant de la plante soit par un effet de glucophage d'après le test de

complexation du glucose soit par un pouvoir inhibiteur de la libération du glucose par le test d'absorption du glucose dans les cellules de levure, pour confirmer ces activités on a fait l'étude in-vivo sur des rats diabétiques. L'étude in-vivo de l'effet hypoglycémiant de notre extrait, nous avons constaté que l'extrait aqueux d'*Oudneya africana* R. Br. provoque une diminution de la glycémie chez les rattes diabétique après 21 jours de traitement. ceci peut être due à l'effet sur l'insuline dans le sérum en augmentant soit la sécrétion pancréatique de l'insuline à partir des cellules bêta des îlots de Langerhans ou assuré sa libération en forme active, donc peut provoquer l'augmentation de la glycolyse et l'utilisation du glucose pour la production d'énergie (Stanely et Venugopal., 2000). L'insuline influence l'utilisation intracellulaire du glucose par plusieurs façons. L'insuline augmente la glycolyse hépatique par l'augmentation de l'activité et la quantité de plusieurs enzymes clés y compris la glucokinase et la phosphofructokinase. Hexokinase est universellement présent dans les cellules de tous types. Les catalyseurs de l'hexokinase la conversion du glucose en glucose 6-phosphate et joue un rôle central dans le maintien de l'homéostasie du glucose. Dans le foie, cette enzyme est un régulateur important de stockage et élimination du glucose (Ragavan et kumari, 2006).

La présence des flavonoïdes et des tanins dans cette plante constitue un indicateur important de l'activité hypoglycémiant ou antidiabétique pour cette espèce végétale. Il a été démontré par plusieurs travaux que ces métabolites secondaires seraient doués de cette activité (Mangambu et al, 2014). L'effet hypoglycémiant significatif de l'extrait aqueux d'*Oudneya africana* R. Br. pourrait bien être lié à la présence des composés de type de flavonoïde agissant probablement de façon synergique (Barbosa et al., 2008). Areej et al., (2012), trouvés dans leurs recherches des composés flavoniques qui possèdent une activité hypoglycémiant significative chez les rats albinos suisses. D'autres études ont rapporté que les tanins en général peuvent agir sur le glucose par divers mécanismes notamment une meilleure absorption du glucose dans le tissu périphérique, la stimulation de la sécrétion de l'insuline des cellules β du pancréas, la diminution de la glycation des protéines circulantes, notamment l'hémoglobine glyquée marqueur de l'état glycémique sur le long terme du diabète de type 2 (Masunda et al., 2014). Le mécanisme antihyperglycémiant des actions de l'extrait aqueux d'*Oudneya africana* R. Br. pourrait être dû à un effet mimétique de l'insuline sur les tissus musculaires et adipeux en stimulant la captation du glucose, leur métabolisme et la glycogénolyse par stimulation du processus de régénération ou augmentation de la sécrétion pancréatique d'insuline à partir de cellules β existantes et / ou

inhibition des enzymes α -glucosidases de l'intestin qui transforme les disaccharides en monosaccharides à des fins d'absorption (Assefa et *al.*, 2017).

Etude des paramètres biochimiques

Les lipides jouent un rôle essentiel dans la pathogenèse du diabète sucré . Le diabète est généralement associé à une hyperlipémies (hypertriglycérémie et hypercholestérolémie) (Kumar et *al.*, 2012). Les résultats obtenus de la présente étude montrent une augmentation très hautement significative ($P<0.001$) du taux plasmatique de TG chez les rats diabétiques non traité par rapport aux rats témoin. Le diabète est généralement associé à une niveaux de lipides modifiés. Le lipide le plus souvent observé dans l'anomalies du diabète sont l'hypertriglycérémie, hypercholestérolémie (Kumar et *al.*, 2012). l'augmentation de la concentration des triglycérides dans les conditions diabétique est associée à la surproduction hépatique des triglycérides (Dunn et *al.*, 1984).

Dans cette étude, on a observé aussi une diminution très hautement significative ($P<0.001$) du taux plasmatique de triglycéride et de VLDL avec une diminution non significatif du taux plasmatique de HDL chez les rattes diabétiques traité par *Oa* par rapport aux rats diabétiques ce qui est en accord avec l'étude de Sharma et *al.*, 2008. L'augmentation des récepteurs de LDL hépatiques entraîne également une diminution, à un degré moindre, des IDL et des VLDL. Par ce mécanisme, les inhibiteurs de la HMG-CoA réductase entraînent une diminution des triglycérides et une augmentation légère des HDL (Shirwaika et *al.*, 2004). L'administration d'extrait riche en flavonoïdes a diminué de manière significative des triglycérides et du cholestérol sériques chez les rats diabétiques (Sharma et *al.*, 2008). On peut expliquer ces résultats aussi par stimulation de la sécrétion pancréatique d'insuline à partir de cellules β existantes par l'extrait aqueux d'*Oudneya africana* R. Br.(Assefa et *al.*, 2017). L'insuline active l'enzyme lipoprotéine lipase qui hydrolyses les triglycérides. De plus, l'insuline inhibe la lipolyse, donc l'absence de l'insuline augmente la lipolyse qui conduit finalement à l'hyperlipidémie (Shirwaika et *al.*, 2004).

L'acide urique est le produit final d'oxydation du métabolisme des purines chez l'homme, il est couramment utilisé comme un indice clinique pour évaluer la fonction rénale (Leng et *al.*, 2017). Notre résultats montre une augmentation très hautement significatif ($P<0.001$) de l'acide urique chez le groupe diabétiques par rapport au groupe témoin. Cela peut être dû à la perturbation du métabolique dans le diabète reflétée dans les activités élevées de xanthine oxydase, peroxydation lipidique et augmentation des

triglycérides et de cholestérol (Mamdouh et Abdel, 2003). De plus, la glycation des protéines dans le diabète peut conduire à l'atrophie musculaire et augmentation de la libération de purine, principale source de l'acide urique ainsi que dans l'activité de la xanthine oxydase (Eidi et *al.*, 2006).

D'une autre coté, on a observé d'après notre résultats une diminution non significatif ($P>0.05$) du taux d'acide urique chez le groupe diabétique traité par rapport au le groupe diabétique non traité. Donc on peut dire que l'extrait aqueux d'*Oudneya africana* R. Br. peut réduire le taux d'acide urique dans le sang et active la fonction rénale. Cette réduction de niveaux d'acide urique peut être dû à la réduction de la peroxydation lipidique, de triglycérides et de cholestérol, tandis que l'élévation de ces métabolites peut augmenter la synthèse de l'acide urique (Mamdouh et Abdel, 2003). L'urée et la créatinine sont des paramètres essentiels pour évaluer la fonction rénale et la filtration glomérulaire (Bah, 2014). Il est souvent considérée comme des paramètres cliniques détecter les effets toxiques liés au traitement de certains composés sur les reins des animaux (Kolsi et *al.*, 2018).

Les résultats montre une augmentation significative ($p<0.05$) de la concentration sérique de l'urée et une légère augmentation de la concentration sérique de la créatinine chez le groupe diabétique par rapport au groupe témoin. Dans l'état diabétique, l'hyperglycémie entraîne des lésions rénales qui, à leur tour, entraînent une mauvaise filtration rénale de l'urée et de la créatinine. Une mauvaise filtration entraîne une élévation du taux d'urée et de la créatinine dans le sang (Kamran et *al.*, 2017). Ceci peut expliquer par la dégradation accélérée des protéines hépatiques et plasmatiques ou la dégradation de certains composés protéiques corporels par la protéolyse due à l'administration d'alloxane ou de composés alimentaires pouvant être dégradés en acides aminés et ensuite en urée (Kolsi et *al.*, 2018). Alors que chez le groupe diabétique traité, nous avons enregistré une diminution de l'urémie et de la créatininémie par rapport au groupe diabétiques non traité. L'extrait aqueux d'*Oudneya africana* R. Br. a fait diminuer significativement la glycémie et donc à protégé le tissu rénal des dommages qui peuvent être provoqués à la suite d'hyperglycémie prolongée. l'hyperglycémie et les protéines modifiées par l'hyperglycémie, jouent un rôle clé dans la survenue de la néphropathie diabétique et l'insuffisance rénale (Dronavalli et *al.*, 2008).

Les résultat présent une augmentation très hautement significatif ($P<0.001$) de l'activité sérique de TGO et TGP chez le groupe diabétique par rapport au groupe témoin. Ceci est expliqué par la destruction des cellules hépatiques (cytolyse hépatique) par les

substances toxiques (effet hépatotoxique de l'alloxane) (Barbosa et al., 2006). De plus l'augmentation des transaminases est expliquée par l'accumulation des acides aminés comme l'alanine et l'acide glutamique dans le sang provenant de la dégradation des protéines du corps. Ainsi ces acides aminés peuvent se transformer sous l'action des transaminases en composés carboxyliques tel que l'acide α céto-glutamique et l'acide pyruvique puis en glucose, ce qui traduit la forte activité enzymatique des transaminases (Boussikine, 2013). Alors nos résultats montrent que le traitement des ratte diabétiques par l'extrait aqueux d'*Oudneya africana* R. Br. a diminué l'activité enzymatique des transaminases par rapport aux ratte diabétiques non traité, ce qui signifie que l'extrait aqueux d'*Oudneya africana* R. Br. inhibe les dommages hépatiques causés par l'alloxane.

Etude des paramètres de stress oxydatif

L'étude des paramètres du stress oxydant dans les tissus montre une augmentation bien remarquable de la peroxydation lipidique (MDA) dans le foie et le pancréas chez les ratte diabétiques par rapport au témoin. La concentration élevée de MDA est un indice qui suggère qu'il y a une forte peroxydation lipidique au niveau du sérum (Vertuani et al., 2004). ainsi l'augmentation du taux de MDA est le résultat de l'augmentation des ERO qui attaquent les acides gras polyinsaturés de la membrane cellulaire et provoque la peroxydation lipidique (Battacharya et al., 1997). Par contre chez les rats diabétiques traités par l'extrait aqueux du d'*Oudneya africana* R. Br. la peroxydation lipidique est diminué au niveau hépatique et de pancréas. Ces résultats en coïncidence avec d'autres études (Drouiche et al., 2005).L'effet inhibiteur de la peroxydation lipidique traduit par l'extrait aqueux du d'*Oudneya africana* R.

Br et sa richesse en polyphénols qui jouent un rôle très important dans la neutralisation des radicaux libres (Smail, 2017).

Par ailleurs, nos résultats présentent une diminution du taux de glutathion réduit (GSH) dans les tissus ; foie, pancréas et artère chez le groupe diabétique non traité par rapport au groupe témoin. Les antioxydants (GSH) ont permis de protéger les cellules contre la peroxydation lipidique, la première étape de nombreux processus pathologiques . La réduction des niveaux d'antioxydants a la suite d'une production accrue de radicaux libres dans le diabète expérimental a été signalée par de nombreux auteurs (Venkateswaran et Leelavinothan , 2002; Kebieche et al.,2011).

Le traitement par un agent chimique réduit les mécanismes de protection contre la toxicité de l'oxygène et provoque la diminution de l'activité et la teneur de GSH. La cellule

dispose pour sa protection au GSH porteur d'une fonction thiol qui constitue un système antioxydant de la première défense en se liant par sa fonction SH aux métabolites toxiques (Morin et *al.*, 2001). Cette diminution peut être expliquée par l'état d'hyperglycémie associé au diabète, le glucose est utilisé par la voie des polyols et se transforme en sorbitol, cette réaction consomme le NADPH, ce dernier est indispensable pour la régénération des molécules de glutathion par l'enzyme glutathion réductase ce qui explique aussi la diminution de la glutathion chez les diabétiques (West, 2000). Le GSH hépatique est diminué chez les rats rendus diabétiques par l'alloxane ; l'alloxane entraîne une déplétion du contenu en GSH hépatique en raison du niveau plus élevé de la génération de radicaux libres qui convertissent plus GSH réduit à sa forme oxydée (El-Shenawy et Abdel-Nabi, 2006). Le GSH joue un rôle très important dans les mécanismes de défense antioxydant (Bonfont et *al.*, 2000). Le GSH est la biomolécule la plus importante contre la toxicité induite chimiquement et peut participer à l'élimination des intermédiaires réactifs en réduisant les hydroperoxyde en présence de GPx. La diminution de niveau de GSH représente sa dégradation au cours du stress oxydant causé par le diabète (Venkateswaran et Leelavinothan, 2002).

Le traitement des ratte par l'extrait aqueux d'*Oudneya africana* R. Br. a augmenté d'une manière significative le taux de glutathion tissulaires par rapport aux ratte diabétiques non traités. L'augmentation des taux du glutathion réduit (GSH), dans les différentes organes étudiées chez les ratte diabétiques traités par l'extrait montrent clairement les propriétés antioxydantes de l'extrait aqueux d'*Oudneya africana* R. Br. Ces résultats laissent un grand espoir pour l'avenir avec le rôle protecteur que peuvent conférer l'*Oudneya africana* R. Br. dans la prévention et la limitation des effets toxiques des radicaux libres au cours du diabète. Cet résultat peut être expliqué par la présence des composées « tels que les flavonoïdes » qui sont doués d'une activité antioxydants (Diallo et *al.*, 2004).

Étude histopathologique

L'étude histopathologique de pancréas de ratte diabétiques non traité a montré la destruction presque complète des cellules bêta due à l'alloxane. L'alloxane a été proposée d'agir comme un agent diabéto-gène en raison de sa capacité à détruire les cellules des îlots de Langerhans

éventuellement par le biais de la formation excessive des radicaux libres. Les cellules β du pancréas sont susceptibles d'être altérées par les dommages oxydatifs générés par les radicaux libres, en raison d'un faible niveau des enzymes piègeurs de radicaux libres (Kebieche et *al.*, 2011). L'administration d'alloxane a provoqué une lésion grave du pancréas (cellules β), comme une

diminution du nombre de cellules des îlots, des dommages cellulaires et la mort (Bouzghaya et *al.*, 2016).

Les coupes histologiques du pancréas des rattes diabétiques traités par l'extrait aqueux d'*Oudneya africana* R.Br. révélé la présence de quelques îlots de Langerhans avec très peu des destruction cellulaires et un forme intact. Nos résultats montrent que l'extrait aqueux d'*Oudneya africana* R.Br. a un effet protecteur de la structure et la fonction des cellules β de Langerhans et amélioré l'architecture histologique des îlots de Langerhans. Cet effet protecteur des îlots observé pourrait être du à l'amélioration de l'activité d'enzymes l'antioxydant pancréatique, qui jouent un rôle clé dans le mécanisme de défense contre les dommages du pancréas causé par les radicaux libres. (Soto et *al.*, 2003). Cette plante a présente un effet antihyperglycémiant par la régénération des îlots pancréatiques et la sécrétion d'insuline a partir cellules bêta intactes des îlots de Langerhans (Wang et *al.*, 2017). Cette activité peut être due a la présence des composes phenoliques qui possèdent un potentiel cytoprotecteur des cellules β et une capacité antidiabétogène dans le diabète alloxanique qui déséquilibre le statut redox des cellules pancréatiques au profit du stress oxydatif (Kebieche et *al.*, 2011).

Conclusion générale

Conclusion générale

Dans ce travail nous avons concernés par l'étude de l'effet de l'extrait aqueux d' *Oudneya africana* R. Br sur le taux de glucose dans le sang, l'évolution du poids corporel, le bilan biochimique sanguin, des paramètres de stress oxydatif et l'architecture du tissu pancréatique chez des rats diabétiques. L'objectif de ce travail est d'étudier si le traitement par d'extrait aqueux des feuilles d' *Oudneya africana* R. Br. capable de prévenir ou même de retarder l'apparition des complications liées au diabète.

A la lumière des résultats obtenus, on peut conclure que :

L'analyse phytochimique de la plante montre que l'extrait aqueux d' *Oudneya africana* R. Br. est très riche *par des* molécules bioactives (polyphénols , flavonoïdes, tanins, saponines et sucres réducteurs) et possède une activité antioxydante très important, pouvant être lié à l'activité hypoglycémiant.

Les résultats de teste de toxicité montrent clairement que l'*Oudneya africana* R. Br. n'a aucun effet néfaste ou toxique sur l'organisme et ne conduit aucun cas de mortalité chez les rattes traités, ce qui nous permet d'utiliser la dose 400mg/Kg d'*Oudneya africana* R. Br. pour évaluer activité antidiabétique in vivo.

L'injection intra péritonéale de l'alloxane à 150 mg/ kg du poids corporel chez les rattes femelles a induit des perturbations du métabolisme glucidique, lipidique et protéique, procès accompagné par des altérations histologiques du pancréas révélées par la dégénérescence des îlots de Langerhans et la mort cellulaire par nécrose qui observer par les microscope .

Le traitement par l'extrait aqueux d' *Oudneya africana* R. Br par voie orale 400 mg/kg/j pendant 21 jours, améliorer le poids corporel, et provoquer une réduction significative de la glycémie chez les rattes diabétiques.

En se qui concerne le bilan lipidique (cholestérol, HDL, LDL, triglycérides, VLDL), le traitement à rétabli les valeurs a la normal ce qui traduit l'effet protecteur d'*Oudneya africana* R. Br. contre les complications liées au diabète .

L'*oudneya africana* R. Br. à protégé aussi le tissu rénal de l'effet de l'hyperglycémie et se manifeste par une urémie et créatininémie normales.

L'effet du notre extrait sur la fonction hépatique se traduit par une restauration significative des paramètres de la fonction hépatique ; TGO, TGP.

L'extrait de la plante par son action antioxydant à diminuer la peroxydation lipidique cette activité traduit par la diminution des taux de MDA dans les organes étudiées, et àaugmenter la défense antioxydante non enzymatique ; glutathion réduit (GSH).

Conclusion générale

L'extrait aqueux d' *Oudneya africana* R. Br a un effet protecteur contre les dommages de pancréas provoqué par l'alloxane, cet effet traduit par l'amélioration de l'architecture histologique des îlots de Langerhans.

En terme de perspectives et afin de compléter et d'approfondir la présente étude, il serait intéressant :

- L'isolement et l'identification, de différents composés bioactifs présents dans les extraits et l'évaluation de leur effet sur les différents systèmes biologiques au cours de diabète.
- Pour une initiative approfondie, des études futures doivent être entreprises afin de mieux comprendre les divers mécanismes ayant engendrés ces activités, et il serait également intéressant d'étudier d'autres activités biologiques des extraits étudiés, afin de mieux valoriser et d'explorer d'autres plantes médicinales et les tester *in vivo*.

*Références
bibliographiques*

Références bibliographiques

1. **ADA (merican Diabetes Association). (2010).** Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*.vol 31 (1), S55.
2. **Adedapo, A.A., Jimoh, F.O., Afolayan, A.J., & Masika, P.J. (2008).** Antioxidant activities and phenolic contents of the methanol extracts of the stems of *Acokanthera oppositifolia* and *Adenia gummifera*. *BMC Complement Altern Med*. The official journal of the International Society for Complementary Medicine Research (ISCMR). vol 8(54).pp1-7.2p.
3. **Amarowicz, R., Pegg, R.B., Barl, B., & Weil, J.A. (2004).** Free-radical scavenging capacity and antioxidant activity of selected plant species from the Canadian prairies. *Food Chemistry*.vol (84).pp 551–562.551-552p.
4. **Amiot, M., Riollet, J., & Landrier, F. (2009).** Polyphénols et syndrome métabolique. *Médecine des maladies Métaboliques*.478p.
5. **Anwar, M.M., & Meki, A.M.A. (2003).** Oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rats: effects of garlic oil and melatonin. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A*. vol (135) , pp 539–547.544p.
6. **Areej, M.T., Perveen, S., Ghada, A. F., Saleh, I .A ., & Kamal, E.H. (2012).** New flavane gallates isolated from the leaves of *Plicosepalus curviflorus* and their hypoglycemic activity. *Fitoterapia*. vol (83) , pp 1610-1615.1614 p.
7. **Arora, A., Byrem, T.M., Nair, M.G., & Strasburg, G.M. (2000).** Modulation of liposomal membrane fluidity by flavonoids and isoflavonoids. *Arch Biochem Biophys*; pp 373: 102.9p.
8. **Assefa, F., Seifu, D., & Makonnen, E. (2016).** Antihyperglycemic and antihyperlipidemic activities of ethanol extract of *Ajuga remota* Benth (Harmegusa) leaves in streptozotocin induced diabetic rats. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*.vol.11(2).22- 23 p.
9. **Babula, P., Masarik, M., Adam, V., Eckschlager, T., Stiborova, M., Trnkova, F., Skutkova, H., Provaznik, I., Hubalek , J., & Kizek, R. (2012).** Mammalian metallothioneins : properties and functions. *Metallomics*, vol(4),pp 739–750.773p.
10. **Bagre, I., Bahi, C., Gnahoue, G., Djaman, A.J., & Guede, G.F.J. (2007).** Composition phytochimique et évaluation in vitro de l'activité antifongique des

Références bibliographiques

- extraits des feuilles de *Morinda Morindoides* (Baker) *Milne-Redhead* (Rubiaceae) sur *Aspergillus Fumigatus* et *Candida Albicans*. Sci.Pharm.Biol.,8, N°1, pp.15-23.
11. **Bahi, A. (2014).** L'effet protecteur des antioxydants naturels dans l'intoxication du mercure chez le rat *Albinos Wistar* (Aspects biochimiques, immunologiques ethistologiques). These de Doctorat en sciences: Biochimie Appliquée. Université des frères Mentouri-Constantine.
 12. **Barbosa, S.G., Wele, FS., Gueye, A., Gueye, PM., Cisse A., Dieye, A.M., Bassene, E., Faye, B. (2008).** Activité anti hypoglycémiant de la fraction F₂ de l'extrait acetonique de feuilles de *VERNONIA COLORATA* (COMPOSEAE). Pharmacopée et Médecine Traditionnelle Africaines. vol (15), pp 6-10.9p.
 13. **Battacharya, S.K., Satyan, K.S., Ghosal, S. (1997).** Antioxidant activity of glycowithanolides from *Withania somnifera*. Indian Journal of Experimental Biology, 35p.
 14. **Bekro, Y.A., Bekro, J.A., Boua, B.B., Tra Bi, F.H., & Ehile, E.E. (2007).** Etude ethnobotanique et screening phytochimique de *Caesalpinia Benthiana* (Baill.) Herend.et *Zarucchi* (Caesalpiniaceae). Sciences & Nature.vol.4 N°2 : 217 – 225.
 15. **Benbrahim, B.K., Chloufi, H., Madani, H., & Eddoud, A. (2015).** La flore de succession des périmètres agricoles abandonnes (cas de la palmeraie) dans la région d'Ouargla (sud-est Algerien). Revue des Bio Ressources.vol(5).99p.
 16. **Bidie, A.P., N'guessan, B.B., Yapo, A.F., N'guessan, J.D., & Djaman, A.J. (2011).** Article original activités anti oxydantes de dix plantes médicinales de la pharmacopée Ivoirienne. Sciences & Nature. vol. 8 N°1: 1 – 11.
 17. **Birben, E., Sahiner, U.M., Sackesen, C., Erzurum, S., & Kalayci, O. (2012).** Oxidative stress and antioxidant defense.WAO Journal. 9-11p.
 18. **Boizot, N., & Charpentier, J.P. (2006).** Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. Cah. Tech. INRA.N°. special, 79-82p.
 19. **Bouchenak, O., Yahiaoui, K., Benhabyles, N., Laoufim, R & Arab, K. (2018).** Phyco-chemical and chromatographic characterization of the essential oil of *Nigella Sativa* L. and evaluation of its antioxidant, hypoglycemic and anti diabetic activities.
 20. **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, n° 09. Pages 14 à 19.17p.

21. **Boussikine, S. (2014).** Contribution a l'étude de l'effet du sélénium sur le mécanisme biochimique chez le diabète expérimental. Thèse de Doctorat en sciences: Option: Biochimie. Université Badji Mokhtar.
22. **Bouzghaya, S., Zarroug, M.B., Borgi, M.A., & Souid, S. (2016).** Hypoglycemic and antioxidant effects of *Opuntia streptacantha* cladodes juice in alloxan-induced diabetic rats. Food Science. vol (96).pp:41790-41795.41793p.
23. **Brahima,K., & Witabouna, K.M. (2017).** Analyse qualitative et quantitative des alcaloïdes pyrrolizidiniques chez quelques Asteraceae, Boraginaceae et Leguminosae utilisées en médecine traditionnelle en Côte d'Ivoire. Européen Scientifique Journal.78p.
24. **Brendan K., Podell, D.F., Ackart, M. A., Richardson, J.E.D.B., & Randall, J.B.(2017).**A model of type 2 diabetes in the guinea pig using sequential diabetes induced glucose intolerance and streptozotocin treatment. Disease Models & Mechanisms. 151p.
25. **Burits, M., & Bucar, F. (2000).** Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil. Phytotherapy Research.vol(14)., 323-328p.
26. **Canivell, S., & Gomis, R. (2014).** Diagnosis and classification of autoimmune diabetes mellitus. Autoimmunity Reviews. vol 149 (153): 405p.
27. **Ceriello, A.(2000).**Oxidative stress and glycemic regulation. Metabolism. vol (49), No 2, Suppl 1: pp 27-29.27p.
28. **Chabane, D., Saidi, F., Rouibi, J., & Kenza, A. (2013).** Activité hypoglycémique de l'extrait aqueux d'*Ajuga iva L. schreber* chez les rats diabétiques induite par l'alloxane. Afrique Science, vol 09(1) , pp120 – 127.125p.
29. **Chehma, A., & Djebar, M.R. (2008).** Les espèces médicinales spontanées du Sahara septentrional algérien: distribution spatio-temporelle et étude ethnobotanique. Laboratoire Bio-Ressources Saharienne, Préservation et Valorisation, Université de Ouargla, Algérie. Laboratoire de Toxicologie Cellulaire, Département de Biologie, Université de Annaba, Algérie.41p.
30. **Chih-Wei, L., & Lisa, B., Bobbie-Jo, W.R., Kathleen, W., Marian, J.R., & Qibin, Z. (2017).** Temporal expression profiling of plasma proteins reveals oxidative stress in early stages of Type 1 Diabetes progression. Journal of Proteomics.1p.
31. **Cirillo, V.P. (1963).** Sugar transports in psychrophilic yeast. J Bacteriol;84:485–91.

32. **Curello, S., Ceconi, C., Bigoli, C., Ferrari, R., Albertini, A., & Guarnieri, C.(1985).**Changes in the cardiac glutathione status after isehemia and reperfusion, Birkh/ iuser Verlag Basel.43p.
33. **Dehpour, A.A., Ibrahimzadeh, M.A., Seyed, F.N., Seyed M.N. (2009).** Antioxydant activity of the methanol extract of *Ferula assafoetida* and its essential oil composition. *Grasas Y Aceites*,60:405-412p.
34. **Derbel, S., Bouaziz, M., Dhouib, A., Sayadi, S., Chaieb, M. (2010).** Chemical composition and biological potential of seed oil and leaf extracts of *Henophyton deserti* Coss. & Durieu. *C. R. Chimie.* vol (13), pp 473–480.474- 478 p.
35. **Derouiche, A., Cherki , M., Drissi, A., Bamou, Y., El Messal, M., & Idrissi-Oudghiri ,A. (2005).** Nutritional intervention study with argan oil in man: effects on lipids and apolipoproteins. *Ann Nutr Metab.*49, 196–201.
36. **Derouiche, S., & Djouadi., A. (2017).** An evaluation of stress oxidative and serum electrolytes in female hypothyroidpatients. *International Journal of Biological & Medical Research.*p5861.
37. **Derouiche, S., Azzi, M., & Hamada , Abir . (2017).** Effect of extracts aqueous of *Phragmites Australis* on carbohydrate metabolism, some enzyme activities and pancreatic islet tissue in alloxan induced diabetic rats. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences.* vol 9 (6):54p.
38. **Derouiche, S., Djermoune, M., & Abbas K. (2017).** Beneficial Effect of Zinc on diabetes induced kidney damage and liver stress oxidative in rats. *Journal of Advances in Biology.*2050p.
39. **Devasagayam, T.P.A., Tilak, J.C., Boloor, K.K., Ketaki, S.S., Saroj, S.G., & Lele, R.D. (2004).** Free Radicals and Antioxidants in Human Health: Current Status and Future Prospects, *Japi.* vol(52).796p.
40. **Diallo, D., Sanogo, R., Yasambou, H., Traoré, A., Coulibaly, K., & Ababacar, M.(2004).**Étude des constituants des feuilles de *Ziziphus mauritiana* Lam. (Rhamnaceae), utilisées traditionnellement dans le traitement du diabète au Mali. *C. R. Chimie.*vol (7).pp1073–1080.1078p.
41. **Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P., Vidal N. (2006).** Antioxidant activity of soe algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chemistry,* vol (97) , pp 654–660.657p.

42. **Dronavalli, S., Duka, I., & George, L.B. (2008).** The pathogenesis of diabetic nephropathy. *Nature Clinical Practice Endocrinology & Metabolism*.vol (4) no.8.445p.
43. **Drouin, P., Blickle, F., Charbonnel, B., Eschwege, E., Guillausseau, P.J., Daninos J.M., Balarac ,N., & Sauvanet, J.P. (1999).** Diagnostic et classification du diabète sucré. Les nouveaux critères. *Diabète et Métabolisme*. Paris ,25(1) : 72-83.
44. **Duan, Y., Wang, L., Han, L., Wanga, B., Sun, H., Chen, L., Zhu, L., Lu, Y. (2017).** Exposure to phthalates in patients with diabetes and its association with oxidative stress, adiponectin, and inflammatory cytokines. *Environment International*, vol (10).pp 953–63.310p.
45. **Dunn, F.L., Raskin, P., Bilheimer, D.W., &Grundy, S.M. (1984).** The Effect of Diabetic Control on Very Low-Density Lipoprotein- Triglyceride Metabolism in Patients With Type II Diabetes Mellitus and Marked Hypertriglyceridemia. *Metabolism*. vol(33), No 2.122p.
46. **Eidi, A., Eidi, M., & Esmaeil, E. (2006).** Antidiabetic effect of garlic (*Allium sativum* L.) in normal and streptozotocin-induced diabetic rats. *Phytomedicine*, vol (13), pp 624–629.628p.
47. **El-Shenawy, N.S., & Abdel-Nabi, I.M. (2006).** Hypoglycemic effect of *CLEOME DROSERIFOLIA* ethanolic leaf extract in experimental diabetes, and on non enzymatic antioxidant, glycogen thyroid hormone and insulin levels. *Preliminary Communication*.19p.
48. **Enrique, C. (1997).** Basic mechanisms of antioxidant activity. *Bio Factors*.vol (6), pp 391–397.394p.
49. **Ersan, S., Bakir, S., Ersan, E.E., & Dogan, O. (2006).** Examination of free radical metabolism and antioxidant defence system elements in patients with obsessive–compulsive disorder. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*.1039p.
50. **Fagot, A., Isabelle, R., Fosse, S., Roudier, C., & Institut de veille sanitaire. (2010).** Prévalence et incidence du diabète, et mortalité liée au diabète en France. *Maladies chroniques et traumatismes*.1p.
51. **Favier, A.(2006).**Stress oxydant et pathologies humaines. *Ann Pharm Fr*. vol(64): pp390-396.391-395p.

52. **Firuzi, O., Miri, R., Tavakkoli, M., & Saso, L. (2011).** Antioxidant therapy: current Status and future prospects. *Current Medicinal Chemistry*.vol (18), pp 3871-3888.3871p.
53. **Gandhi, G.R., Ignacimuthu, S., & Paulraj, M.G. (2012).** Hypoglycemic and b-cells regenerative effects of *Aegle marmelos* (L.) Corr. bark extract in streptozotocin-induced diabetic rats. *Food and Chemical Toxicology*.vol (50) pp 1667–1674.1673p.
54. **Gheffour, K., Boucherit, K., & Boucherit-Otmani, Z. (2015).**Étude phytochimique et évaluation de l'activité antioxydante des extraits d'*Echinops spinosus*. Laboratoire antibiotiques, antifongiques : physico-chimie, synthèse et activité biologique, Faculté SNV-STU, Université Abou Bekr Belkaïd, BP 119, Tlemcen, Algérie.288p.
55. **Gillery, P. (2004).** Stress oxydant et glycation des protéines au cours du diabète sucré. *Ann Biol Clin* ; vol 64 (4) : 309-14. 310 p.
56. **Hammami, R., Ben Hamida, J., Vergoten, G., Lacroix, J.M., Slomianny, M.C., Mohamed, N., & Fliss, I. (2009).** A new antimicrobial peptide isolated from *Oudneya africana* seeds. *Micrbilogy and Immonology*.659p.
57. **Harborne , J.B. (1973).** *Phytochemical Methods*, London. Chapman And Hall, Ltd.pp.49-188.
58. **Harborne , J.B.(1998).** *Phytochemical methods: a guide to modern techniques of plant analysis*. Ed. Chapman and Hall.London,302 p.
59. **Ho, N., Balu, D.T., Hilario, M.R.F., Julie, A., Blendy, J.A., & Irwin Lucki. (2012).** Depressive phenotypes evoked by experimental diabetes are reversed by insulin. *Physiology & Behavior*.702-703p.
60. **Ighodaro, O.M., Adeosun, A.M., Akinloye, O.A. (2018).** Alloxan-induced diabetes, a common model for evaluating the glycemic-control potential of therapeutic compounds and plants extracts in experimental studies. Department of Biochemistry, Faculty of Sciences, Lead City University, Ibadan, Nigeria b Department of Biochemistry, College of Biosciences, Federal University of Agriculture, Abeokuta (FUNAAB), Abeokuta, Nigeria.3p.
61. **Iwona M.C, Anna, M.W., & Malgorzata, Z. (2018).** Endogenous non-enzymatic antioxidants in the human body. *Advances in Medical Sciences*.vol (63).pp 68–78.74p.
62. **Jenkins, R. (2000).** Exercise and oxidative stress methodology : A critique. *Am.J.Clin.Nutr*.72: p 671.

63. **Kahkashan, R., Sayantani, C., Sumit, G., & Parames, C.S. (2017).** Curcumin attenuates oxidative stress induced NF κ B mediated inflammation and Endoplasmic reticulum dependent apoptosis of splenocytes in diabetes. *Biochemical Pharmacology*.
64. **Kamran, S; Shoaib, M; Mobasher, A., Saiqa, I., & Rukhsana, A. (2017).** Antidiabetic and renoprotective effect of *Fagonia cretica* L.methanolic extract and *Citrus paradise* Macfad.juice in alloxan induced diabetic rabbits.*Journal of Pharmacy & Pharmacognosy Research*,vol 5 (6),pp 365-380.370p.
65. **Karumi, O., & Ogugbuaja. (2004).** Identification Of Active Principals Of M. Balsamina (Balsam Apple) Leaf Extract. *J Med Sci*, 4, 179-182.
66. **Kawanishi, S., Hiraku, Y., & Oikawa, S. (2001).** Mechanism of guanine-specific DNA damage by oxidative stress and its role in carcinogenesis and aging. *Mutation Research*, 65p.
67. **Kebieche, M., Lakroun, Z., Mraihi, Z., & Soulimani, R. (2011).** Effet anti diabétogène et cytoprotecteur de l'extrait butanolique de *Ranunculus repens* L.et de la quercétine sur un modèle expérimental de diabète alloxanique.*Phytotherapie*.vol9:pp274-282.275p.
68. **Khacheba, I., Djeridane, A., Yousfi, M. (2014).** Twenty Traditional Algerian Plants Used in Diabetes Therapy as Strong Inhibitors of α -Amylase Activity. *International Journal of Carbohydrate Chemistry*.12 pages.1p.
69. **Khelfia, A.B., Azzouzc, M., Abtrouna, R., Reggabic, M., & Alamira, B. (2017).** Mécanismes d'action directs mis en jeu dans les myopathies toxiques. *Annales Pharmaceutiques Françaises*.3p.
70. **Kim, J.M., Lee, T.H., Lee, M.C., Moon, J.D., Lee, J.S., Kim, H.S., & Suh, C.H. (2002).** Endoneurial microangiopathy of sural nerve in experimental vacor-induced diabetes. *Ultrastructural pathology*, 26, 393-401. 397p.
71. **Kirkman, H.N., Rolfo, M., Ferraris, A.M., & Gaetani, G.F. (1999).** Mechanisms of Protection of Catalase by NADPH. *he American Society for Biochemistry and Molecular Biology, The journal of biological chemistry*.vol.274, No.20, Issue of May 14, pp.13908–13914, 1999,p 13908.
72. **Kleniewska,P., & Pawliczak, R. (2017).** The participation of oxidative stress in the pathogenesis of bronchial asthma.*Biomedicine & Pharmacotherapy*.101p.

73. **Kolsi, R.B.A., Fakhfakh, J., Sassi, S., Elleuch, M., & Gargouri, M.(2018).** Physico-chemical characterization and beneficial effects of seaweed sulfated polysaccharide against oxydatif and cellular damages caused by alloxan in diabetic rats. Laboratory of Plant Biotechnology Applied to the Improvement of Cultures, Faculty of Sciences of Sfax, 3038 Sfax, Tunisia.22-23p.
74. **Kumar, B. T., & Pandey, K. B. (2013).** Markers of oxidative stress during diabetes mellitus. Journal of Biomarkers, Article ID 378790, 8 pages.1p.
75. **Kumar, S., Kumar, V., & Prakash, O.M. (2012).** Anti diabetic and hypolipidemic activities of *Kigelia pinnata* flowers extract in streptozotocin induced diabetic rats. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine. pp 543-546.545p.
76. **Laxmi, V., Anirudh, K., Basant, K., Umesh, K., Rajesh, P., Pawar, S.(2010).** Anti diabetic activity of *Cassia occidentalis* (Linn) in normal and alloxan induced diabetic rats. Indian J Pharmacol,42(4): 224p.
77. **Leng, J., Wang, L., Wang, J., Li, W., Liu,H., Zhang, S., Li, L., Tian, H., Xun, P., Yang, X., Yu, Z., & Hu, G. (2017).** Uric Acid and Diabetes Risk among Chinese Women with a History of Gestational Diabetes Mellitus. Diabetes Research and Clinical Practice.3p.
78. **Lenzen, S. (2008).** The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced diabetes. nstitute of Clinical Biochemistry, Hannover Medical School, 30623 Hannover, Germany.216p.
79. **Lenzen, S., & Munday, R. (1991).** Thiol-group reactivity, hydrophilicity and stability of alloxan, its reduction products and its N;-ethyl derivatives and a comparison with ninhydrin. Biochemical Pharmacology.vol42.No(7), pp1385 1391.1385p.
80. **Lenzen, S., & Panten, U.(1988).**Alloxan: history and mechanism of action. Institute of Pharmacology and Toxicology. University of Grttingen, Grttingen, FRG. 337-338p.
81. **Maged , Y.(1999).**Free Radicals and Reactive Oxygen Species, International Programme on Chemical Safety. World Health Organization, Geneva, Switzerland.111p.
82. **MaKahkonen, M.P., Hopia, A.I., Vuorela, H.J., Rauha, J.P., Pihlaja, K., Kujala, T.S., & Heinonen, M. (1999).** Antioxidant Activity of Plant Extracts Containing Phenolic Compounds. J. Agric. Food Chem.vol(47),pp:3954-3962.3954-3955p.
83. **Mangambu. M.J.D., Mushagalusa, K.F., & Kadima, N.T. (2014).** Contribution à l'étude photochimique de quelques plantes médicinales antidiabétiques de la ville de

- Bukavu et ses environs (Sud-Kivu, R.D.Congo).Journal of Applied Biosciences, vol (7): pp6211– 6220.6217p.
- 84. Masella, T.R., Benedetto, R., Vari, R., Filesi, G., & Giovannini, C. (2005).**Novel mechanisms of natural antioxidant compounds in biological systems: involvement of glutathione and glutathione-related enzymes. Journal of Nutritional Biochemistry , vol (16) , pp 577–586.579p.
- 85. Masunda, T.A., Mbala, M.B., S. J., Kayembe, S.J., Longama, B.F., Ngbolo, K.N., Tshibangu, D.S.T., & Mpiana, P.T.(2014).** Activité anti-hyperglycémique et antiradicalaire des extraits des fruits de *Raphia gentiliana* De Wild (*Arecaceae*).International. Journal Biolgical Chemical Science.vol 8(6): pp 2441-2451, 2449 p.
- 86. May, J.M. (2000).** How does ascorbic acid prevent endothelial dysfunction?. Free Radic Biol Med; 28: 1421-9.
- 87. Mercaldo, F., Nardone, V., & Santone, A. (2017).** Diabetes mellitus affected patients classification and diagnosis through machine learning techniques. International Conference on Knowledge Based and Intelligent Information and Engineering.2519p.
- 88. Miroslav, R., Marko, S., & Milica, P.(2015).**Experimental diabetes induced by alloxan and streptozotocin:The current state of the art.Journal of Pharmacological and Toxicological Methods.5p.
- 89. Monique, G.A., Dominique, B.R., Zohreh, A., & Daniel, J. (2003).** Espèces réactives de l’oxygène. Mécanismes biochimiques.92p.
- 90. Monnier, L., Halimi, S., & Colette, C. (2018).** L’efficience thérapeutique: une préoccupation importante, Médecine des maladies Métaboliques. vol. 12 - N°1. 36,37p.
- 91. Morin, R., Hauet, T., Spedding, M., & Tillement, J.P. (2001).** Mitochondria as target for antiischemic drugs. Advanced Drug Delivery Reviews.vol (49) , pp151– 174.160p.
- 92. Morsi, H.K., Ismail, M.M., Abdelaziz, H., Gaber,H., & Elbasmy, A.A. (2016).** Macrophage migration inhibitory factor and Malondialdehyde as potential predictors of vascular risk complications in type 2 diabetes mellitus: cross-sectional case control study in Saudi Arabia. Mediators of Inflammation, Article ID 5797930, 8 pages.2p.

93. **OMS (Organisation mondiale de la Santé). (2000).** Principes méthodologiques généraux pour la recherche et l'évaluation relatives à la médecine traditionnelle. WOH/TRM/2000,1: annexe II : 31-35.
94. **Ouci, H., & Djoudi, O.E.(2015).**Inventaire et analyse de la biodiversité végétale dans la région de Ghardaïa (cas de hassi el fhal). El-Wahat pour les Recherches et les Etudes, vol.8 n°1: 94 – 107.98p.
95. **Ould el Hadj, M.D., Hadj Mahammed, M., & Zabeirou, H., Chehma, A.(2003).** Importance des plantes spontanées médicinales la pharmacologie traditionnelle la région de Ouargla (Sahara septentrional - Est algérien). Département de Biologie Faculté des Sciences et Sciences de l'Ingénieur Laboratoire de protection des écosystèmes en milieu aride et semi aride Université de Ouargla BP 163 Ouargla 30000, Algérie.76p.
96. **Owolabi, MA., Jaja, S.I.B., Olatunji, O.J., Oyekanmi, O.O, Adepoju, S. (2011).** Attenuation of oxidative damage in alloxan induced diabetic rabbits following administration of the extract of the leaves of *Vernonia amygdalina*. Natural Product Laboratory, Department of Pharmaceutical Chemistry, Faculty of Pharmacy, University of Lagos, Lagos, Nigeria. Department of Physiology, College of Medicine, University of Lagos. P.M.B. 12003, Lagos, Nigeria.vol 1(3).8-9p.
97. **Ozenda, P. (1991).** Flore Et Végétation Du Sahara (3ème Edition Mise A Jour Et Augmentée). Ed. Centre National De La Recherche Scientifique, Paris. pp.250-278.
98. **Ozougwu, J.C., Obimba, K.C, Belonwu., C.D., & Unakalamba, C.B. (2014).** qThe pathogenesis and pathophysiology of type 1 and type 2 diabetes mellitus.Journal of Physiology and Pathophysiology.vol4(4),pp.46-57,47p.
99. **Paneni, F., Thomas, F., & Lüscher. (2017).** Cardiovascular Protection in the Treatment of Type 2 Diabetes: A Review of Clinical Trial Results Across Drug Classes The American Journal of Medicine.vol(130), S18-S29,p20.
- 100.**Pillon, F., Tan, K., Jouty, P., & Frullani, Y. (2014).** Le traitement médicamenteux du diabète de type 2, Actualités pharmaceutiques. n° 541, 23p.
- 101.**Pincemail, J., Le Goff, C., Charlie, C., Gillion, P., Cheramy-Bien, J.P., Van, E., Chapelle., JP & Defraigne, J.O. (2009).** Evaluation biologique du stress oxydant. Nutritions & Endocrinologie.20p.

102. **Poprac, P., Jomova, K., Simunkova, M., Kollar, V., Rhodes, C.C., & Valko, V. (2017).** Targeting free radicals in oxidative stress-related human diseases. *Trends in Pharmacological Sciences*.593p.
103. **Principi, N., Berioi, M.G., Bianchini, S., & Esposito, S. (2017).** Type 1 diabetes and viral infections: what is the relationship?.*Journal of Clinical Virology*.2p.
104. **Quézel, P., & Santa S. (1963).** Nouvelle flore de l'Algérie et des Régions désertiques méridionales. Ed, Tome I: Paris.
105. **Ragavan, B., & Krishnakumari, S.(2006).**Antidibetic effect of *T. ARJUNA* bark extract in alloxan induced diabetic rats.*Indian Journal of Clinical Biochemistry*, vol 21 (2) , pp123-128. 126p.
106. **Richard, J.B., & Goldfarb, A.H. (2004).** Anaerobic Exercise and Oxidative Stress: A Review, *Can. J. Appl. Physiol.* 29(3): 245-263. Canadian Society for Exercise Physiology.246p.
107. **Rochette, L., Zeller, M., Cottin, Y., Vergely, C. (2014).** Diabetes, oxidative stress and therapeutic strategies. *Biochimica et Biophysica Acta*.2079p.
108. **Rodier, M.(2001).**Définition et classification du diabète. *Médecine Nucléaire - Imagerie fonctionnelle et métabolique*.vol.25 - n°2.91p.
109. **Rousselot, D.B., Bastard, J.P., Jaudon, M.C., & Delattre, J. (2004).** Consequences of the diabetic status on the oxidant- antioxidant balance. *Diabetes & Metabolism (Paris)*.vol (26), pp 163-176.170p.
110. **Ruckebusch, Y. (1981).** Physiologie, pharmacologie, thérapeutique animales, 2èmeEd.Maloine S.A.Paris,46-79.
111. **Salhi, N., Salama, M., & Halilat, M (2013).** Allelotoxicity of *Oudneya africana* R. Br. aqueous leachate on germination efficiency of *Bromus tectorum* L. and *Triticum aestivum* L. *African. Journal of Biotechnology*.1196p.
112. **Samet, J.M., Wages, P.A.(2017).**Oxidative Stress from Environmental Exposures. *Current Opinion in Toxicology*.9p.
113. **Sangare, M.M., Bayala, B., Ategb, J.M., Frédéric Loko, F., & Dramane, K.L. (2012).** Effets de l'extrait aqueux de *gomphrena celosioides* (amaranthaceae) sur les enzymes hépatiques. *Afrique Science*, vol 08(3) ,pp107-115.113p.
114. **Sanjay, P., Kartik, D., Virani, E.D., Pithawala, M.D., Shukla, S.k., Lahiri, N.K.J., & Modi, H.A. (2015).** Phytochemical screening, total phenolic content, antibacterial and antioxidant activity of wild edible mushroom, *Peurotus Ostreatus*. *Intentional research journal of pharmacy*.vol 6(1).65-66p.

115. Scicchitano, B.C., Pelosi, A., Pelosi, G.L., & Musa, A. (2017). The physiopathologic role of oxidative stress in skeletal muscle. *Mechanisms of Ageing and Development*. 4p.
116. Sharique, A., & Maqbool, A. (2017). Free radical injury and oxidative stress: a review, global. *Journal for research analysis*. 50p.
117. Sharma, B., Balomajumder, C., & Roy, P. (2008). Hypoglycemic and hypolipidemic effects of flavonoid rich extract from *Eugenia jambolana* seeds on streptozotocin induced diabetic rats. *Food and Chemical Toxicology*. vol (46) , pp 2376–2383. 2379p.
118. Shirwaikar, A., Rajendran, M., Kumar, C.K., & Bodla, R. (2004). Antidiabetic activity of aqueous leaf extract of *squamosa* in streptozotocin–nicotinamide type 2 diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*. vol (91). pp 171–175. 174p.
119. Smail, L., Berdja, S., Boualem, S., Neggazi, S., Boumaza, S., Kacimi, G., Boudarene, L., & Bougurra, S.A. (2017). Effet thérapeutique de l'extrait aqueux de *Globularia alypum* suite à une insulino-toxicité induite in vitro sur les cardiomyocytes de *Rattus norvegicus*, société algérienne de nutrition. 33p.
120. Soto, C., Recoba, R., Barrona, H., Alvarez, H., & Favari, L. (2018). Silymarin increases antioxidant enzymes in alloxan-induced diabetes in rat pancreas. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C* 136. pp 205–212. 209p.
121. Southon, S., Gee, J., & Johnson, I.T. (1984). Hexose transport and mucosal morphology in the small intestine of the zinc-deficient rat. *Brit J Nutr*, 52(5): 371.
122. Stanelly, P., Prince, M., & Menon, V.P. (2000). Hypoglycaemic and other related actions of *Tinospora cordifolia* roots in alloxan-induced diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*. vol (70). pp 9–15. 12-13p.
123. Stoclet, J.C., Schini-Kerth, V. (2011). Flavonoïdes alimentaires et santé humaine. *Annales Pharmaceutiques Françaises*, vol 69, pp 78-90. 78p.
124. Sung, H.K., Sun, H.H., & Se Young, C. (2006). Anti-diabetic effect of cinnamon extract on blood glucose in db/db mice. *Journal of Ethnopharmacology*. vol (10). pp 119–123. 122p.P.
125. Szkudelski, T. (2001). The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas. *Department of Animal Physiology and Biochemistry, University of Agriculture, Poznan, Poland*. vol (50). 54p.
126. Talbi, S., Maria, C., Alexander, R.P., Hernandez, L., Terron, A.F., & Luisa M, S. (2014). Drought tolerance in a Saharian plant *Oudneya Africana* : Role of

- antioxidant defences. Arid Land and Oasis Cropping Laboratory, Institut of Arid Land, Route Eljorf, 4119 Medenine.Tunisia.5,6p.
127. **Taziebou, L.C., Etoa, F.X., Nkegoum, B., Pieme ,C.A., & Dzeufiet, D.P.D. (2007).** Acute and subacute toxicity of *aspilia africana* leaves. Afr. J. Trad.CAM,4 (2):127–134.
128. **Telli, A., Esnault, M.A., & Khelil, A. (2015).** An ethnopharmacological survey of plants used in traditional diabetes treatment in south-eastern Algeria (Ouargla province).Journal of Arid Environments.86p.
129. **Valko , M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M.T.D., Mazur, M., & Telser, J. (2007).** Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. The International Journal of Biochemistry & Cell Biology, vol (39), pp 44–84.49p.
130. **Venkateswaran, S., & Leelavinothan. (2002).** Antioxidant effect of *Phaseolus vulgaris* in streptozotocin-induced diabetic rats. Asia Pacific J Clin Nutr.vol 11(3): pp206–209.208-209p.
131. **Vertuani, S., Angusti, A., & Manfredini, S. (2004).** The antioxidants and pro-antioxidants network: An overview. Current Pharmaceutical Design,1678p.
132. **Wang, J.J., Jin, H., Zheng, S.L., Xia, P., Cai, Y., & Ni, X.J.(2017).** Phytoecdysteroids from *Ajuga iva* act as potential antidiabetic agent against alloxan-induced diabetic male albino rats. Biomedicine & Pharmacotherapy.vol (96).pp 480–488.486p.
133. **Wassmann, S., Wassmann, K., & Nickenig, G. (2004).** Modulation of oxidant and antioxidant enzyme expression and eunction in vascular cells.Journal of the American heart association.382p.
134. **Wattiez, A.S., Dupuis, A., & Courteix, C. (2012).** Le rat STZ-diabétique : modèle adapté à l'étude de la neuropathie diabétique douloureuse?.Laboratoire de physiologie, Faculté de pharmacie, Inserm, U766, F-63001 Clermont-Ferrand cedex 01, France.39p.
135. **Weckbercker, G. ,Cory, J.G. (1988).** Ribonucleotide reductase activity and growth of glutathione-depleted mouse leukemia L1210 cells in vitro. Cancer Letters, 40(3): 257-264.
136. **Wenzhen, L., Wenyu, R., Ying, P., Dongming, W. (2018).** Soy and the risk of type 2 diabetes mellitus: a systematic review and meta analysis of observational studies. Diabetes Research and Clinical Practice.3p.

137. **West, I.C. (2000).** Radicals and oxidative stress in diabetes. *Diabetic Medicine*.17: 171-180.177p.
138. **William, T., Cefalu, M.D. (2015).** Standards of medical care in diabetes. American Diabetes Association. *The Journal of clinical and applied research and education*.vol 38(1): S8.
139. **William, T., Cefalu.(2006).**Animal Models of Type 2 Diabetes: Clinical Presentation and Pathophysiological Relevance to the Human Condition. *ILAR Journal* .Robertson Library University of prince Edward Island.186p.
140. **Yagi, K.(1976).**Simple fluorimetric essay for lipoperoxide in blood plasma. *Biochem. Med*.vol.15: 212-216p.
141. **Zakaria, L.N., & Belhattab, R. (2016).** In vitro antioxidant activity of *Oudneya africana* R.Br. aerial parts. *Biological Sciences and Pharmaceutical Research* Vol.4(6),pp.58-64. 59-60p.
142. **Zheng, W., & Wang, S.Y.(2001).**Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs. *J. Agric. Food Chem*.vol (49), pp 5165-5170.5165p.
143. **Zujk, M.E., Witkowska, A.M., Górska, M., Wilk, J., & Krętowski, A. (2014).** Reduced intake of dietary antioxidants can impair antioxidant status in type 2 diabete patients. *Diabetology and Internal Medicine*.599p.