



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة الشهيد حمّة لخضر الوادي

Université Echahid Hamma Lakhdar El -OUED

كلية علوم الطبيعة والحياة

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

قسم البيولوجيا

Département de biologie

N° série:

## MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

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

Spécialité : Biochimie appliquée

### THEME

**Evaluation de l'activité hypoglycémiant et  
antioxydant des extraits aqueux de *Geranium  
robertianum* L. chez des rattes diabétiques**

Présenté Par :

M<sup>elle</sup> NECIB Raounak

M<sup>elle</sup> ZEKRI Aicha

Devant le jury composé de :

Présidente : M<sup>me</sup> HOUMRI Nawal

M.A.A, Université d'El Oued.

Examinatrice : M<sup>me</sup> BOUKHARI Dalal

M.A.A, Université d'El Oued.

Promotrice : M<sup>me</sup> MEDILA Ifriqya.

M.C.A, Université d'El Oued.

# *Dédicace*

*À l'aide de **ALLAH** tout puissant, qui m'a tracé le chemin de ma vie,  
j'ai pu réaliser ce travail que je dédie :*

*À la source de mes efforts, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir  
réussir , à mon cher père **ALI** , à mon cher mère **RACHIDA SEBAA** .*

*À ma chère grand-mère **MABROUKA BEN AMOR**.*

*À mes chères sœurs **OUAFA** son marié **A -ELMOUMEN** et son bébé  
**SOUHAIL** , et **HIBATALLAH MESSAOUDA** .*

*À mes chères frères **A ELAZIZ** , **OUSSAMA** , **SALAH EDDINE** , **A**  
**ERRAHMANE** . **M. ELAMINE** .*

*À ce qui est plus grand qu'une amie et une sœurs mon binôme :*

**RAOUNAK**

*À tous famille **ZEKRI** et **NECIB** .*

*À les filles des mes tantes : **HANA** , **MANAL** , **ABIR** et les autres .*

*À tous mes chers amis.*

**OUISSAL** , **FATMA** , **REBEH** , **IMANE** , **FATEN**

*À tous les étudiants de ma promotion.*



**AICHA ZEKRI**

# Dédicace

*Je dédie ce modeste travail à :*

*À L'esprit le plus propre qui nous a quittées, que dieu te garde dans son vaste paradis, à mon cher père **TAHER**.*

*À la lumière de mes jours, la source de mes efforts, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir, ma vie et mon bonheur ; maman **BEGGAS FARIDA**.*

*À mes sœurs : **FATHIA, RAYAN, AYATERRAHMAN**.*

*À mes frères : **ALI, MOHAMED TAKI EDDINE, ABDERRAHMAN**.*

*À tous famille **NECIB***

*À ma grand-mère **CHETHOUNA SADIA***

*À ma chère tante : **INTISSAR***

*À mes oncles : **LAZHAR, CHAMSEDDINE***

*À tous mes chers amis.*

***FATEN, YOUSRA, AICHA, MAROUA, NOUA, MAROUA, SOMAIA***

*À tous les étudiants de ma promotion.*

*Sans oublier mon binôme : **AICHA** et sa famille.*



**RAOUNAK NECIB**

# *Remerciements*

*Nous tenons à remercier en premier lieu **ALLAH**, le tout Puissant de nous avoir donné courage, santé et patience pour achever ce travail.*

*À notre promotrice de mémoire, **Mme MEDILA Ifriqya**, maître de conférence, faculté des sciences de la nature et de la vie -Université d'El Oued, qui nous a fait l'honneur d'accepter de diriger ce mémoire. Hommage respectueux,*

*Nous exprimons nos vifs remerciements à **Mme HOUMRI Nawal** pour L'honneur qu'elle nous a fait en acceptant de présider le jury de ce mémoire.*

*Mes remerciements vont aussi à **Mme BOUKHRI Dalal** pour avoir accepté d'examiner ce modeste travail.*

*Nous adressons nos sincères remerciements à **Melle GOUBI Sana** ingénieur du laboratoire aussi à tout l'ensemble des membres du laboratoire de la faculté des sciences de la nature et de la vie, Université **HAMMA LAKHDAR**, Eloued.*

*Un grand merci à toute l'équipe de laboratoire d'analyses médicales l'hôpital d'urgences médico-chirurgicales de 8 Mai El-Oued et centre d'analyse pathologique, service l'anapath de l'hôpital **BEN AMOR DJAILANI** El-Oued.*

*Nos respects et reconnaissance sont adressés à **BEN NADJI BELGACEM** technicienne au laboratoire d'Urgence médico-chirurgicales de 8 Mai El-Oued et*

*Dr, **BEL KHIR SAMI***

## Résumé

Le travail que nous avons entrepris a pour objectif principal d'évaluer les propriétés hypoglycémiantes et antioxydantes des extraits aqueux de *Geranium robertianum* L. préparée par deux méthodes macération et décoction.

*In vitro*, l'analyse phytochimique des extraits a révélé la présence des flavonoïdes, des alcaloïdes, des tanins, des saponines et des sucres réducteurs. Le contenu de l'extrait en polyphénols est 86,33 mg EAG/g ES dans l'extrait aqueux de *Geranium robertianum* L. (AqM) et dans l'extrait aqueux de *Geranium robertianum* L. (AqD) est 106,33 mg EAG/g ES, et pour les flavonoïdes 73,867 mg de EQ/ g ES dans l'extrait aqueux de *Geranium robertianum* L. (AqM) et dans l'extrait (AqD) est 43,20 mg de EQ/g ES.

L'évaluation de l'effet antioxydant de ces extraits par le piégeage du radical libre DPPH a donné la valeur d'IC<sub>50</sub> de 0.097 mg/ml pour l'extrait de *Geranium robertianum* L. préparé par macération et 0.079 mg/ml pour l'extrait de *Geranium robertianum* L. préparé par décoction.

*In Vivo*, pour l'étude à court terme, notre expérimentation a été réalisée sur des rattes wistar ; divisé en trois lots ; un lot témoin et un lot traité par l'extrait de *Geranium robertianum* L. Aq M et un lot traité par l'extrait de *Geranium robertianum* L. Aq D pendant 04 heures.

Concernent l'étude à long terme, on a utilisé 20 rattes wistar divisées en 5 lots, un lot témoin et 4 lots sont rendus diabétiques par l'injection d'alloxan a la dose de 150 mg/kg. Le troisième lot est traité par Metformine (250mg/kg ) et le quatrième et cinquième lots sont traité par les extraits aqueux de *Geranium robertianum* L. (Aq M, Aq D) d'une dose 400mg/k. les résultats du traitement par les extraits aqueux de *Geranium robertianum* L. (Aq M, Aq D) (400 mg / kg) et par Metformine (250mg/kg) ont montré une amélioration du taux du glycémie ,du profiles biochimiques et du poids corporel et en diminuant l'état de stress. L'étude histologique a confirmé les résultats biochimiques obtenus.

**Mots clés :** *Geranium robertianum* L., Hypoglycémiantes, Antioxydantes, Alloxan, Metformine, glycémie.

## الملخص

الهدف الرئيسي من العمل الذي قمنا به هو تقييم خصائص نقص السكر في الدم ومضادات الأكسدة للمستخلص المائي من *Geranium robertianum* L. المحضرة بطريقتين النقع والغلي.

في المختبر، كشف التحليل الكيميائي النباتي للمستخلص عن وجود مركبات الفلافونويد والقلويدات والتانينات والصابونين والسكريات المرجعة. التقدير الكمي لعددات الفينول ب 86,33 (ميكرو غرام مكافئ من حمض الغاليك/مغ من المادة الجافة للمستخلص) في المستخلص المحضر بطريقة النقع و 106,33 (ميكرو غرام مكافئ من حمض الغاليك/مغ من المادة الجافة للمستخلص) في المستخلص المحضر بطريقة الغلي ، وبالنسبة للفلافونيدات ب 73,867 (ميكرو غرام مكافئ من حمض الغاليك/مغ من المادة الجافة للمستخلص) في المستخلص المحضر بطريقة النقع و 43,20 (ميكرو غرام مكافئ من حمض الغاليك/مغ من المادة الجافة للمستخلص) في المستخلص المحضر بطريقة الغلي.

أعطى تقييم التأثير المضاد للأكسدة لهذه المستخلصات عن طريق تثبيط الجذور الحرة (DPPH) الجذري قيمة IC<sub>50</sub> تقدر ب 0.097 ملليغرام / مل من المستخلص المائي بالطريقة النقع و 0.079 ملليغرام/مل من المستخلص المائي بطريقة الغلي.

على مستوى الجسم الحي، أجريت تجربتنا على جرذان بيضاء. 6 فئران للدراسة قصيرة الأجل مقسمة إلى ثلاث مجموعات؛ مجموعة شاهدة ومجموعة تم معالجتها بالمستخلص بطريقة النقع ومجموعة مُعالجة بالمستخلص بطريقة الغلي لمدة 06 ساعات، وبالنسبة للدراسة طويلة المدى التي لدينا 20 جرذانًا مقسمة إلى 5 مجموعات، الأولى مجموعة شاهدة و 4 مجموعات تم حقنها ب ألوكسان بجرعة 150 ملليغرام / كغم. الدفعة الثالثة تعالج بالميتفورمين بجرعة 250 ملغ / كغ والرابعة والخامسة تعالج بمستخلص المائي لـ *Geranium robertianum* L. بطريقتي النقع والغلي بجرعة 400 ملغ / ك. أظهرت نتائج العلاج بالمستخلصات المائية من *Geranium robertianum* L. بطريقتي النقع والغلي (400 مجم / كجم) ومع الميتفورمين (250 مجم / كجم) تحسناً في مستويات السكر في الدم والمعايير البيو كيميائية ووزن الجسم وتقليل حالة الإجهاد. وفي الأخير أكدت الدراسة النسيجية النتائج البيو كيميائية التي تم الحصول عليها.

**الكلمات المفتاحية:** العطرشة، نقص سكر الدم، مضادات الأكسدة، ألوكسان، ميتفورمين ، نسبة السكر في الدم .

## Liste d'abréviation

|                                                                          |                                                                          |
|--------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------|
| <b>%</b> : Pourcentage.                                                  | <b>DNID</b> : diabète noninsulinodépendant.                              |
| <b>°C</b> : Celsius.                                                     | <b>DPPH</b> :2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyle.                             |
| <b>4-AAP</b> : 4-aminoantipyrine.                                        | <b>E</b> : Extrait.                                                      |
| <b>4-CP</b> : 4-chlorophénol.                                            | <b>EAG</b> : Equivalent acide gallique.                                  |
| <b>Abs</b> : Absorbances.                                                | <b>EOA</b> : Espèces oxygénées activées.                                 |
| <b>ADA</b> :American Diabètes Association.                               | <b>EQ</b> : Equivalent de quercétine.                                    |
| <b>ADP</b> : l'adénosine diphosphate.                                    | <b>ERA</b> : Espèces réactives d'azote.                                  |
| <b>AH</b> : Acide conjugué.                                              | <b>ERO</b> : Espèces réactives de l'oxygène.                             |
| <b>ALAT</b> : alanine aminotransférase.                                  | <b>FC</b> : FolinCiocalteu.                                              |
| <b>ALAT</b> : l'alanine aminotransférase.                                | <b>Fe<sup>2+</sup></b> : Fer ferreux.                                    |
| <b>AlCl<sub>3</sub></b> : Trichlorure d'aluminium.                       | <b>Fe<sup>3+</sup></b> : Fer ferrique.                                   |
| <b>Aq(D)</b> : Extrait aqueux par décoction.                             | <b>FeCl<sub>3</sub></b> : Chlorure ferrique.                             |
| <b>Aq(M)</b> : Extrait aqueux par macération.                            | <b>FVT</b> : Flavonoïdes totaux.                                         |
| <b>AqD</b> :Extrait aqueux par décoction .                               | <b>g</b> : gramme.                                                       |
| <b>AqM</b> :Extrait aqueux par macération .                              | <b>GAD</b> : glutamate acide décarboxylase.                              |
| <b>ASAT</b> : aspartate aminotransférase.                                | <b>GK</b> : glycérol Kinase.                                             |
| <b>ASAT</b> : l'aspartate aminotransférase.                              | <b>Gly</b> : <b>Glycémie</b> .                                           |
| <b>ATP</b> : Adenosine tri phosphate.                                    | <b>GPO</b> : glycérol phosphate oxydase.                                 |
| <b>C<sub>3</sub>'OH</b> :                                                | <b>Gpx</b> : Glutathion peroxydase.                                      |
| <b>Ca<sup>2+</sup></b> : Cation de calcium.                              | <b>GSH</b> : Glutathion réduit.                                          |
| <b>CAT</b> : Catalase.                                                   | <b>GSSG</b> : Glutathion oxydé.                                          |
| <b>CD4</b> : Cluster de différenciation 4.                               | <b>h</b> : Heure.                                                        |
| <b>CD8</b> : Cluster de différenciation 8.                               | <b>H<sup>+</sup></b> : Cation hydrogène.                                 |
| <b>Chot</b> : Cholestérol.                                               | <b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b> : peroxyde d'hydrogène.                |
| <b>cm</b> : centimètre.                                                  | <b>H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub></b> : Acide sulfurique .                  |
| <b>Da</b> : Dalton.                                                      | <b>HbA1c</b> : Hémoglobine glyquée.                                      |
| <b>DAP</b> : Di hydroxy acétone phosphate.                               | <b>HCl</b> : Acide chlorhydrique.                                        |
| <b>DD</b> : Diabétiques traités par AqD.                                 | <b>HDL</b> : High density lipoprotein.                                   |
| <b>diab</b> : Diabétique.                                                | <b>HLA</b> : Antigènes des leucocytes humains .                          |
| <b>DID</b> : diabète insulinodépendant.                                  | <b>HNF-1<math>\alpha</math></b> : Hepatocyte nuclear factor 1 $\alpha$ . |
| <b>DM</b> : Diabétiques traités par AqM.                                 | <b>DNID</b> : diabète noninsulinodépendant.                              |
| <b>HNF-4<math>\alpha</math></b> : Hepatocyte nuclear factor 4 $\alpha$ . | <b>NH<sub>4</sub>OH</b> : hydroxyde d'ammonium.                          |

---

|                                                                                      |                                                         |
|--------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------|
| <b>I%</b> : Pourcentage d'inhibition .                                               | <b>Nm</b> : Nano mètre.                                 |
| <b>IC50</b> : Concentration inhibitrice 50.                                          | <b>NH</b> : Monohydrure d'azote .                       |
| <b>ICA</b> : islet cell antibody .                                                   | <b>O</b> : oxygène.                                     |
| <b>IFC</b> : International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine. | <b>O<sub>2</sub></b> : dioxygène.                       |
| <b>IPT-1</b> : insulin promoter factor-1 .                                           | <b>O<sub>2</sub>•</b> : Radical super oxyde.            |
| <b>K<sub>3</sub> Fe (CN) <sub>6</sub></b> : Ferricyanure de potassium                | <b>OH</b> : Hydroxyle.                                  |
| <b>kg</b> : kilogramme .                                                             | <b>OMS</b> : Organisation Mondiale de la Santé.         |
| <b>L</b> : litre .                                                                   | <b>P5P</b> : Phosphate de pyridoxal.                    |
| <b>LDL</b> : Low Density Lipoprotein.                                                | <b>Ph</b> : Potentiel hydrogène.                        |
| <b>M</b> : Molarité.                                                                 | <b>PPT</b> : Polyphénols totaux.                        |
| <b>m</b> : mètre .                                                                   | <b>PTA</b> : l'acide phospho tungstique.                |
| <b>MDA</b> : Malondialdéhyde.                                                        | <b>REF 7D74</b> :                                       |
| <b>Metf</b> : Metformine .                                                           | <b>SH</b> : Thiols .                                    |
| <b>Mg</b> : milligramme.                                                             | <b>SOD</b> : Superoxyde dismutase.                      |
| <b>min</b> : Minute.                                                                 | <b>T</b> : Témoins sains.                               |
| <b>ml</b> : millilètre.                                                              | <b>TC</b> : Témoins diabétiques traités par Metformine. |
| <b>mm</b> : millimètre.                                                              | <b>TD</b> : Témoins diabétiques .                       |
| <b>mmol</b> : milli mole.                                                            | <b>TG</b> : Triglycéride.                               |
| <b>Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub></b> : Carbonate de sodium.                           | <b>tr</b> : Tours.                                      |
| <b>NAD<sup>+</sup></b> :Nicotinamide adenine dinucleotide.                           | <b>UV</b> : Ultraviolet.                                |
| <b>NADH</b> : Nicotinamide adenine dinucleotide réducteur .                          | <b>VLDL</b> : Very low density lipoprotein .            |
|                                                                                      | <b>µm</b> : Micromètre.                                 |

## Liste de Figure

|                                                                                                                                                                                            |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figure 01 : répartition mondiale du diabète selon la Fédération Internationale du diabète. ....                                                                                            | 6  |
| Figure 02 : Interactions entre génétique, facteurs environnementaux et système immunitaire<br>lors de destruction auto-immune des cellules $\beta$ . ....                                  | 9  |
| Figure 03 : Mécanismes moléculaires de la résistance à l'insuline. ....                                                                                                                    | 11 |
| Figure 04 : Structure chimique de l'alloxane. ....                                                                                                                                         | 13 |
| Figure 05 : Mécanisme d'action de l'alloxane sur les cellules $\beta$ de Langerhans ....                                                                                                   | 15 |
| Figure 06 : Les systèmes impliqués dans la défense oxydative. ....                                                                                                                         | 18 |
| Figure 07: <i>Geranium robertianum</i> L. ....                                                                                                                                             | 24 |
| Figure 08 : <i>Geranium robertianum</i> L. ....                                                                                                                                            | 28 |
| Figure 09 : Carte d'Algérie représente la Wilaya d'El-Oued. ....                                                                                                                           | 29 |
| Figure 10 : Localisation géographique de la zone d'étude. ....                                                                                                                             | 29 |
| Figure 11 : protocole de préparation de l'extrait aqueux de la plante. ....                                                                                                                | 31 |
| Figure 12 : Mécanisme réactionnel intervenant lors du test DPPH <sup>*</sup> entre l'espèce radicalaire. ....                                                                              | 34 |
| Figure 13 : Schéma récapitulatif du protocole expérimental de l'étude. .... Erreur ! Signet non défini.                                                                                    |    |
| Figure 14 : Valeur IC <sub>50</sub> des extraits (AqM), (AqD) de <i>GERANIUM robertianum</i> L. et<br>composé standard (Acide ascorbique). ....                                            | 46 |
| Figure 15 : Evolution de la glycémie chez les rattes normales soumis au traitement à courte<br>terme par l'extrait aqueux de <i>Geranium robertianum</i> L. durant 4 heures. ....          | 47 |
| Figure 16 : Variations de la glycémie à long terme chez les rattes diabétiques traitées par<br>l'extrait aqueux de <i>Geranium robertianum</i> L. et par metformine pendant 28 jours. .... | 47 |
| Figure 17 : Effet de traitement par les extraits de <i>Geranium robertianum</i> L. et le Metformine<br>sur le poids corporel durant 28 jours. ....                                         | 48 |
| Figure 18 : L'effet de traitement par les extraits aqueux de <i>Geranium robertianum</i> L. (AqD,<br>AqM) sur les Poids relatif des organes (foie et pancréas) ....                        | 49 |
| Figure 19 : L'effet de traitement par les extraits aqueux de <i>Geranium robertianum</i> L. (AqD,<br>AqM) sur la glycémie sérique. ....                                                    | 50 |
| Figure 20 : L'effet de traitement par les extraits aqueux de <i>Geranium robertianum</i> L. (AqD,<br>AqM) sur le cholestérol, TG. ....                                                     | 51 |
| Figure 21: Effet de traitement par les extraits aqueux de <i>Geranium robertianum</i> L. (AqD,<br>AqM) sur le LDL, HDL . ....                                                              | 52 |
| Figure 22 : Effet de traitement par les extraits aqueux de <i>Geranium robertianum</i> L. (AqD,<br>AqM) sur les enzymes hépatique (ASAT, ALAT). ....                                       | 53 |

|                                                                                                                                                                                                |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figure 23 : Effet de traitement par les extraits aqueux de <i>Geranium robertianum</i> L. (AqD, AqM) sur Variation de la peroxydation lipidique et le glutathion réduit au niveau de foie..... | 54 |
| Figure 24 : Pancréas de la ratte témoin sain : couleur HEx40.....                                                                                                                              | 55 |
| Figure 25 : Pancréas du rat diabétique non traité: couleur HEx40.....                                                                                                                          | 55 |
| Figure 26: Pancréas du ratte diabétique traité par les extraits aqueux de <i>Geranium robertianum</i> L. et par le Metformine couleur Hex40.....                                               | 56 |
| Figure 27 : Foie de la ratte témoin sain : couleur HEx40.....                                                                                                                                  | 57 |
| Figure 28 : Foie de la ratte diabétique non traitée : couleur HEx40.....                                                                                                                       | 57 |
| Figure 29 : Foies du ratte diabétique traité par les extraits aqueux de <i>Geranium robertianum</i> L. et par le Metformine couleur Hex40.....                                                 | 28 |

## **Liste de Tableau**

|                                                                                                                                       |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tableau 01 : exemples des quelques plantes antidiabétiques .....                                                                      | 23 |
| Tableau 02 : Rendement de deux extraits aqueux de <i>Geranium robertianum</i> L.....                                                  | 44 |
| Tableau 03: Résultats du criblage phytochimique de l'extrait aqueux par macération décoction<br>de <i>Geranium robertianum</i> L..... | 44 |
| Tableau 04 : Dosage des composés phénoliques dans l'extrait aqueux.....                                                               | 45 |

## Sommaire

|                                                        |           |
|--------------------------------------------------------|-----------|
| <b>DEDICACE.....</b>                                   |           |
| <b>REMERCIEMENTS.....</b>                              |           |
| <b>RESUME .....</b>                                    |           |
| <b>LISTE D'ABREVIATION.....</b>                        |           |
| <b>LISTE DE FIGURE .....</b>                           |           |
| <b>INTRODUCTION GENERALE.....</b>                      |           |
| <b>PREMIÈRE PARTIE: ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE</b>          |           |
| <b>CHAPITRE I :DIABETE SUCRE.....</b>                  | <b>4</b>  |
| <b>1. Définition du diabète sucré .....</b>            | <b>5</b>  |
| <b>2. Prévalence du diabète.....</b>                   | <b>5</b>  |
| 2.1. Prévalence du diabète Dans le monde.....          | 5         |
| 2.2. Prévalence du diabète en Afrique .....            | 6         |
| 2.3. Prévalence du diabète en Algérie.....             | 6         |
| <b>3. Critères diagnostiques de diabète sucré.....</b> | <b>7</b>  |
| <b>4. Classification .....</b>                         | <b>7</b>  |
| 4.1. Diabète de type 1 :.....                          | 7         |
| 4.2. Le diabète de type 2 : .....                      | 7         |
| 4.3. Types spécifiques de diabète.....                 | 7         |
| 4.4. Le diabète gestationnel.....                      | 8         |
| <b>5. Facteurs de risque du diabète .....</b>          | <b>8</b>  |
| 5.1. Facteur de risque de diabète de type 1 .....      | 8         |
| 5.1.1. Facteurs Génétiques.....                        | 8         |
| 5.1.2. Facteurs immunitaires.....                      | 8         |
| 5.1.3. Les facteurs environnementaux .....             | 9         |
| 5.2. Facteur de risque de diabète de type 2 .....      | 10        |
| 5.2.1. Facteur génétique.....                          | 10        |
| 5.2.2. L'obésité .....                                 | 10        |
| 5.2.3. L'âge .....                                     | 10        |
| <b>6. l'insulinorésistance.....</b>                    | <b>10</b> |
| 6.1. Définition .....                                  | 10        |
| 6.2. Mécanisme .....                                   | 11        |

|                                                                            |           |
|----------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>7. Insulinodéficience.....</b>                                          | <b>11</b> |
| <b>8. Complications du diabète.....</b>                                    | <b>11</b> |
| <b>9. Traitement de diabète.....</b>                                       | <b>12</b> |
| 9.1. Mesure hygiéno-diététiques.....                                       | 12        |
| 9.1.1. Régime alimentaire .....                                            | 12        |
| 9.1.2. Activité physique .....                                             | 12        |
| 9.2. Traitements médicamenteux .....                                       | 12        |
| <b>10. Diabète expérimental.....</b>                                       | <b>13</b> |
| 10.1. Diabète induit par l'alloxane .....                                  | 13        |
| <b>CHAPITRE II     STRESS OXYDATIF.....</b>                                | <b>16</b> |
| <b>1. Définition .....</b>                                                 | <b>17</b> |
| <b>2. Radicaux libres.....</b>                                             | <b>17</b> |
| <b>3. Types des radicaux libres.....</b>                                   | <b>17</b> |
| <b>4. Rôle physiologiques des radicaux libres .....</b>                    | <b>17</b> |
| <b>5. Les antioxydants .....</b>                                           | <b>18</b> |
| 5.1. Anti-oxydants enzymatiques.....                                       | 18        |
| 5.2. Anti-oxydants non enzymatique .....                                   | 19        |
| 5.3. Antioxydants d'origine végétale.....                                  | 20        |
| <b>CHAPITRE III LA PHYTOTHERAPIE ET <i>GERANIUM ROBERTIANUM</i> L.....</b> | <b>21</b> |
| <b>1. La Phytothérapie.....</b>                                            | <b>22</b> |
| <b>2. Les plantes médicinales .....</b>                                    | <b>22</b> |
| <b>3. Les plantes antidiabétique.....</b>                                  | <b>22</b> |
| <b>4. <i>Geranium robertianum</i> L. ....</b>                              | <b>23</b> |
| 4.1. Généralités sur la famille de Geraniaceae .....                       | 23        |
| 4.2. <i>Geranium robertianum</i> L. ....                                   | 23        |
| 4.3. Description botanique .....                                           | 24        |
| 4.4. Classification de <i>Geranium robertianum</i> L. ....                 | 25        |
| 4.5. Habitat et culture .....                                              | 25        |
| 4.6. Partie utilisée .....                                                 | 25        |
| 4.7. Utilisations médicinales de <i>Geranium robertianum</i> L.....        | 25        |
| <b>DEUXIEME PARTIE: PARTIE PRATIQUE .....</b>                              | <b>26</b> |
| <b>CHAPITRE I: MATERIEL ET METHODES.....</b>                               | <b>27</b> |
| <b>1. Matériel.....</b>                                                    | <b>28</b> |

|                                                                               |           |
|-------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 1.1. Matériel végétal.....                                                    | 28        |
| 1.1.1. Présentation de la zone d'étude (La wilaya d'EL OUED).....             | 28        |
| 1.1.2. Site de prélèvement.....                                               | 29        |
| 1.2. Matériel animal .....                                                    | 30        |
| 1.3. Appareillages et réactifs utilisées.....                                 | 30        |
| <b>2. Méthodes.....</b>                                                       | <b>30</b> |
| 2.1. Préparation des extraits .....                                           | 30        |
| 2.1.1. Extraction à froid (Macération) .....                                  | 30        |
| 2.1.2. Extraction à chaud (Décoction) .....                                   | 30        |
| 2.2. Calcul des rendements en extrait sec .....                               | 32        |
| 2.3. Etude in vitro.....                                                      | 32        |
| 2.3.1. L'analyse phytochimique .....                                          | 32        |
| 2.3.2. Analyse quantitative .....                                             | 33        |
| 2.3.2.1. Dosage de polyphénols totaux (PPT).....                              | 33        |
| 2.3.2.2. Dosage des flavonoïdes totaux (FVT) .....                            | 33        |
| 2.3.3. Etude de l'activité antioxydant .....                                  | 34        |
| 2.3.3.1. Test du piégeage du radical libre DPPH .....                         | 34        |
| 2.4. Etude in vivo .....                                                      | 35        |
| 2.4.1. L'essai chez les rattes normo-glycémiques (étude à court terme) :..... | 35        |
| 2.4.2. L'essai chez les rattes diabétiques (étude à long terme).....          | 35        |
| 2.4.2.1. Induction du diabète par l'alloxane chez les rattes.....             | 35        |
| 2.4.2.2. Traitement des animaux .....                                         | 35        |
| 2.4.2.3. Evaluation de la glycémie et le poids des rattes.....                | 37        |
| 2.4.2.4. Sacrifice et prélèvement de sang et de foie et pancréas .....        | 37        |
| 2.4.2.5. Dosage des paramètres biochimique du sang .....                      | 37        |
| 2.4.2.6. Dosage des paramètres de stress oxydatif.....                        | 39        |
| 2.4.2.6.1. Préparation de l'homogénats des organes .....                      | 39        |
| 2.4.2.6.2. Dosage des malondialdéhyde (MDA) tissulaires .....                 | 40        |
| 2.4.2.6.3. Dosage des glutathion réduit (GSH) .....                           | 41        |
| 2.4.2.7. Etude histologique.....                                              | 41        |
| 2.5. Etude statistique .....                                                  | 42        |
| <b>CHAPITRE II RESULTATS ET DISCUSSION .....</b>                              | <b>43</b> |
| <b>1. résultats.....</b>                                                      | <b>44</b> |
| 1.1. Rendement d'extraction.....                                              | 44        |

|                                                                                                                                  |           |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 1.2. Etude in vitro.....                                                                                                         | 44        |
| 1.2.1. Screening phytochimique.....                                                                                              | 44        |
| 1.2.2. Analyse quantitative des composés phénoliques.....                                                                        | 45        |
| 1.2.3. Etude de l'activité antioxydant (Test du piégeage du radical libre DPPH).....                                             | 45        |
| 1.3. L'activité anti-hyperglycémiant de l'extrait aqueux <i>Geranium robertianum</i> L.<br>(AqD, AqM) .....                      | 46        |
| 1.3.1. Effet à court terme chez les rattes normo-glycémiques.....                                                                | 46        |
| 1.3.2. Effet à long terme chez les rattes diabétiques.....                                                                       | 47        |
| 1.4. Effet de traitement par les extraits de <i>Geranium robertianum</i> L. et le Metformine<br>chez les rattes diabétiques..... | 48        |
| 1.4.1. Effet sur le poids corporel.....                                                                                          | 48        |
| 1.4.2. Effet sur le poids relatif des organes.....                                                                               | 48        |
| 1.4.3. Effet sur les paramètres biochimiques .....                                                                               | 49        |
| 1.4.4. Effet sur les paramètres de stress oxydant : la peroxydation lipidique (MDA) et<br>le glutathion réduit (GSH) .....       | 53        |
| 1.5. Etude histologique.....                                                                                                     | 54        |
| 1.5.1. Histologie de pancréas :.....                                                                                             | 54        |
| 1.5.2. Histologie de Foies : .....                                                                                               | 56        |
| <b>2. Discussion .....</b>                                                                                                       | <b>59</b> |
| <b>CONCLUSION GENERALE.....</b>                                                                                                  | <b>68</b> |
| <b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE .....</b>                                                                                          | <b>70</b> |
| <b>ANNEXE .....</b>                                                                                                              |           |

# *Introduction générale*

Le diabète est une maladie métabolique caractérisée par un défaut de sécrétion ou de l'action de l'insuline qui altère la régulation de la glycémie. Cette maladie touche davantage les adultes, mais de nos jours de plus en plus de jeunes adolescents en souffrent également. Outre l'exercice physique et un régime alimentaire adéquat qui peuvent réduire et prévenir la prévalence du diabète de type 2 de près de 42% (Pan et *al.* , 1997).

L'hyperglycémie est associée le plus souvent à des symptômes externes plus ou moins évocateurs de la gravité de la maladie. En plus des complications aiguës (hyperglycémie, Acidocétose, syndrome hyperosmolaire), l'hyperglycémie chronique dégénère sur des complications dégénératives plus ou moins graves. (Bouixid .H ., 2012) .

Le stress est caractérisé par un déséquilibre provoqué essentiellement par une production exagérée des espèces réactives à l'oxygène (ERO). Qui sont responsable des altérations biologiques, telles que la peroxydation lipidique et l'oxydation protéique et un déficit des défenses antioxydants (Berger, 2006). l'oxydation des protéines et les altérations de l'AND, provoquant ainsi le développement du cancer, du diabète, des maladies neurodégénératives et des maladies cardio-vasculaires (Wang et *al.*, 2012). De plus, la cardiotoxicité est significativement associée à l'hypertension artérielle l'athérosclérose et l'inflammation ...ect (Donatiello, 2002).

Durant ces deux dernières décennies, la recherche en phytothérapie devient une des plus grandes préoccupations scientifiques (Niyah et *al.*, 2005). Depuis toujours, les plantes médicinales ont été utilisées pour prévenir ou traiter diverses maladies.

La phytothérapie peut être associée à tout traitement antidiabétique, et dans le cas des diabètes gras non insulino-dépendants sa place peut être importante, en complément du régime alimentaire qui a un rôle majeur et des médicaments éventuels. (Jouzier et Berké ., 2012).

Les critères d'une plante agissant sur le diabète sont : action hypoglycémiant chez le sujet sain et les sujets diabétiques, action sur l'hyperglycémie induite sur des modèles expérimentaux ou animaux, action diminuant la résistance au glucose, action sur la résorption (importante ou totale) des sucres au niveau de la muqueuse intestinale, sur l'insulinémie, sur l'insulinosécrétion, sur les adipocytes, les myocytes, les hépatocytes, sur la néoglucogénèse. Les plantes hypoglycémiantes sont souvent des plantes à hétéroglycanes ( Jouzier et Berké ., 2012).

*Geranium robertianum* L. est utilisé depuis longtemps dans la médecine populaire de plusieurs pays dans différentes préparations, à des fins thérapeutiques multiples. Ses propriétés anti-inflammatoires, hémostatiques, antidiabétiques etc (Gruenwald et *al.*, 2000).

À la lumière de ces données, notre objectif pour ce travail est d'évaluer l'effet hypoglycémiant et antioxydant des extraits aqueux de *Geranium robertianum* L. (AqM, AqD) chez des rattes wistar rendu diabétique par alloxan.

Notre travail sera réparti en deux partie ; la première partie est consacré à une synthèse bibliographique, dans laquelle le sujet du diabète sucré est évoqué avec le stress oxydant et leur activité, suivi par la présentation de plante médicinale étudié.

La deuxième partie est expérimentale, subdivisée en deux chapitres : l'un présente les méthodes et les techniques utilisées pour la réalisation de ce travail et l'autre consacré à la présentation et la discussion des résultats obtenus.

# *PREMIÈRE PARTIE*

## *Etude bibliographique*

# *CHAPITRE I*

## *diabète sucré*

## 1. Définition du diabète sucré

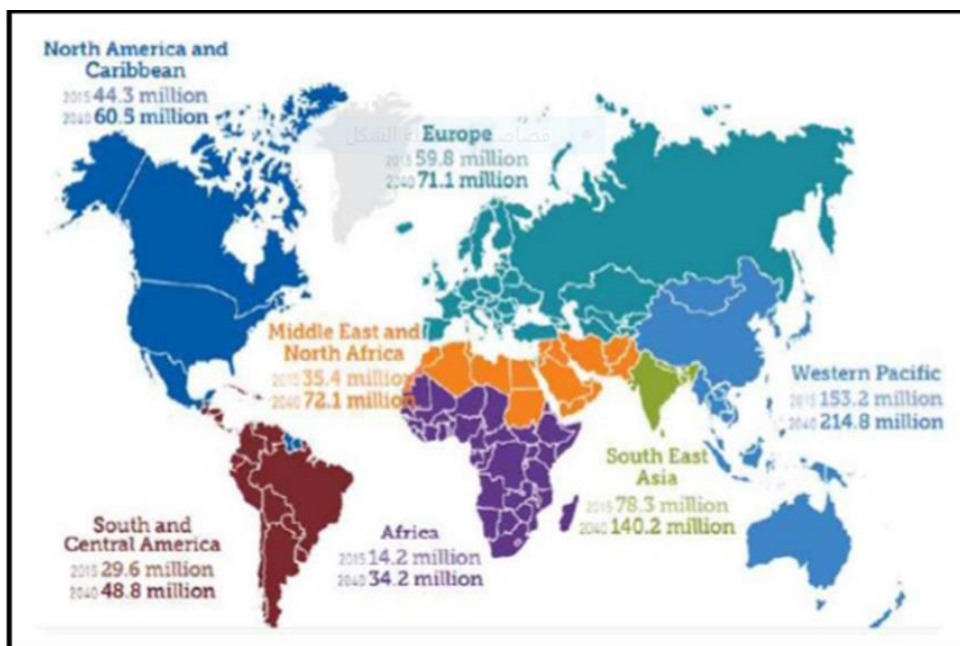
Le diabète est défini comme une affection métabolique, caractérisée par une hyperglycémie (taux de sucre dans le sang trop élevé) liée à une déficience, soit de la sécrétion, soit de l'action de l'insuline, ou des deux. L'insuline est une hormone produite par le pancréas, indispensable à la pénétration du glucose sanguin dans les cellules. Lorsqu'elle fait défaut le taux de sucre augmente dans le sang, l'organisme est très sensible à ces variations, la chronicité de l'hyperglycémie est responsable de complications à long terme touchant de nombreux organes notamment les yeux, les reins, les nerfs, les cœurs et les vaisseaux (Summary, 2012).

## 2. Prévalence du diabète

### 2.1. Prévalence du diabète Dans le monde

A l'échelle mondiale, on estime à 422 millions le nombre des adultes qui vivaient avec le diabète en 2014, contre 108 millions en 1980. La prévalence mondiale du diabète (normalisée selon l'âge) a presque doublé depuis 1980, passant de 4,7 à 8,5 % de la population adulte. Ces chiffres reflètent l'augmentation des facteurs de risque associés comme le surpoids et l'obésité. Cette dernière décennie, la prévalence du diabète a progressé plus rapidement dans les pays à revenu faible ou intermédiaire que dans les pays à revenu élevé. Le diabète a provoqué 1,5 million de morts en 2012. Une glycémie supérieure à la normale, qui accroît le risque de maladies cardiovasculaires et d'autres pathologies, a été cause de 2,2 millions de décès supplémentaires. (OMS, 2016).

43 % de ces 3,7 millions de décès ont touché des personnes de moins de 70 ans. Le pourcentage des décès imputables à hyperglycémie ou au diabète qui surviennent avant l'âge de 70 ans est plus élevé dans les pays à revenu faible ou intermédiaire que dans les pays à revenu élevé. (OMS, 2016).



**Figure 01 :** répartition mondiale du diabète selon la Fédération Internationale du diabète (FID, 2015).

## 2.2. Prévalence du diabète en Afrique

Selon les estimations, 15,5 (9,8-27,8) millions d'adultes âgés de 20-79 ans souffrent de diabète dans la région Afrique, ce qui représente une prévalence régionale de 2,1 (6 %). La prévalence du diabète la plus élevée dans la région Afrique est observée entre 55 et 64 ans. Cette région compte le pourcentage le plus élevé de cas de diabète non diagnostiqués ; plus de deux tiers (69,2%) des personnes atteintes de diabète ignorent leur état. Plus de la moitié (55,3 %) des personnes atteintes de diabète vivent en ville, même si la population de la région est essentiellement (60,3 %) rurale. (FID, 2017).

## 2.3. Prévalence du diabète en Algérie

La prévalence du diabète a considérablement augmenté en Algérie pour passer de 8% en 1998 à 16% en 2013, l'étude nationale des indications multiples menée par le ministère de la sante, de la population et réforme hospitalière en collaboration avec l'office national des statistiques et des représentations des nations unies à Alger, classe quand elle, la pathologie du diabète en 2eme position derrière l'hypertension artérielle selon ces données. (Fehaima, 2017)

Le nombre de personnes atteintes de diabète est en progression elle est passé de 0,3% chez les sujets âgés moins de 35 ans à 41% chez les patients entre 35 et 59 ans et à 12,5% chez les plus de 60 ans. (Fehaima, 2017)

### 3. Critères diagnostiques de diabète sucré

Le diagnostic de diabète peut être établi de trois façons différentes, qui en l'absence d'une hyperglycémie évidente devront être confirmées par une deuxième mesure :

- symptômes de diabète (polyurie, polydipsie, amaigrissement inexpliqué, somnolence voire coma) et glycémie quelle que soit l'heure 2,00 g/L (11,1 mmol/L).
- glycémie à jeun 1,26 g/L (7,00 mmol/L).
- glycémie 2 h après une charge de 75 g de glucose lors d'une hyperglycémie provoquée par voie orale 2,00 g/L (11,1 mmol/L). (Drouin et *al.*, 1999).

### 4. Classification

#### 4.1. Diabète de type 1 :

Autre fois appelé diabète insulino-dépendant (DID), ou diabète juvénile, survenant le plus souvent avant l'âge de 20 ans, représentant 5 à 10% des diabètes. Dans le diabète de type 1, la voie finale commune est la destruction des cellules bêta par auto-immune processus, ce qui conduit à une déficience en insuline. (Grimaldi et *al.*, 2009).

#### 4.2. Le diabète de type 2 :

Autre fois appelé diabète non insulino-dépendant (DNID), apparaît d'une part suite à une résistance à l'insuline des tissus périphériques (insulinorésistance) d'autre part, les cellules sont encore capables de produire de l'insuline mais elles ne parviennent pas à compenser la résistance à l'insuline (Punthakee et *al.*, 2018). Il représente environ 90% à 95% de tous les cas. (Benhadou, 2009).

#### 4.3. Types spécifiques de diabète

Défaut génétique de la fonction des cellules  $\beta$  (Maturity Diabetes of the Young: MODY). Actuellement, cinq défauts différents sont connus dans le diabète de type MODY:

**MODY 1:** défaut de l'Hépatocyte nuclear factor 4 $\alpha$  (HNF-4 $\alpha$ ).

**MODY 2:** défaut de la glucosinase.

**MODY 3:** défaut de l'HNF-1 $\alpha$ .

**MODY 4:** défaut de l'IPT-1 (insulin promoter factor-1).

**MODY 5:** défaut de l'HNF-1 $\alpha$ , diabète mitochondrial, autres .

- ✓ Défaut génétique dans l'action de l'insuline (résistance à l'insuline de type A, le préchaunisme, syndrome de Rabson-Mendenhall: défaut des récepteurs à l'insuline, diabète lipo-atrophique, autres).
- ✓ Maladies du pancréas exocrine (pancréatite, néoplasie, fibrose kystique, hémochromatose, pancréatopathie fibro-calculeuse, autres) .

- ✓ Endocrinopathies (acromégalie, syndrome de Cushing, phéochromocytome, syndrome de Conn, autres).
- ✓ Induit par les médicaments (stéroïdes, pentamidine, acide nicotinique, diazoxide, thiazides, inhibiteurs de la protéase, autres).
- ✓ Infections (rougeole congénitale, oreillons, virus Coxsackie, cytomégalovirus).
- ✓ Formes rares de diabète immunogène (syndrome de Stiff-Man, anticorps antiinsuline-récepteurs, autres).
- ✓ Autres syndromes génétiques associés au diabète (trisomie 21, syndrome de Klinefelter, syndrome de Turner, dystrophie myotonique, autres). (Spinas G.A., Lehmann R, 2001).

#### 4.4. Le diabète gestationnel

Le diabète gestationnel est défini par l'OMS (Organisation Mondiale de la Santé) et l'ADA (American Diabetes Association) comme tout degré d'intolérance glucidique ayant débuté ou ayant été mis en évidence pour la première fois durant la grossesse. (Pirson *et al.*, 2016).

### 5. Facteurs de risque du diabète

#### 5.1. Facteur de risque de diabète de type 1

##### 5.1.1. Facteurs Génétiques

La prédisposition génétique est toujours présente, même si dans 85 % des cas il n'existe pas d'antécédents familiaux de diabète de type 1, la susceptibilité pour la maladie est déterminée par des gènes à l'intérieur du système HLA. Chez l'homme, il s'agit surtout de marqueurs HLA classe II des sous-régions DR et DQ. (Young, 2016).

##### 5.1.2. Facteurs immunitaires

La destruction de la cellule B est essentiellement due à une infiltration des îlots par des lymphocytes T helper CD4 et des lymphocytes T cytotoxiques CD8. Ce processus se déroule à bas bruit pendant plusieurs années. Au cours de cette réaction sont produits des auto-anticorps dirigés contre certains antigènes pancréatiques. Ces auto-anticorps n'ont pas en eux-mêmes de rôle pathogène mais sont des marqueurs fiables du déroulement du processus auto-immun pathologique. Ces anticorps sont essentiellement au nombre de 4 :

- Les anticorps anti-îlots (islet cell antibody : ICA).
- Les anticorps anti-GAD (glutamate acide décarboxylase). Ces anticorps sont dirigés contre une enzyme ubiquitaire mais qui est exprimée au niveau pancréatique. Leur

présence traduit l'existence d'un processus auto-immun dirigé contre les cellules B du pancréas.

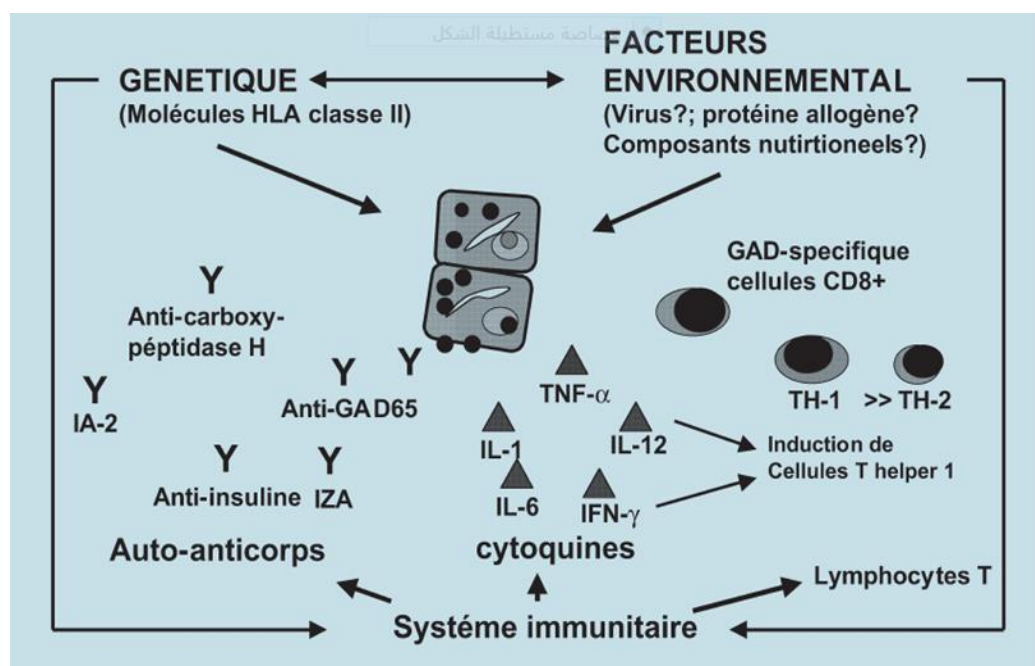
- Les auto-anticorps anti-insuline, retrouvés surtout chez l'enfant.
- L'anticorps anti-IA2 : c'est un anticorps dirigé contre une phosphatase membranaire des cellules B. (Grimaldi, 2000).

### 5.1.3. Les facteurs environnementaux

Les facteurs environnementaux jouent un rôle important dans l'apparition et l'expression clinique de la maladie. Il a été démontré que l'absence d'exposition à des organismes pathogènes au cours de la période d'enfance, limite la maturation du système immunitaire et augmente la susceptibilité à développer une maladie auto-immune. (Kukerja et Maclaren, 2002).

Le rôle des virus dans la pathogénie du diabète de type 1 est suspecté mais non démontré. En faveur de cette hypothèse, la haute prévalence du diabète de type 1 (environ 20 %) en cas de rubéole congénitale ou la présence du virus coxsackie B4 isolé dans le pancréas d'enfant décédé lors d'une acido-cétose inaugurale. Certains virus pourraient présenter un antigène commun avec des protéines de cellule B (virus coxsackie ou cytomégalovirus). (Grimaldi, 2000).

Aussi Les infections virales post-natales pourraient jouer un rôle dans le développement ultérieur d'un diabète. Chez des patients porteurs de diabète de type 1 nouvellement manifesté. (Spinass et al., 2001).



**Figure 02 :** Interactions entre génétique, facteurs environnementaux et système immunitaire lors de destruction auto-immune des cellules  $\beta$ . (Spinass et al., 2001).

## **5.2. Facteur de risque de diabète de type 2**

### **5.2.1. Facteur génétique**

De nombreux arguments suggèrent que des facteurs génétiques jouent un rôle important dans la survenue du DNID. Ils découlent essentiellement des observations cliniques de cas familiaux, et notamment de jumeaux monozygotes. L'observation de jumeaux monozygotes montre que la concordance pour le DNID est très élevée (proche de 100) (Philippe, Pascal et José., 1991).

### **5.2.2. L'obésité**

A côté du terrain génétique, l'obésité, en particulier celle à composante abdominale, est le facteur de risque le plus important pour le développement d'un diabète de type 2 (Rorive et al., 2005).

L'accumulation de graisse dans le territoire abdominal, marquée cliniquement par un tour de taille excessif, qui entraîne une insulino-résistance. Les produits de sécrétion du tissu adipeux en excès sont donc largement étudiés. Même si l'organisme ne peut pas directement générer du glucose à partir des acides gras libres, ceux-ci ont des effets délétères sur la sensibilité à l'insuline, bien établis et détectables en quelques heures chez l'homme (Rigalleau, Lang et Gin., 2007).

### **5.2.3. L'âge**

L'âge s'accompagne physiologiquement d'une réduction progressive de la sécrétion d'insuline, d'une réduction de la masse maigre utilisatrice de glucose (Rigalleau et al., 2003), et peut-être d'une diminution de sa sensibilité à l'insuline qui favorisent toutes l'expression de la maladie (Ferrannini et al., 1996).

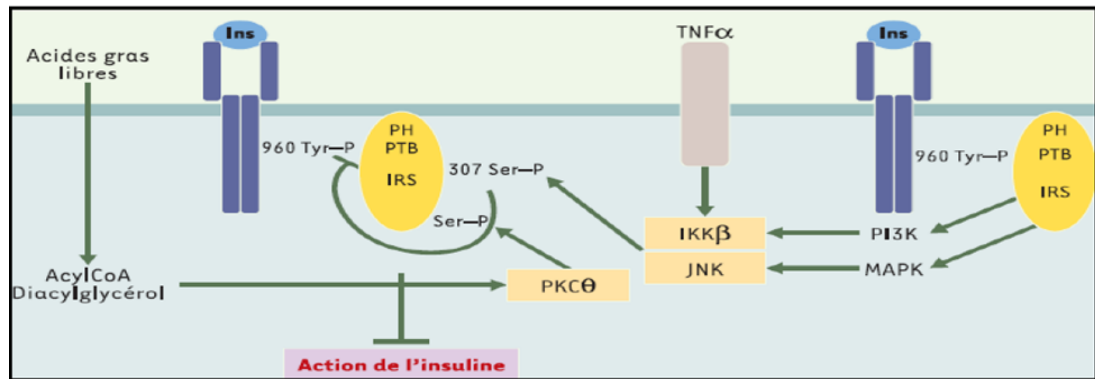
## **6. L'insulino-résistance**

### **6.1. Définition**

La résistance à l'insuline se définit comme la détérioration de la réponse des tissus-cibles de l'insuline à son action (Valentin et Béatrice., 2011), la notion d'insulino-résistance repose essentiellement sur son incapacité à réguler normalement le métabolisme du glucose (Scheen, 2001). Au niveau tissulaire, la perte d'efficacité de l'insuline se traduit notamment par une moindre inhibition de la production hépatique de glucose, par une moindre inhibition de la lipolyse dans le tissu adipeux, et par une diminution de la captation de glucose par le muscle squelettique (Shulman, 2000).

## 6.2. Mécanisme

Les cytokines contribuent à induire une insulino-résistance par un mécanisme complexe mettant en jeu un réseau de phosphatases et de protéines kinases qui agissent de concert pour bloquer la voie de signalisation du récepteur de l'insuline. L'augmentation des acides gras non estérifiés contribue à l'insulino-résistance par compétition de substrat. Il en est de même du stress endoplasmique (Jean, 2013).



**Figure 03 :** Mécanismes moléculaires de la résistance à l'insuline (Capeau, 2003).

## 7. Insulinodéficience

Des anomalies de l'insulinosécrétion sont toujours observées au cours du DNID (Philippe et al, 1991), il y a toujours, dans le diabète de type 2, une carence relative en insuline compte tenu de l'hyperglycémie. En d'autres termes, la concentration d'insuline est plus basse qu'elle ne le serait chez un individu non diabétique dont on aurait artificiellement élevé la glycémie à un niveau comparable.( Féry et Paquot, 2005).

## 8. Complications du diabète

La gravité du diabète provient essentiellement de ses complications à long terme, source d'handicaps pouvant altérer la qualité de vie et générer de lourdes dépenses de santé. Les complications les plus importantes sont :

- ✓ La rétinopathie, une cause importante de cécité et de malvoyance.
- ✓ La néphropathie, anomalie rénale qui apparaît chez tous les diabétiques, peut conduire à l'urémie (insuffisance rénale) et à la mort.
- ✓ La neuropathie diabétique, qui touche le système nerveux périphérique et le système autonome, la plus fréquente et la plus précoce des complications du diabète.
- ✓ Les complications métaboliques qui comprennent l'acidocétose, le coma et l'acidose lactique

- ✓ risque d'infection ainsi que d'anomalies articulaires et dermatologiques (Boubekeur, 2019).

## 9. Traitement de diabète

### 9.1. Mesures hygiéno-diététiques

Les mesures hygiéno-diététiques permettent à la fois d'améliorer les perturbations de l'équilibre glycémique et de prévenir l'apparition des complications micro et macrovasculaire. Elles doivent être simples, réalistes, adaptées à chaque patient en fonction de son âge, son poids et son mode de vie. Pour éviter ou diminuer ces complications, il est nécessaire d'apposer un régime alimentaire équilibré, une perte de poids et des exercices physiques réguliers (Blicklé, 2003 ; Bories, 2012 ; Louiza, 2008 ; Oroudji, 2005).

#### 9.1.1. Régime alimentaire

Le patient doit faire attention aux aliments qui contiennent beaucoup de calories. Il est conseillé de manger des légumes secs, les céréales complets, les fruits ainsi que les produits laitiers, les viandes non grasses et le poisson (Blicklé, 2003 ; Bories, 2012). Les sucres raffinés, les sucreries, les boissons sucrées, et l'excès de féculents sont proscrits. Les graisses animales sont à limiter au minimum de même que les aliments riches en cholestérol (Perlemuter et *al.*, 2000 ; Slama, 2000, 2010).

#### 9.1.2. Activité physique

L'exercice physique est une partie intégrante du contrôle glycémique. Il améliore la glycémie, la résistance à l'insuline, réduit le taux d'HbA1c, corrige les facteurs de risque conventionnel et le rythme cardiovasculaire (Sylvain, 2004).

### 9.2. Traitements médicamenteux

Les recommandations de prise en charge médicamenteuse du diabète restent nécessaires en cas d'échec de mesures cités précédemment. Divers médicaments administrés par voie orale répondant mieux à la physiopathologie sont disponibles pour normaliser le taux de la glycémie et prévenir l'apparition de divers complications qui sont souvent associées (Graillot et *al.*, 2012).

Le traitement pharmacologique actuel de l'hyperglycémie du diabétique de type 2 repose sur :

- une stimulation de la sécrétion d'insuline par des sulfamides hypoglycémiants (sulfonylurées) ou des glinides.
- une diminution de la production hépatique de glucose par les Biguanides (metformine).

une augmentation de l'action de l'insuline (diminution de l'insulinorésistance) par les glitazones (ou thiazolidinediones) ou metformine.

- un ralentissement de l'absorption intestinale de glucides alimentaires par l'acarbose.
- une administration d'insuline (insulinothérapie) en cas d'échec d'antidiabétiques oraux (Henquin, 2005 ; Thissen et Buysschaert, 2005 ; Tielmans et *al.*, 2007).

## 10. Diabète expérimental

L'induction du diabète expérimental chez les animaux par les substances chimiques qui détruisent sélectivement les cellules  $\beta$  pancréatiques est très commode et leur utilisation est simple. Les substances les plus habituelles pour induire le diabète chez le rat sont l'alloxane et le streptozotocine (Derouiche, 2016).

### 10.1. Diabète induit par l'alloxane

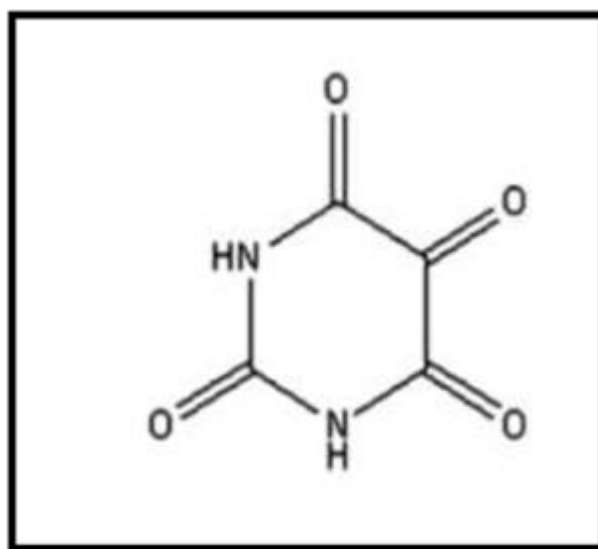
L'Alloxane est un composé organique basé sur un squelette de l'hétérocyclique de la pyrimidine (figure 04). Ce composé a une haute affinité pour l'eau existant sous forme monohydratée. Les données caractérisant l'Alloxane dans les conditions standards sont les suivantes :

**Nom chimique** : 2, 4, 5, 6(1H, 3H)-pyrimidine tétraone monohydrate.

Structure chimique :  $C_4H_2N_2O_4$

Masse moléculaire : 160, 09 g/mol.

**Point fondant** : 253°C.(Kebieche, 2009).



**Figure 04** : Structure chimique de l'alloxane (Lenzen, 2008).

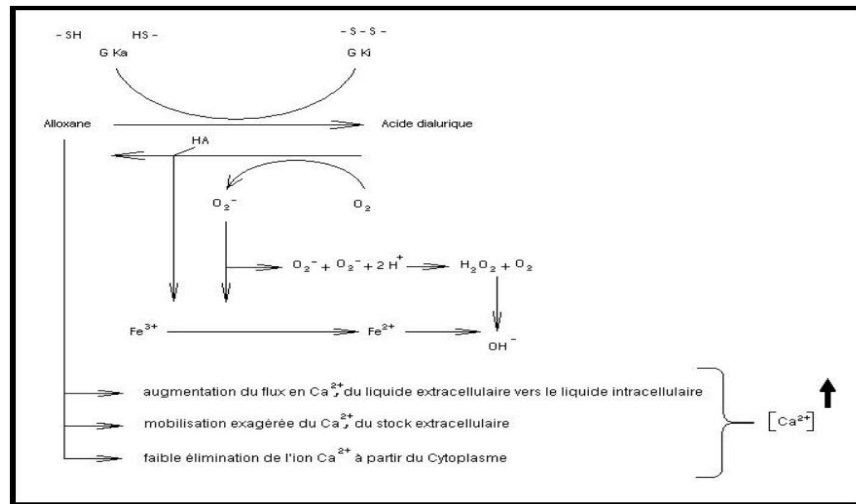
L'alloxane est un agent exerçant une activité cytotoxique sur les cellules  $\beta$  (Lenzen et Panten, 1988). L'alloxane, par une analogie structurale au glucose, pénètre à travers les transporteurs de glucose GLUT2 des cellules  $\beta$  pancréatiques (Lenzen et *al.*, 1988). L'alloxane va d'abord oxyder les groupements SH trouvés au niveau des agents réducteur de la cellule  $\beta$  de Langerhans. Ces agents réducteurs sont le glutathion réduit (GSH), la cystéine, les enzymes sulfhydriles, l'acide ascorbique et surtout la glucokinase (Zidi, 2010).

La glucokinase est une enzyme spécifique au glucose appartenant aux cellules  $\beta$  de Langerhans et au foie. L'enzyme active est nécessaire au bon fonctionnement des cellules de Langerhans et donc à la sécrétion d'insuline. Deux groupements SH du site actif de la glucokinase sont oxydés par l'alloxane formant ainsi une liaison disulfure, rendant cette enzyme inactive. Après cette étape l'alloxane est réduit en acide dialurique capable de se ré-oxyder en alloxane (Zidi, 2010).

L'alloxane et son produit de réduction forment un cycle redox produisant des radicaux intermédiaires d'alloxane (HA) et des ions superoxydes ( $O_2^-$ ). Les radicaux superoxydes formés vont libérer les ions ferriques  $Fe^{3+}$  de la ferritine et les réduire par la suite en ions ferreux  $Fe^{2+}$ . Les ions superoxydes vont subir une dismutation soit spontanée soit par l'enzyme dismutase produisant ainsi du peroxyde d'hydrogène  $H_2O_2$ . Ce dernier va former alors en présence de  $Fe^{2+}$  de l' $OH^-$  (**réaction de Fenton**) :



En outre, la perturbation de l'homéostasie de calcium intracellulaire, également été signalé qui constituer une étape importante dans l'action diabétogène de l'alloxane. L'alloxane cytosolique libre augmente la concentration de calcium dans les cellules  $\beta$  pancréatique. L'afflux de calcium est entraîné la capacité de l'alloxane de dépolariser les cellules  $\beta$  du pancréas, qui s'ouvre en outre les canaux calciques voltage-dépendants et améliore l'entrée du calcium dans des cellules pancréatiques. La concentration accrue d'ion  $Ca^{2+}$  peut causer avec ROS des dommages des cellules  $\beta$  des îlots pancréatiques (Derouiche, 2016).



**Figure 05 :** Mécanisme d'action de l'alloxane sur les cellules  $\beta$  de Langerhans (Szkudelski, 2001).

*CHAPITRE II*

*Stress oxydatif*

## 1. Définition

Le stress oxydant correspond à un déséquilibre entre la génération d'espèces oxygénées activées (EOA) et les défenses antioxydantes de l'organisme (Camille et Mireille, 2011). En faveur des premières. Notre mode de vie (tabagisme, alcoolisme, obésité, exercice physique intense), mais aussi nos mauvaises habitudes alimentaires, augmentent de façon anormale la production des EOA dans notre organisme. A long terme, ceci peut contribuer à l'apparition de diverses pathologies liées au vieillissement comme les cancers ou les maladies cardiovasculaires (Haleng et *al.*, 2007).

## 2. Radicaux libres

Les radicaux libres sont des espèces chimiques (atomes ou molécules) qui possèdent un ou plusieurs électrons célibataires (électron non apparié) sur leur couche externe et capables d'existence indépendante (Halliwell, 1989). Ils peuvent être dérivés de l'oxygène (espèces réactives de l'oxygène ERO) ou d'autres atomes comme l'azote (espèces réactives d'azote ERA). La présence d'un électron célibataire confère aux Radicaux libres une grande réactivité (demi-vie courte) et ils peuvent être aussi bien des espèces oxydantes que réductrices (Delattre et *al.*, 2005). La plupart des radicaux libres sont produits par les mitochondries (Sylvia, 2010).

## 3. Types des radicaux libres

Les formes de l'oxygène provoque le stress oxydant sont : l'oxygène singulier  $O_2$ , le peroxyde  $H_2O_2$ , les peroxyde alkyles  $ROOH$ , le radical super oxyde  $O_2^-$ , les radicaux hydroxyles  $OH$ , peroxyde  $ROO$  et alkyles  $RO$  (Muanda, 2010). Ils peuvent être dérivés de l'oxygène (espèces réactives de l'oxygène ERO) ou d'autres atomes comme l'azote (espèces réactives de l'azote ERA).

## 4. Rôle physiologiques des radicaux libres

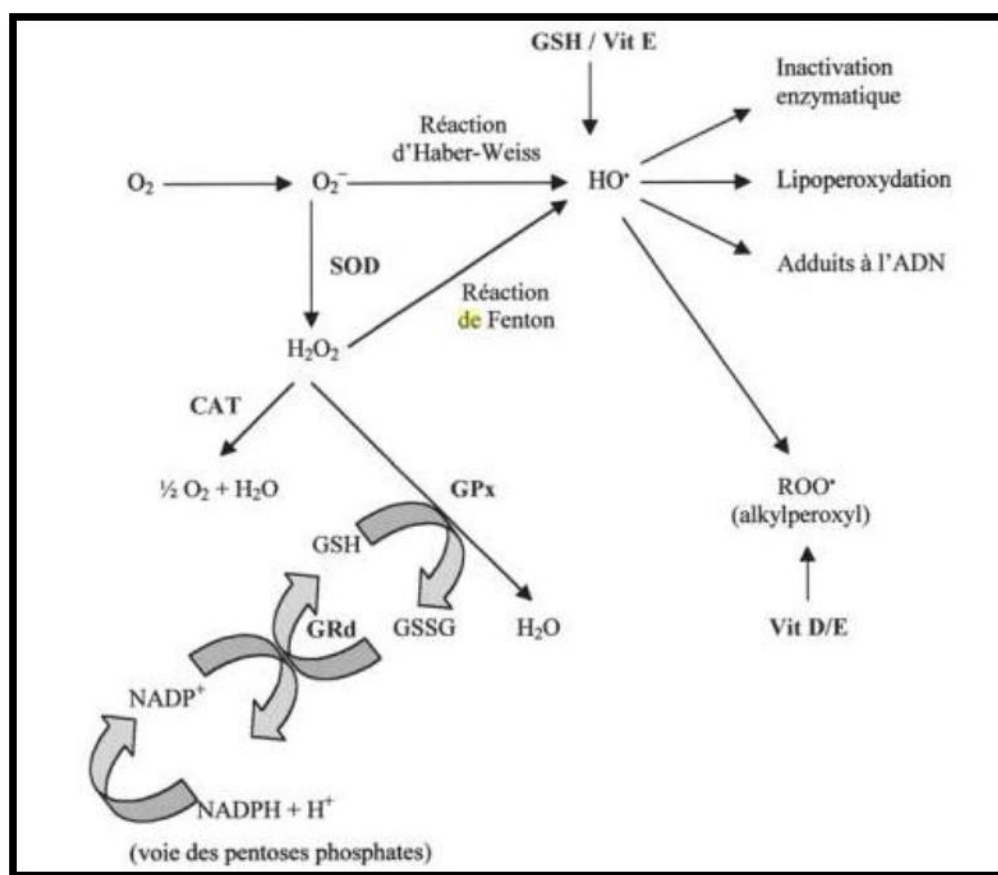
$H_2O_2$  à faible concentration il active la signalisation et pourrait être impliqué dans des réponses physiologiques comme le cycle de Krebs, la croissance, la dépolarisation membranaire, la régulation du calcium (Sayre et *al.*, 2005).

Le rôle des ERO est très complexe car elles peuvent avoir un rôle physiologique ou un effet toxique en fonction de leur concentration. Dans des conditions normales, elles sont générées en faible quantité (Haleng et *al.*, 2007), impliquées dans le maintien de l'homéostasie cellulaire (prolifération cellulaire normale, métabolisme normal, état redox normal pour l'expression de gènes) (Defraigne ; Pincemail, 2007), et jouent un rôle dans la transduction du signal intracellulaire (Serteyn et *al.*, 2002), et de messagers secondaires capables, notamment,

de réguler le phénomène de l'apoptose ou d'activer des facteurs de transcription (Huet ; Duranteau, 2008). Citons aussi le processus de fécondation, au cours duquel les spermatozoïdes sécrètent de grandes quantités d'ERO pour percer la paroi membranaire de l'ovule (Haleng et *al.*, 2007).

## 5. Les antioxydants

Pour échapper aux conséquences du stress oxydatif, il est nécessaire de rétablir l'équilibre oxydant/antioxydant afin de préserver les préfinances physiologiques de l'organisme. Le maintien d'un niveau non cytotoxique des espèces oxygénées réactives est assuré par des systèmes d'anti oxydant (Bouguerne, 2012). Il existe une quantité innombrable d'antioxydants et ceux-ci peuvent être non enzymatiques ou enzymatiques (You et *al.*, 2003).



**Figure 06 :** Les systèmes impliqués dans la défense oxydative (Pelletier et *al.*, 2004).

### 5.1. Anti-oxydants enzymatiques

#### ✓ Superoxyde dismutase (SOD)

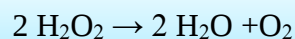
Est la première ligne de défense cellulaire contre le stress oxydatif, transforme l'ion superoxyde en deux produits moins toxiques ; le peroxyde d'hydrogène et l'oxygène moléculaire (Gaté et *al.*, 1999 ; Valko et *al.*, 2007).



Cette métalloprotéine est classée en trois catégories, la SOD cytosolique (Cu- et Zndépendante) la SOD mitochondriale (Mn-dépendante), et la SOD extracellulaire (Salvayre et *al.*, 2003 ; Soullère et *al.*, 2002).

✓ **Catalase (CAT)**

Cette enzyme, localisée dans les peroxysomes, catalyse la dismutation de  $\text{H}_2\text{O}_2$  en eau et en oxygène moléculaire :



La catalase (CAT) est une enzyme héminique, c'est-à-dire qu'elle possède un atome de fer qui participe à la fabrication de l'hème. Sa masse molaire moléculaire est de 220 000 Da. La CAT possède 4 sous unités comprenant chacune un atome de fer sous forme  $\text{Fe}_3^+$ . Elle est majoritairement retrouvée dans les hépatocytes, les érythrocytes et les cellules rénales (Valko et *al.*, 2006).

✓ **Gluthation peroxydase (Gpx)**

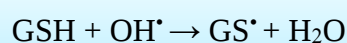
Les enzymes de cette famille sont Sélénium (Se)-dépendante (Bouguerne, 2012). Elle est une sélénoenzyme présente dans le sang, les membranes et le cytosol (Benaraba, 2010) elle joue un rôle majeur dans la régulation de l'état redox physiologique intracellulaire des cellules vasculaires. Elle catalyse la réduction des hydroperoxydes ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), et des peroxydes lipidiques en utilisant le glutathion réduit (GSH) comme donneur d'hydrogène (Bouguerne 2012).



## 5.2. Anti-oxydants non enzymatique

✓ **Glutathion**

Le glutathion réduit (GSH), réduit le peroxyde d'hydrogène et/ou les peroxydes organiques grâce à la réaction catalysée par la glutathion peroxydase (GPx). Le rapport glutathion réduit/glutathion oxydé (GSH/GSSG) est souvent utilisé comme un marqueur du stress oxydant (Defraigne, 2008).



### ✓ Les vitamines C et E

La vitamine C (acide ascorbique) est présente dans la cellule au niveau du cytoplasme et des lysosomes. elle est un excellent piègeur des EOA ( $\text{HO}^\bullet$  ou  $\text{O}_2^{\bullet-}$ ) (Ré et al., 2005). Elle peut aussi réduire le radical  $\alpha$ -tocophérol et ainsi permettre une meilleure efficacité de la vitamine E (Birben et al, 2012). La vitamine E ce terme désigne un ensemble d'isomères, les tocophérols et les tocotriénols il piège les radicaux superoxydes  $\text{O}_2^{\bullet-}$  et hydroxyde  $\text{HO}^\bullet$  et stabilise l'oxygène singlet  $^1\text{O}_2$  (Russo, 1998).

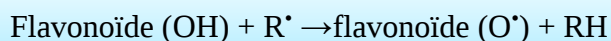
## 5.3. Antioxydants d'origine végétale

### ✓ Polyphénols

Les polyphénols constituent une famille importante d'antioxydants présents dans les végétaux. Ils regroupent une grande variété de composés comprenant entre autres les flavonoïdes, les anthocyanes et les tanins. Ce sont des composés ubiquistes que l'on retrouve dans les plantes (Delattre, 2005). L'activité antioxydante des composés phénoliques est principalement attribuable à leurs propriétés redox, qui leur permettent d'agir comme agents réducteurs, des donneurs d'hydrogène et extincteurs (quenchers) de l'oxygène singlet (Gülçin, 2010). Globalement, ce sont d'excellents piègeurs des EOA et de très bons chélateurs des métaux de transition comme le fer et le cuivre (Haleng, 2007).

### ✓ Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des substances phénoliques formés dans les plantes des acides aminés phénylalanine, tyrosine et malonate. La propriété des flavonoïdes la mieux décrite est leur activité antioxydante et leur capacité à piéger les radicaux libres : radicaux hydroxyles ( $\text{OH}^\bullet$ ), anions superoxydes ( $\text{O}_2^{\bullet-}$ ) et radicaux peroxylipidiques, par la donation directe d'atome d'hydrogène selon la réaction suivante (Finaud, 2006) :



Les flavonoïdes inactivent et stabilisent les radicaux libres grâce à leur groupement hydroxyle ( $\text{C}_3\text{-OH}$ ) fortement réactif. Ils sont également capables de chélater les ions métalliques (largués à partir de leurs protéines de fixation ou de transport) qui peuvent renforcer ces effets délétères par la production des radicaux hydroxyles ( $\text{OH}^\bullet$ ) (Ghedira, 2005).

# *CHAPITRE III*

## *La Phytothérapie et Geranium robertianum L.*

## 1. La Phytothérapie

Le mot "phytothérapie" se compose étymologiquement de deux racines grecques : phyton et thérapie qui signifient respectivement "plante" et "traitement" (Bellamine, 1993). La Phytothérapie avant tout se définit comme étant une discipline allopathique, fondée sur l'utilisation thérapeutique de la plante médicinale, qui est basée sur des connaissances issues de la tradition (Achouri et Cherki, 2018). Elle est destinée à prévenir des maladies par l'usage des plantes (Bellamin, 1993). Le mode de préparation et d'administration sont des facteurs déterminants dans un traitement (Hamza, 2011). La Phytothérapie fait partie des médecines parallèles ou des médecines douces (Zeghad, 2009), consiste à utiliser des plantes comme médicaments pour rétablir et conserver le corps en bon état, dont plus de 80 % de la population mondiale l'utilisent pour les divers problèmes de santé (Farnsworth et Kass, 1986).

## 2. Les plantes médicinales

Dans le code de la santé publique, il n'existe pas de définition légale d'une plante médicinale au sens juridique, mais en France « une plante » est dite médicinale lorsqu'elle est inscrite à la pharmacopée et que son usage est exclusivement médicinal. C'est-à-dire qu'elles sont présentées pour leurs propriétés préventives ou curatives à l'égard des maladies humaines ou animales (Mbojd, 2003). Ce sont des plantes utilisées en médecine traditionnelle dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses. Leur action provient de leurs composés chimiques (métabolites primaires ou secondaires) ou de la synergie entre les différents composés présents (Sanago, 2006).

## 3. Les plantes antidiabétique

Une très grande variété de mécanismes est impliquée dans la baisse du niveau de glucose dans le sang. Ceci est dû à la grande variété de classes chimiques des constituants hypoglycémiants provenant des plantes. Certains de ces composés se révèlent véritablement hypoglycémiants et pourraient avoir un potentiel thérapeutique, alors que d'autres produisent simplement une hypoglycémie comme effet parallèle de leur toxicité, particulièrement hépatique (Jarald et *al.*, 2008).

**Tableau 01** : exemples des quelques plantes antidiabétiques (Boussaïde et Boulaïde et Bouzenir, 2014).

| Famille              | Nom vernaculaire   | Nom scientifique               | Parties Utilisées           | Mode d'utilisation                 |
|----------------------|--------------------|--------------------------------|-----------------------------|------------------------------------|
| <i>Cupressaceae</i>  | Aràar              | <i>Juniperus phoenicea</i> L.  | Aérienne                    | Infusion<br>Décoction<br>compresse |
| <i>Gentianaceae</i>  | Mraret<br>Lahnache | <i>Centaurium erythraea</i>    | Plant entière               | Infusion                           |
| <i>Géraniaceae</i>   | Laatarcha          | <i>Geranium robertianum</i> L. | Feuilles<br>Fleurs          | Infusion                           |
| <i>Globulriaceae</i> | tessleggha         | <i>Globularia alypum</i> L.    | Sommités<br>fleuries        | Infusion<br>décoction              |
| <i>Moraceae</i>      | karmouse           | <i>Ficus carica</i> L.         | Feuilles<br>Fruits          | Décoction<br>Cru                   |
| <i>Pinaceae</i>      | Alk esnoubar       | <i>Pinus halepensis</i> Mill.  | Ecorce                      | Infusion<br>Mastication            |
| <i>Rutaceae</i>      | Elfijel            | <i>Ruta montana</i> L.         | Feuille<br>Plane<br>entière | Infusion                           |
| <i>Salicaceae</i>    | safsaf             | <i>Populus nigra</i> L.        | Graines                     | Cru                                |

#### 4. *Geranium robertianum* L.

##### 4.1. Généralités sur la famille de Geraniaceae

Cette famille regroupe 700 espèces, dont 400 pour le genre Pélargonium (nom de genre du géranium).

On note 2 particularités botaniques dans cette famille :

Le style est souvent accrescent formant une colonne assez haute, il peut même se redévelopper et s'accroître après la fécondation pour avoir un aspect en « bec-de-grue ». La schizocarpie : les cinq fruits indépendants se séparent de la base et se décollent du style commun. Finalement cinq fruits ont suspendus à cinq lamelles d'un style resté ligneux. (Grardel A, 2008).

##### 4.2. *Geranium robertianum* L.

*Geranium robertianum* L. communément appelé Herb Robert ou Red Robin, est une espèce de la famille botanique des Geraniaceae. Cette plante peut être trouvée largement en Europe, à l'exception de l'extrême nord, dans les régions tempérées d'Asie, d'Afrique du Nord, de la région atlantique d'Amérique du Nord et des régions tempérées d'Amérique du Sud (Allen et Hatfield, 2004 ; Gruenwald et al., 2000).

*Geranium robertianum* L. est une plante herbacée annuelle ou bisannuelle, qui pousse spontanément, en particulier dans les endroits frais et humides. On le trouve le plus souvent dans les habitats ombragés ou partiellement ombragés, tels que les bois, les terrains vagues, les

bois ou les vieux murs situés au-dessus de 1500 m jusqu'à 1800 m et peut être récolté entre mai et octobre (Cunha et *al.*, 2012 ; Gruenwald et *al.*, 2000 ; Ribeiro et *al.*, 2000).



**Figure 07:** *Geranium robertianum* L. (Ducerf, 2011).

#### 4.3. Description botanique

*Geranium robertianum* L. est une plante à l'odeur âcre. Sa hauteur peut varier de 10 à 60 cm, son système racinaire fibreux et ses tiges se ramifient généralement dans de nombreuses directions à partir de la base. Il a de longues tiges et pétioles. Ces tiges peuvent présenter une couleur verte mais sont généralement rougeâtres, longues, minces et fragiles. Les feuilles sont vertes et peuvent plus tard acquérir une planche rougeâtre. Il est de forme triangulaire, avec plus de 10 cm de diamètre, et généralement divisé en trois segments profondément pennés. Cette plante porte deux à quatre fleurs ouvertes roses ou violettes à la fois avec une corolle de 13–15 mm composée de cinq pétales arrondis disposés radialement autour de l'ovaire supérieur. Les fleurs contiennent 10 anthères et 10 ovules, et les plantes individuelles produisent généralement moins que les 10 graines complètes. Les fruits ressemblent au bec d'une grue (Frey and Bukoski, 2014 ; Gruenwald et *al.*, 2000 ; Miller, 2004 ; Pedro et *al.*, 1990 ; Tofts, 2004).

#### 4.4. Classification de *Geranium robertianum* L.

##### Classification classique

Reigne : Plantae

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Ordre : Geraniales

Famille : Geraniaceae

Genre : *Geranium*

Espèce : *robertianum* (Grardel A, 2008).

#### 4.5. Habitat et culture

Originnaire d'Europe et d'Asie, cette plante s'est acclimatée à l'Amérique du nord. On la récolte en été (Iserin et *al.*, 2001).

#### 4.6. Partie utilisée

Parties aériennes et racines (Iserin et *al.*, 2001).

#### 4.7. Utilisations médicinales de *Geranium robertianum* L.

*Geranium robertianum* L. est utilisé depuis longtemps dans la médecine populaire de plusieurs pays dans différentes préparations, à des fins thérapeutiques multiples. Ses propriétés anti-inflammatoires, hémostatiques, antidiabétiques, antibactériennes, antidiarrhéiques, antiallergiques, anticancéreuses, antihépatotoxiques, diurétiques et toniques, ainsi que son aptitude au traitement des affections du système digestif ont rendu cette espèce très appréciée en phytothérapie (Ribeiro et *al.*, 2000 ; Bnouham et *al.*, 2002 ; Gruenwald et *al.*, 2000 ; Rigat et *al.*, 2013 ).

*Deuxième partie*

*Partie Pratique*

# *CHAPITRE I*

## *Matériel et Méthodes*

## 1. Matériel

Notre travail a été réalisé au sein du laboratoire pédagogique de la faculté des sciences de la nature et de la vie à l'université Echahid Hamma Lakhdar d'EL-Oued. Les analyses sanguin ont été effectuées au niveau du laboratoire d'analyses médicales l'hôpital d'urgences médico-chirurgicales de 8 Mai El-Oued et dans la fondation générale pour la santé El-Oued MUJAHID TAHER ECHOUCHE et les coupes histologiques ont été réalisées au niveau du centre d'analyse pathologique de l'hôpital BEN AMOR DJAILANI El-Oued.

### 1.1. Matériel végétal

Dans ce travail on utilise les feuilles (partie aérienne) de *Geranium robertianum* L., ont été collectées à son arbre dans la zone de TRIFAQUI (El oued), lavés, séché à l'aide de l'étuve à température 45 C° jusqu'au séchage totale et finement broyée avec un broyeur jusqu' à l'obtention d'une poudre fine. La poudre de *Geranium robertianum* L. est conservée à la température ambiante dans des contenants en plastique vive jusqu'à le début de l'expérimentation.

**A****B**

**Figure 08 :** *Geranium robertianum* L. (photo originale).

A : plante fraîche ; B : feuille.

#### 1.1.1. Présentation de la zone d'étude (La wilaya d'EL OUED)

La wilaya d'El Oued est située au Sud-Est de l'Algérie, elle a une superficie de 44 586.80 Km<sup>2</sup>. La longueur de sa frontalière avec la Tunisie est de 300 Km environ. Elle est couverte par le grand Erg : Oriental sur les 2/3 de son territoire. La wilaya d'El Oued est délimitée :

- Au nord par les wilayas de Tébessa et Khenchela



## 1.2. Matériel animal

Afin d'éviter la variabilité intersexe, nous n'avons utilisées que des rattes femelles de souche Wistar Albinos d'un poids  $180 \pm 50$  g au début d'expérience, fournies par l'institut de pasteur d'Alger (octobre 2019). Les rattes sont divisées en Cinq lots pour l'étude à long terme chez les rates diabétiques ( Quatre rats pour chaque lot:  $n= 4$ ) et trois lots pour l'étude à court terme chez les rattes non diabétiques ( deux rat pour chaque lot :  $n= 2$  ) et munies hébergées au niveau de l'animalerie de la faculté de sciences de la nature et de la vie à l'université Echahid Hama Lakhdar El Oued dans des cages en plastique d'un porte étiquette ou sont mentionnés le nom du lot, le traitement subi. Les rattes sont soumises pendant vingt jours à une période d'adaptation ou elles sont accès libre à l'eau et l'aliment sous les conditions de l'animalerie (température  $22^{\circ}$ , 12 heures d'éclérag et l'humidité  $45^{\circ}$ ).

## 1.3. Appareillages et réactifs utilisés

Les réactifs et les matériels utilisés dans les différents tests et dosages sont présenté dans l'annexe 01.

# 2. Méthodes

## 2.1. Préparation des extraits

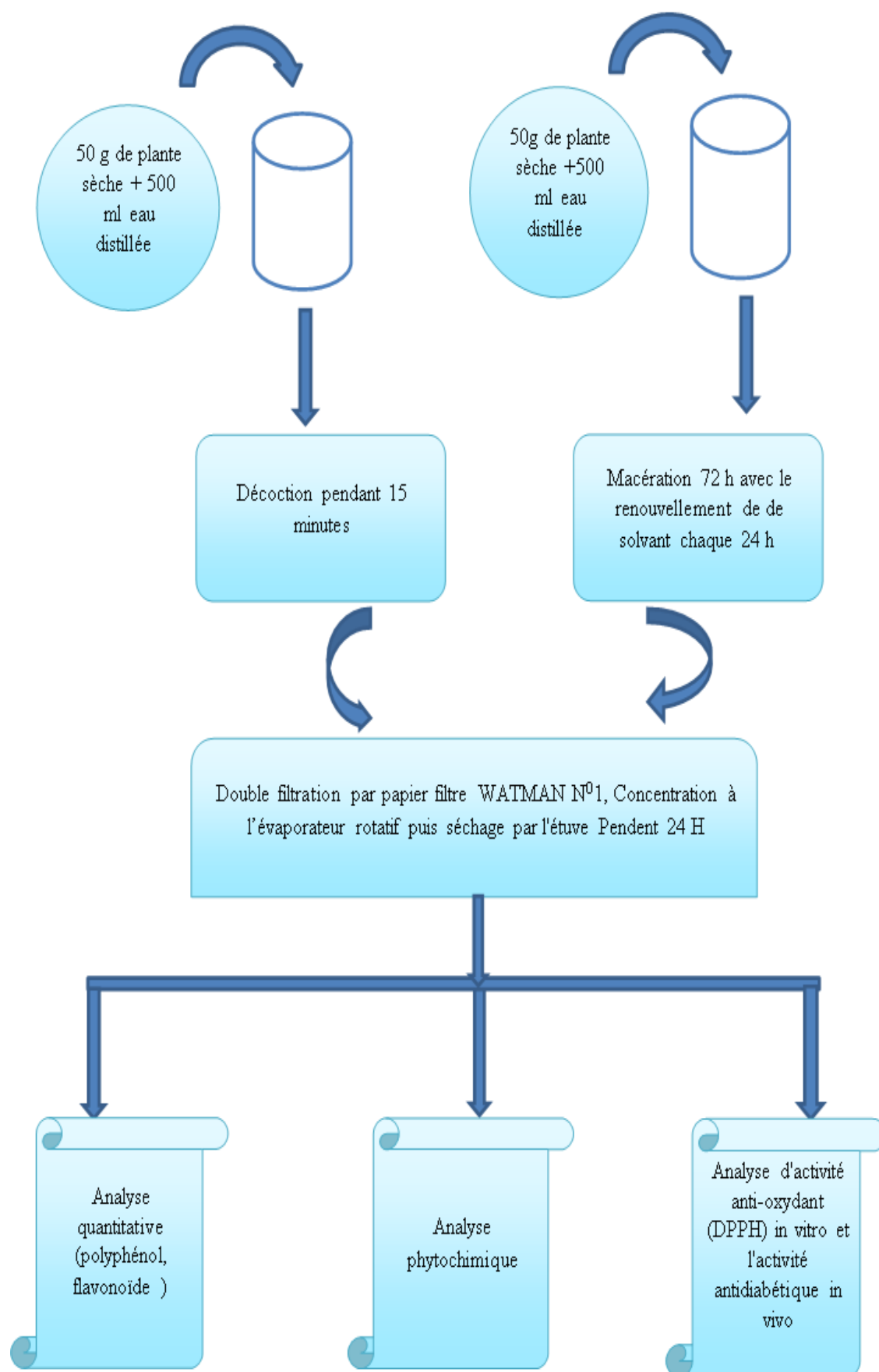
### 2.1.1. Extraction à froid (Macération)

Le extrait aqueux des feuilles de la plante *Geranium robertianum* L. a été préparés selon la méthode décrite par (Coulibaly et *al.*, 2011). 50 g du matériel végétal broyé est mise à macérer dans 500 ml d'eau distillée sous agitation magnétique et à une température ambiante. Cette macération est répétée 3 fois successivement avec renouvellement du solvant chaque 24 heure. Le macérât aqueux obtenu est soumis à la double filtration sur coton hydrophile et sur papier filtre Whatman N°1.

Le filtrat obtenu est concentrée à l'évaporateur rotatif de type (Büchi R 114) à la température de  $45^{\circ}\text{C}$  et  $50^{\circ}\text{C}$  respectivement. Après séchage à l'étuve ( $45^{\circ}\text{C}$ ) pendant 24 h, le extrait obtenu a été nommé Aq(M) et utilisée pour les tests phytochimiques et biologiques.

### 2.1.2. Extraction à chaud (Décoction)

Extraction par décoction a été effectuée sur la plante *Geranium robertianum* L. selon le protocole décrit par Chavan et *al.*, (2001) et Mahmoudi et *al.*, (2013). Une quantité de 50 g du matériel végétal broyé est mise à bouillir pendant 15 minutes dans 500 ml d'eau distillée. Après filtration sur Büchner, le filtrat ont été ensuite concentré et séchée dans l'étuve et nommée Aq(D) puis conservée à  $4^{\circ}\text{C}$  pour des travaux ultérieurs.



**Figure 11 :** protocole de préparation des extraits aqueux de la plante pour l'étude phytochimique et biologique.

## 2.2. Calcul des rendements en extrait sec

Le rendement de la plante en extrait est le rapport entre le poids de l'extrait et le poids de la plante à traiter (Harborne, 1998). Le rendement qui est exprimé en pourcentage a été calculé par la formule suivante :

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

Où

R = Rendement de l'extrait en pourcentage.

PE = Poids de l'extrait en gramme.

PA = Poids de la plante en gramme.

## 2.3. Etude in vitro

### 2.3.1. L'analyse phytochimique

Les tests phytochimiques ont été réalisés sur les extraits préparés de la plante en milieu aqueux par des techniques de caractérisation qualitatives, selon les méthodes de (Evans., 2009; Harborne., 1998 ; Wadood et *al.*, 2013).

#### ❖ Alcaloïdes

Dans deux tubes à essai, introduire 1ml de l'extrait à analyser. Acidifier le milieu par quelques gouttes de HCl et ajouter quelques gouttes de réactif de Mayer dans le premier tube et quelques gouttes de réactif de Wagner dans le second tube. L'apparition d'un précipité blanc ou brun, respectivement révèle la présence d'alcaloïdes.

#### ❖ Les substances polyphénoliques

##### ✓ Tannins

Dans un tube à essai, introduire 5ml d'extrait à analyser et ajouter 1ml d'une solution aqueuse de FeCl<sub>3</sub> à 2%, la présence des tanins est indiqué par une coloration verdâtre ou bleunoirâtre.

##### ✓ Flavonoïdes

Ajouter dans un tube à essai, 5ml d'extrait à tester, 5ml ammoniac dilué et 1ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. L'apparition d'une coloration jaune prouve la présence des flavonoïdes.

##### ✓ Saponines : Test de mousse

Dans un tube à essai, introduire 5ml de l'extrait à analyser, mélangé avec 5 ml d'eau distillée dans un tube à essai et on a agité vigoureusement. La formation d'une mousse de sable a été prise comme une indication de la présence de saponine.

### ❖ Sucres réducteurs

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

### ❖ Terpénoïdes : Test de Slakowski

Dans un tube à essai, ajouter à 5ml d'extrait de plante, 2ml de chloroforme et 3ml d'acide sulfurique concentré. La formation d'un couleur brun rougeâtre indique la présence des terpénoïdes.

## 2.3.2. Analyse quantitative

### 2.3.2.1. Dosage des polyphénols totaux (PPT)

Les polyphénols sont estimés par la méthode de Folin Ciocalteu (Wong et *al.*, 2006). Ce dosage repose sur le réactif de Folin Ciocalteu qui est constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique et d'acide phosphomolybdique. L'oxydation des phénols réduit ce réactif en un mélange d'oxyde bleu de tungstène et de molybdène. L'intensité de la couleur est proportionnelle au taux de composés phénoliques oxydés.

100 µl d'extrait sont mélangés avec 500 µl du réactif FC et 400 µl de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 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 (Perkin Elmer). Les résultats sont exprimés en mg équivalent acide gallique par gramme d'extrait (Mg EAG/g E). On utilise la courbe d'étalonnage de l'acide gallique comme référence.

### 2.3.2.2. Dosage des flavonoïdes totaux (FVT)

Le dosage des flavonoïdes contenus dans les extraits de *Geranium robertianum* L. été effectué par une méthode basée sur la formation de complexe entre les composés phénoliques et le trichlorure d'aluminium AlCl<sub>3</sub> (méthode colorimétrique) (Baharun et *al.*, 1996). Les complexes produits sont de couleur jaune absorbent dans le visible à 430 nm. Le flavonoïde utilisé comme référence dans cette méthode est la quercétine. On met 1 ml d'extrait et on ajoute à 1 ml d'AlCl<sub>3</sub> à 2%; puis le mélange est vigoureusement agité, l'ensemble est incubé à l'ombre à la température ambiante pendant 10 minutes, l'absorbance est lue à 430 nm. La quantification des flavonoïdes se fait en fonction d'une courbe d'étalonnage réalisée par un flavonoïde standard quercétine (0-0,05 mg/ml), et sont exprimées en milligramme d'équivalent de quercétine par gramme d'extrait (Mg EQ/g E).

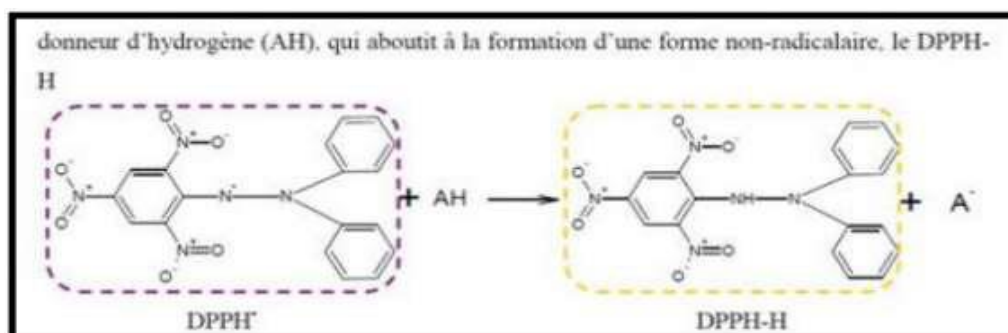
### 2.3.3. Etude de l'activité antioxydant

#### 2.3.3.1. Test du piégeage du radical libre DPPH

##### ❖ Principe du test :

D'un point de vue méthodologique, le test au radical libre DPPH<sup>•</sup> est recommandé pour des composés contenant des groupes SH<sup>-</sup>, NH<sup>-</sup> et OH<sup>-</sup>. Le 2,2-diphényl-1 - picrylhydrazyle possède un électron non apparié sur un atome d'azote. Ce radical ne forme pas des dimères, il reste donc sous sa forme monomère qui est relativement stable (Popovici et *al.*, 2009).

La réduction du DPPH<sup>•</sup> par un agent antioxydant en DPPH-H induit une perte de sa couleur violette foncée qui va se transformer en jaune pâle (Molyneux, 2004) (**figure 12**). Cette réaction qui s'effectue à température ambiante pour éliminer tout risque de dégradation thermique des molécules thermolabiles (Popovici et *al.*, 2009) peut être suivie spectrophotométriquement en mesurant la diminution de son absorbance entre 515-518 nm. (Molyneux, 2004).



**Figure 12 :** Mécanisme réactionnel intervenant lors du test DPPH<sup>•</sup> entre l'espèce radicalaire

DPPH<sup>•</sup> et un antioxydant (AH) (Molyneux, 2004).

Protocole de l'activité anti-radicalaire par le test DPPH (mesuré au spectrophotomètre):

La méthode décrite par Brand-williams (1995) ; différentes concentrations comprises entre 0.02-0.1 mg/ml d'échantillon étudié et de témoin (acide ascorbique avec différentes concentrations entre 0.002-0.01 mg/ml). Une solution de DPPH a été préparée par solubilisation de 2 mg de DPPH dans 50 ml de méthanol. 0.5ml de solution échantillons et témoin sont ajoutées à 1 ml de la solution de DPPH, après incubation de 30 min en obscurité à la température ambiante, les absorbances sont mesurées à 517 nm contre le blanc correspondant.

Les résultats exprimés en IC<sub>50</sub> qui sont calculés à partir des courbes de la variation du pourcentage d'inhibition I% en fonction de la concentration de chaque extrait. Il faut rappeler que plus la valeur de IC<sub>50</sub> est petite, plus l'activité antioxydante des extraits est grande (Popovici et *al.*, 2009).

Le pouvoir d'inhibition est exprimé en % et déterminé en appliquant la formule suivante:

$$I \% = [\text{Abs contrôle} - \text{Abs échantillon} / \text{Abs contrôle}] \times 100.$$

#### 2.4. Etude in vivo

Le principe d'étude in vivo consiste à provoquer chez les rats, un diabète et à évaluer l'effet hypoglycémiant et antidiabétique des extraits bruts aqueux de *Geranium robertianum* L.

##### 2.4.1. L'essai chez les rattes normo-glycémiques (étude à court terme) :

Afin de déterminer l'effet antidiabétique des extraits aqueux décocté et macéré, la glycémie des rattes de différents lots est suivie pendant 4 heures après gavage (Birru et al., 2015).

Lots expérimentaux :

Les rattes sont réparties en trois lots de 2 rattes chacun.

- ✓ Lot 1 : normaux témoins recevant du l'eau physiologique.
- ✓ Lot 2 : normaux traités par 400 mg/kg d'extrait aqueux décocté.
- ✓ Lot 3 : normaux traités par 400 mg/kg d'extrait aqueux macéré.

##### 2.4.2. L'essai chez les rattes diabétiques (étude à long terme)

###### 2.4.2.1. Induction du diabète par l'alloxane chez les rattes

Les animaux ont été pesés et injectés par voie intra péritonéale par une dose de 150mg / kg d'alloxane dissous dans une solution d'eau physiologique. Le diabète sucré a été confirmé après 72 heures d'injection d'alloxane en testant les niveaux de glucose sanguin à jeun en utilisant un glucomètre contrôle plus actif et bandelettes de test de glucose (Akinnuga, 2014). Après l'injection, les rattes avaient libre et accès à la nourriture et de l'eau, également après 6 heures les rattes injectées ont reçu une solution de glucose à 5% pendant la nuit pour éviter un choc hypoglycémique (Ahmad et al., 2016). Les rattes ayant une glycémie indice supérieur à 200 mg/dl ont été retenus pour l'étude expérimentale (Wacim et al., 2013).

La glycémie des rattes a été mesurée par le glucomètre après chaque trois jour de chaque semaine.

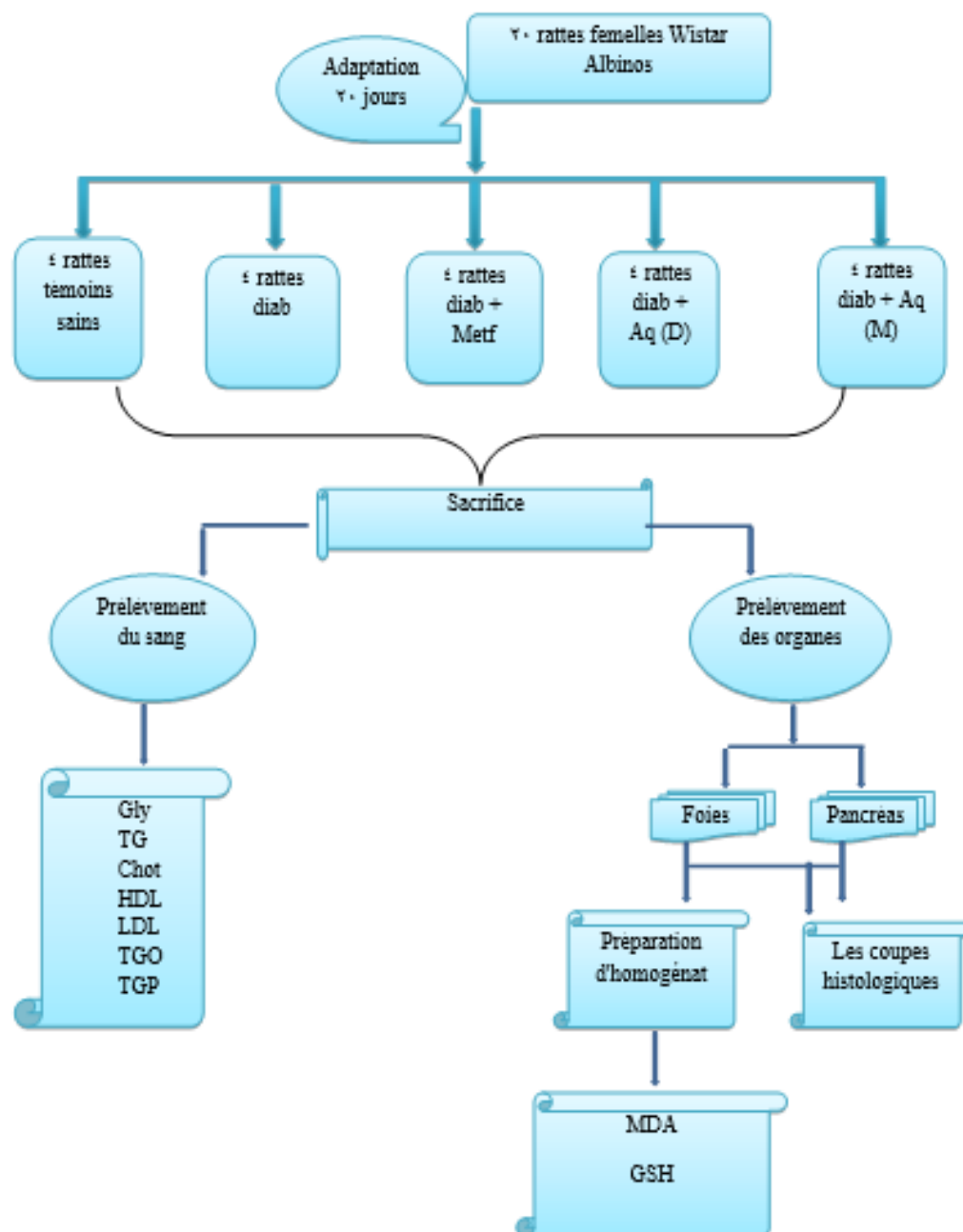
###### 2.4.2.2. Traitement des animaux

Après la période d'adaptation, les rattes ont été répartis au hasard en cinq groupes de quatre rattes, les rattes ont été traités vingt-huit jours comme suit :

- Lot 1** : Lot témoin non diabétique non traité.
- Lot 2** : Lot témoin diabétique non traité.
- Lot 3** : Lot témoin diabétique traité par Metformine (dose 250 mg/kg).

**Lot 4 :** Lot diabétique traité par extrait de plante décocté (dose 400 mg/kg).

**Lot 5 :** Lot diabétique traité par extrait de plante macéré (dose 400 mg/kg).



**Figure 13 :** Schéma récapitulatif du protocole expérimental de l'étude.

### 2.4.2.3. Evaluation de la glycémie et le poids des rattes

Durant la période de traitement (4 semaine), la glycémie a été mesurée à jeun 2 fois par semaine à l'aide d'un appareil glucomètre contrôle plus. En effectuant une petite incision dans la partie finale de la queue après qu'il doit être désinfecté par l'alcool. Dans le dernier jour, la glycémie a été mesurée à jeun par dosage colorimétrique (après sacrifice). Le poids a été mesurée chaque semaine pour préparer le traitement par un dose spécifique.

### 2.4.2.4. Sacrifice et prélèvement de sang et de foie et pancréas

A la fin de chaque type d'expérimentation (24 heures après la dernière administration d'extrait de plante), Après 16 h de jeune et le mesure de poids les rattes sont anesthésiées par le chloroforme (94%) et sacrifiées par décapitation. Le sang est recueilli sur des tubes biochimiques. Ces tubes sont centrifugé à 3000 tr/min pendant 15 min, le sérum est récupéré et conservé à (-20°C) jusqu'au moment des analyses des paramètres biochimiques (TGO, TGP, Glycémie, TG, Cholestérol, LDL et le HDL).

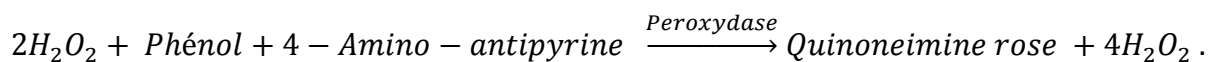
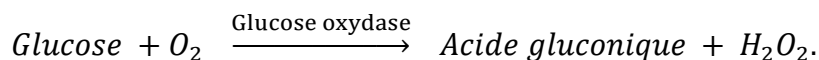
Les foies et les pancréas soigneusement prélevés, rincés avec l'eau physiologique, ensuite pesés. Une partie des foies est fixée dans le formol (10%) avec le pancréas afin de réaliser les coupes histologiques et l'autre est conservée à (-20°C) pour la préparation de l'homogénat pour le dosage des paramètres du stress oxydatif Malondialdéhyde (MDA), super oxyde dismutase (SOD), et glutathion réduit (GSH).et pour le dosage du glycogène hépatique.

### 2.4.2.5. Dosage des paramètres biochimique du sang

- **Dosage de la glycémie**

#### Principe

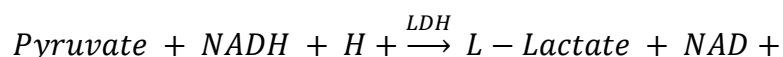
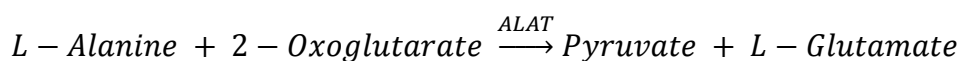
La glycémie est la détermination enzymatique du glucose se fait selon les réactions suivantes (SHEN, 2009) :



- **Méthode de dosage de l'activité de l'alanine aminotransférase (ALAT)**

#### Principe

Le dosage de l'activité de l'alanine aminotransférase (ALAT ou TGP), est selon une méthode développée par Wroblewski et La Due, et optimisée par Henry et Bergmeyer (conforme aux recommandations de l'IFCC). Le schéma réactionnel est le suivant :

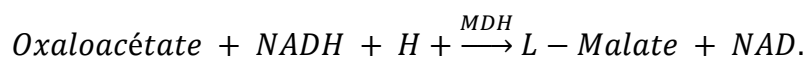
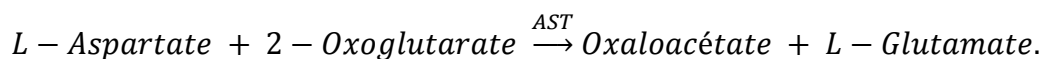


La diminution de l'absorbance due à la conversion du NADH en NAD<sup>+</sup> et proportionnelle à l'activité ALAT dans le spécimen, est mesurée à 340 nm. L'absence de P5P contribue à une forte amélioration de la stabilité du réactif reconstitué (Bergmeyer, 1978).

- **Méthode de dosage de l'activité de l'aspartate aminotransférase (ASAT)**

#### Principe

Le dosage de l'activité de l'Aspartateaminotransférase (ASAT ou TGO) est selon une méthode développée par Karmen et optimisée par Henry (Conforme aux recommandations de l'IFCC). Le schéma réactionnel est le suivant :



La diminution de l'absorbance due à la conversion du NADH en NAD et proportionnelle à l'activité ASAT dans le spécimen, est mesurée à 340 nm. L'absence de P5P contribue à une forte amélioration de la stabilité du réactif reconstitué (Henry, 1960).

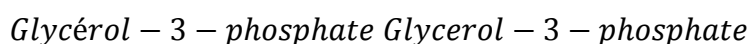
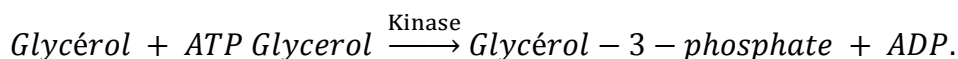
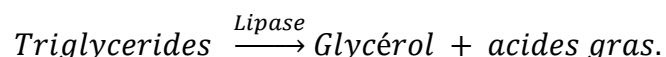
- **Méthode de dosage des paramètres de métabolisme des carbohydrates et lipides**

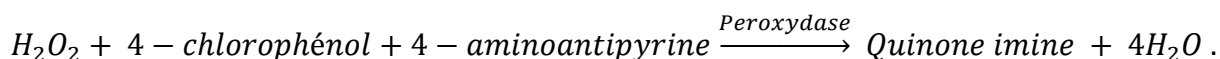
- ✓ **Méthode de dosage des triglycérides**

Le dosage des triglycérides a été effectué par le même autoanalyseur (ARCHITECT c Systems) suivant une méthode colorimétrique enzymatique des triglycérides (Glycérolphosphate oxydase) en utilisant le Kit de réactif des glycérides REF 7D74 (Fossati et Prencipe, 1982).

#### Principe

Repose sur le dosage enzymatique du glycérol libre après action de la lipase. Les triglycérides sont hydrolysés enzymatiquement par la lipase afin de libérer les acides gras et le glycérol. Le glycérol est phosphorylé par l'adénosine triphosphate (ATP) et le glycérol Kinase(GK) pour produire du Glycérol-3-phosphate et de l'adénosine diphosphate (ADP). Le Glycérol-3-phosphate est oxydé en Di hydroxy acétone phosphate (DAP) par le glycérol phosphate oxydase (GPO) en produisant du peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). Lors d'une réaction colorée catalysée par la peroxydase, le H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> réagit avec le 4-aminoantipyrine (4-AAP) et le 4-chlorophénol (4-CP) pour produire un colorant rouge.

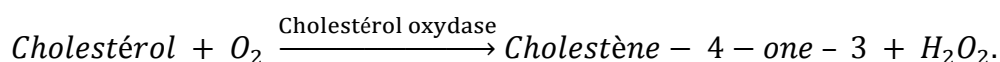
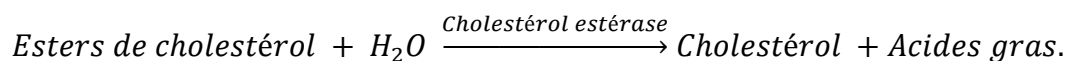




#### ✓ Méthode de dosage de cholestérol total

##### Principe

Le cholestérol est mesuré après hydrolyse enzymatique puis oxydation. L'indicateur quinoneimine est formé à partir du peroxyde d'hydrogène et du amino 4 antipyrine en présence de phenol et de peroxydase. Détermination enzymatique selon les réactions suivantes :



La quantité de quinoneimine formée est proportionnelle à la concentration de cholestérol (Allain C. C. et al., 1974).

#### ✓ Méthode de dosage du cholestérol-HDL

Dans notre étude, cholestérol-HDL ont été déterminés suivant une méthode colorimétrique par un autoanalyseur de type (BIOLIS24j) en utilisant le Kit de réactif de cholestérol-HDL (Naito, 1984). Les lipoprotéines de faible densité (LDL), les lipoprotéines de très faible densité (VLDL) et chylomicrons du spécimen sont Précipités par l'acide phosphotungstique (PTA) et le chlorure de magnésium.

#### ✓ Méthode de calcul de la concentration du cholestérol LDL

Le dosage se fait selon une méthode de calcul directe par la formule de Friedwald et al., (1972).

$$\text{LDL-C (mg/dl)} = \text{Cholesterol total (mg/dl)} - [\text{HDL-C (mg/dl)} + \text{TG}/5] \text{ (mg/dl)}.$$

### 2.4.2.6. Dosage des paramètres de stress oxydatif

#### 2.4.2.6.1. Préparation de l'homogénats des organes

Un gramme de tissu (foie) 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 (homogénat) obtenu est conservés à -20°C en attendant d'effectuer le dosage de glycogène et des paramètres du stress oxydatif.

**2.4.2.6.2. Dosage des malondialdéhyde (MDA) tissulaires****a. Principe**

Le principe de ce dosage est basé sur la condensation de MDA en milieu acide et à chaud avec l'acide thiobarbiturique. La réaction entraîne la formation d'un complexe de couleur rose entre deux molécules d'acide thiobarbiturique qui peut être donc mesuré par spectrophotométrie d'absorption à 532nm (Yagi., 1976).

**b. Réactif**

20g de l'acide trichloroacétique (TCA) ; 375 mg de acide thiobarbiturique (TBA); 0,01g de Butyl hydroxy toluène (BHT); 25 ml de Chlorure d'hydrogène (HCl) 1N 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 100 ml et complété le volume par l'eau distillée jusqu'au trait de jauge.

**c. Mode opératoire**

Prélever 100ul d'échantillon (homogénat) et 400ul de réactif TBA dans les tubes à essai en verre et à vis, 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. Après centrifuger à 3000 tours/minutes pendant 5 minutes et lire l'absorbance du surnageant à 532 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

**d. Expression des résultats**

La concentration de TBARS a été déterminée en utilisant le coefficient d'extinction moléculaire du MDA ( $\epsilon = 1,53 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ). Les résultats ont été exprimés en  $\mu\text{mol/l}$ .

$$\text{MDA } (\mu\text{mol/mg de prot}) = (\text{Do échantillon} / 1,53 \times 10^5) / \text{mg de prot}$$

#### 2.4.2.6.3. Dosage des glutathion réduit (GSH)

##### a. Principe

Le complexe formé entre le GSH et l'acide 5,5'dithiodis-2-nitrobenzoïque (DTNB), ce qui libère l'acide thionitrobenzoïque (TNB) lequel présente une absorbance à 412nm (Weckbercker et Cory., 1988).

##### b. Mode opératoire

Mélanger avec l'agitateur 0.8 ml de solution homogène et 0.2ml de l'acide salicylique (0.25%) et laisser 15 minutes dans le réfrigérateur puis centrifuger à 1000 t/min pendant 5 minutes. Puis, prélever 0.5ml de surnagent, ajouter le 1ml de solution tampon tris avec NaCl solution 1 avec 0.025ml de DTNB (0.01mol) méthanol solution 3. Laisser le mélange 5min de température de chambre puis lire l'absorbance avec spectrophotomètre d'absorption moléculaire à 412 nm contre le blanc (eau distillé).

##### c. Expression des résultats

On calcule la concentration du GSH exprimée en nanomoles par milligramme De protéines (nmol/mg prot) selon la formule suivante :

$$\text{GSH (nM/Mg de prot)} = \frac{\text{Do} \times 1 \times 1.525}{13133 \times 0.8 \times 0.5 \times \text{mg de prot}} \times d$$

**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 surnagent.

**1** : volume de mélange de protéine.

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

**(GSH)** : concentration de glutathion.

**d** : facteur de dilution.

#### 2.4.2.7. Etude histologique

Les coupes histologiques du foie et du pancréas ont été réalisées au niveau du laboratoire de l'hôpital de : BEN AMOR DJILANI" à EL-OUED. La technique est celle décrite par HOULOT, (1984).

##### ✓ Préparation des blocs

Les fragments des foies et des pancréas préalablement fixes dans le formol à 10 % sont disposés dans cassettes qui sont ensuite placées dans un automate (Leica TP1020). Les fragments d'organes sont d'abord déshydratés par submersion dans des bains d'éthanol à des

concentrations croissantes (60 %, 70% et 100%). Les échantillons subissent deux bains de xylène et deux autres de paraffine fondue. Le xylène occupe la place de l'eau et par conséquent facilite la pénétration de la paraffine puisque cette dernière est hydrophobe. La durée des bains est de 24 heures. A l'aide d'un appareil d'inclusion, les échantillons du foie sont placés dans des moules métalliques et recouverts de paraffine fondue. Après refroidissement, les blocs sont prêts à la coupe.

#### ✓ Réalisation des coupes et coloration

Les blocs sont placés dans le microtome afin de réaliser des coupes de 3µm d'épaisseur. A l'aide d'une pince très fine, les coupes sont placées sur des lames qui sont ensuite déparaffinées par chauffage à l'étuve pendant une heure. Pour mettre en évidence les hépatocytes et les cellules de pancréas, les coupes sont d'abord réhydratées par submersion successive dans les bains suivants : bain de xylène (5 min). Après rinçage dans de l'eau distillée (5 min), les coupes réhydratées sont placées dans un bain d'hématoxyline (5 à 6 min) pour colorer les noyaux. L'excès de colorant est enlevé par un bain d'eau additionné de quelques gouttes d'hydroxyde d'ammonium (NH<sub>4</sub>OH), ensuite elles sont mises dans un bain d'éosine (5 min) pour colorer le cytoplasme et l'excès de colorant est enlevé par l'éthanol. Les lames ainsi colorées sont couvertes de lamelles et prêtent à l'observation microscopique.

### 2.5. Etude statistique

Les résultats des tests sont exprimés en moyenne  $\pm$  écart type. L'évaluation statistique des résultats des différents paramètres est effectuée par le test de student ; qui est basé sur la comparaison entre deux moyennes. Tous les calculs sont réalisés par l'EXEL (2010) et MINI TAB (version 18).

La signification est déterminée par la valeur  $\alpha=0.05$  ; Si :

$P < 0.05$  : Différence significative.

$P < 0.01$  : Différence hautement significative.

$P < 0.001$  : Différence très hautement significative.

$P > 0.05$  : Différence non significative.

# *CHAPITRE II*

## *Résultats et discussion*

## 1. résultats

### 1.1. Rendement d'extraction

Les deux extraits obtenus après macération et décoction dans l'eau distillée d'aspect liquide, de couleur marron foncé. Les deux extraits ont été pesés pour déterminer son rendement. Le rendement est calculé par rapport au poids de la matière sèche de plante étudiée par macération et par décoction est représenté dans le tableau 02.

**Tableau 02** : Rendement de deux extraits aqueux de *Geranium robertianum* L. :

|                     | Poids de plante (g) | Poids de l'extrait (g) | Pourcentage d'extrait (%) |
|---------------------|---------------------|------------------------|---------------------------|
| Rendement de Aq (D) | 50 g                | 4,626                  | 9,25 %                    |
| Rendement de Aq (M) | 50 g                | 6,688                  | 13,37 %                   |

### 1.2. Etude in vitro

#### 1.2.1. Screening phytochimique

Ce teste consiste à détecter les différents composés chimiques existants dans les feuilles de *Geranium robertianum* L. par des réactions qualitatives de caractérisation. Ces réactions sont basées sur des phénomènes de précipitation ou de coloration par des réactifs spécifiques. Ces dernières permettent de définir la présence ou non de quelques métabolites secondaires. Les résultats des tests de criblage phytochimique préliminaires sont présentés dans le tableau ci-dessous.

**Tableau 03** : Résultats du criblage phytochimique de l'extrait aqueux par macération décoction de *Geranium robertianum* L.

| Extrait    | Métabolites |         |             |           |                   |             |
|------------|-------------|---------|-------------|-----------|-------------------|-------------|
|            | Alcaloïdes  | Tannins | Flavonoïdes | Saponines | Sucres réducteurs | Terpenoides |
| Décoction  | +++         | +++     | ++          | ++        | ++                | —           |
| Macération | ++          | +++     | +++         | +++       | +++               | —           |

(+) : Test faiblement positif, (-) : Test négatif, (++) : Test positif, (+++) : Test fortement positif.

Ce tableau montre que les feuilles de *Geranium robertianum* L. renferment des flavonoïdes, des alcaloïdes, des tanins, des saponines et des sucres réducteurs. Cette plante est toutefois dépourvue de terpénoïdes.

### 1.2.2. Analyse quantitative des composés phénoliques

#### A. Teneur en polyphénols totaux(PPT)

La teneur en polyphénols totaux des différents extraits a été effectuée selon la méthode utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu. La courbe montre une linéarité de l'absorbance en fonction des concentrations. Les quantités des polyphénols correspondantes d'extrait ont été rapportées en  $\mu\text{g}$  équivalent acide gallique par gramme de matière sèche ( $\mu\text{g}$  EAG/ g MS). Sont déterminées par l'équation de type suivante :

$$y = 0.2176x + 0.084 \text{ avec } R^2 = 0,9954.$$

#### B. Teneur en flavonoïdes totaux (FVT)

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode au trichlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ) et l'étalon est la quercétine. La teneur en flavonoïdes est exprimée en microgramme d'équivalent de quercétine par milligramme de matière végétale sèche ( $\mu\text{g}$  EQ/mg de ES). Le taux des flavonoïdes d'extraits a été obtenu à partir de la courbe d'étalonnage qui suit une équation de type :

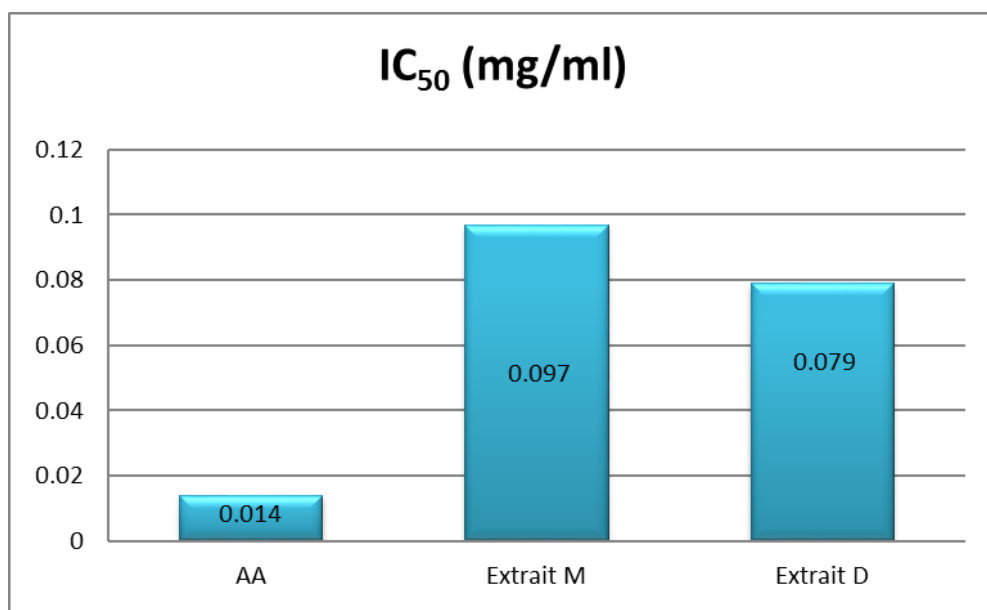
$$Y = 3588x - 3.075 \text{ avec } R^2 = 0.982$$

**Tableau 04 :** Dosage des composés phénoliques dans l'extrait aqueux.

| Paramètre   | Etalon sélectionné | Taux ( $\mu\text{g}$ eq /mg Es) |
|-------------|--------------------|---------------------------------|
| Polyphénols | Acide gallique     | Décoction 106,33 $\pm$ 0,351    |
|             |                    | Macération 86,33 $\pm$ 0.153    |
| Flavonoïdes | Quercétine         | Décoction 43,20 $\pm$ 0,200     |
|             |                    | Macération 73,867 $\pm$ 0,321   |

### 1.2.3. Etude de l'activité antioxydant (Test du piégeage du radical libre DPPH)

L'activité antioxydant de nos extraits a été évaluée par test DPPH ; dans ce test on utilise l'acide ascorbique comme standard. Les résultats obtenus (pourcentage d'inhibitions I%) sont représentés dans les courbes d'étalonnage (Annexes 04).



**Figure 14 :** Valeur IC<sub>50</sub> des extraits (AqM), (AqD) de *Geranium robertianum* L. et composé standard (Acide ascorbique).

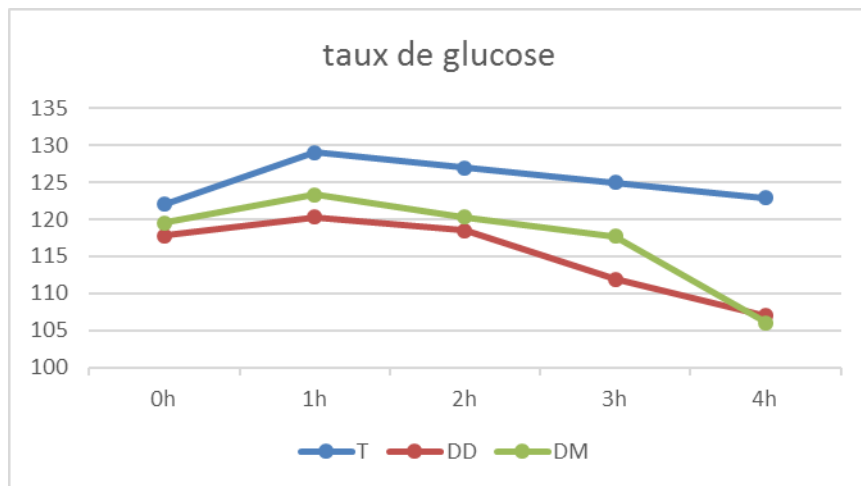
L'activité antioxydante de nos extraits est exprimée en IC<sub>50</sub>, ce paramètre a été employé par plusieurs groupes de chercheurs pour présenter leurs résultats, il définit la concentration efficace du substrat qui cause la perte de 50% de l'activité de DPPH (couleur). La valeur de chaque IC<sub>50</sub> exprime la concentration de l'extrait exigée pour réduire 50% de DPPH en solution.

Les résultats montrent que le extrait aqueux de *Geranium robertianum* L. AqD a un pouvoir antioxydant très important (IC<sub>50</sub>= 0.079mg/ml) par rapport au l'extrait aqueux de *Geranium robertianum* L. AqM (IC<sub>50</sub>= 0.097mg/ml) en comparant avec le pouvoir antioxydant d'acide ascorbique (IC<sub>50</sub>= 0.014 mg/ml).

### 1.3. L'activité anti-hyperglycémiant de l'extrait aqueux *Geranium robertianum* L. (AqD, AqM)

#### 1.3.1. Effet à court terme chez les rattes normo-glycémiques

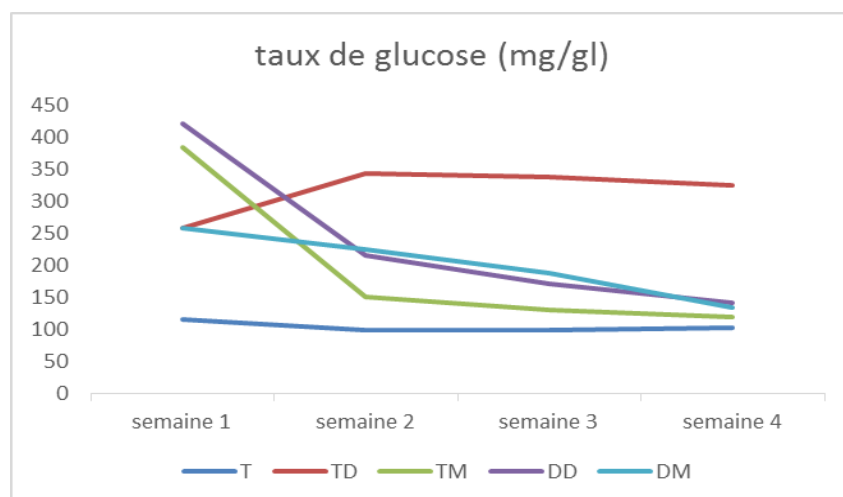
Les résultats de la figure 15 montre qu'il y'a une augmentation dans le taux du glucose sanguin chez les rattes témoins et les rattes traitées par les extraits durant la première heure, Après la première heure il y'a une diminution dans le taux du glucose chez les rattes traitées par les extraits aqueux de *Geranium robertianum* L. AqD (DD), AqM (DM) (- 9.16%, - 11,29%) respectivement en comparaison avec le valeur de 0h. Les résultats montrent aussi L'administration de l'eau physiologique augment le taux du glucose au court de la première heure. Après le premier heur le taux de glucose est diminué mais ne dépasse pas la glycémie basale des rattes au bout de quatre heures d'observation (+0.73) en comparaison avec la valeur de 0h.



**Figure15 :** Evolution de la glycémie chez les rattes normales soumises au traitement à courte terme par les extraits aqueux de *Geranium robertianum* L. durant 4 heures.

### 1.3.2. Effet à long terme chez les rattes diabétiques

Les résultats de la figure 16 montrent que le groupe diabétique non traité a une augmentation dans le taux du glucose sanguin depuis le 1<sup>er</sup> jour jusqu'au 28<sup>eme</sup> jour (+25.29%) en comparaison avec le groupe témoin non traité, par contre une baisse au niveau de la glycémie a été observé à partir du 7<sup>ème</sup> jour. Après le traitement des rattes diabétiques par les extraits aqueux de *Geranium robertianum* L. de dose 400mg/kg et par metformine, Le groupe TM diminue par (- 69.01%), le groupe DD diminue par (- 66.70%), et le groupe DM diminue par (- 48.25%).

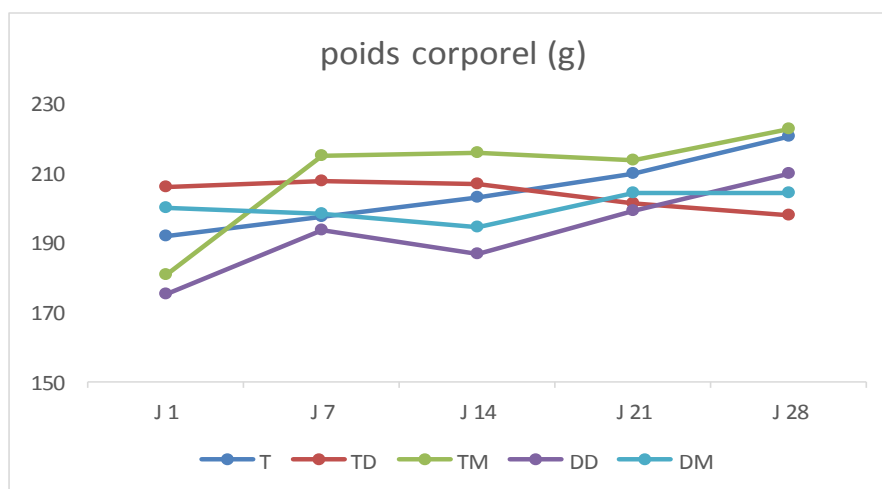


**Figure16 :** Variations de la glycémie à long terme chez les rattes diabétiques traitées par l'extrait aqueux de *Geranium robertianum* L. et par metformine pendant 28 jours.

## 1.4. Effet de traitement par les extraits de *Geranium robertianum* L. et le Metformine chez les rattes diabétiques

### 1.4.1. Effet sur le poids corporel

Les résultats de la figure 17 montrent que après le 7<sup>ème</sup> jour de traitement il y'a un gain de poids corporel a été légèrement observé dans le groupe T (+14.99%). Cependant, une perte de poids corporel a été observée chez le groupe TD (-4.00%), par contre les groupes diabétiques traités par les extraits Aq DD et Aq DM et par metformine TM ont montré un signe de rétablissement du poids corporel ; DD (+19.42), DM (+1.82), TC (+23.73).



**Figure17 :** Effet de traitement par les extraits de *Geranium robertianum* L. et le Metformine sur le poids corporel durant 28 jours.

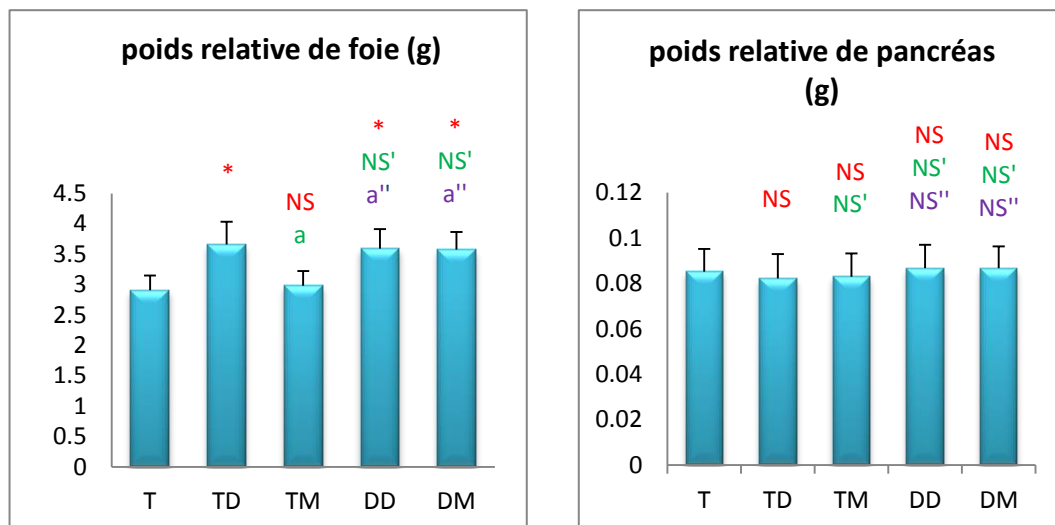
### 1.4.2. Effet sur le poids relatif des organes

Les foies et les pancréas sont attentivement prélevés, les poids relatif de ces organes sont calculés comme suit :

$$\text{Le poids relatif} = (\text{poids de l'organe} / \text{poids de l'animal}) \times 100$$

Les résultats présentés dans la figure 18 montrent une augmentation significative ( $p < 0,05$ ) concernant le poids relatif des foies de groupe témoin diabétique (TD) par rapport aux rattes témoins sains (T). Et une diminution non significative ( $p > 0,05$ ) et augmentation significative ( $p < 0,05$ ) du poids relative des foies des groupes traitée par Metformine (TM) et de groupes traitées par les extraits aqueux de *Geranium robertianum* L. AqD (DD), AqM (DM) respectivement par rapport au (TD). Et une augmentation non significative ( $p > 0,05$ ), augmentation significative ( $p < 0,05$ ) de poids relative du foie des groupes des rattes traités par AqD (DD), AqM (DM) respectivement par rapport aux rattes traitées par Metformine (TM).

Montrent aussi une augmentation non significative ( $p > 0,05$ ) du poids relative des pancréas des groupes témoin diabétiques (TD) par rapport aux rattes témoins sains (T), on montrent aussi augmentation non significative ( $p > 0,05$ ) du poids relative des pancréas des groupes de rattes traitées par les extraits aqueux de *Geranium robertianum* L. AqD(DD), AqM DM), et une diminution non significative ( $p > 0,05$ ) du poids relative des pancréas des groupes traitée par Metformine (TM) par rapport au groupe témoin diabétique (TD). Et une augmentation non significative ( $p > 0,05$ ) du poids relative des pancréas des groupes des rattes traitées par AqD (DD), (AqM DM) par rapport aux (TM).



**Figure 18 :** L'effet de traitement par les extraits aqueux de *Geranium robertianum* L. (AqD, AqM) sur les Poids relatif des organes (foie et pancréas).

\* $p < 0.05$  ; \*\* $p < 0.01$  ; \*\*\* $p < 0.001$  ; NS  $P > 0.05$  comparaison avec le lot témoin.

a  $p < 0.05$ ; b  $p < 0.01$ ; c  $p < 0.001$  ; NS'  $P > 0.05$  comparaison avec le lot témoin diabétique .

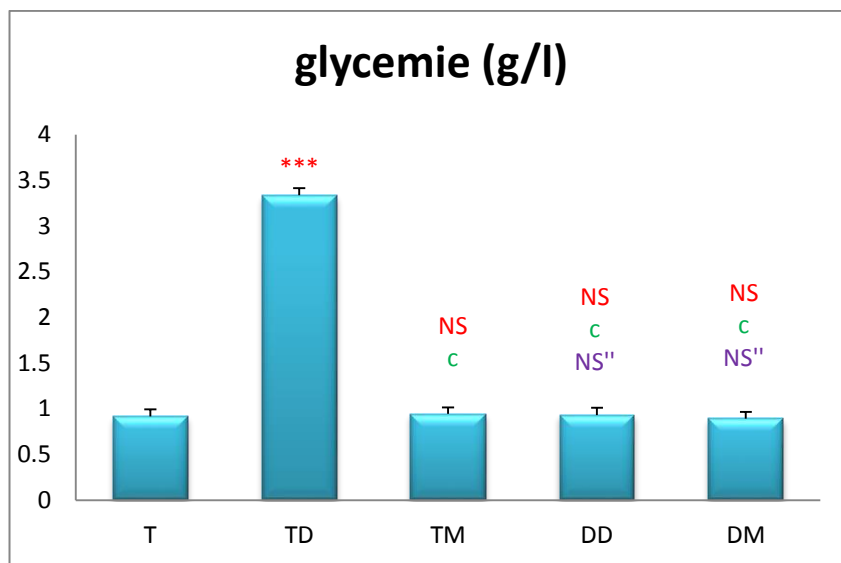
a''  $p < 0.05$ ; b''  $p < 0.01$ ; c''  $p < 0.001$  ; NS''  $P > 0.05$  comparaison avec le lot témoin diabétique traitée par Metformine TM.

T : témoin sain ; TD : témoin diabétique ; TM : diabétique +Metformine ; DD : diabétique + extrait Aq D ; DM : diabétique + extrait Aq M.

#### 1.4.3. Effet sur les paramètres biochimiques

Les résultats (fig 19) montrent que le diabète provoque une augmentation très hautement significative ( $p < 0.001$ ) de taux de la glycémie chez les rattes de groupe témoins diabétiques (TD) par rapport aux rattes témoins sains (T). En revanche, le traitement des rattes par les extraits (AqD et AqM) (DD, DM) de *Geranium robertianum* L. de dose 400 mg/ kg et par Metformine (TM) de dose 250 mg/ kg provoque une diminution très hautement significative ( $p < 0.001$ ) de taux du glycémie par rapport aux rattes témoins diabétiques (TD), Les résultats montrent aussi l'absence de différence significative de la valeur du glycémie chez les groups

des rattes traitées par les extraits (AqD, AqM) ( DD, DM )de *Geranium robertianum* L. de dose 400 mg/kg et le groupe traité par Metformine (TM) de dose 250 mg/ kg.



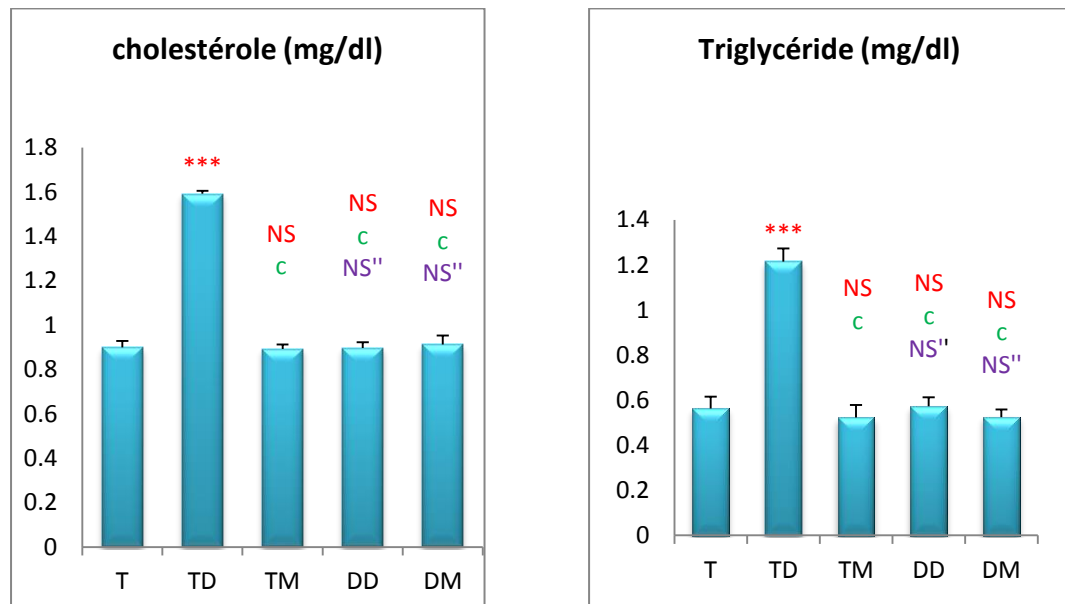
**Figure 19 :** L'effet de traitement par les extraits aqueux de *Geranium robertianum* L. (AqD, AqM) sur la glycémie sérique.

\*p < 0.05; \*\*p < 0.01; \*\*\*p < 0.001 ; NS P > 0.05 comparaison avec le lot témoin T.

a p < 0.05; b p < 0.01; c p < 0.001 ; NS' P > 0.05 comparaison avec le lot témoin diabétique TD

a'' p < 0.05 ; b'' p < 0.01; c'' p < 0.001 ; NS'' P > 0.05 comparaison avec le lot témoin diabétique traitée par Metformine TM .

Les résultats obtenus (fig 20) montrent que le diabète provoque une augmentation très hautement significative de valeur de Cholestérol et TG ( $p < 0.001$ ) chez le groupe de rattes témoins diabétique (TD) par rapport aux rattes témoins sains(T). Ainsi le traitement des rattes par les extraits aqueux de *Geranium robertianum*. L. (AqD, AqM) (DD, DM) et par le Metformine (TM) provoque une diminution très hautement significative ( $p < 0.001$ ) de taux du Cholestérol et TG par rapport aux rates témoins diabétiques (TD). Les résultats montrent aussi l'absence de différence significative ( $P > 0.05$ ) de taux du cholestérol et TG entre les rattes traitées par les extraits de *Geranium robertianum* L. (AqD, AqM) (DD, DM) par rapport aux rattes diabétiques traitées par Metformine (TM).



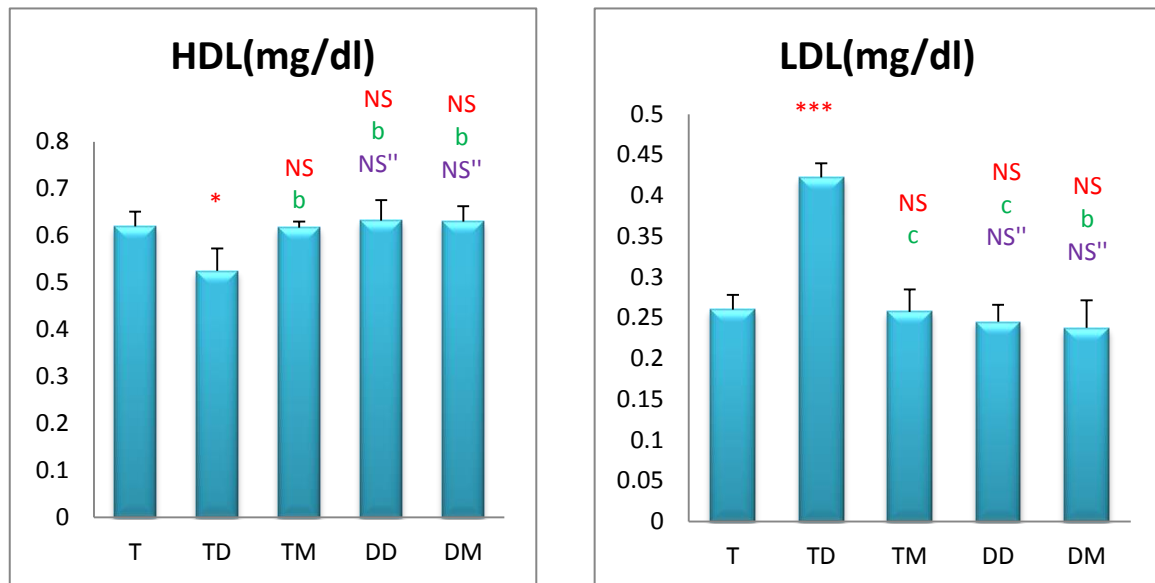
**Figure 20 :** L'effet de traitement par les extraits aqueux de *Geranium robertianum* L. (AqD, AqM) sur le cholestérol, TG.

\* $p < 0.05$ ; \*\* $p < 0.01$ ; \*\*\* $p < 0.001$  ; NS  $P > 0.05$  comparaison avec le lot témoin.

a  $p < 0.05$ ; b  $p < 0.01$ ; c  $p < 0.001$  ; NS'  $P > 0.05$  comparaison avec le lot témoin diabétique traitées par Metformine TC .

a''  $p < 0.05$ ; b''  $p < 0.01$ ; c''  $p < 0.001$  ; NS''  $P > 0.05$  comparaison avec le lot témoin diabétique.

Les résultats obtenus (fig 21) montrent que le diabète provoque une diminution significative ( $p < 0.05$ ) de taux de HDL et une augmentation non significative ( $P > 0.05$ ) de taux de LDL chez les ratte témoins diabétiques (TD) par rapport aux ratte témoins sains(T) . Ainsi le traitement des ratte par les extraits aqueux de *Geranium robertianum* L. (AqD, AqM) (DD, DM) et par le Metformine (TM) provoque une augmentation hautement significative ( $p < 0.01$ ) de taux de HDL par rapport aux témoins diabétiques (TD). Et le traitement des ratte par les extraits aqueux de *Geranium robertianum* L. (AqM) (DM) (AqD) (DD) et par le Metformine (TM) provoque une diminution significative ( $p < 0.05$ ) de taux de LDL, par rapport aux témoins diabétiques (TD). Aussi on observant une diminution non significative ( $P > 0.05$ ) de taux de LDL, et une augmentation non significative ( $P > 0.05$ ) de taux de HDL des ratte traitées par AqD (DD), AqM (DM) de *Geranium robertianum* L. par rapport aux ratte (TM) .



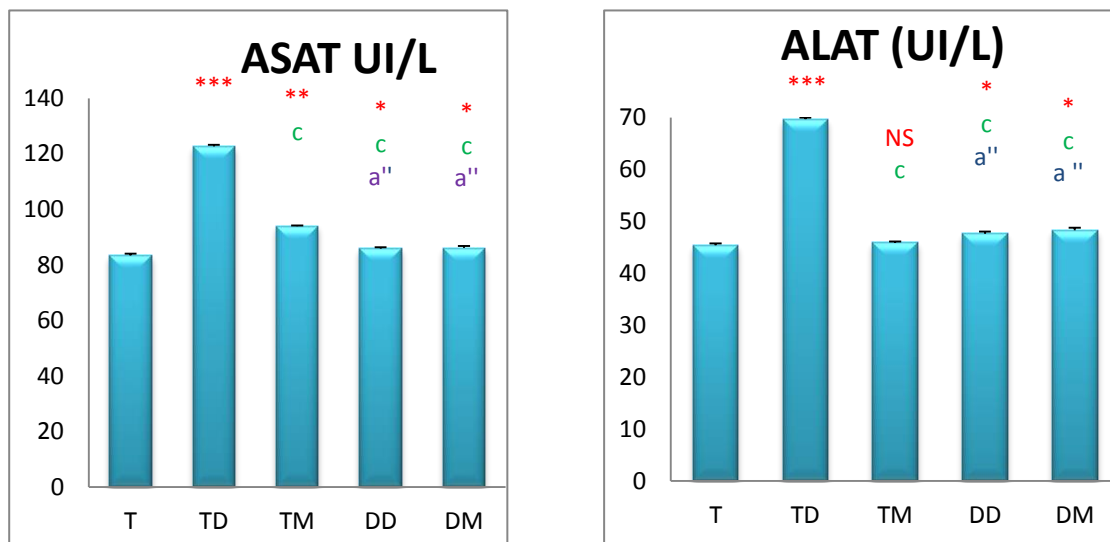
**Figure 21 :** Effet de traitement par les extraits aqueux de *Geranium robertianum* L. (AqD, AqM) sur le LDL, HDL.

\* $p < 0.05$ ; \*\* $p < 0.01$ ; \*\*\* $p < 0.001$  ; NS  $P > 0.05$  comparaison avec le lot témoin.

a  $p < 0.05$ ; b  $p < 0.01$ ; c  $p < 0.001$  ; NS'  $P > 0.05$  comparaison avec le lot témoin diabétique .

a''  $p < 0.05$ ; b''  $p < 0.01$ ; c''  $p < 0.001$  ; NS''  $P > 0.05$  comparaison avec le lot témoin diabétique traitée par Metformine TM .

Les résultats obtenus (fig 22) montrent que le diabète provoque une augmentation très hautement significative ( $p < 0.001$ ) de taux du ASAT, ALAT chez les rattes témoins diabétiques (TD) par rapport aux rattes sains témoins (T). En revanche, le traitement des rattes par l'extrait aqueux de *Geranium robertianum* L. AqD (DD), AqM (DM) et par le Metformine (TM) provoque une diminution très hautement significative de ( $p < 0.001$ ) de taux du ASAT, ALAT en comparaison avec les rattes témoins diabétiques (TD). Montrent aussi une augmentation non significative ( $P > 0.05$ ) de taux d'ASAT chez les rattes traitées par le Metformine en comparaison avec les rattes témoins sains. Aussi le traitement par l'extrait aqueux de *Geranium robertianum* L. AqD (DD), AqM (DM) provoque une diminution significative ( $P < 0.05$ ) de taux du ALAT, ASAT par rapport aux rattes traitées par le Metformine (TM).



**Figure 22 :** Effet de traitement par les extraits aqueux de *Geranium robertianum* L. (AqD, AqM) sur les enzymes hépatique (ASAT, ALAT).

\* $p < 0.05$  ; \*\* $p < 0.01$  ; \*\*\* $p < 0.001$  ; NS  $P > 0.05$  comparaison avec le lot témoin.

a  $p < 0.05$  ; b  $p < 0.01$  ; c  $p < 0.001$  ; NS'  $> 0.05$  comparaison avec le lot témoin diabétique.

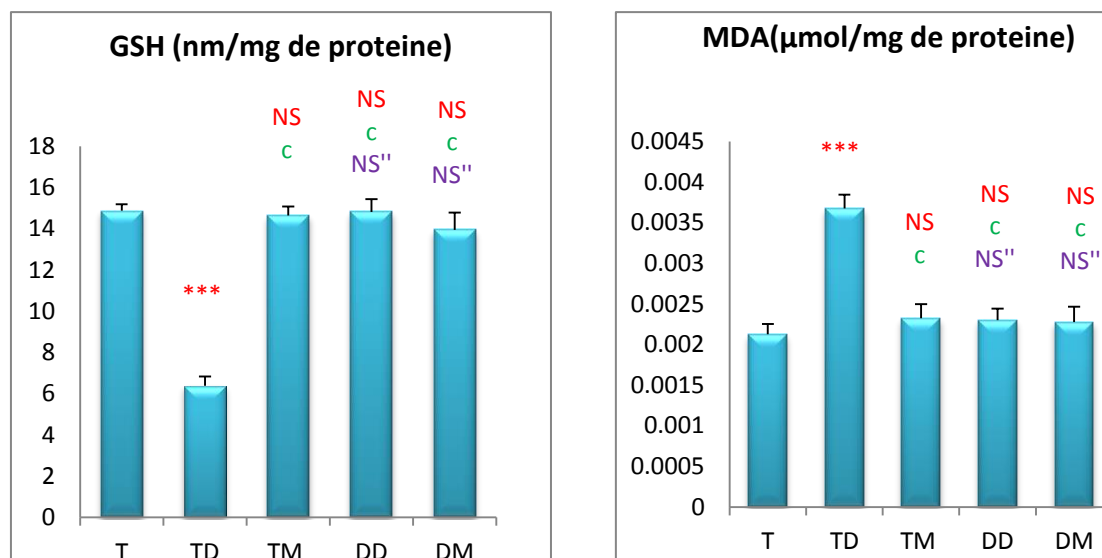
a''  $p < 0.05$  ; b''  $p < 0.01$  ; c''  $p < 0.001$  ; NS''  $P > 0.05$  comparaison avec le lot témoin diabétique traitée par Metformine TM.

#### 1.4.4. Effet sur les paramètres de stress oxydant : la peroxydation lipidique (MDA) et le glutathion réduit (GSH)

Les résultats obtenus (fig 23) montrent que le diabète provoque une augmentation très hautement significative ( $p < 0.001$ ) de concentration de MDA dans le foie chez les ratte témoins diabétiques (TD) par rapport au groupe témoin sains (T). Les résultats montrent aussi que le traitement par les extraits aqueux de *Geranium robertianum* L. AqD (DD), AqM (DM) et par Metformine (TM) provoque une diminution très hautement significative ( $p < 0.001$ ) de concentrations MDA dans le foie par rapport au groupe des ratte diabétiques (TD). Aussi les résultats montrent que le traitement par l'extrait aqueux de *Geranium robertianum* L. AqD (DD), AqM (DM) provoque une diminution non significative ( $P > 0.05$ ) de concentration de MDA dans le foie par rapport aux ratte (TM).

Concernant les concentrations du GSH les résultats obtenus montrent que le diabète provoque une diminution très hautement significative ( $p < 0.001$ ) de concentrations de GSH dans le foie chez les ratte témoins diabétiques (TD) par rapport au groupe témoin sains (T). Les résultats montrent aussi que le traitement des ratte par les extraits aqueux de *Geranium robertianum* L. AqD (DD), AqM (DM) et par Metformine (TM) marque une augmentation très hautement significative ( $p < 0.001$ ) de la concentration de GSH dans le foie par rapport aux

groupes des rattes témoins diabétiques (TD). Aussi le traitement des rattes par les extraits aqueux de *Geranium robertianum* L. AqD (DD), AqM (DM) marque une diminution non significative ( $P > 0.05$ ) de la concentration de GSH dans le foie par rapport aux rattes (TM).



**Figure 23 :** Effet de traitement par les extraits aqueux de *Geranium robertianum* L. (AqD, AqM) sur Variation de la peroxydation lipidique et le glutathion réduit au niveau de foie.

\* $p < 0.05$ ; \*\* $p < 0.01$ ; \*\*\* $p < 0.001$  ; NS  $P > 0.05$  comparaison avec le lot témoin.

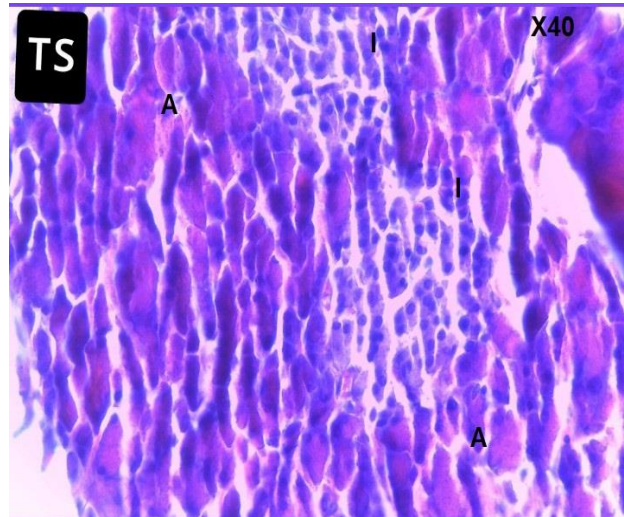
a  $p < 0.05$ ; b  $p < 0.01$ ; c  $p < 0.001$  ; NS'  $P > 0.05$  comparaison avec le lot témoin diabétique.

a''  $p < 0.05$ ; b''  $p < 0.01$ ; c''  $p < 0.001$  ; NS''  $P > 0.05$  comparaison avec le lot témoin diabétique traitée par Metformine TM .

## 1.5. Etude histologique

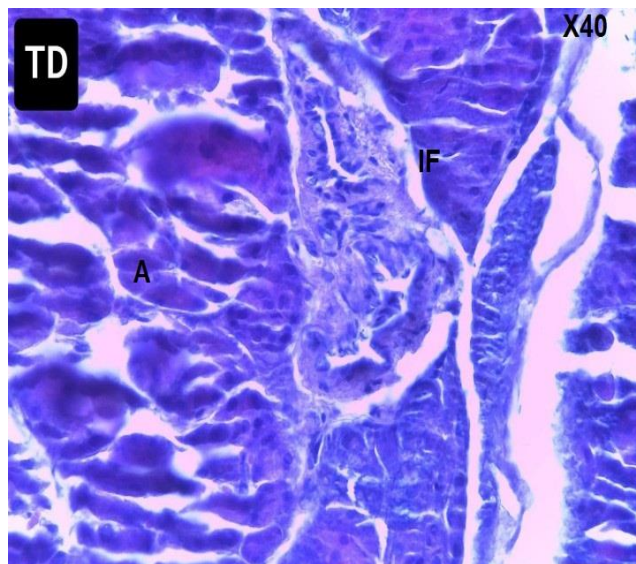
### 1.5.1. Histologie de pancréas :

L'observation microscopique du pancréas des rattes traités par l'alloxane (témoins diabétique révèle une modification cellulaire bien visible, qui traduit par une atrophie cellulaire (destruction des cellules des ilots) et par une fibrose, et l'observation microscopique de rattes diabétiques traitées par le Metformine présente une inflammation au niveau des ilots. Alors que l'étude histologique du pancréas des rattes traités par les extraits aqueux de *Geranium robertianum* L. présente une légère amélioration au niveau cellulaire.



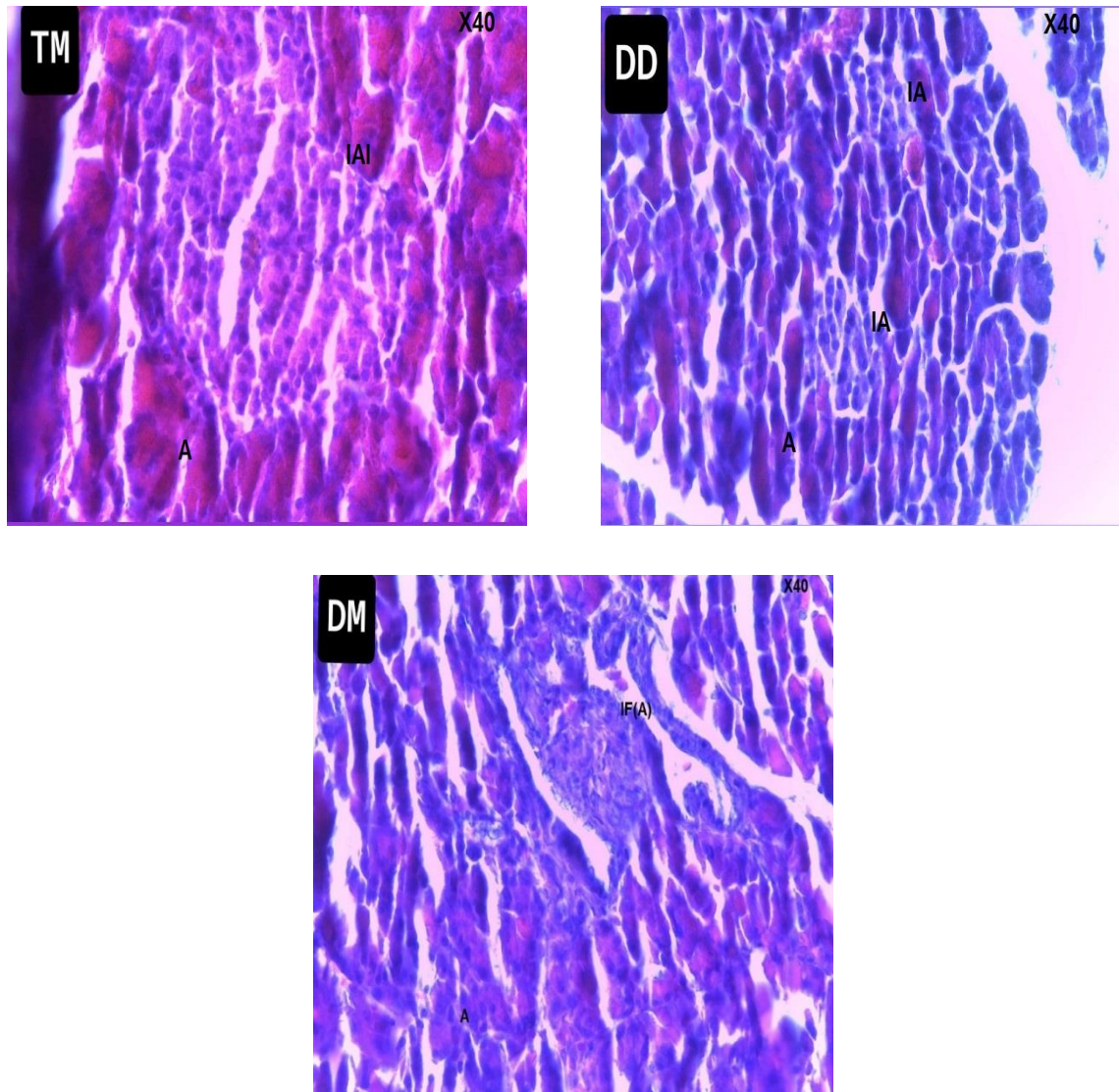
**Figure 24 :** Pancréas de la ratte témoin sain : couleur HEx40.

(I) : îlots de Langerhans, (A) : acini.



**Figure 25:** Pancréas du rat diabétique non traité: couleur HEx40.

Acini, (IF) : fibroses des îlots de Langerhans.

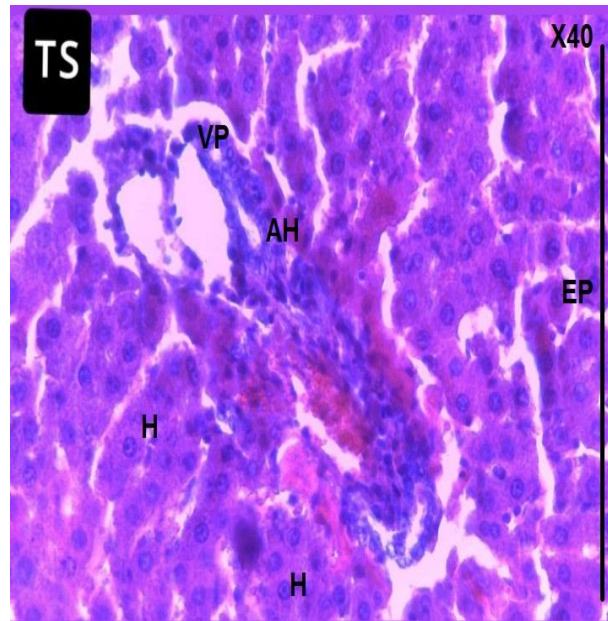


**Figure 26 :** Pancréas des rattes diabétiques traitées par les extraits aqueux de *Geranium robertianum* L. et par le Metformine couleur Hex40

Acini, (IA) : Atrophie des îlots de Langerhans, (AI) : Atrophie des îlots avec une inflammation, (IF) : fibroses des îlots.

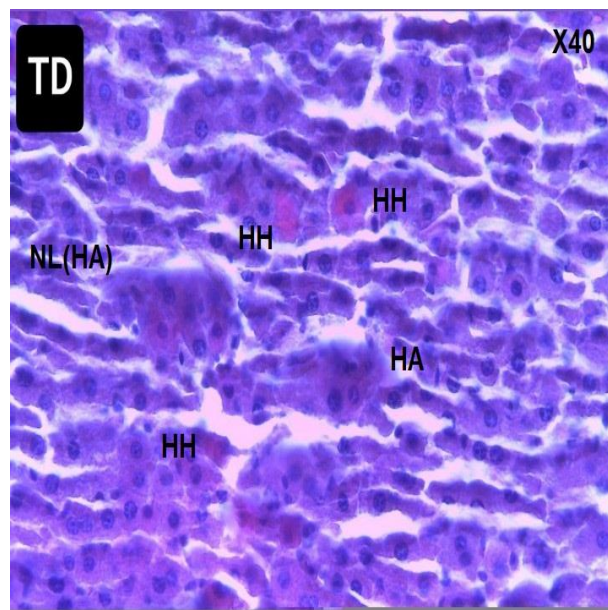
### 1.5.2. Histologie de Foies :

Aussi l'observation microscopique du foie de rattes traitées par l'alloxane révèle une modification cellulaire bien visible, qui traduit par une nécrose lobulaire hépatique, conjonction vasculaire marquée chez les rattes diabétiques non traitées. Alors que l'étude histologique du foie de rattes traitées par Les extraits aqueux de *Geranium robertianum* L. présente des cellules hépatocytaires souffrantes. Aussi l'observation microscopique de foies des rattes diabétiques traitées par le Metformine présente une inflammation et nécrose hépatocytair.



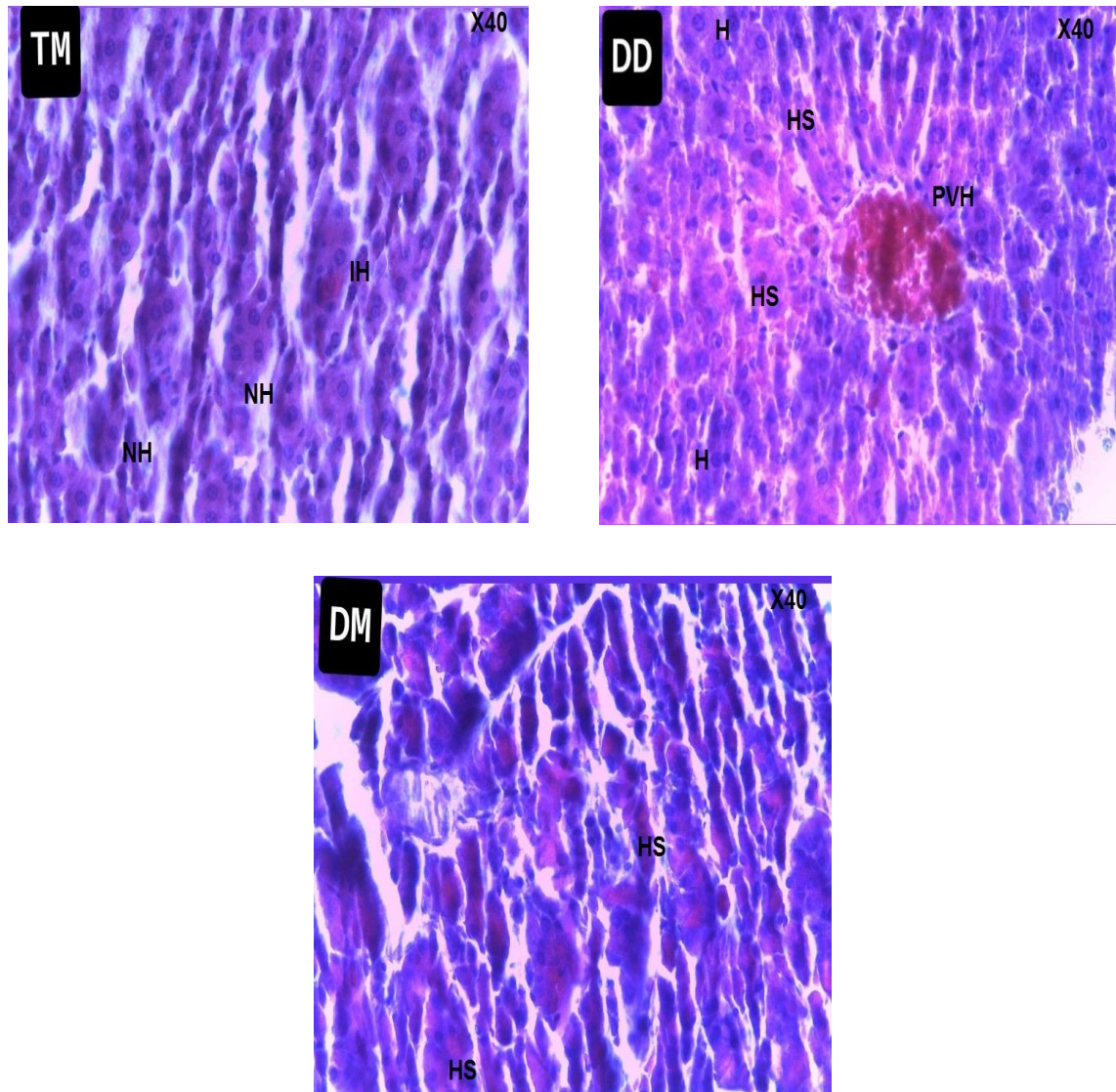
**Figure 27** : Foie de la ratte témoin sain : couleur HEx40.

(VP): vein port, (AH):artère hépatique, (H): hépatocytes, (EP): espace port.



**Figure28** : Foie de la ratte diabétique non traitée : couleur HEx40.

(NL) : nécroses lobulaire, (HA): atrophie des hépatocytes, (HH): hépatocytes hémogénisées.



**Figure 29 :** Foie des rattes diabétiques traitées par les extraits aqueux de *Geranium robertianum* L. et par le Metformine couleur Hex40.

(H) : hépatocyte, (NH) : nécroses des hépatocytes, (IH) : inflammation des hépatocytes, (HS): hépatocytes en souffrance, (PVH): veine port hémorragie .

## 2. Discussion

Le diabète est une affection métabolique appartenant au groupe des maladies non transmissibles. Le diabète représente un problème majeur de santé publique en raison de ses lourdes conséquences morbides et de son caractère évolutif (Kerekou et *al.*, 2014 ; Geneviève, 2008).

En général, tous les agents antidiabétiques (antidiabétiques oraux, insuline) ne répondent pas aux besoins des patients en tant qu'un traitement efficace et éventuellement, plusieurs accidents risquent d'être à l'origine d'un état indésirable. (Kesari et *al.*, 2005).

Les plantes médicinales aujourd'hui largement reconnues que le monde végétal constituent la source majeure de médicaments, grâce à la richesse des produits dits du métabolisme secondaire, celui-ci produit des molécules variées permettant aux plantes de contrôler leur environnement animal et végétal. Les plantes sont une source inépuisable de substances biochimiques : tanins, glucosides, mucilages, flavonoïdes, saponines, résines, gommes etc., et qui procurent des propriétés curatives appréciables et qu'aucune chimie synthétique et combinatoire ne peut nous offrir. (Eddouks et *al.*, 2007).

Cette étude vise à rechercher les principes actifs contenus dans l'extrait aqueux obtenu par décoction et macération des feuilles de *Geranium robertianum* L. grâce à des tests phytochimiques, ainsi que son effet antidiabétique et antioxydant sur un modèle diabétique expérimental induit par l'alloxane.

Les méthodes d'extraction ont permis d'obtenir deux extraits aqueux, (AqD, AqM). Afin d'évaluer la meilleure technique d'extraction de polyphénols totaux et flavonoïdes ont utilisé deux méthodes d'extraction aqueux à savoir la décoction et la macération. Le meilleur rendement d'extraction est enregistré par la macération d'une valeur de 13,37 % par rapport à la décoction (9,25 %). L'utilisation combinée d'eau et de température peut faciliter l'extraction des substances solubles dans l'eau. Cette idée est confirmée par Su et *al.* (2006) où indique le temps, la température et le solvant utilisé dans l'extraction influence sur le rendement d'extraction. Cela peut être la raison pour laquelle le rendement de l'extrait par macération est plus élevé que le rendement de l'extrait par décoction.

(Boubekeur, 2019) trouve que l'extrait brut aqueux (décoction) de plante d'*Helichrysum stoechas* (plante hypoglycémiant) a enregistré un rendement de l'ordre de 10,776% par contre l'extrait aqueux (macération) a enregistré un rendement 8,64. Ces rendements sont inférieure par rapport à ceux que nous avons trouvés. Cette variabilité de rendement dépend de plusieurs paramètres tels que : la température, le temps et la méthode d'extraction ainsi que le lieu et la période de la récolte de l'échantillon (Do et *al.*, 2014).

L'étude phytochimique réalisé sur la plante indique la présence des différents types de métabolites secondaires. Ces composés sont confirmés par l'apparition des colorations et des précipitations. Nos résultats de l'étude phytochimique de *Geranium robertianum* L. ont montré la richesse de *Geranium robertianum* L. en alcaloïdes, en flavonoïdes, en saponines, en sucres réducteurs et en tannins. Cette richesse en principes actifs confère à la plante des propriétés remarquables qui pourraient justifier son utilisation en médecine traditionnelle.

Le teneur en polyphénols était estimé à 86,33 mg EAG/g dans l'extrait aqueux de *Geranium robertianum*. L(AqM) et dans l'extrait (AqD) est 106,33 mg EAG/g ES Les résultats quantitatifs des flavonoïdes, révèlent que sa teneur était estimée à 73,867 mg de EQ/ g ES dans l'extrait aqueux de *Geranium robertianum* L. (AqM) et dans l'extrait (AqD) est 43,20 mg de EQ/g ES. Ces résultats sont déferent à la littérature de Boubakeur (2019) sur le plante d'*Helichrysum stoechas* (plant antidiabétique); supérieur à son résultats concernant la teneur en flavonoïde et inferieur à son résultats concernant la teneur en polyphénols . Des recherches récentes ont démontré que les hétérosides flavoniques sont responsable a l'effet hypoglycémiant (Chabane et *al.*, 2013). 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) (Amiot et *al.*, 2009).

D'après Maham (2017) la teneur en polyphénols totaux et en flavonoïdes d'extrait brut aqueux de *Ficus carica* selon les stations est estimés à (5.748 mg de EQ/g ES) et (1.141 mg de EQ/g ES) respectivement. Ces résultats sont relativement très faibles par rapport à nos résultats pour les polyphénols et pour les flavonoïdes aussi.

Le DPPH (2,2 diphényl -1- picrylhydrazyl) est généralement le substrat le plus utilisé pour l'évaluation rapide et directe de l'activité anti-oxydante en raison de sa stabilité en forme radicale libre et la simplicité de l'analyse (Fatma et *al.*, 2013), Les valeurs IC<sub>50</sub> 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 méthanol, plus la valeur de IC<sub>50</sub> est petite plus l'extrait est considéré comme un antioxydant puissant. (Bougandoura et Bendemerad., 2013).

Selon les résultats enregistrés dans notre étude concernant l'évaluation antioxydant de la plante, on peut dire que l'extrait aqueux de *Geranium robertianum* L. AqD a un pouvoir antioxydant très important (IC<sub>50</sub>= 0.079mg/ml) par rapport à l'extraits aqueux de *Geranium robertianum* L. AqM (IC<sub>50</sub>= 0.097mg/ml) en comparant avec le pouvoir antioxydant d'acide ascorbique (IC<sub>50</sub>= 0.014 mg/ml). Cette résultat est similaire avec d'autres études sur des plantes antidiabétique *Amodaucus leucotrichus* et *Anvillea radiata* Telli, A. (2017). Les polyphénols

contenus dans les extraits de *Geranium robertianum* L. sont probablement responsables de l'activité antioxydante de ces extraits. Les composés phénoliques sont bien connus comme antioxydants et agents piègeurs des radicaux libres due à la présence de nombreux groupes hydroxyles, qui peuvent réagissent avec les ERO associés aux dommages oxydatifs (Javanmardi et al., 2003).

La surveillance de poids corporel des rattes pendant les quatre semaines montre une perte de poids chez les témoins diabétiques. Des études suggèrent que la perte de poids chez les rattes diabétiques peut s'expliquer par un catabolisme accru des lipides et des protéines dû au manque de glucides qui est utilisé pour l'énergie (Sathishsekar and Subramanian., 2005). La diminution du poids corporel dans le diabète sucré est à cause de catabolisme, plus particulièrement des lipides par lipolyse des tissus adipeux suite à l'insulinodéficience (Vats et al., 2004; Oliveira et al., 2008).

Tandis que, l'administration des extraits aqueux de *Geranium robertianum* L. AqM, AqD a amélioré le poids corporel chez les rattes diabétiques dans notre étude, et aussi on a observé une gain de poids chez les rattes traité par Metformine. Ce résultat du gain de poids a été rapporté avec d'autres plantes connues par leur activité antidiabétique telles que *Inula viscosa* et *Trigonella foenum greacum* . (Djedioui, 2010 et Solomon et al ., 1999) .

Les résultats obtenus montrent que le poids relatif du pancréas ne présente aucune variation significative et concernant le poids relatif du foie nous avons remarqué une augmentation significative de leur poids chez les rattes diabétiques non traités. Ceci est explicable par l'hypertrophie tissulaire causée par l'alloxane. Cette résultat s'accorde avec autre étude sur des plantes antidiabétique *Ajuga iva* et de *Matricaria pubescens* (Beddazekri et Ghemam Ali, 2017)

L'effet des extraits aqueux (AqD, AqM) de *Geranium robertianum* L. de dose 400 mg/kg administrées par voie orale, sur la glycémie à jeun des rattes normales, a été étudié. L'analyse de la courbe de la variation du glucose sanguin en fonction du temps, montre qu'il y'a une diminution significative de la glycémie chez les rattes traitées par les extraits (AqD, AqM). L'administration de l'eau physiologique ne modifie pas la glycémie basale des rattes au bout de quatre heures d'observation. Ce résultat en accorde avec l'étude de Boubekur (2019) sur une plante hypoglycémiant (*Helichrysum stoechas*) et aussi avec l'étude de Sy et al.(2008) ou est l'unité l'effet des flavonoïdes de *E. alatus* sur la sécrétion d'insuline et à la présence de flavonoïdes dans la fraction F2 (fraction acétonique de la feuilles de *V. colorata* (plante hypoglycémiant) permettent de poser l'hypothèse d'un effet anti-hyperglycémiant de la fraction F2 probablement lié à un mécanisme mettant en jeu la sécrétion d'insuline et nous

avons précédemment indiqué dans l'étude phytochimique que notre plante étudiée contient une grande quantité de flavonoïdes. Ces résultats, apparemment contradictoires, reflètent probablement des effets spécifiques sur l'absorption ou le métabolisme des glucides induits par ces deux extraits de plantes, plutôt que la stimulation de la libération d'insuline et / ou l'absorption de glucose par les tissus périphériques. De plus, ces extraits de plantes ont également diminué la quantité de nourriture ingérée, ce qui est en bon accord avec la baisse de la glycémie occasionnelle. (Cristina et al., 2010).

Nous avons constaté une hyperglycémie après trois jours d'administration de l'alloxane monohydrate aux rats, l'alloxane détruit et réduit les cellules  $\beta$  pancréatiques via la formation d'espèces réactives de l'oxygène comme l'oxyde nitrique (Szkudelski, 2001). La recherche de l'activité anti-hyperglycémiant et hypoglycémiant des extraits aqueux de *Geranium robertianum* L. à des doses 400 mg/kg a montré une augmentation de taux du glucose sanguin chez le groupe diabétique non traité de 1<sup>er</sup> jour jusqu'à jour 28, par contre une baisse au niveau de la glycémie à partir du 7<sup>ème</sup> jour, après le traitement des rats diabétiques par l'extrait aqueux de *Geranium robertianum* L. de dose 400mg/kg et par metformine de dose 250 mg /Kg. Les propriétés hypoglycémiques de nombreuses plantes médicinales ont été étudiées et rapportées (Adeneye et Agbaje, 2008), (Usha et Hariswami, 2010) et l'étude de Cristina et al (2010) sur le *Geranium robertianum* L. La réduction de la glycémie par la plupart des composés bioactifs des plantes pourrait agir par l'un des nombreux mécanismes, notamment la stimulation de la sécrétion d'insuline, la réparation accrue de la prolifération des cellules  $\beta$  pancréatiques et l'augmentation des effets des insuline et adrénaline (Faved et al., 1998). Diverses recherches ont montré que les flavonoïdes, la quercétine et l'acide férulique présentent des effets hypoglycémiant (El-Shobaki et al., 2010). Les extraits aqueux d'une plante contenaient des tanins qui sont connus pour avoir une activité hypoglycémique (David et al., 2015). Cristina et al (2010) soutenant l'effet hypoglycémique de *Geranium robertianum* L. par : les effets spécifiques de *Geranium robertianum* L. sur l'absorption et le métabolisme des glucides induits par ces deux extraits de plantes, plutôt que la stimulation de la libération d'insuline et / ou l'absorption de glucose par les tissus périphériques. De plus, ces extraits de plantes ont également diminué la quantité ingérée, ce qui est en bon accord avec la glycémie occasionnelle plus faible.

Les lipides jouent un rôle essentiel dans la pathogenèse du diabète sucré. Le diabète est généralement associé à une hyperlipémie (hypertriglycémie et hypercholestérolémie) (Kumar et al., 2012). Les résultats obtenus de la présente étude montrent une augmentation très hautement significative du taux plasmatique de TG, de cholestérols et de LDL chez les rats

diabétiques non traité par rapport aux ratte témoins. Le diabète est généralement associé à un niveau de lipides modifiés. Le lipide le plus souvent observé dans l'anomalie du diabète sont l'hypertriglycéridémie, 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 et diminution significative du taux plasmatique de triglycéride, de cholestérol et de LDL respectivement avec une diminution non significatif du taux plasmatique de HDL chez les ratte diabétiques traité par (AqM AqD) de *Geranium robertianum* L. et par le Metformine par rapport aux ratte diabétiques ce qui est en accord avec l'étude de Iweala Emeka et Funmilayo Oludara (2011) qui a étudié les feuilles de *Gongronema latifolium* et l'étude de Daisy et Saipriya (2012). 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 ratte diabétiques (Sharma et al., 2008). L'insuline active l'enzyme lipoprotéine lipase qui hydrolyse les triglycérides. Shirwaika et al (2004). Expliquent ces résultats par : l'insuline inhibe la lipolyse, donc l'absence de l'insuline augmente la lipolyse qui conduit finalement à l'hyperlipidémie.

L'ASAT et l'ALAT sont deux enzymes hépatiques (Kesari et al., 2007) Leur augmentation est due principalement à leur fuite à travers le cytosol hépatique et leur déversement dans le flot sanguin (Babu et al., 2007; Eidi et al., 2007). Leur activité est proportionnelle au degré de dommages hépatiques (Kesari et al., 2007). Ils sont donc deux bons indicateurs de l'hépatotoxicité (Babu et al., 2007; Eidi et al., 2007).

L'activité de ces enzymes hépatiques dans notre étude étaient significativement élevées chez les ratte diabétiques non traités par rapport aux ratte sains. Cette résultat a été rapporté avec d'autre étude sur une plante antidiabétique *Ulva lactuca* Bel Hadj et al (2013). L'augmentation de l'activité des enzymes hépatiques sériques est expliquée par la destruction des cellules hépatiques par les substances toxiques (effet hépatotoxique de l'alloxane) (Barbosa et al., 2006).

L'administration des extraits aqueux de *Geranium robertianum* L. AqM, AqD et Metformine pendant les quatre semaines ont diminué l'activité enzymatique des transaminases par rapport aux ratte diabétiques non traité, ce qui signifie que l'extrait aqueux de *Geranium*

*robertianum* L. AqM, AqD et metformine. Inhibe les dommages hépatiques causés par l'alloxane.

Concernant les paramètres de stress oxydatif, le traitement par l'alloxan détruit et réduit les cellules  $\beta$  pancréatiques via la formation d'espèces réactives de l'oxygène (Szkudelski, 2001).

Le stress oxydant au niveau cellulaire traduit par une augmentation de la malondialdéhyde (MDA), produit de la peroxydation lipidiques des membranes (Pelletier et *al.*, 2004). Dans notre étude, le diabète induit par l'alloxan induire un stress oxydatif par l'augmentation peroxydation lipidiques (MDA) dans le foie chez les ratte diabétiques d'une grande façon par rapport au témoin. Par contre chez les rats diabétiques traités par les extraits aqueux du *Geranium robertanum* L. et par le Metformine la peroxydation lipidique est diminuée au niveau hépatique. 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). Ce résultat est en accord avec l'étude (Usha. Ch et Hariswami. D, 2010) sur les feuilles de *Cinnamomum tamala* (plante antidiabétique) et l'étude de (Ange Antoine et *al.*, 2014). Ce qui justifie le traitement par les extraits aqueux de *Geranium robertianum* L. pourrait empêcher l'altération induite par l'alloxane, en jouant un rôle important dans la prévention des complications induites par la peroxydation lipidique.

Par ailleurs, nos résultats présentent une diminution du taux de glutathion réduit (GSH) hépatique chez le groupe diabétique non traité par rapport au groupe témoin. Le glutathion réduit (GSH), constitue la première ligne de défense antiradicalaire. C'est le régulateur et le régénérateur des cellules immunitaires et l'agent détoxifiant le plus efficace de l'organisme (Bandyopadhyay et *al.*, 2007). Sa diminution chez les rats diabétiques non traités témoigne d'un épuisement de GSH dû à une production élevée des espèces réactives de l'oxygène, et donc d'un faible pouvoir de défense du système antiradicalaire. Cette diminution peut expliquer par 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). ). Autre étude explique cette diminution de taux de GSH par utilisation accrue due au stress oxydatif (Usha. Ch et Hariswami .D, 2010). Ce résultat est en accord avec l'étude de (Anup K et *al.*, 2009) sur le fruit de *Diospyros peregrina* (possède une activité antidiabétique) et l'étude de (Usha. Ch et Hariswami .D, 2010). L'augmentation des taux de GSH hépatique chez les rats diabétiques traités par l'extrait aqueux suggère que l'extrait améliore les performances antioxydantes de l'organisme. (Ange Antoine et *al.*, 2014). Nos résultats expliquent d'une façon très claire le rôle protecteur que peuvent conférer le *Geranium*

*robertianum* L. 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).

L'étude histologique réalisée révèle que l'examen des coupes de pancréas montre une atrophie cellulaire et fibrose au niveau de pancréas du diabétique non traité (TD), et une inflammation au niveau de pancréas du diabétique traitées par le Metformine. La destruction de certaines cellules de Langerhans expliquerait le taux réduit de l'insuline observé chez ces deux lots (Halimi et *al.*, 2008). Il est établi que la metformine agit uniquement au niveau périphérique (inhibition de la formation du glucose par le foie, utilisation du glucose par les muscles) et donc n'a aucune action sur le pancréas (Halimi et *al.*, 2008). Aussi est dû à l'effet cytotoxique de l'alloxane qui se comporte comme un agent relatif d'inhibition enzymatique ayant des conséquences négatives sur la sécrétion exocrine pancréatique, procès accompagné par un diabète typique dû à la défection apparue de la sécrétion insulinaire (Hincu et *al.*, 2006).

Les coupes histologiques du pancréas des lots traitées par les extraits aqueux de notre plant présentent des îlots de Langerhans mieux délimités. Ces lésions tissulaires limitées expliqueraient l'insulinémie proche de la normale de ces deux lots déjà mentionnée. Cela pourrait signifier que les deux extraits de la plante ont « restauré » la sécrétion de l'insuline en « régénérant » les cellules  $\beta$  de Langerhans détruites par l'alloxane (West, 2000). Cet effet régénérateur des îlots observé pourrait être dû à la présence des composés antidiabétiques révélés par l'étude phytochimique. Cette résultats est en accord avec l'étude de Balbir et *al* (2019).

L'effet des extraits aqueux de notre plante testé est par ailleurs confirmé par les coupes histologiques du foie et pancréas, où il apparaît que les lésions hépatiques sont moins étendues chez les animaux diabétiques non traités et que la cicatrisation intervient plutôt que chez les sujets témoins sains et diabétiques traités.

Les altérations histologiques observées au niveau des hépatocytes de ratte diabétique non traitées et ratte diabétique traitées par Metformine sont caractérisées par l'apparition des nécroses, des conjonction vasculaire marquée et par des inflammations. Ces dommages pourraient être dus probablement à la génération de radicaux réactifs et à la peroxydation lipidique subséquente induite par l'alloxane. Tandis que la morphologie générale des lésions hépatocytaires des ratte diabétique traitées par les extraits de notre plante était améliorée et semblait d'apparence tout à fait presque normale par rapport à celle des ratte alloxanique non traité. Cette résultats est en accord avec l'étude de Adeyi b et *al* (2020).

Des altérations histologiques similaires ont été observées par Ghilissi et *al.*, (2015) après traitement des rats Wistar par l'alloxane (D.U=120mg/kg pc) et à l'extrait aqueux de l'espèce végétale *Marrubium vulgare* (Plante antidiabétique).

Sur la base des preuves ci-dessus, l'action hépatoprotectrice des extraits aqueux de *Geranium robertianum* L. pourrait être due à la présence d'antioxydants (type phénolique (87%) ou flavonoïde) qui ont une activité antioxydante prouvée.

# *Conclusion générale*

## Conclusion et perspectives

L'objectif principal de ce travail était la vérification de l'activité hypoglycémiante et antioxydant des extraits aqueux de *Geranium robertianum* L. préparée par deux méthodes macération et décoction.

Les résultats obtenus mettent en évidence la grande teneur de *Geranium robertianum* L. en polyphénols, flavonoïdes (divers composés chimiques identifiés) qui peuvent être responsables des effets biologiques trouvés de cette plante.

L'injection intrapéritonéale de l'alloxane à la dose de 150 mg/kg de poids corporel chez les ratte femelle adultes a induit des perturbations métaboliques : glucidique, lipidique et dans le fonctionnement de certains organes. En revanche le traitement des ratte diabétiques par l'extrait aqueux de *Geranium robertianum* L. (AqD,AqM) et par metformine corrige ces perturbations et améliorent la résistance contre le diabète, ce qui nous amène à résumer l'ensemble de ces effets dans les points suivants :

L'alloxane conduit à un déficit pondéral avec une augmentation des poids relatif de foie par rapport au lot témoin.

Le bilan glucidique et lipidique et hépatique : L'injection de l'alloxane induit une augmentation de la concentration du glucose, du cholestérol, des triglycérides, HDL, ASAT et ALAT. Par contre, le traitement par les extraits aqueux de *Geranium robertianum* L. a induit également une diminution de ces concentrations en comparaison avec les ratte diabétiques non traités surtout le traitement par l'extrait aqueux par décoction AqD spécialement sur la diminution de la concentration de taux de glucose sanguin.

Le phénomène des radicaux libres induit par l'alloxane provoque une diminution dans le taux de glutathion hépatique et augmentation de taux de la peroxydation lipidique chez les ratte diabétiques non traitées. Lorsque les ratte diabétiques ont été traités par les extraits aqueux de *Geranium robertianum* L. et par metformine, une augmentation dans la teneur hépatique en glutathion surtout le traitement par l'extrait aqueux par décoction AqD et une diminution dans la teneur la peroxydation lipidique ont été remarquée.

En conclusion nous pouvons dire que les extraits aqueux *Geranium robertianum* L. peut renforcer le système de défense enzymatique antioxydant, peut jouer un rôle préventif dans le développement du diabète sucré par l'amélioration des métabolismes glucidique, lipidique et il peut être utilisé comme un antioxydant.

En perspective il serait utile d'identifier, du point de vue scientifique, les molécules ou le groupe de molécules responsables des effets étudiés quoi que, du point de vue économique et pratique.

L'identification, caractérisation, et séparation des différentes fractions des principes actif responsable de l'effet antidiabétique par les méthodes d'analyses chimiques : Chromatographie sur colonne, HPLC, RMN,...

Dosage encore d'autre paramètres biochimiques et dans d'autres organes.

Afin de confirmer ces résultats, nous espérons que les points restants feront l'objet d'une enquête et d'une étude pour la prochaine génération sur des échantillons quantitativement plus importants, et pourquoi pas pour nous aussi afin que nous puissions compléter ces études de tous côtés.

*Références  
bibliographique*

1. Achouri, D et Cherki, A.( 2018). Phytothérapie et Grossesse. département de Pharmacie. Tlemcen.Algerie.5p.
2. Adeneye, A.A. et E.O. Agbaje. (2008). Évaluation pharmacologique des effets antidiabétiques oraux de hypoglycémie et de feuilles fraîches ethancl extrait de morinda luada besth chez des rats diabétiques induits par alloxan sumal snd. Afr J. Bionmed. Res 11 65-71.
3. Adeyi b. A.O, Gbadamosi .I.T, Oyekanmi. O.O, Somade. O.T.(2020). Launaea taraxacifolia leaf partitions ameliorate alloxan induced pathophysiological complications via antioxidant mechanisms in diabetic rats. journals elsevier; Metabolism Open. 6 : 100029.
4. Ahmed. S, Ahmad. M et al. (2016). "A review on plants extract mediated synthesis of silver nanoparticles for antimicrobial applications: a green expertise." Journal of advanced research 7 (1) : 17-28.
5. Akinnuga, A., S. Jeje, et al. (2014). "Virgin coconut oil: Remedial effects on renal.
6. Allen, D.E., Hatfield, G. (2004). Medicinal plants in folk tradition: an ethnobotany of Britain & Ireland. Timber Press, Portland, Cambridge.
7. Amiot, M., Riollot, J., & Landrier, F. (2009). Polyphénols et syndrome métabolique. Médecine des maladies Métaboliques.478p.
8. Ange Antoine .A, Etienne. N, Gabriel .A, Martin .D, Raoul .A, Théophile .D .(2014) . Effet de l'extrait hydro-éthanolique des feuilles de Trilepisium madagascariense Leeuwenberg D.C. (Moraceae) contre le stress oxydant associé au diabète sucré chez le rat . Afrique science. 10(4) .278 – 287.
9. Anup K. D, Moumita. G, Saikat .D , Ranabir .S.(2009) . Antidiabetic activity of Diospyros peregrina fruit: Effect on hyperglycemia, hyperlipidemia and augmented oxidative stress in experimental type 2 diabetes . Food and Chemical Toxicology .47 .2679–2685.
10. Asma L, Hira I, Imran P, Maham G.(2017).Developpement and characterisation of fig *Ficus carica* leaves tea with special reference to hypoglycemic effect .16 B(2),78–83 .
11. Babu, P.S. Prabuseenivansan, S. Ignacimuthus, S. (2007). *Cinnamaldehyde* A potential antidiabetic agent. Phytomedicine 14: 15-22.
12. Baborun, T. Gressier, B. Trotin, F.Brunet, C.Dine, T. Luyckx, M. Vasseur, J. Cazin, M. Cazin, J. C. & Pinkas, M. (1996). Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations.Journal of Arzneimittel-Forschung. 46: 1086-1089.

13. Balbir .S, Hasandeep. S, Harpal Singh .B, Ripdaman .S, Rohit. A, Rahul .M, Saroj. A, Sarabjit .k.(2019). Protective role of Phyllanthus fraternus in alloxan-induced diabetes in rats. Journal of Ayurveda and Integrative Medicine. xxx (xxxx) xxx.
14. Bandyopadyay. A,, Kumar .V, Mukherjee .K, Nazeer – Ahamed. K.F.H, Raja .S Mukherjee. PK. (2007). Antioxidant effect of Cytisus scoparius against carbon tetrachloride treated liver injury in rats. Journal of ethnopharmacology, 109: 41-47.
15. Barbosa,N. B.V.Rocha,J.B.T. Wandracek,D.C. Perottoni,J. Zeni,G. NOgueira,W. (2006).Diphenyl diselenide reduces temporarily hyperglycemia: possible relationship with oxidative stress. Chemico.Biological Interactions, 163: 230-238.
16. Beddazekri, M. Ghemam,A. (2017). Evaluation de l'activité hypoglycémiante de quelques plantes médicinales de la région du Souf .mémoire En vue de l'obtention du diplôme de Master Académique en Sciences biologiques Université Echahid Hamma Lakhdar -El OUED p89.
17. BelHadj, S. Hentati, O. Elfeki, A. & Hamden, K. (2013). Inhibitory activities of *Ulva lactuca* polysaccharides on digestive enzymes related to diabetes and obesity. Archives of physiology and biochemistry, 119(2), 81-87.
18. Bellamine, K.(1993). La phytothérapie clinique dans les affections dermatologiques. Université Mohamed Rabat.Maghrab. 58 p.
19. Benaraba, R. ( 2007). Insulinorésistance et stress oxydant dans le syndrome métabolique :Etude expérimentale des effets protecteurs de microconstituants nutritionnels (polyphénols du thé, de la cannelle et chrome III). Thèse de doctorat en Environnement et Santé, Université Joseph Fourier, Joseph Fourier- Grenoble 1.
20. Benhadou, A. (2009). Etude des propriétés antidiabétiques de *Nigella sativa*: sites d'action cellulaires et moléculaires. Thèse de Doctorat en pharmacologie. Université Montréal.
21. Berger. M.( 2006). Manipulations Nutritionnelles Du Stress Oxydant: Etats Des Connaissances. Nut Clin Et Met. .(20) : 48-53.
22. Bergmeyer, H.U. & al. (1978). Clin Chem, 24, 58-73. Cité par fiche technique BIOLABO. Réf. 80027.
23. Birru E M, Abdelwuhab M & Shewamene Z. (2015). Effect of hydroalcoholic leaves extract of Indigofera spicata Forssk on blood glucose level of normal, glucose loaded and diabetic rodents. BMC Complementary and Alternative Medicine, 15: 321-8.
24. Blicklé J.F. (2004). Actualités sur les traitements oraux du diabète. Coordonné par Grimaldi A ; EMC référence, Elsevier, (Paris) : 209-221.

25. Blicklé, J. (2003). Les études de prévention médicamenteuse du diabète de type 2 doiventelles nous amener à changer nos prescriptions. *Diabetes & Metabolism*, 29(5), 547-553.
26. Bnouham, M., Mekhfi, H., Legssyer, A., Ziyat, A.(2002). Ethnopharmacology Forum: Medicinal plants used in the treatment of diabetes in Morocco. *Int. J. Diabetes Metab.* 10, 33–50.
27. Bories, T. (2012). Prise en charge thérapeutique des patients diabétiques de type 2 par les médecins généralistes de l'Eure.
28. Boubekeur, H.(2019). Activités biologiques d'*Helichrysum stoechas* . Thèse Présentée Pour l'obtention du diplôme de Doctorat en Sciences. l'université Ferhat Abbas Sétif.p15.
29. 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.
30. Bouguerne, B. (2012). Conception et synthèse de dérivés phénoliques hautement fonctionnalisés et de leur propriétés biologiques vis-à-vis maladies cardiovasculaires (athérosclérose). Thèse de Doctorat, Université Toulouse III - Paul Sabatier.
31. Boussaide I, Boulaide S, Bouzenir D .(2014) .Diabète de type 2 et phytothérapie : plantes hypoglycémiantes les plus utilisées par des sujet diabétiques, université constantine 1 .
32. Bouxid .H .(2012 ). LES PLANTES MEDICINALES ET DIABETE DE TYPE 2. These de doctorat en medcine . Universite sidi mohammed ben abdellah.p6 .
33. Brand-Williams, W. Cuvelier, M et *al.* (1995). "Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity." *LWT-Food science and Technology* 28(1): 25-30
34. Camille, M. & Mireille, S. (2011). Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant. *médecine/sciences.* 27(4), 405-12.
35. Capeau, J. (2003). Voies de signalisation de l'insuline : mécanismes affectés dans l'insulino-résistance. *Médecine Sciences* 19(8-9): 834-839.
36. 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*, 09(1), 120 – 127.
37. Chavan,U. Shahidi,F . Naczka,M. (2001). Extraction of condensed tannins from beach pea (*Lathyrus maritimus* L.) as affected by different solvents. *J. Food Chem*, 75 (4) : 509-512.

38. Clémentine, P.(2013). Rôle du stress oxydant au niveau hépatique et rénal dans la toxicité de l'uranium après exposition chronique. Thèse De Doctorat Université Paris-Sud 11. France. «Faculté De Pharmacie De Chatenay-Malabry » .127- 460 p.
39. Coulibaly, B. N'guessan,K. Aka, N. Ekaza, E. N'golo,D. Trébissou,N. Ouattara, L. Bahi,C. Coulibaly,A .Assandé, J. Mohui,P.Yao,H. Djaman, A. & Dosso, M. (2011). Activité anti-mycobactérienne *in vitro* des extraits de *Phyllanthus amarus* (Schum et Thonn) sur les souches de *Mycobacterium ulcerans* en Côte d'Ivoire. Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège, 80 : 759-771.
40. Cristina .S, Elsa. N, Fernanda M. F, .Maria Sancha .S, Francisco. P, Raquel. S et al. (2010) . "MitoTea": *Geranium robertianum* L. decoctions decrease blood glucose levels and improve liver mitochondrial oxidative phosphorylation in diabetic Goto–Kakizaki rats . 57(4) . 399–402.
41. Cristina Sena, Elsa Nunes, Fernanda M. Ferreira, Francisco Peixoto, Maria Sancha Santos, Raquel Seïça .(2010). MitoTea: *Geranium robertianum* L. decoctions decrease blood glucose levels and improve liver mitochondrial oxidative phosphorylation in diabetic Goto–Kakizaki rats . Regular paper .. 57.399-402.
42. Cunha, A.P., Silva, A.P., Roque, A.R.(2012). Plantas e produtos vegetais em fitoterapia, 4th Ed. Fundação Calouste Gulbenkian, Lisboa.
43. Daisy. P, Saipriya .K.(2012) Biochemical analysis of *Cassia fistula* aqueous extract and phytochemically synthesized gold nanoparticles as hypoglycemic treatment for diabetes mellitus .international jornal of nanomedicine . 7 .1189–1202 .
44. David .M, Joan. N, Mathew Piero .N, Peter K .G .(2015) . Vivo Antidiabetic Activity and Safety In Rats of Cissampelos pareira Traditionally Used In The Management of Diabetes Mellitus In Embu County, Kenya . Doi: 10.4172/2157-7609.1000184
45. Defraigne J.O., Pincemail J.(2007).Stress oxydant et antioxydants: mythes et réalités. Rev Med Liege. 10(4) : 1-10.
46. Defraigne, J.O., Pincemail, J. (2008). Stress oxydant et antioxydants: mythes et réalités. Revue médicale de Liège, 63(1), 10-19.
47. Delatre J, Beaudeau JL,Bonnefont-Rousselot D.(2005).Radicaux libres et stress oxydant :aspects biologiques et pathologiques .Lavoisier Ed TEC and DOC.paris.1-405.
48. Derouiche, S. (2016). Effet de la supplémentation en zinc sur le statut du zinc et des aspects biochimiques chez des rats sains et diabétiques nourris avec un régime alimentaire riche en cuivre et calcium.Thèse de Doctorat Présentée pour l'obtention du diplôme de Doctorat en sciences .universite badji mokhtar annaba.p12.

49. 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). 1073–1080.1078.
50. Djedioui, A. (2010). Evaluation de l'activité hypoglycémiante et anti-hyperglycémiante de l'extrait aqueux d'*Inula viciosa*; une plante de l'Est algérien chez le rat avec un diabète induit. Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de magister. Badji Mokhtar Université – Annaba p51.
51. Do QD, Angkawijaya AE, Tran-Nguyen PL, Huynh LH, Soetaredjo FE, Ismadji S, Ju YH. (2014). Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatica*. Journal of Food and Drug Analysis. 22 : 296 – 302 .
52. Drouin, P. Blickle, J. Charbonnel, B. Eschwege, E. Guillausseau, P. Plouin, P. Daninos, J. Balarac, N. Sauvanet, J. (1999). Diagnostic et classification du diabète sucré les nouveaux critères. Diabetes & Metabolism (Paris), 25, 72-83.
53. Ducerf G. (2011). L'encyclopédie des plantes bio : indicatrices, alimentaires et médicinales, guide de diagnostic des sols. 2 éd, 2, 131-163 pp.
54. 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.
55. Eddouks, M. Ouahidi, M. Farid, O. Moufid, A. Khalidi, A. Lemhadri, A. (2007). L'utilisation des plantes médicinales dans le traitement du diabète au Maroc. Phytothérapie, 5: 194–203.
56. Eidi, A. Eidi, M. Sokhteh M. (2007). Effect of fenugreek ( *Trigonella foenugraecum* L) seeds on serum parameters in normal and streptozotocin induced diabetic rats. Nutrition Research 27: 728-733.
57. El-Shenawy. N.S et 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.
58. El-Shobaki.F.A, El-Bahay. A.M, Esmail, El-Megeid R.S.A, Esmail A.A.A, (2010). Effet du fruit des figues (*Ficus carica* L) et de ses feuilles sur l'hyperglycémie chez les rats diabétiques alloxan. Journal mondial des produits laitiers et alimentaires, 5: 47-57.

59. Evans,W. (2009). Trease and Evans' Pharmacognosy (16e). Saunders Elsevier (Ed.), London, 616p.
60. Farnsworth.N.K et Kass. C.J.(1986). An approach utilizing information from traditional medicine to identify tumor inhibiting plants .l'OMS. Bulletin de .(15) :66 -159.
61. Fatima, K. Hamadi Abderrahmane,L . Mourad,B. Ikram,B.Sari,D. Tarik,CH.(2013). Étude phytochimique et évaluation de l'activité anti-oxydante de *Thymus Ciliatus ssp. Coloratus*. Afrique science 09(1) :151 – 158.
62. Fayed.T, El-Missiry. M.A, Emara . H et El-Sayaad N. (1998). Effet de *Nigella sativa* ou de la supplémentation en huile de poisson chez les rats diabétiques alloxanes. J. Union. Arabe. Biol., 9: 237-250.
63. Fédération internationale du diabète, (2017). l'Atlas du diabète de la FID. la huitième édition.
64. Fédération internationale du diabète.(2015). l'Atlas du diabète de la FID. Septième édition.
65. Fehaima, S. (2017). Qualité de vie et diabète. Mémoire de fin d'étude en vue d'obtention du Diplôme de Docteur en médecine. CHU Tlemcen-service de médecine interne.p 13-14.
66. Ferrannini, E. Vichi, S. Beck-Nielsen, H. Laakso, M. Paolisso,G. Smith, U.( 1996).Insulin action and age. European Group for the Study of Insulin Resistance (EGIR). Diabetes;45:947-53.
67. Féry,F. Paquot,N.(2005). Etiopathogénie et physiopathologie Du diabète de type 2. Rev Med Liege. 60 : 5-6 : 361-368.
68. Finaud, J., Lac, G., Filaire, E. (2006). Oxidative Stress. Relationship with Exercise and Training. Sports Medicine, 36(4). doi: 0112-1642/06/0004-0327/39.95/0, 327-358P.
69. Fossati, P., Prencipe, L. (1982). Clin. Chem. 28p : 2077-2080. Cite par fiche technique BIOLABO. Réf : 80019.
70. Frey, F.M., Bukoski, M.(2014). Floral symmetry is associated with flower size and pollen production but not insect visitation rates in *Geranium robertianum* (Geraniaceae). Plant Species Biol. 29, 272–280.
71. Friedwald,T.W., Fredrickson, D.S., Levy, R.J.(1972). LDL cholesterol estimation. ClinChem,18: 499-501.
72. Gaté, L., Paul, J., Ba, G.N., Tew, K.D.,and Tapiero, H., (1999). Oxidative stress induced in pathologies: The role of antioxidants. Biomed Pharmacother.; 53(4):169-180.
73. Geneviève, I. (2008). Vers une étude ethnoépidémiologique du diabète de type 2 et de ses complications. Santé Publique. (Vol. 20). P 112.

74. Ghedira, K. (2005). Les flavonoïdes : structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie*. 4(1): doi:10.1007/s10298-005-0096-8,162-169P.
75. Grardel A. (2008). Faculté libre des sciences et technologies, pp 1.
76. Grimaldi A. (2000). Question d'internat, Diabétologie. Faculté de médecine Pierre Marie Curie Paris. France. P : 15-19.
77. Grimaldi, A., Hartemann-Heurtier, A (Eds.). (2009). Guide pratique du diabète 4eme edition. Paris : Elsevier Masson.
78. Gruenwald, J., Brendler, T., Jaenicke, C.( 2000). PDR for herbal medicines. 4th Ed. Thomson Medical Economics, Montvale.
79. Gülçin.I, Huyutb. Z, Elmastaşç .M, Aboul-Enein. H. (2009). Radicalscaevenging and antioxidant activity of tannic acid. *Arabian Journal of Chemistry*, 3(1). doi:10.1016/j.arabjc.12.008, 43-53P.
80. Haleng J.,Pincemail J., Defraigne J.O., Charlier C., Chapelle J.P." (2007) . Le stress oxydant . *Rev Med Liege* 62 (10), 628-638.
81. Halimi, S., Debaty, I., Villaret, L., Muller, M., (2008).les nouveaux traitements du diabète de type 2: quelle place pour les incretine et le rimonabant par rapport aux précédents. *La Revue Médecine Interne* 29: 881-890.
82. Hallard F. (1988). *Phytothérapie*. Paris, 5 p.
83. Halliwell B.(1989).Free radicals, reactive oxygen species and human disease a critical evaluation with special reference to atherosclerosis . *Br J Exp Pathol*.70:737-757.
84. Hamza, N.( 2011). Effets préventif et curatif de trois plantes médicinales utilisées dans la Wilaya de Constantine pour le traitement du diabète de type 2 expérimental induit par le régime « high fat » chez la souris C57BL/6J. Thèse Doctorat en Science Alimentaire. Université Mentouri .Constantine. p154.
85. Harborne, J.B. (1998). *Phytochemical methods: a guide to modern techniques of plant analysis*. Published in the USA by Chapman and Hall in association with Methuen, Inc.
86. Harborne,J.B.(1998). *Phytochemical methods : a guide to modern techniques of plant analysis*. Ed. Chapman and Hall. London,302 p.
87. Henquin, J.C. (2005). Le traitement pharmacologique du diabète de type 2 : mode d'action des médicaments d'aujourd'hui et de demain. *Louvain Med.* ; 124 : S39-S46.
88. Hincu, M., Pantea, S., Anca, M., Coman,E.M .,Mehedinti,T.(2006). L'effet de l'alloxane sur l'histologie du tissupancréatique. *Fascicula XVII. Anul*

89. Huet O., Duranteau J. (2008).Dysfonction endothéliale : rôle des radicaux libres  
Endothelial dysfunction: Involvement of reactive oxygen species. *Réanimation*. 5(17) : 387-392.
90. Iserin .P, Moulard. F, Rachel .R, Biaujeaud .M, Ringuet .J, Bloch .J, Ybert. E, Vican .P, Masson .M, Moulard. F, Restellini .J-P et Botrel .A. (2001). La rousse : encyclopédie des plantes médicinales ; identification, préparation, soins. 2 éd, Paris, pp.155-291.
91. Iweala Emeka,E.J et Funmilayo Oludar. D. (2011) . Effet hypoglycémique, changements biochimiques et histologiques de spondias Mombin Lin. et Parinari polyandra Benth. Éteints éthanoliques dans les rats diabétiques induits par l'alloxan. *Jornal of Pharmacologie et Toxicologie* 6 (2): 101-112.
92. Iweala Emeka,E.J et Oboyoa, O. (2009) . Effet d'une longue consommation d'un régime a été superposé avec des feuilles de congronema latifolium benth .ons quelques paramètres biochimiques et histologiques dans les rats d'Albinos males . *Jornal of biological Sciences* 9(8): 859-865.
93. Jarald, E., Joshi, S.B., Jain, D.C.(2008). Diabetes and herbal medicine. *Iranian Journal of Pharmacology and therapeutics* ; 7: 97-106.
94. Javanmardi, J. Stushnoff, C. Locke, E . et Vivanco, J.M. (2003).Antioxidant activity and total phenolic content of *Iranian Ocimum* accessions. *Food Chemistry*, 83(4) : 547-550
95. Jean,L.(2013). Complications du diabète de type 2. *La presse médicale*. 42: 839–848.
96. Jouzier.E, Berké.B.(2012). Diabète et philatélie ii : plantes hypoglycémiantes. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*. 151(1-4). 141-170.
97. Kebieche M. (2..9).Activité biochimique des extraits flavonoïdiques de la plante *Ranunculus repens L* : effet sur le diabète expérimental et l'hépatotoxicité induite par l'Epirubicine. Thèse de Doctorat Présentée pour l'obtention du diplôme de Doctorat en sciences. Université Mentouri Constantine.p18.
98. Kerekou, A. Azon, A. Bocovo, M. Amoussou-Guenou, D. Djrolo, F. Houinato, D. (2014) Prévalence du diabète en médecine externe au CNHU/HKM de Cotonou. *Diabetes and Metabolism*, 40: A82-A82.
99. Kesari, A.N. Kesari, S. Singh, S.K. Gupta, R.K. Watal, G. (2007). Studies on the glycemic and lipidemic effect of *Murraya koenigii* on experimental animals. *Journal of Ethnopharmacology* 112: 305-311.
100. Kesari, A.N.Gupta,R.K. Watal, G. (2005). Hypoglycemic effects of *Murraya koenigii* on normal and alloxan diabetic rabbits. *J. Ethnopharmacol*, 11: 223–231.

101. Kukerja, A. Maclaren, N.K. (2002). NKT Cells and Type-1 diabetes and the "Hygiene Hypothesis" to explain the rising incidence rates diabetes. *Technology & Therapeutics.*, 4:323-33.
102. Kumar, S., Kumar, V., et 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.
103. Lenzen, S. (2008). The mechanisms of alloxan-and streptozotocin-induced diabetes.
104. Lenzen, S. Freytag, S. Panten, V.(1988). Inhibition of glucokinase by alloxan through interaction with SH groups in the sugar-binding site of the enzyme. *Pharmacol.*34:395-400.
105. Lenzen, S., Munda, Y. R.(1991). Thiol group reactivity, hydrophilicity and stability of alloxan, its reduction products and its N-methyl derivatives and a comparison with ninhydrin. *Biochem Pharmacol*,42: 1385–91.
106. Lenzen, S.,Panten, V. (1988). Alloxan: History and mechanism of action *Diabetologia* 31: 337-342.
107. Louiza, B. (2008). Effets biologiques de la petite centauree *Erythraea centaurium* (L.)Pers.,Mentouri de Constantine.
108. Mahmoudi S., Khali M. et Mahmoudi N. (2013). Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynara scolymus* L.). *Revue « Nature & Technologie ».* B- Sciences Agronomiques et Biologiques, 9 : 35- 40.
109. Mahmoudi, S. Khali, M. et Mahmoudi, N. (2013). Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynara scolymus* L.). *Revue « Nature & Technologie ».* B- Sciences Agronomiques et Biologiques. 9 : 35- 40.
110. Mbojd N.(2003). Etude de l'activité antidiabétique des extraits acetonique.
111. Miller, D.M.(2004). The taxonomy of *Geranium* species and cultivars, their origins and growth in the wild, in: Lis-Balchin, M. (Ed.), *Geranium and Pelargonium - The genera Geranium and Pelargonium*, Taylor & Francis, London, pp. 11–19.
112. Molyneux, P. (2004). "The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity." *Songklanakarin J. Sci. Technol* 26(2) : 211-219.
113. Muanda F N. (2010). Identification de poly phénols, évaluation de leur activité antioxydante et étude de leurs propriétés biologiques. Doc .Ecole doctorale SESAMES.P239.

114. Naito, H.K.(1984).High-density lipoprotein (HDL) cholestérol. Kaplan A et al. Clinchem the C.V. Mosby Co. St louis. Toronto. Princeto,1207-1213 and 437. Cité par fiche technique SPINREACT, Ref:1001095.
115. Niyah, N.G., Watcho P., Nguelefack T.B., Kamanyi A.(2005).Hypoglycaemic Activity Of The Leaves Of Bersama Engleriana In Rats. Afr J Trad. 2(3): 215-221.
116. Oliveira, H.C. Dos-Santos, M.P. Grigulo, R. Lima, L. Martins, D.T.O. Lima, J.C.S. Stoppiglia, L.F.Lopes,C.F. Kawashita,N.H.( 2008). Antidiabetic activity of valairea macrocarpa extract in rats. Journal of Ethnopharmacology. 111: 515-519.
117. Organisation mondiale de la Santé, (2016). Rapport mondial sur le diabète. Genève, Suisse.
118. Oroudji, M. B. (2005). Corrélations entre les spécificités de mographiques de la Seine-SaintDenis et les difficultés de la mise à l'insuline en ambulatoire des diabétiques de type 2:enquête auprès des médecins généralistes de la Seine-Saint-Denis. Pierre et Marie Curie.
119. Oyaizu, M. (1986). Studies on product of browning reaction from glucose amine, 44: 307- 315.
120. Pan .X, Li .G, Hu .Y, Wang .J, Yang .W, An. Z, et *al.* (1997). Effects of diet and exercise in preventing NIDDM in people with impaired glucose tolerance. The Da Qing IGT and Diabetes Study. Diabetes Care. Apr; 20 (4):537-44.
121. Pedro, L., Campos, P., Pais, M.S. (1990). Morphology, ontogeny and histochemistry of secretory trichomes of Geranium robertianum (Geraniaceae). Nord. J. Bot. 10, 501–509.
122. Pelletier E., Campbell P. G. C., Denizeau F. (2004).Écotoxicologie Moléculaire : Principes Fondamentaux et Perspectives de Développement. Ed. PUQ, Canada. 502p.
123. Pelletier E., Campbell P. G. C., Denizeau F., 2004- Écotoxicologie Moléculaire : Principes Fondamentaux et Perspectives de Développement. Ed. PUQ, Canada. 502p.
124. Perlemuter, L. Hortet, G. & Sélam, J.(2000). Diabète et maladies métaboliques:Masson.
125. Philippe, C.Pascal, F.José, T.(1991). Physiopathologie du diabète non insulino dépendant. médecine/sciences. 7 : 336-45.
126. Pierre M, Lys M. (2007).Secrets des plantes : pour se soigner naturellement, Artémis, France, 153p.
127. Pirson, N. Dominique, M. Orsalia, A. (2016). Prise en charge du diabète gestationnel : une revue de la littérature. Endocrinologie et Nutrition : 661-668 .
128. Popovici,C. Saykova,I. Tylkowski,B. (2009), Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. Revue de génie industriel. 4, 25-39.

129. Punthakee, Z. Goldenberg, R. Katz, P. (2018) Definition, classification and diagnosis of diabetes, prediabetes and metabolic syndrome. Diabetes Canada Clinical Practice Guidelines Expert Committee. Can J Diabetes 42, S10–S15.
130. Randoin L, Simonnet H, Causeret J. (1964). Vitamines. 6 éd, Paris, pp.62-65.
131. Ré, D.B., Nafia, I., Nieoullon, A., Kerkerian, L., Had-Aissouni, L. (2005). Cerebral oxidative stress: are astrocytes vulnerable to low intracellular glutamate concentrations. Consequences for neuronal viability. Annales Françaises d'Anesthésie et de Réanimation, 24. doi: 10.1016/j.annfar.03.004: 502–509P.
132. Ribeiro, J.A., Monteiro, A.M., Silva, M.L.F.(2000). Etnobotânica: plantas bravias, comestíveis, condimentares e medicinais. Azevedo, J. (Ed), 2nd Ed., Artluz: Mirandela, Portugal.
133. Rigalleau, V. Beylot, M. Normand, S. Pachiaudi, C. Laville, M. Petitbois, C. (2003). Mechanism of increased plasma glucose levels after oral glucose ingestion in normal-weight middle-aged subjects. Ann Nutr Metab. 47:186-93.
134. Rigalleau, V. Lang, J. Gin, H. (2007). Étiologie et physiopathologie du diabète de type 2. Endocrinologie-Nutrition. 10:366- 10.
135. Rigat, M., Vallès, J., Iglésias, J., Garnatje, T. (2013). Traditional and alternative natural therapeutic products used in the treatment of respiratory tract infectious diseases in the eastern Catalan Pyrenees (Iberian Peninsula). J. Ethnopharmacol. 148, 411–422.
136. Rorive, M. Letiexhe, M. Scheen, A. Ziegler, O. (2005). Obésité et diabète de type 2. Rev Med Liege. 60: 374-382.
137. Russo-Marie, F. (1998). L'inflammation. Ed. John Libbey Eurotext, Paris, 565P.
138. Salvayre, R., Auge, N., and Nègre-Salvayre, A., (2003). Rôle de l'oxydation dans la genèse et la progression de l'athérosclérose. In L'athérosclérose : Physiopathologie, Diagnostics, Thérapeutiques, Eds. Masson: Paris. 14, pp 269-290.
139. Sanago R. (2006). Le rôle des plantes médicinales en médecine traditionnelle. Université Bamako(Mali): 53.
140. Sathishsekar, D. Subramanian, S. (2005). Antioxidant properties of *Momordica Charantia* (bitter melon) seeds on Streptozotocin induced diabetic rats. Asia Pac J Clin Nutr 14, 153–158.
141. Sayre L.M., Moreira P.I., Smith M.A., Perry G. (2005) Metal ions and oxidative protein modification in neurological disease. Ann Ist Super Sanità. 41(2) : 143-164.
142. Scheen, A. (2001). The insulin sensitivity concept. Diabetes Metab. 27:193–200.

143. Serateyn D., Mouithys-mickala D A. Franck T. Grulke S. Lamy M. Deby C. Deby-dupont G. (2002) .La nature chimique et la réactivité de l'oxygène. Ann Méd Vét. 17(146) : 137-153.
144. Sharma B., Viswanath G., Salunke R., Roy P., 2008. Effects of flavonoid-rich extract from seeds of *Eugenia jambolana* (L.) on carbohydrate and lipid metabolism in diabetic mice. Food Chemistry 110: 697–705.
145. 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. (91).pp171–175.
146. Shulman,G.( 2000).Cellular mechanisms of insulin resistance. , 2:171–6.
147. Slama, G. (2000). Prise en charge du diabète de type 2 non insulino-dépendant. Montrouge, France : J. Libbey Eurotext. Slama, G. (2010). Non, le sucre n'est pas interdit aux patients atteints de diabète sucré. Mutations, 138-153.
148. Solomon, G. Raosaheb,k.Najma,Z,B.(1999).effect of vanadate,insulin and fenugreek (*Trigonella foenum graecum*) on creatine kinase levels in tissues of diabetic rat . indian journal of experimental biology . 37,200-202.
149. Soulère, L., Viodé, C., Périé, J., and Hoffmann, P., (2002). Selective Inhibition of Fe-versus Cu/Zn- Superoxide Dismutases by 2,3-Dihydroxybenzoic Acid Derivatives. Chem. Pharm. Bull. 50:578-582.
150. Spinass, G.A. Lehmann, R. (2001) .Diabète sucré : diagnostic, classification et pathogénese. Abteilung Endokrinologie und Diabetologie. ;20 :519-525.
151. Su . x, Duan .j, Jian . y,Shi . j, et Kakida .y. (2006 ).Effect of soaking condition on the antioxidant potensials of colong tea . Jornal of Foods composition and Analysis .19 .348-353.
152. Summary, E. (2012). Standards of Medical Care in Diabetes. Diabetes Care, 35: S4–10.
153. Sy.GY, Barbosa.FS, Wele.A, Gueye.PM, Gueye.CD, Cisse.A, Dieye.AM, Bassene.E, Faye.B.(2008). Activite anti-hyperglycemiant de la fraction F<sub>2</sub> de l'extrait total acetonique de feuilles de *vernonia colorata* (composeae). Pharmacopée et Médecine Traditionnelle Africaines. 15 : 6 – 10.
154. Sylvain, E. (2004). Activité physique et Santé :Etude comparative de trois villes européennes.Faculté mixte de médecine de pharmacie de Rouen.
155. Sylvia, S.M. (2010).Biologie humaine. Bruxelles: Ed. De Boeck & Larcier s.a.
156. Szkudelski T . (2001) The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas. Physiol Res 50: 537-546.

157. Tazi AM, abir-khalil S, chaouki N, et al. (2003) prevalence of the main cardiovascular risk factors in Morocco :results of a National survey, 2000. *J Hypertens* 21:897-903 .
158. Telli, A. (2017). activités antioxydante, antimicrobienne, antidiabétique de deux espèces spontanées utilisées dans le traitement du diabète dans la région de Ouargla : *Amodaucus leucotrichus* et *Anvillea radiata*. Thèse pour l'obtention du diplôme de doctorat en biologie. Université Kasdi Merbah Ouargla. p 111.
159. Thissen, J.P. Buysschaert, M. (2005). Actualités dans le traitement poly-médicamenteux du diabète sucré de type 2. *Louvain Med.*; 124 : 5-13.
160. Tielmans, A. Laloi-Michelin, M. Coupaye, M. Virally, M. Meas, T. Guillausseau, P.J. (2007). Traitement médicamenteux du diabète de type 2 (première partie). *Diabétologie ; Presse Med.* 36 (2) :69-78.
161. Tofts, R.J., 2004. *Geranium robertianum* L. *J. Ecol.* 92, 537–555.
162. Usha. Ch et Hariswami .D. (2010). Antidiabetic and Antioxidant Activities of *Cinnamomum tamala* Leaf Extracts in Stz-Treated Diabetic Rats . *Global Journal of Biotechnology and Biochemistry* .5 (1) : 12-18 .
163. Valentin, B. Béatrice, M. (2011). Physiopathologie de l'insulinorésistance dans le muscle squelettique et implication des fonctions mitochondriales. *Nutrition clinique et métabolisme*, 25 : 114–130.
164. 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. *Int J Biochem Cell Biol* ; 39:44-84.
165. Valko, M., Rhodes, C. J., Moncol, J., Izakovic, M. and Mazur, M. (2006). "Freeradicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer." *Chem Biol Interact* 160(1): 1-40.
166. Vats, V. Yadav, S.P. Grover, J.K. (2004). Ethanolic extract of *Ocimum sanctum* leaves partially attenuates streptozotocin-induced alterations in glycogen content and carbohydrate metabolism in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 90: 155-160
167. Vertuani, S., Angusti, A., & Manfredini, S. (2004). The antioxidants and proantioxidants network: An overview. *Current Pharmaceutical Design*, 1678p.
168. Wadood, A. Ghufuran, MB. Abar Jamal, S. Naeem, M. Khan, A. Ghaffar, R. & Asnad. (2013). Phytochemical Analysis of Medicinal Plants Occurring in Local Area of Mardan. *Biochem Anal Biochem.* 2 : 1-4.

169. Wang, J., Yang, Z., Lin, L., Zhao, Z., Liu, Z. & Liu, X. (2012). Protective effect of Naringenin against lead-induced oxidative stress in rats. *Biological Trace Element Research*, 146:354–359. doi: 10.1007/s12011-011-9268-6.
170. Wang, L. & Weller, C.L. (2006). Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. *Trends in Food Science and Technology*. 17:300-312.
171. 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.
172. West, I.C. (2000). Radicals and oxidative stress in diabetes .*Diabetic Medicine* 17: 171-180.
173. Yagi,K.(1976). Simple fluorimetric essay for lipoperoxide in blood plasma. *Biochemical. Medicine*. 15, 212-216.
174. You H.J., Kim J.Y., Jeong H.G., 2003- 17 beta-estradiol increases inducible nitric oxide synthase expression in macrophages. *Biochem Biophys Res Commun*. 303 (17): 1129-1134.
175. Young, J. (2016).endocrinologie, diabétologie et maladies métaboliques, collège des enseignants d'endocrinologie, diabétologie et maladies métaboliques, 3<sup>ème</sup> édition.
176. Zidi, S. (2010). Contribution à l'étude de l'effet antidiabétique potentiel d'un extrait aqueux de *Crataegus azarolus* Chez des rats Wistar avec un diabète induit à l'alloxane. Mémoire représenté en vue de l'obtention du diplôme de Magistère en Biochimie Appliquée. Université Badji-Mokhtar Annaba.p33.

# *Annexe*

**ANNEXE 1 : liste des matériels utilise dans notre travail.**

Chlorure d'hydrogène (HCL), réactif de Mayer, réactif de Wagner, chlorure ferrique ( $\text{FeCl}_3$ ), acide sulfurique ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ), eau distillée, liqueur de Fehling, chloroforme, Folin Ciocalteu, carbonate de sodium ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ), acide gallique, trichlorure d'aluminium  $\text{AlCl}_3$ , quercétine, 2,2'-diphényle-1-picrylhydrazyl (DPPH), acide ascorbique, tampon phosphate, ferricyanure de potassium ( $\text{K}_3\text{Fe}$ ), acide trichloroacétique (TCA), alloxane, eau physiologique, glucose, formol, Tris, chlorure de sodium ( $\text{NaCl}$ ), anthrone, acide thiobarbiturique (TBA), Butyl hydroxy toluène (BHT), acide 5,5'-dithiodis-2-nitrobenzoïque (DTNB), méthanol, l'acide salicylique

|                                           |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
|-------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Matériels de laboratoire et les verreries | Bain marie, Balance Analytique , Balance Numérique, Centrifugeuse, Etuve de type lab tech model LIB-060M, Evaporateur rotatif de type rotavapor BUCHI heating bath R-491, pH mètre 210 Meter LAB, Spectrophotomètre de type UV-1240 SHIMADZU, plaque chauffante et agitateur, Réfrigérateur , Bêchers, coton, Entonnoir; Eprouvettes graduées; Erlenmeyers ; Gants; Les cuves; Papier Filtre; Pipette et micropipette (de 1000 $\mu\text{l}$ , de 100 $\mu\text{l}$ et de 10 $\mu\text{l}$ ); Tubes à essais; Tubes d'analyses (tubes héparine), Seringue (5ml). |
|-------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

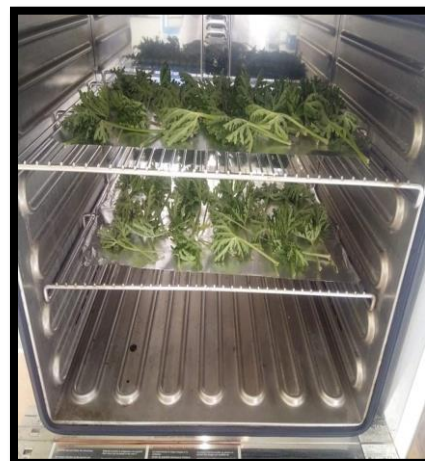
**Annexe 2: Les types des appareils utilisés au cours de l'expérimentation.**



**PH mètre**



**Balance analytique**



**Etuve**



**Spectrophotomètre**



**Centrifugeuse**



**Plaque chauffante et agitateur**



**Evaporateur rotatif**

**Annexe 3 :**



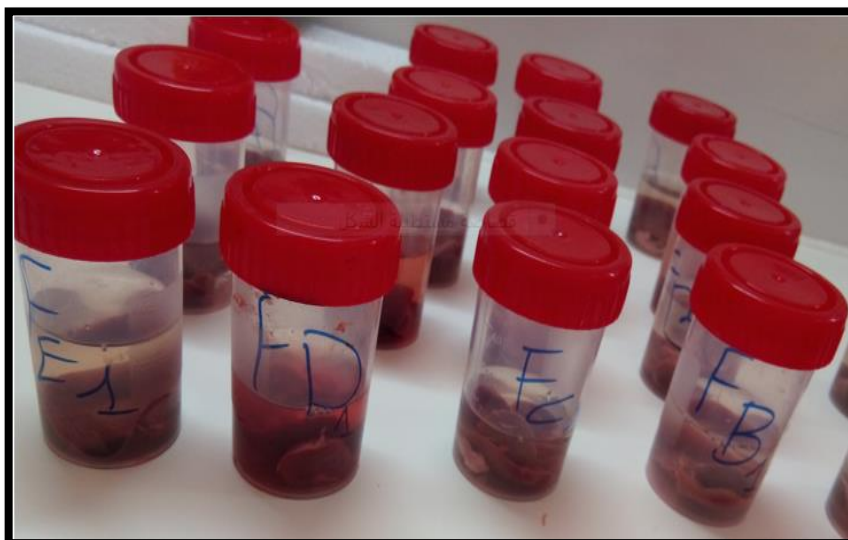
**Figure 01 :** injection intrapéritonéale



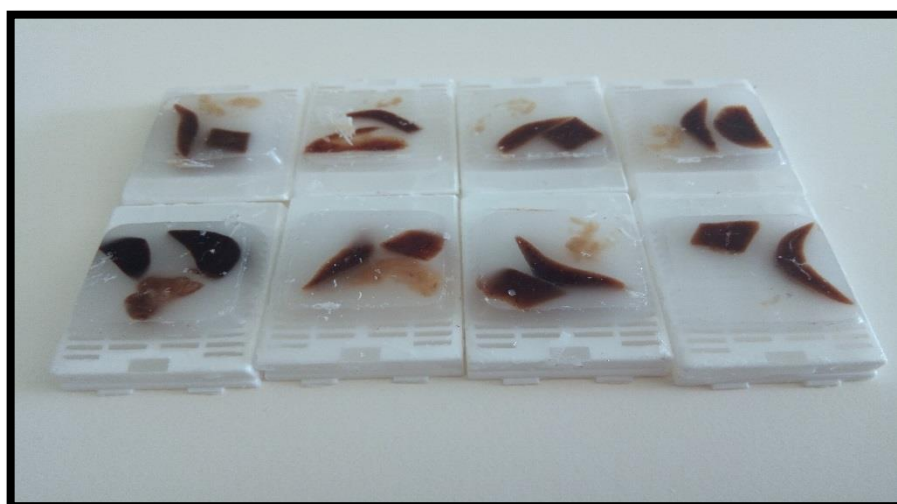
**Figure 02 :** dissection et prélèvement des organes.



**Figure 03 :** préparation de l'homogénats.



**Figure 04 :** les organes des rattes dans le formole



**Figure 05 :** des cassettes de biopsie.

## Annexe 04: Courbe d'étalonnage

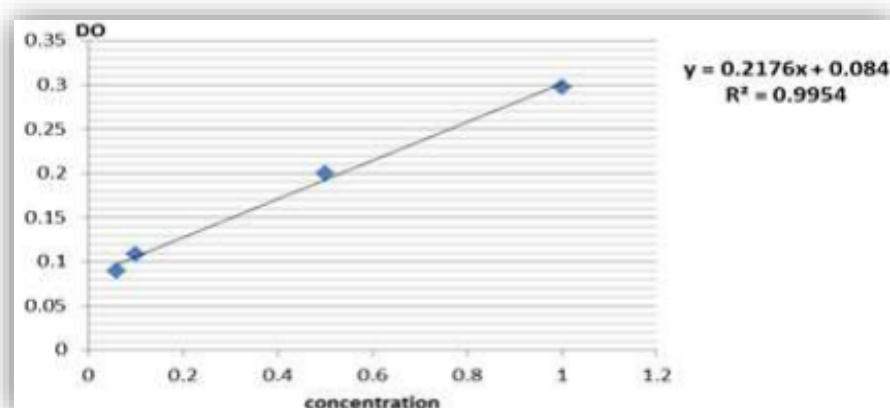


Figure 01 : Courbe d'étalonnage de dosage des polyphénols

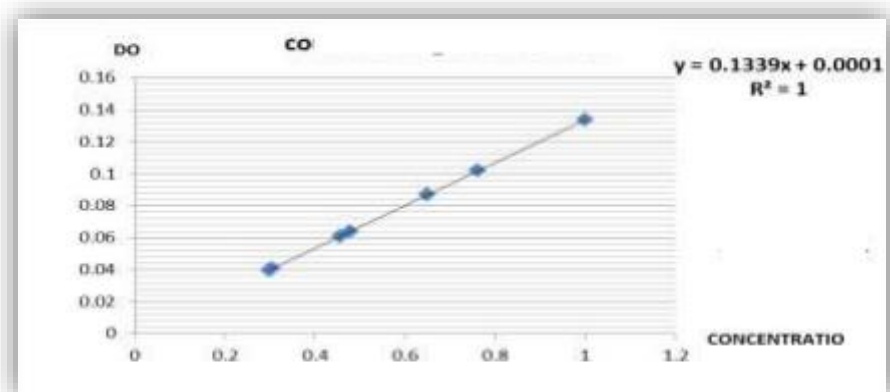


Figure 02 : Courbe d'étalonnage de dosage des flavonoïdes.

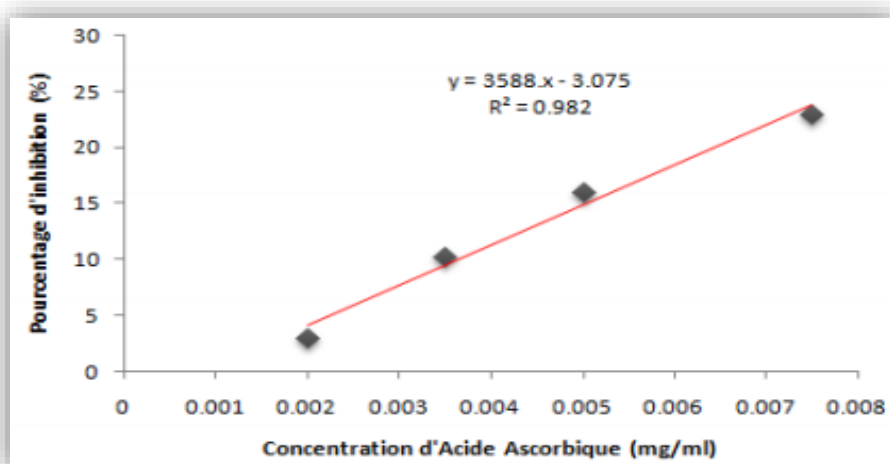
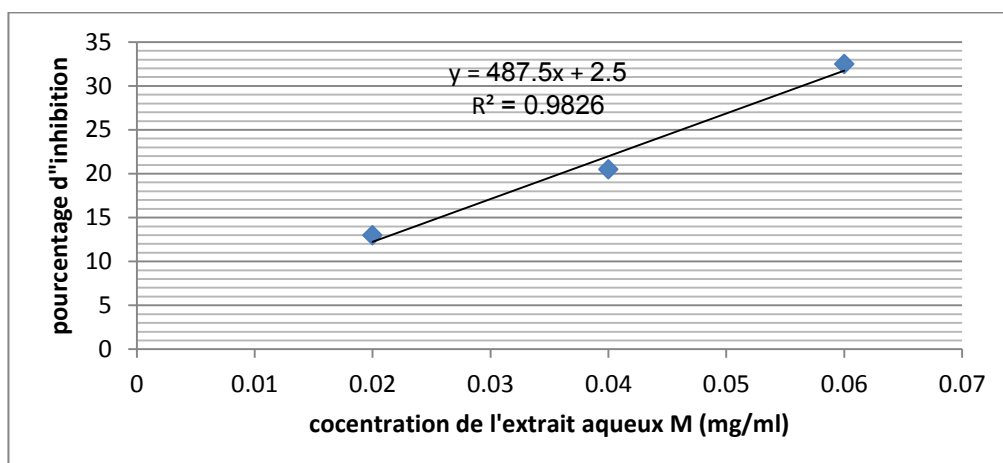
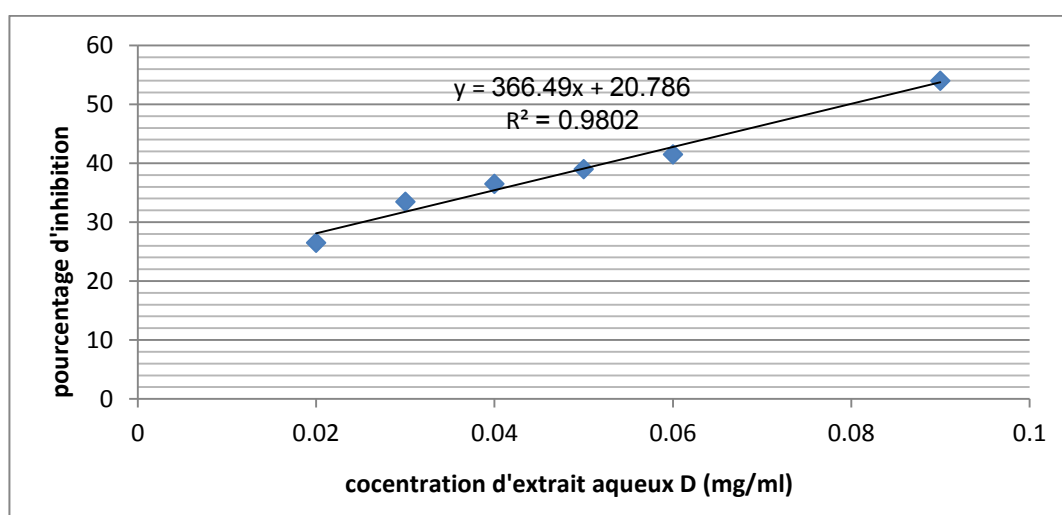


Figure 03 : Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de l'acide ascorbique.



**Figure 04 :** Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations d'extrait aqueux (M) .



**Figure 05 :** Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations d'extrait aqueux (D).