



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

N série:.....

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة الشهيد 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 الخلوية والجزيئية

Département de biologie Cellulaire et Moléculaire

MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

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

Biologiques

Spécialité : Biochimie Appliquée

THEME

**Étude de l'effet de l'extrait de *Portulaca oleracea* et
Aquilaria malaccensis sur l'insulinorésistance chez
les rats Wistar**

Présenté Par :

M^{lle} DEGACHI Ouidad

M^{me} GHERBI Khaoula

Devant le jury composé de :

Présidente : M^{me}. Mahboub N. M.A.A, Université d'El Oued.

Examineur : Mr. Bouali N. M.A.A, Université d'El Oued.

Promoteur : Dr. Derouiche S. M.C.B, Université d'El Oued.

Année universitaire : 2016/2017

Dédicaces

*Louanges à Allah le miséricordieux, le très miséricordieux, qui m'a aidé
tout au long de ma vie, dieu soit loué.*

*Je tiens à dédier ce modeste travail à toutes les personnes qui croient en
moi, qui m'ont soutenu et m'ont toujours aidé :*

*J'aimerais dédier ce travail à deux personnes qui savent déjà que je les dois
énormément.*

*À mon père Hamza et À ma mère Souhila,
J'espère, sera fier de moi.*

*Mes frères Ibtissam, Chouaïb, Abou elkheir, Nour, Rayan, Aya, Barâa,
Les fils de ma sœur Med Taib et Yasser
le source de joie et de bonheur*

*A mon prof Dr Derouiche Samir
qui était toujours d'un grand secours moral, confiance et encouragements
en toutes situations qui m'ont permis d'avancer durant mon master.*

*A mes chers amis: Khawla, Soulaf, Faty, Fatiha, Asma, Ilham, Ouassila
Ils étaient une source d'aide et de confiance*

*Et pour finir, je présente d'avance mes excuses à ceux dont j'aurais oublié de
citer le nom : ma mémoire peut me jouer de tours, mais ceci ne change rien à la
considération que j'ai et que j'aurais toujours pour chacun de vous.*

*À tous ces intervenants, je présente mes remerciements, mon respect et ma
gratitude.*

Ouidad

Dédicaces

Merci Allah (mon dieu) de m'avoir donné la capacité d'écrire et de réfléchir.

La force d'y croire. La patience d'aller jusqu'au bout du rêve.

Je dédie ce modeste travail :

*À mes chers parents **BRAHIM** et **FATMA** qui ont fait beaucoup de sacrifices pour que j'arrive à ce stade de ma vie, que dieu les garde pour moi.*

*Spéciale dédicace à mon mari, **BACHIR** pour son soutien, ses conseils, sa tolérance, sa patience et sa confiance envers moi.*

*Tous mes frères et sœurs, ainsi que leurs enfants
et à toute ma grande et petite famille À tous mes amis et collègues.*

*À mon binôme **WIDAD** et toute la famille **GHERBI** et **MOSTEFAOUI** et **MEISSA**.*

Et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour que ce projet soit possible, je vous dis merci.

Khaoula

Remerciements

C'est grâce à dieu - الله - le tout puissant qui nous donné la volonté et la patience et le courage pour achever ce modeste travail et durant ces longues années d'études. Merci infiniment «Allah» le Tout Puissant pour les nombreuses grâces et les inspirations reçues gratuitement.

Nous voudrions exprimer notre profonde reconnaissance à :

***Dr DEROUICHE Samir** qui est notre guide dans cette recherche. Ses compétences scientifiques, son dévouement total pour la recherche, ses qualités humaines, ses précieux conseils ont été pour nous une source de réconfort et d'encouragement dans la réalisation de ce travail. Qu'il trouve dans ce mémoire la modeste expression de nos reconnaissances et de nos éternelles gratitude.*

*Nous exprimons nos vifs remerciements à **M^{me} MAHBOUB N.** pour l'honneur qu'elle nous a fait en acceptant de présider le jury de ce mémoire malgré ses nombreuses charges. Aussi, nous tenons à exprimer également notre profonde reconnaissance à **Mr BOUALI N.** d'avoir accepté d'examiner notre travail. Nous tenons à lui exprimer notre grand respect.*

On adresse nos sincères remerciements à tout l'ensemble des membres du laboratoire de la faculté des sciences de la nature et de la vie, Université Echahid HAMMA LAKHDAËR, El-oued, en particulièrement Mme Bouchra

*Nos sentiments de reconnaissance et nos remerciements vont également à **Mr TLIBA Ali** ingénieur de laboratoire de la recherche dans l'Institut des sciences et de la technologie (VTRS) pour son aide. Nous le remercions pour sa bienveillance et ces conseils.*

*Nous adressons nos remerciements à tous les membres de laboratoire de l'agronomie de l'université de MED KHUDHER, en particulièrement **M^{lle} LABDI N.***

***Mr MEHDI** technicienne au laboratoire d'analyse et de contrôle de qualité et de conformité «FatiLab »*

***M^{lle} ABBANS.** technicienne au laboratoire d'établissement hospitalier spécialisé DAR AL-OUILADA*

*Un grand merci à toute l'équipe de Pharmacie **AZIZI Ahmad** et Laboratoire d'HEMATOLOGIE **KHALIF Ammar** qui nous accueillir et nous aider*

À tous ces intervenants, nous présentons nos remerciements, nos respects et nos gratitude.

Résumé

L'objectif de la présente étude est d'évaluer l'effet hypoglycémiant, hypolipidémiant et antioxydant de l'extrait de *Portulaca oleracea* (Por) et de *Aquilaria malaccensis* (Aq) chez des rattes insulino-résistantes. Pour cela 27 rattes Wistar Albinos âgées de 10 semaines et pesant de 202 ± 3.12 g ont été utilisées et divisées en six groupes ; le 1^{er} groupe rattes témoins, 2^{ème} groupe rattes insulino-résistantes, 3^{ème} groupe rattes insulino-résistantes traitées par le métformine, 4^{ème} rattes insulino-résistantes traité par l'extrait de Por, 5^{ème} groupe rattes insulino-résistantes traitées par l'extrait d'Aq et le 6^{ème} groupe rattes insulino-résistantes traitées par l'extrait de Por + Aq pendant 5 semaine. L'insulino-résistance est induite par un régime hyper gras (75%) enrichi avec le fructose (32%) pendant 73 jours. Le traitement par les plantes se fait par voie orale avec une dose 400mg/kg de *Portulaca oleracea* et 200mg/kg d'*Aquilaria malaccensis* pendant 3 semaines. Les résultats obtenus dans notre étude montrent que le régime (HG+F) induit un phénotype obèse caractérisé par une perturbation métabolique exprimé par l'hyperglycémie, hyperlipidémie, dysfonction hépatique et rénal, inflammation et un état de stress oxydatif. Ces marqueurs sont des meilleurs indicateurs de l'insulino-résistance. Cependant le traitement par l'extrait méthanolique de *P. oleracea* et/ou *A. malaccensis* a provoqué une diminution du gain de poids corporel ($p < 0.05$, $p < 0.001$), une hypoglycémie (40.11% et 41.20%) et une hypolipidémie ($p < 0.01$) respectivement. Par ailleurs, les résultats obtenus montrent une diminution remarquable de la concentration de l'urée, créatinine, l'activité des transaminases et de la phosphatase alcaline chez les groupes traités par les plantes par rapport au groupe de l'insulino-résistance. D'autre part nos résultats montrent aussi que nos plantes diminuent significativement ($p < 0.05$) le nombre des GB, lymphocytes et de la peroxydation lipidique chez les groupes traités par le régime HG+F. En effet, l'absence d'une variation significative entre l'effet de deux plantes et le metformine sur l'homéostasie glucidique et lipidique chez les rattes insulino-résistantes montre que nos plantes possèdent une activité pharmacologique comparable à l'effet du médicament. En conclusion, la présente étude montre que l'extrait méthanolique de *P. oleracea* et/ou *A. malaccensis* sont des systèmes thérapeutiques efficaces contre l'hyperglycémie, l'hyperlipidémie et le stress oxydatif ce qui permet de limiter le développement des maladies comme le diabète et ses complications.

Mots clé : *Portulaca oleracea*, *Aquilaria malaccensis*, Insulino-résistance, Fructose, ratte Wistar

الملخص

الهدف من هذه الدراسة هو تقييم التأثير الخافض للسكر و الدهون والفعالية المضادة للاكسدة لمستخلص أوراق نبات الرجلـة *Portulaca oleracea* (Por) ولحاء ساق نبات العود *Aquilaria malaccensis* (Aq) لدى فئران مقاومة للأنسولين، من اجل ذلك استعملنا 27 أنثى فأر من جنس الـويستار بعمر 10 اسابيع و تزن 202 ± 3.12 غ تم تقسيمها الى 6 مجموعات: الاولى مجموعة شاهدة تستهلك نظام غذائي قياسي، الثانية مقاومة للأنسولين بدون معالجة، الثالثة مقاومة للأنسولين معالجة بدواء الميتفورمين، الرابعة مقاومة للأنسولين معالجة بمستخلص نبات الرجلـة، الخامسة مقاومة للأنسولين معالجة بمستخلص نبات العود، السادسة مقاومة للأنسولين معالجة بمستخلص نباتي الرجلـة والعود لمدة 5 أسابيع، المقاومة للأنسولين حرضت عن طريق نظام غذائي عالي السعرات الحرارية (75%) غني بالفريكتوز (32%) لمدة 73 يوم. المعالجة بالمستخلص النباتي تكون عن طريق الفم بتركيز 400مغ/كـلغ لنبات الرجلـة و 200مغ/كـلغ لنبات العود لمدة 3 أسابيع. النتائج المتحصل عليها من هذه الدراسة أظهرت بوضوح أن حماية (HG-F) تسبب نمط ظاهري سمين يتميز بارتفاع في تركيز السكر في الدم، الدهون في الدم والأنسجة، اختلال في عمل الكبد والكلية، تدهور في حالة النظام المناعي و التوتر التأكسدي. هذه العلامات هي أفضل مؤشر لمقاومة الأنسولين. من جهة أخرى، المعالجة بواسطة المستخلص الميثانولي لنبات الرجلـة أو/مع نبات العود أدت إلى خفض معدل الزيادة في الوزن ($p < 0.05$, $p < 0.001$)، خفض نسبة السكر (40.11%, 41.20%) والدهون في الدم ($p < 0.01$) على التوالي. من جهة اخرى، وأظهرت النتائج التي تم الحصول عليها انخفاضاً ملحوظاً في تركيز اليوريا والكرياتينين و نشاطية ناقلات الأمين والفوسفاتاز القلوي في المجموعات المعالجة من قبل النباتات مقارنة بالمجموعة المقاومة للانسولين . وعلاوة على ذلك تظهر نتائجنا أيضاً أن النباتات تؤدي خفض في عدد الكريات البيضاء ($P < 0.05$)، الخلايا اللمفاوية وبيروكسيد الدهون في المجموعات الخاضعة لحماية HG-F، في الواقع لم نلمس وجود تباين فيما يخص تأثير المستخلص لنبات الرجلـة والعود مقارنة مع تأثير دواء الميتفورمين على التوازن السكري والدهني، مما يدل على أن نبات الرجلـة والعود يمتلكان نشاط خافض للسكر والدهون ينافس تأثير الأدوية. في الختام، تبين هذه الدراسة أن مستخلص الميثانول لكل من نبات الرجلـة و/أو العود، أنظمة علاجية فعالة ضد ارتفاع مستوى السكر والدهون والاكسدة التي يمكن أن تحد من تطور أمراض مثل مرض السكري ومضاعفاته.

الكلمات المفتاحية : نبات الرجلـة، نبات العود، مقاومة الأنسولين، فريكتوز، فئران ويستار

LISTE DES FIGURS

Numéro	Titre	Page
1	Structure primaire d'insuline humaine	03
2	Mécanisme de sécrétion d'insuline	04
3	Mécanisme de la signalisation à l'insuline	05
4	Evolution de l'insulinorésistance	08
5	Glucotoxicité et lipotoxicité	10
6	Rôle des acides gras dans la régulation de la néoglucogenèse hépatique	11
7	Schéma des différentes parties de <i>Portulaca oleracea</i>	13
8	Feuilles <i>Portulaca oleracea</i>	14
9	(A) Fleur d' <i>Aquilaria</i> (B) Feuilles d' <i>Aquilaria</i>	16
10	Formation de bois d'agar dans l' <i>A. Malaccensis</i>	17
11	A) <i>Portulaca oleracea</i> et B) <i>Aquilaria malaccensis</i>	20
12	Schéma récapitulatif du protocole expérimental de l'étude	23
13	Chromatogramme de polyphénole pour l'extrait méthanolique de <i>Portulaca oleracea</i> et l' <i>Aquilaria malaccensis</i>	36
14	Chromatogramme de flavonoïdes pour l'extrait méthanolique de <i>Portulaca oleracea</i> et l' <i>Aquilaria malaccensis</i>	37
15	Concentration de triglycérides TG (g/g tissu) et cholestérol CL (g/g tissu) dans les tissus adipeux et le foie chez le groupe témoin et les groupes traités	39
16	Variation de nombre des globules blanc, lymphocytes, Monocyte et granulocytes chez le groupe témoin et les groupes traité.	40
17	Variation de la glycémie chez le groupe témoin et les groupes traités. Comparaison avec le groupe témoin	41
18	Concentration plasmatique de triglycérides, cholestérol, HDL et LDL chez le groupe témoin et les groupes traité	42
19	Concentration plasmatique de Créatinine, Urée et l'Acide urique chez le groupe témoin et les groupes traité.	43
20	Concentration plasmatique de Protéine totale, activité des transaminases chez le groupe témoin et les groupes traité	44
21	Taux de la peroxydation lipidique dans le foie, reins, cœur et le pancréas chez le groupe témoin et les groupes traités	45

22	Courbe d'étalonnage utilisée (BSA 1mg/ml) pour le dosage des protéines tissulaire	83
23	Courbe d'étalonnage de Quercétine pour le dosage des flavonoïdes.	83
24	Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux.	84
25	Chromatogramme d'étalonnage pour les polyphénols.	84
26	Chromatogramme d'étalonnage pour les flavonoïdes	85

LISTE DES TABLEAUX

Numéro	Titre	Page
1	Composition de régime standard	21
2	Pourcentage de lipides et protéine dans l'alimentation	21
3	Rendement de différents méthode d'extraction	25
4	Tests photochimiques de l'extrait aqueux de <i>P. oleracea</i> et d' <i>A. malaccensis</i> .	35
5	Contenu en polyphénols et flavonoïdes de l'extrait aqueux de <i>P. oleracea</i> et d' <i>A. malaccensis</i>	36
6	Analyse quantitative en flavonoïdes de l'extrait méthanolique de <i>Portulaca oleracea</i> et <i>A. malaccensis</i>	37
7	Poids initiale, Gain du poids et poids relatif des organes des rats.	38

LISTE DES ABRÉVIATIONS

AGL : Acide gras libre
ALAT : Alanine amino transférase
AMPc : L'adénosine monophosphate cyclique
ASAT : Aspartateamino transférase
ATP : Adénosine-Triphosphate
Ca MK-2 : protéine kinase dépendante de la calmoduline
Ca⁺⁺: Calcium
CL : Cholestérol
DT2 : Diabète de type 2
FAL : Phosphatase alcaline
HDL : Lipoprotéines haute densité
HG-F : Régime hyper gras enrichi en fructose
HMG-CoA : Hydroxyméthylglutaryl-CoA réductase
HPLC : Chromatographie en phase liquide à haute performance
IL : Nicotinamide adénine dinucléotide
IL-6 : Interleukine-6
IMC : Indice de la masse corporelle
IR : Insulinorésistance
IRS : Insulin receptor substrat 1
K⁺: Potassium
LDL : Lipoprotéines de densité légère
LPL : Lipoprotéine lipase
MAPK : Protein kinases active par des agent mitogène
MDA : Malondialdéhyde
Met : Metformine
NADH : Nicotinamide adénine dinucléotide
NEFA : Acides gras non estérifiés
NO : Oxyde nitrique
OMS : Organisation Mondiale de la Santé
PAL : Phosphatase alcalin
PDK-1 : Phosphoinositide-dependent kinase-1
PI3K : phosphatidylinositol 3 kinase
PKC : Protein kinase C

PTPases : Tyrosines phosphatases

ROS : Espèces réactives de l'oxygène

SH-2 : Src-homology-2

TA : Tissu Adipeux

TG : Triglycerides

TNF- α : Facteur de nécrose tumorale α

UICN : Union Internationale pour la Conservation de la Nature

VLDL : Lipoprotéine à très faible densité

SOMMAIRE

Titre	
Introduction général	
PREMIÈRE PARTIE : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE	
CHAPITRE I : Insulinorésistance	
1. Insuline	3
1.1. Structure et synthèse d'insuline	3
1.2. Sécrétion	4
1.3. Récepteurs et Signalisation	5
1.4. L'action d'insuline	7
2. Physiopathologie de l'insulino-résistance	8
2.1. Définition	8
2.2. Mécanismes moléculaires à l'origine de l'insulino-résistance	9
2.3. Glucotoxicité et Lipotoxicité	9
2.3.1. Glucotoxicité	9
2.3.1. Lipotoxicité	10
2.4. L'approche nutritionnelle et la résistance à l'insuline	11
2.4.1. Régime riche en graisses et en sucres	11
2.4.2. Régime riche en fructose	12
CHAPITRE II : <i>Portulaca oleracea</i> et <i>Aquilaria malaccensis</i>	
II. <i>Portulaca oleracea</i> et <i>Aquilaria malaccensis</i>	13
1. <i>Portulaca oleracea</i>	13
1.1. Description et caractéristique	13
1.2. Classification de <i>Portulaca oleracea</i>	14
1.3. Composition chimique de <i>Portulaca oleracea</i>	14
1.4. L'utilisation de <i>Portulaca oleracea</i> en médecine traditionnelle	15
2. <i>Aquilaria malaccensis</i>	16
2.1. Description et caractéristique	16
2.2. Classification	17
2.3. Composition chimique	18
2.4. Utilisation traditionnelles et pharmacologique	18

DEUXIEME PARTIE : PARTIE PRATIQUE	
CHAPITRE I : Matériel et Méthodes	
1. Matériel	20
1.1. Matériel végétal	20
1.2. Matériel animal	20
1.2.1. Animaux et conditions d'élevage	20
1.2.2. Intervention diététique	21
1.2.3. Traitement des animaux	22
1.2.4. Sacrifice et préparation des prélèvements	22
1.3. Réactifs et produits utilisés	24
2. Méthodes	24
2.1. Méthode de préparation de l'extrait aqueux	24
2.2. Screening chimique	25
2.3. Dosage des polyphénols totaux	26
2.4. Dosage des flavonoïdes totaux	26
2.5. Méthode d'analyse chromatographique par HPLC	27
2.6. Méthode de dosage des protéines brutes	27
2.7. Dosage des lipides totaux	28
2.8. Dosage des paramètres hématologiques	29
2.9. Principe de dosage des paramètres biochimiques sériques	29
2.9.1. Dosage de triglycérides	29
2.9.2. Dosage de cholestérols	29
2.9.3. Dosage de l'HDL	30
2.9.4. Dosage de l'urée	30
2.9.5. Dosage de créatinine	30
2.9.6. Dosage d'acide urique	31
2.9.7. Dosage de la phosphatase alcaline<	31
2.9.8. Dosage d'alanine amino transférase TGP	31
2.9.9. Dosage d'aspartate amino transférase GOT	32
2.9.10. Dosage de protéine sérique totale	32
2.10. Méthode de dosage des paramètres biochimique tissulaires	32
2.10.1. Préparation de l'homogénat des organes	32
2.10.2. Dosage des protéines tissulaires	32
2.10.3. Méthode de dosage des lipides au niveau du tissu adipeux	33

2.10.4. Méthode de dosage des Malondialdéhyde (MDA) tissulaires	34
CHAPITRE II : Résultats et discussion	
I. Résultats	35
1-Étude phytochimique	35
2-Teneur en Polyphénols et flavonoïdes	35
3-L'analyse chromatographique en phase liquide à haute pression	36
4-Evaluation de la croissance corporelle et le poids relatif des organes	38
5-Profil lipidiques tissulaire	38
6-Evaluation des paramètres hématologiques	40
7-Evaluation de la glycémique et le profil lipidique plasmatique	41
8-Evaluation de bilan rénal	43
9-Evaluation de bilan hépatique	44
10-Mesure du taux de peroxydation lipidique	45
II. Discussion	46
1. Teneur phytochimique de <i>Portulaca oleracea</i> et de l' <i>Aquilaria malaccensis</i>	46
2. Effet de régime Hyper-gras enrichi en fructose (HG-F)	47
3. Effet de <i>Portulaca oleracea</i> et/ou l' <i>Aquilaria malaccensis</i> sur le profil lipidique sériques et tissulaires et la Glycémie	48
4. Effet de <i>Portulaca oleracea</i> et/ou l' <i>Aquilaria malaccensis</i> sur l'amélioration de la fonction hépatique	53
5. Effet de <i>Portulaca oleracea</i> et/ou l' <i>Aquilaria malaccensis</i> sur les paramètres hématologiques	54
6. Effet de <i>Portulaca oleracea</i> et/ou l' <i>Aquilaria malaccensis</i> sur la fonction rénal	56
7. Effet de <i>Portulaca oleracea</i> et/ou l' <i>Aquilaria malaccensis</i> sur la peroxydation lipidique	57
Conclusion	60
Références bibliographiques	62
Annexes	83

La résistance à l'insuline est une caractéristique commune des maladies métaboliques et représente la cause principale de diabète de type 2 (DT2). La prévalence du diabète de type 2 dans le monde est extrêmement élevée (8,8% de la population mondiale) et se développe rapidement. En 2015, DT2 a tué environ 5 millions de personnes (Bruna et *al.*, 2017), l'état pré diabétique précédant le DT2 est caractérisé par l'obésité, la résistance à l'insuline et comme cela a été démontré au cours de la dernière décennie, une inflammation chronique de faible intensité (Kenny et *al.*, 2017), se manifeste par une augmentation progressive de l'insulinémie due à un défaut de la signalisation par l'insuline dans les organes métaboliques cibles, comme le foie, les muscles et tissu adipeux (Dali-Youcef, 2015). La résistance à l'insuline peut être largement définie comme une réactivité cellulaire réduite à l'insuline, caractérisée par des niveaux d'insuline plus élevés nécessaires pour maintenir les taux de glucose dans la périphérie (Cheke et *al.*, 2017).

Un apport alimentaire équilibré en macronutriments (glucides, lipides et protéines), ainsi qu'en micronutriments (minéraux et vitamines) est indispensable en permanence pour maintenir les fonctions vitales de l'organisme. Par contre, un déséquilibre alimentaire constitue un facteur de risque majeur de nombreuses pathologies telles que les maladies cardiovasculaires, le diabète et l'obésité (Gomez-Smith et *al.*, 2016). L'utilisation de modèles animaux se rapprochant au mieux de la pathologie humaine est nécessaire pour comprendre les mécanismes mis en jeu dans l'obésité et le diabète. Les changements dans la composition diététique associée à la Diète Occidentale peuvent être à la base des altérations biochimiques qui favorisent la perturbation du métabolisme (Schwarz et *al.*, 2015). Des études épidémiologiques et expérimentales suggèrent que la consommation d'édulcorants caloriques contenant du fructose peut provoquer une homéostasie du glucose altérée et principalement attribuable à l'augmentation de la consommation totale d'énergie et à l'adiposité corporelle secondaire à la consommation d'aliments et de boissons sucrés à forte teneur en énergie et hautement appréciables (Despland et *al.*, 2017). Les rats nourris avec un régime Cafétéria et un régime à forte teneur en fructose forment un modèle de résistance à l'insuline induite par le régime, (Ramesh et *al.*, 2013; Fueger et *al.*, 2011). En outre, l'administration de fructose et aussi le régime cafeteria peut déclencher la production des radicaux libres, diminuent l'état antioxydant (Kun-Ning et *al.*, 2013), provoquent une peroxydation lipidique membranaire et dommage oxydatif des protéines intracellulaires et de l'ADN. Le stress oxydatif est un mécanisme pathogène important du syndrome métabolique associé à l'insulino-résistance et joue un rôle crucial dans la pathogenèse de diverses maladies (Monzo et *al.*, 2017 ; Kun-Ning et *al.*, 2013). Le traitement actuel en particulier avec la

metformine ne traite pas adéquatement de la question de la résistance à l'insuline. Par conséquent, il est nécessaire de rechercher de nouveaux agents avec une meilleure efficacité et des effets secondaires minimes (Ramesh et *al.*, 2013).

Depuis l'Antiquité, des herbes et des plantes ont été utilisées comme médicaments pour de nombreuses maladies, ils sont encore la base d'un système de médecine traditionnelle dans différentes cultures (Yen-Chen et *al.*, 2017). Parmi ces plantes médicinales on a la *Portulaca oleracea* qui est une légume traditionnel très utilisée par les peuples indigènes et tribaux dans de nombreux pays (Gunasekaran et *al.*, 2014). Il est connu de contenir de nombreux composés biologiquement actifs et il est également rapporté comme source de nombreux suppléments nutritionnels (Agyare et *al.*, 2015). Cette plante est considérée comme une "panacée globale", car elle exerce une large gamme d'effets pharmacologiques, y compris antibactériens, antioxydants, anti-âge, anti-hypoxie, hypoglycémique, anti-inflammatoire (Wang et *al.*, 2016). D'autre part l'*Aquilaria malaccensis* est une espèce de plantes tropicales de la famille des Thymelaeaceae (Ahmad et *al.*, 2016), est l'une des principales sources de bois d'agar, un bois résineux hautement commercial et extrêmement chers en raison du faible rendement pendant l'extraction qui prend beaucoup de temps à se développer et à former le bois résineux sur une induction appropriée (Chai et *al.*, 2016). L'utilisation médicale traditionnelle des matériaux végétaux en bois d'agar fourni des indices sur leurs propriétés pharmacologiques. En effet, le bois d'agar contient plusieurs composés bioactifs qui supportent maintenant élégamment leur utilisation en médecine traditionnelle (Zuhanis et *al.*, 2016).

L'objectif de la présente étude est d'évaluer l'effet hypoglycémiant, hypolipidémiant et antioxydant des extraits méthanoliques des feuilles de *Portulaca oleracea* et de l'écorce du tronc d'*Aquilaria malaccensis* chez des rattes à l'insulino-résistance induite par un régime hyper gras enrichi en fructose.

PREMIÈRE PARTIE

SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I

Insulinorésistance

1. L'INSULINO-RESISTANCE

1. Insuline

1.1. Structure et synthèse d'insuline

L'insuline a été identifiée au début des années 1920 comme la principale hormone hypoglycémiante (Sudhesh et Stephen., 2005), est plus qu'un messenger endocrinien pour la transition de jeûné - au métabolisme -state nourris ; il est en effet un régulateur requis dans tous les états physiologiques (Brunt et *al.*, 2017). Son utilisation a commencé en 1922 (Buch, 2010).

Leur structure comprenant 2 chaînes polypeptidiques A (avec 21 résidus d'acides aminés) et B (avec 30 résidus d'acides aminés). Les chaînes A et B sont liées par des ponts disulfures. En outre, la chaîne A contient un pont disulfure intra-chaîne reliant les résidus 6 et 11) (Shashank et *al.*, 2007) La localisation chromosomique du gène de l'insuline humaine est mise en correspondance 11p15 et la traduction primaire donne la préproinsuline, par l'élimination de son peptide signal traité par des protéases, lors de l'insertion dans les citernes du réticulum endoplasmique, pro-insuline est généré (figure 01) (Szablewski, 2011). L'insuline mature est synthétisée dans le réticulum endoplasmique, transportée à travers la voie sécrétoire, puis stocké dans deux pools de granules fonctionnellement distincts: le pool de réserve et le pool facilement libérable, à partir duquel l'insuline est libérée de manière bi-phasique lors de la stimulation avec du glucose (Pottekat et *al.*, 2013).

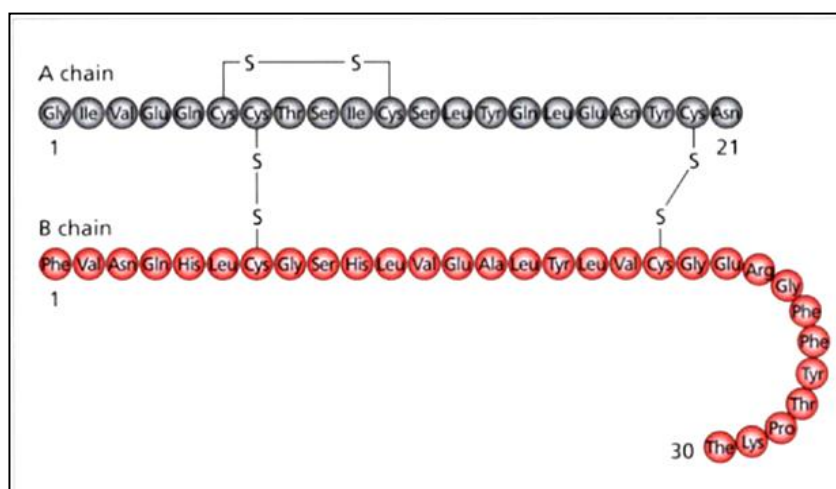


Figure 01 : Structure primaire d'insuline humain (Andrew, 2008)

Le monomère d'insuline est organisé sous forme de structure globulaire dont le centre est constitué d'un noyau hydrophobe, la forme monomérique est la forme active de la protéine (Derouiche et *al.*, 2017). Dans les vésicules de sécrétions intra-cytoplasmiques, les monomères d'insuline s'assemblent en dimères, puis en hexamères. Les hexamères complexent chacun deux atomes de zinc et s'empilent pour former une structure quasi-cristalline (Leverve, 2001), l'insuline n'utilise pas de protéines porteuses plasmatique et sa demi-vie plasmatique est-elle d'environ 10 minutes) Pottekat et *al.*, 2013).

1.2.Sécrétion

Les agents stimulant la sécrétion d'insuline peuvent être classés en deux catégories, les stimuli primaires, le glucose qui déclenche à eux seuls la sécrétion d'insuline. Les stimuli secondaires amplifient la réponse aux stimuli primaires mais ne peuvent agir seuls, ils sont hormonaux ou proviennent du système nerveux parasympathique (Judi et *al.*, 2010). En conditions physiologiques, les modifications de la glycémie entraînent une réponse proportionnelle de la sécrétion d'insuline. Le glucose entre dans les cellules du pancréas par les transporteurs du glucose GLUT2 qui permettent un transport proportionnel à la glycémie plasmatique (Christiane, 2005).

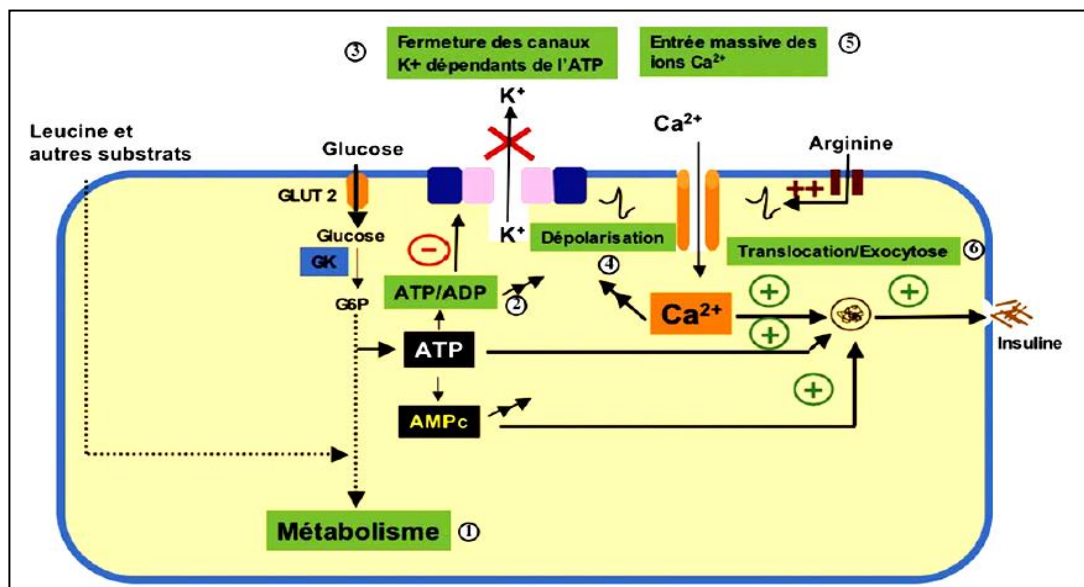


Figure 02 : Mécanisme de sécrétion d'insuline (Magnan et Ktorza, 2005).

L'ATP produit par le catabolisme du glucose provoque la fermeture des canaux K^+ ATP-dépendants puis la diminution du flux sortant de K^+ induit une dépolarisation membranaire qui provoque l'ouverture des canaux Ca^{++} voltage-dépendants et le Ca^{++} agit via une protéine kinase dépendante de la calmoduline (Ca MK-2) qui phosphoryle les protéines du cytosquelette. Ce qui entraîne l'exocytose des vésicules sécrétoires (Magnan & Ktorza, 2005) (Szablewski., 2011).

La sécrétion d'insuline se produit suivant un cours à temps bi-phasique. Le taux de sécrétion accélère d'abord nettement avant de ralentir, puis il est suivi par une augmentation progressive de la libération d'insuline jusqu'à une valeur d'équilibre qui caractérise, (Andrew, 2008). La première phase dû à l'exocytose des vésicules de sécrétion liées à la membrane plasmique par voie K^+ ATP-dépendants, bloquer rapidement la production de glucose par le foie et sensibiliser les tissus cibles à l'effet de l'insuline et la deuxième phase dû à celle des vésicules présentes dans le cytoplasme (Szablewski, 2011).

1.3.Récepteurs et Signalisation

Les effets métaboliques de l'insuline résultent de la liaison de l'hormone à un récepteur spécifique, présents à la surface de toutes les cellules du corps (Siddle, 2011). Ce récepteur transmembranaire est un hétéro-dimère α - β appartenant à la famille des récepteurs tyrosines-kinases. Il est composé de deux sous-unités α (entièrement extracellulaires et contiennent des domaines de liaison à l'insuline) liées aux deux sous-unités β (domaine catalytique) par des ponts disulfure (Leverve et *al.*, 2001).

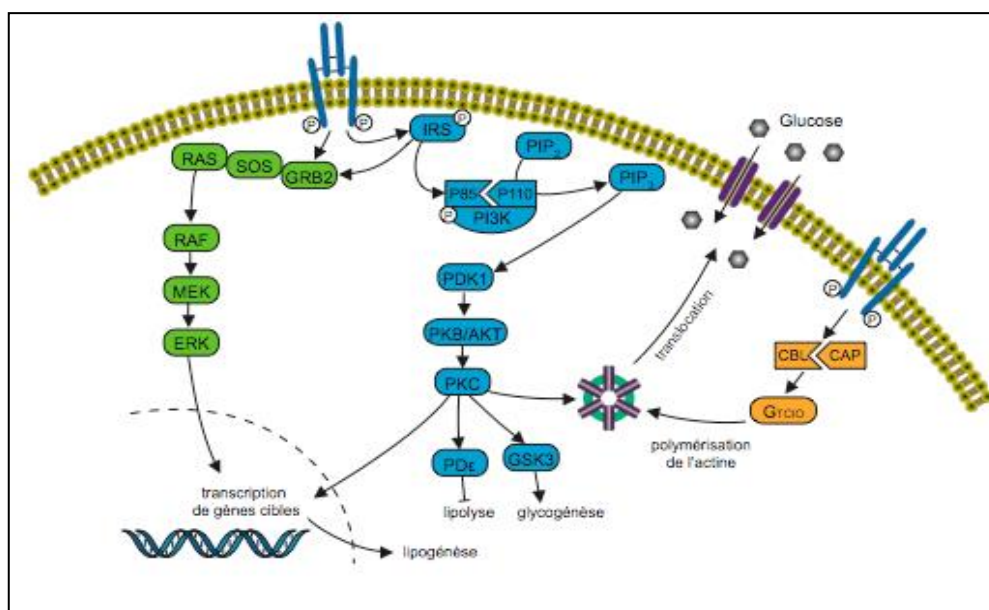


Figure 03 : Mécanisme de la signalisation à l'insuline (Leverve, 2001).

La liaison de l'insuline à son récepteur induit des modifications conformationnelles des sous-unités α et β , qui permettent l'accès au site catalytique et la trans-phosphorylation des résidus tyrosines des sous-unités β et la phosphorylation de plusieurs autres protéines substrats. (Whittaker et *al.*, 2008). La première protéine phosphorylée c'est IRS (insulin receptor substrat 1), ce qui à son tour recrutent des molécules contenant des domaines SH-2 (Src-homology-2) comme la phosphatidylinositol 3 kinase (Stephan, 2016).

PI3K est le principal élément des actions métaboliques dépendantes de l'insuline. La sous unité régulatrice p85 de PI3K lie les résidus tyrosine phosphorylés des IRS, ce qui entraîne l'augmentation de l'activité catalytique de la sous-unité p110, et recrute les kinases PDK-1, PKB/Akt et PKC (Christiane, 2005), le PKC impliquées dans différentes réponses liées à l'insuline telles que la translocation des GLUT4 vers la membrane plasmique, la synthèse de glycogène *via* la phosphorylation de la Glycogène synthétase kinase-3 et la lipogenèse (figure 03) (Leverve, 2001).

La voie de signalisation à l'insuline impliquant la MAPK conduit à l'expression de gènes impliqués dans la différenciation et la prolifération cellulaires (Stephan, 2016). Après phosphorylation des IRS, les protéines GRB-2, SOS sont recrutées pour activer Ras, protéine intermédiaire de la cascade de phosphorylation permettant le recrutement de ERK (Extracellular signal-regulated kinase) et in fine la phosphorylation de facteurs de transcription activant ainsi l'expression de différents gènes (Rains & Jain., 2011).

Une troisième voie est également impliquée dans l'action de l'insuline sur la captation du glucose. Elle met en jeu la phosphorylation de la protéine CBL, associée à une protéine adaptatrice CAP (Cbl-associated protein) permet l'activation de la protéine GTC10 qui fait la polymérisation de l'actine et participe à la translocation des GLUT4 vers la membrane plasmique (Thomas et *al.*, 2017).

Enfin, la régulation de l'action de l'insuline passe par la dégradation de l'insuline : le complexe ligand-récepteur est internalisé et transporté vers les lysosomes où l'insuline est dégradée et les récepteurs sont recyclés (Rains & Jain, 2011).

1.4.L'action d'insuline

L'insuline libérée dans la veine pancréatique qui rejoint le veine port. Le foie est donc le premier organe traversé, à juste titre, car il le premier organe cible de l'hormone (Christiane, 2005).L'insuline a deux classes d'action; 1) excitateur stimuler l'absorption du glucose et la synthèse des lipides; 2) inhibiteur par exemple l'inhibition de la lipolyse, la protéolyse, la glycogénolyse, la gluconéogenèse et la cétogenèse (Sonksen et *al.*, 2000).

L'insuline permet de contrôler la glycémie postprandiale de trois façons (Saltiel & Jeffrey, 2007):

- ✓ elle agit sur le foie pour favoriser glycogénèse
- ✓ cette hormone inhibe simultanément la sécrétion de glucagon pancréatique des cellules, signalant ainsi le foie d'arrêter la production de glucose par glycogénolyse et la néoglucogénèse,
- ✓ il signale les cellules des tissus périphériques sensibles à l'insuline, principalement musculaire et squelettique adipocytes, pour augmenter leur absorption du glucose,

❖ L'effet sur le métabolisme des lipides

Dans le tissu adipeux ; elle accélère l'entrée du glucose dans l'adipocyte grâce au GLUT4 et accélère la glycolyse qui produit le glycérol-3-phosphate et l'ATP, elle induit la synthèse adipocytaire de la lipoprotéine lipase l'enzyme est ensuite transloqué à la surface de l'endothélium capillaire et augmentant l'apport en acides gras (Massin et *al.*, 2014). Par ailleurs, l'insuline freine la lipolyse. Le triglycéride lipase hormonosensible est sous la dépendance du glucagon et de l'adrénaline qui agissent par l'intermédiaire de l'AMPc. La voie PDK/PKB active une AMPc-phosphodiesterase qui hydrolyse l'AMPc (Buch, 2010).

Dans le foie ; l'insuline accélère la synthèse du cholestérol. L'insuline maintient sous forme active (déphosphorylée) l'HMG-CoA réductase, elle agit de 2 façons d'une part via la voie MAPK et la voie PDK/PKB, en inactivant l'AMPc-phosphodiesterase qui hydrolyse l'AMPc.

Dans les muscles; l'insuline favorise l'entrée des acides aminés dans la cellule et la synthèse protéique (Wiernsperger & Bouskela, 2009).

2. Physiopathologie de l'insulino-résistance

2.1.Définition

S'appuyant sur le concept original d'Himsworth, Berson et Yalow ont ensuite défini la résistance à l'insuline comme suit : «Un état dans lequel des quantités supérieures à la normale d'insuline sont nécessaires pour faire une réponse quantitativement normale» (Andrew, 2008), est généralement prise pour signifier une diminution de la capacité de l'insuline à stimuler le transport du glucose et de leur utilisation. Il est un problème majeur associé à un DT2 et augmente rapidement dans le monde entier (Szablewski, 2011), les dernières études, la variabilité de l'insulinorésistance dépend à 50 % du style de vie (Jörg et Michalis, 2011), leur évolution se caractérise par trois stades successifs (figure 4);

- 1) Une insulinorésistance initiale qui conduit à l'hyperinsulinémie sans modification de la glycémie.
- 2) Une élévation de la production hépatique de glucose
- 3) Un déficit de sécrétion d'insuline, l'insulinopénie, plus tardif, qui conduit à la nécessité d'entreprendre une insulinothérapie (Wiernsperger & Bouskela, 2009)

et ses conséquences clés incluent une capacité altérée de l'insuline à supprimer la production de glucose hépatique et stimuler l'élimination du glucose périphérique (Godsland, 2010).

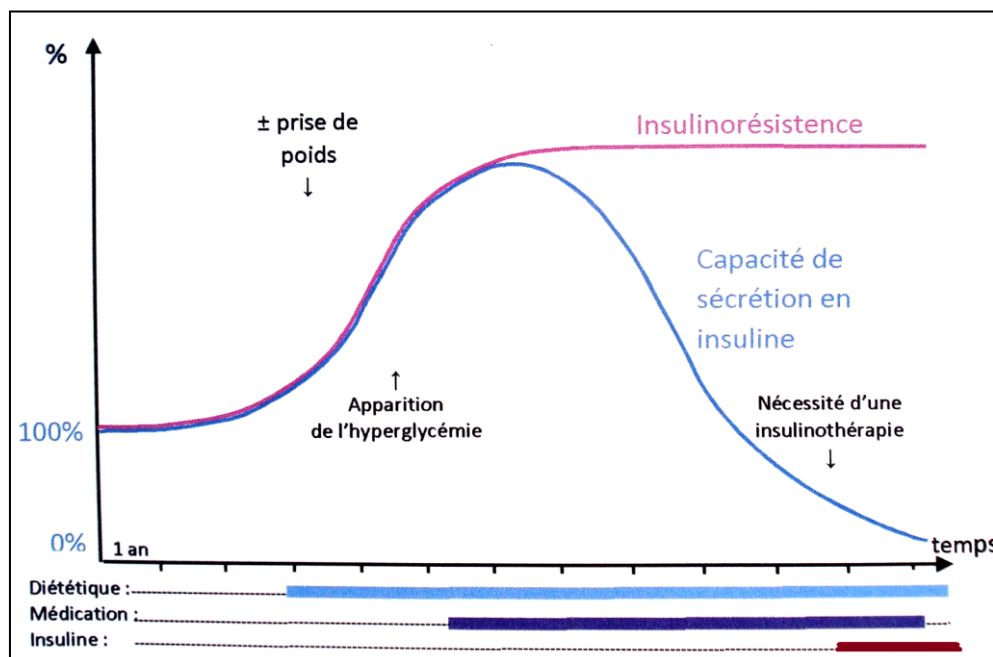


Figure 04 : Evolution de l'insulinorésistance (Philippe et *al.*, 2014)

2.2. Mécanismes moléculaires à l'origine de l'insulino-résistance

Des altérations de la voie de signalisation de l'insuline à différents niveaux vont participer à la mise en place de l'insulino-résistance (Godsland, 2010) (Andrew, 2008)

- les cycles d'internalisation/recyclage peuvent aboutir à une diminution du nombre de récepteurs à la surface, ce processus de contrôle négatif du signal, participe de façon secondaire à l'installation de la résistance à l'insuline.
- En conditions physiologiques, le contrôle négatif du signal nécessite aussi la déphosphorylation des résidus tyrosine du récepteur et des protéines IRS. Ceci fait intervenir des protéines spécifiques, les tyrosines phosphatases (PTPases). Une augmentation de l'activité PTPase participe à la résistance de ces tissus à l'insuline.
- La phosphorylation de résidus sérine et thréonine sur le récepteur ou l'IRS1 entraîne une inhibition du signal insulinaire, Ces phosphorylations mettent fin à l'activation du récepteur en condition physiologique mais lorsqu'elles sont augmentées anormalement elles participent à la mise en place de l'insulino-résistance.

2.3. Glucotoxicité et Lipotoxicité

2.3.1. Glucotoxicité

Tandis que les cellules insulino-dépendantes sont peu touchées par l'hyperglycémie, les cellules non-insulino-dépendantes sont exposées à la glucotoxicité, en particulier les cellules endothéliales, la glucotoxicité découle de l'accumulation dans les cellules de produits dérivés directement ou indirectement du glucose (Christiane, 2005). Cette accumulation résulte d'une inhibition de la baisse de régulation des transporteurs GLUT-1 induite par les médiateurs pro-inflammatoires, les hormones de contre-régulation et l'hypoxie (Gerald, 2010). Plusieurs effets délétères ont été reliés à ces hautes concentrations tissulaires de glucose. Des lésions des protéines mitochondriales se produisent et la production de radicaux libres est accrue du fait d'une déviation de la glycolyse vers des voies métaboliques accessoires (pentose phosphate, hexosamines, polyols) (Wiernsperger & Bouskela, 2009). Les concentrations élevées de glucose induisent d'autres modifications telles que l'exacerbation des voies pro-inflammatoires, diminution de l'activité du complément, modification du système immunitaire inné, altération des fonctions endothéliales et mitochondriales hépatiques, la glycosylation des protéines (Thierry, 2014).

2.3.1. Lipotoxicité

À l'heure actuelle, l'obésité considérée comme l'épidémie du XXI^e siècle, qui représente une menace pour la santé publique et un problème social, touchant plus de 300 millions de personnes dans le monde (Monzo et *al.*, 2017), qui apparaît quand il y a un équilibre énergétique positif, à savoir lorsque la consommation d'énergie (consommation alimentaire) surmonte la dépense énergétique (Brandão et *al.*, 2017). La capacité de l'insuline à inhiber la lipolyse et à augmenter l'activité de la LPL est altérée dans un contexte d'obésité associé à l'insulino-résistance, ceci entraîne alors une diminution de la clairance des AG par le tissu adipeux et donc l'augmentation des AGL et TG circulants (figure 5) (Szablewski, 2011). Ces lipides plasmatiques seront alors captés et stockés dans les muscles squelettiques, le foie, le pancréas et le cœur et seront à l'origine du phénomène de lipotoxicité dans ces tissus non adipeux (Chang, 2016). Aussi, l'excès de tissu adipeux libère plusieurs produits qui exacerbent apparemment ces facteurs de risque. Ils comprennent les (NEFA), des cytokines et l'adiponectine. Un niveau élevé de NEFA dans le plasma surcharge muscle et le foie avec des lipides, ce qui améliore la résistance à l'insuline (Grundy et *al.*, 2004), et à une inflammation chronique de bas grade, comme le montre une augmentation de la circulation de marqueurs inflammatoires. (Chang, 2016).

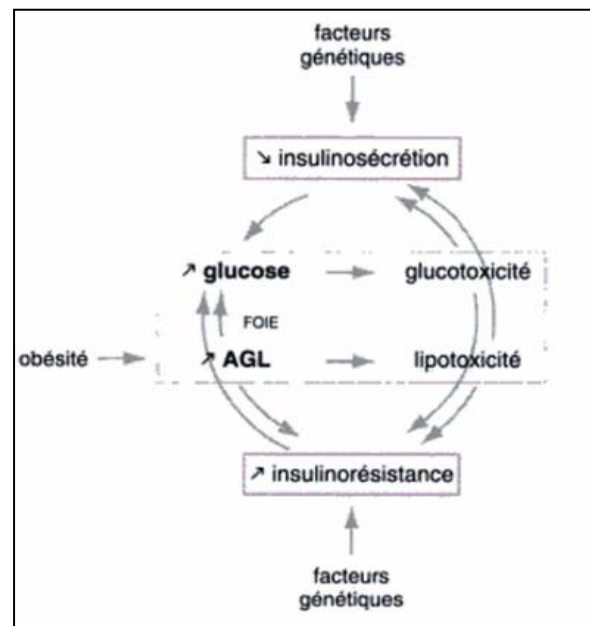


Figure 05 : Glucotoxicité et lipotoxicité (Christiane, 2005)

Les espèces réactives de l'oxygène (ROS) ont été impliquées comme contribuant à l'apparition et à la progression de la résistance à l'insuline, l'augmentation du stress oxydatif dans la graisse accumulée est un début instigatrice du syndrome métabolique (Shigetada et *al.*, 2004). En outre, une étude menée sur des rats nourris avec un régime hyperlipidique suggère que l'accumulation ectopique de lipides est un meilleur indicateur de l'insulino-résistance (Bruntet *al.*, 2017).

2.4.L'approche nutritionnelle et la résistance à l'insuline

2.4.1. Régime riche en graisses et en sucres

Expérimentalement, l'utilisation de régimes enrichis en lipides et en glucides permet de s'approcher au plus près des nouvelles habitudes nutritionnelles des pays industrialisés (Thierry, 2014). Le régime Cafétéria est composé d'aliments consommés quotidiennement par l'homme (aliments de supermarché), ce régime permet de reproduire l'alimentation occidentale: il est hypercalorique avec une haute teneur en sel et un faible apport en fibres, induit une hyperphagie et une augmentation de l'énergie absorbée. Il conduit à une prise de poids rapide (Brandt et *al.*, 2010), En outre, induit la néoglucogenèse hépatique et donc l'hyperglycémie par l'oxydation des acides gras libérés dans le foie qui fournit des co-facteurs (ATP, NADH, acétyl-CoA) nécessaires à des étapes clés de la néoglucogenèse, conduisant à une production accrue de glucose par le foie (figure 06) (Girard, 2003).

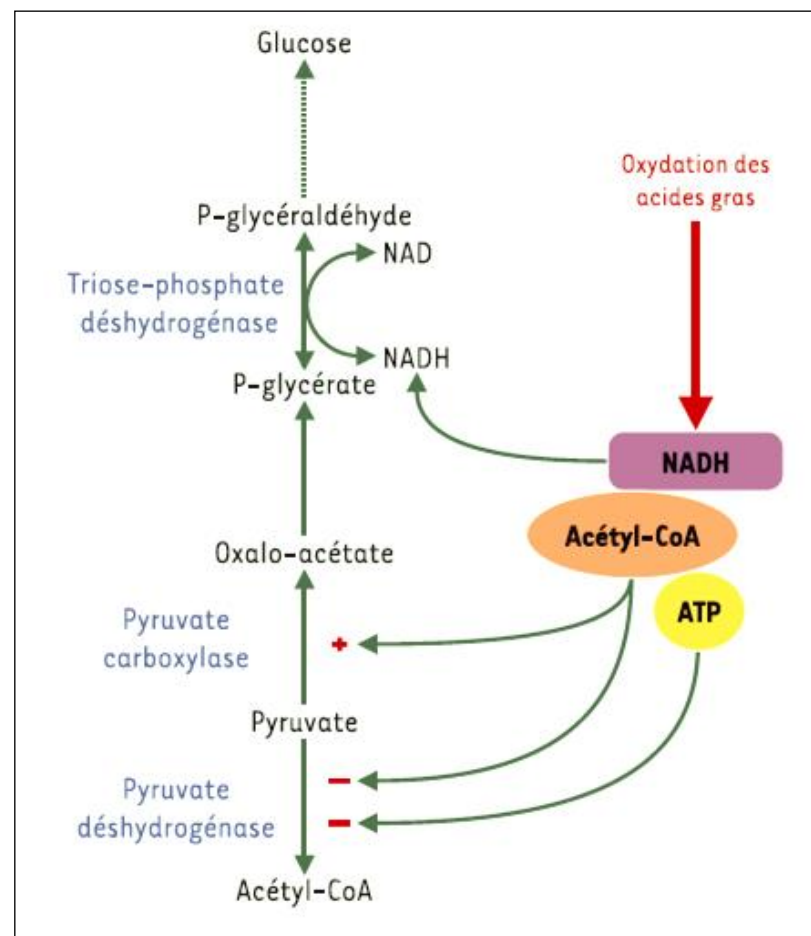


Figure 06 : Rôle des acides gras dans la régulation de la néoglucogenèse hépatique (Girard, 2003)

Ce type de régimes conduit au développement d'une obésité associée à une accumulation de graisse viscérale. Les concentrations plasmatiques en glucose, insuline, leptine, triglycérides et cholestérol sont également augmentées (Kretschmer et *al.*, 2005), ce modèle permet également de faire apparaître une diminution de la tolérance au glucose, une insulino-résistance et une inflammation de bas grade caractéristique de l'obésité (Panchal & Brown, 2011).

2.4.2. Régime riche en fructose

Le fructose est un sucre hautement lipogène qui peut altérer le métabolisme énergétique et déclencher des troubles métaboliques (Neetu et *al.*, 2017), entre dans la circulation sanguine en utilisant les transporteurs GLUT 2 et GLUT 5, ces transport ne fait pas appel à l'insuline, est alors délivré au niveau du foie via la veine porte (Basaranoglu et *al.*, 2013). Le fructose a deux caractéristiques métaboliques essentielles, sa rapidité de captation par le foie qui possède un système enzymatique très actif pour le catabolisme du fructose et son entrée au niveau des triose-phosphates en évitant l'étape de régulation de la phosphofructokinase) (Wiernsperger et *al.*, 2009).

Les produits issus du métabolisme du fructose par la voie glycolytique dans le foie sont le glucose, le glycogène, le lactate et le pyruvate (Bray et *al.*, 2004). L'utilisation du fructose chez le rat conduit à une augmentation de la lipogenèse, une augmentation des concentrations plasmatiques en glucose, insuline, leptine, acides gras libres et triglycérides, ainsi qu'une diminution de la tolérance au glucose (Coelho et *al.*, 2010), et donc impliquée dans la pathogenèse de l'hyperlipidémie et de la résistance à l'insuline hépatique (Neetu et *al.*, 2017), ainsi que l'infiltration de cellules caractéristiques de l'inflammation (Alzamendi et *al.*, 2009). Les régimes riches en fructose seraient pro-oxydants, qu'il s'agisse d'effets directs ou de potentialisation d'un stress oxydant ou inflammatoire préexistant (Basaranoglu et *al.*, 2013)

CHAPITRE II

Portulaca oleracea

Aquilaria malaccensis

II. *Portulaca oleracea* et *Aquilaria malaccensis*

1. *Portulaca oleracea*

1.1. Description et caractéristique

Le Purslane (*Portulaca oleracea*) est un herbacé annuel de la famille des Portulacaceae, qui est largement distribué dans les régions tempérées et tropicales dans le monde (Hongbin et *al.*, 2010), est également connu sous le nom de pourpier, Verdolaja, Karikkirai, Brihalloni, Chota Lunia (Gunasekaran et *al.*, 2014), Il est charnue, stout, succulent (teneur en eau de plus de 90%), les feuilles opposées ou alternes obtus se rétrécissant vers la base. (Rashed et *al.*, 2003 ; Catalina et *al.*, 2014), de 1 à 5 cm de long et de 0,5 à 2 cm de diamètre (figure 08), Tige est d'environ 15,30 cm de long et 3 mm de diamètre, rougeâtre, gonflé aux nœuds, très glabre. légèrement acide et goût de type épinard (Ramesh et *al.*, 2013) (OLIVEIRA et *al.*, 2009). Les fleurs sont petites, jaunes, et sessiles dans les grappes de trois à cinq sur les fourches et extrémités des branches, ouverture le matin seulement. Le fruit est oblong et transversalement déhiscent. Les graines sont orbiculaire et 0,5 mm de diamètre (figure 07) (Rashed et *al.*, 2003).

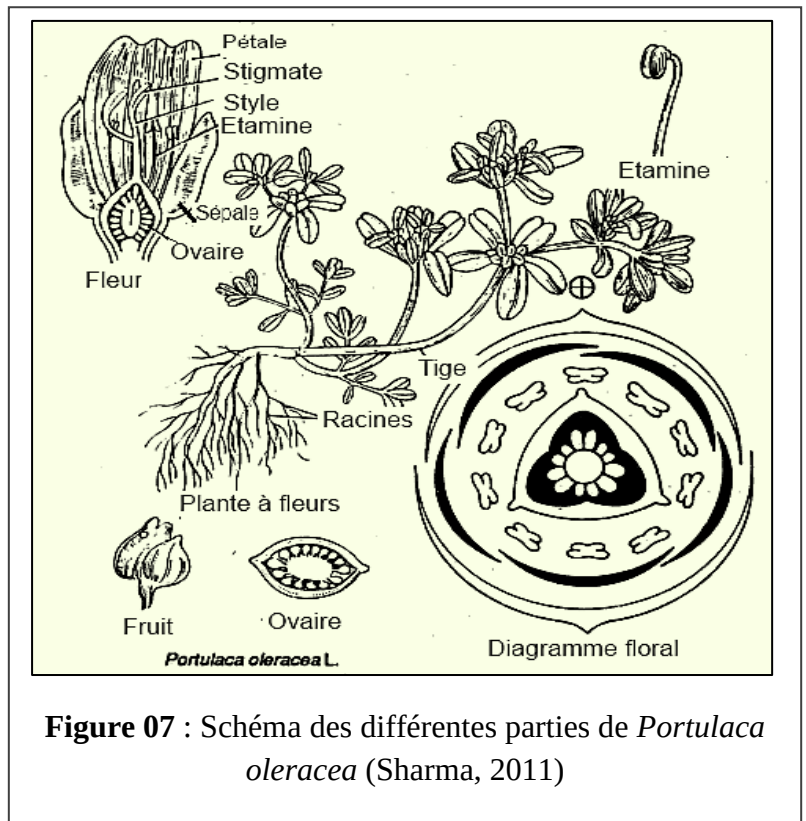


Figure 07 : Schéma des différentes parties de *Portulaca oleracea* (Sharma, 2011)

Elle est répandue, en croissance rapide et auto-compatible et produit un grand nombre de semences qui ont une longue viabilité (Naciye, 2012). Il est également connu pour son adaptabilité à différents sols et environnements, particulièrement à haute température, à forte teneur en sel, en sécheresse ou en faible teneur en éléments nutritifs et il n'est pas sensible au refroidissement (Rodrigo et *al.*, 2015), cette caractéristique donne des avantages concurrentiels purslane sur beaucoup d'autres cultures cultivées (Amirul et *al.*, 2015).

1.2. Classification de *Portulaca oleracea*

Règne : Plantae

Sous-règne : Tracheobionta

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Sous-classe : Caryophyllidae

Ordre : Caryophyllales

Famille : Portulacaceae

Genre : *Portulaca*

Espèce : *Portulaca oleracea*

(Sharma, 2011)



Figure 08 : Feuilles *Portulaca oleracea*
(Farrukh et al., 2011)

1.3. Composition chimique de *Portulaca oleracea*

Portulaca oleracea trouvé dans la plupart des coins du globe, les chercheurs et les nutritionnistes ont prouvé cette plante comme une récolte végétale potentielle pour la consommation humaine en raison de son importance nutritionnelle et pharmaceutique (Amirul et al., 2015), qui a servi de légume comestible dans plusieurs pays, contient des constituants chimiques actifs comprenant des coumarines, flavonoïdes, glycosides cardiaques, de l'anthraquinone, protéines, du mono terpène glycoside et de la N-trans-feruloyltyramine (Huan et al., 2013), gallotannins, kaempférol, quercétine, apigénine (Bin et al., 2012). Bien que l'eau a été signalée comme le constituant majeur des tiges et feuilles de pourpier. Parmi les 27 acides gras détectés dans la plante, le plus abondant était l'acide linoléique, suivi des acides palmitique, oléique, oxalique, citrique, aconitique, fumarique et l'acide malique sont les acides organiques qui se sont avérés dans la plante (Naciye et al., 2012). Les feuilles ont une teneur élevée en fer, Les métabolites les plus intéressants du point de vue thérapeutique, l'acide gras ω -3 des différentes parties de *P. oleracea* jouent un rôle majeur dans la régulation des produits génétiques contrôlant l'inflammation (Gunasekaran et al., 2014). Le manque de sources végétales d'acides gras oméga-3 a donné lieu à des intérêts croissants d'introduire le pourpier en tant que légume cultivé (Amirul et al., 2015). Purslane est une source considérable de vitamines antioxydants telles que l' α -tocophérol, l'acide ascorbique et le β -carotène ainsi que le glutathion et plusieurs alcaloïdes phénoliques (Ghorbanali et al., 2016).

De plus, la présence de métabolites secondaires rend cette plante médicalement plus importante pour être exploitée par des cliniciens et des scientifiques pour mieux comprendre

ses propriétés biologiques et médicinales (Gunasekaran et *al.*, 2014). L'extrait aqueux de *P. oleracea* n'a aucun effet de cytotoxicité ou de génotoxicité et il est sûr pour une utilisation quotidienne (El-Sayed, 2011).

1.4. L'utilisation de *Portulaca oleracea* en médecine traditionnelle

Portulaca oleracea répertorié dans l'Organisation Mondiale de la Santé OMS comme l'une des plantes médicinales les plus utilisées et il a été donné le terme «Global Panacea» (Bin et *al.*, 2012), car elle exerce une large gamme d'effets pharmacologiques, y compris antibactériens, antioxydant, anti-âge, anti-hypoxie, hypoglycémie, hypolipidémie, anti-inflammatoire, analgésiques, neuroprotecteurs et cognitifs (Wang et *al.*, 2016), néphrotoxicité, l'hépatoprotecteur et comme antiscorbutique, antibiotique, diurétique et fébrifuge (Gunasekaran et *al.*, 2014), et considérée comme bénéfique pour les troubles urinaires, l'obstruction du foie et l'ulcère de la bouche et de l'estomac, une activité anti-tumorale et une activité antiulcéreuse (Ramesh et *al.*, 2013), l'activité antifongique et un effet anticonceptionnel et propriétés de cicatrisation (Abdel Moneim et *al.*, 2013), un effet relaxant sur le muscle squelettique, un effet relaxant sur le muscle lisse de l'intestin grêle, un effet sur la pression artérielle, et l'effet d'ouverture du canal de potassium (Malek et *al.*, 2004). Il est utilisé dans le traitement des brûlures, des piqûres de chenilles, des toux, des maux d'oreilles, des maux de tête, des piqûres d'insectes, des maladies de la peau et des maux d'estomac, les graines sont également utilisées pour la dyspepsie et les opacités de la cornée (Kenneth et *al.*, 2016) et considérées comme un sédatif, adoucissant, légèrement astringent, et de provoquer les menstrues. La plante entière est considérée comme étant un aphrodisiaque (Rashed et *al.*, 2003). *Portulaca oleracea* utilisé traditionnellement pour le traitement de la dysenterie avec des selles sanglantes, à l'extérieur pour les furoncles et les plaies, l'eczéma, l'érysipèle, et les piqûres d'insectes et de serpents (Hongbin et *al.*, 2010), décrit comme un «aliment énergétique» de l'avenir en raison de ses propriétés nutritives et antioxydants élevées (Raffaella et *al.*, 2010).

2. *Aquilaria malaccensis*

2.1. Description et caractéristique

Aquilaria malaccensis est une espèce de plantes tropicales connue sous le nom d'espèces productrices de bois d'agar de la famille des Thymelaeaceae. Cette espèce est originaire du Sud et du Sud-Est asiatique, l'Indonésie et la Malaisie étant les deux principales sources de bois d'agar (Ahmad et *al.*, 2016). Noms communs : bois d'agar, aloès, bois d'aigle (Lillian & Lian, 2008), en raison du manque de supervision et de la connaissance publique des caractéristiques des arbres contenant du gaharu ainsi que de leur nombre en diminution dans la forêt (Akhsan et *al.*, 2015), le genre figure dans l'Annexe II de la Convention sur le commerce international des espèces de faune et de flore sauvages menacées d'extinction (CITES 2014), et depuis 2005 et classés comme vulnérables dans les données de la Liste rouge de l'Union Internationale pour la Conservation de la Nature (UICN 2014) (Azzarina et *al.*, 2016).

Aquilaria produit des graines après 7-9 ans, la viabilité des graine est d'environ 1 semaine et la germination a lieu entre 16-63 jours (Lillian & Lian, 2008), Les fleurs d'*Aquilaria malaccensis* sont petites, jaunâtres et portent des grappes sur l'axe des feuilles (figure 09). Les fleurs sont bisexuelles d'environ 8 à 10 mm de diamètre. Dans une fleur normale, les sépales sont de 5 à 7, plus grands que les pétales (Venugopal & Estre, 2015).

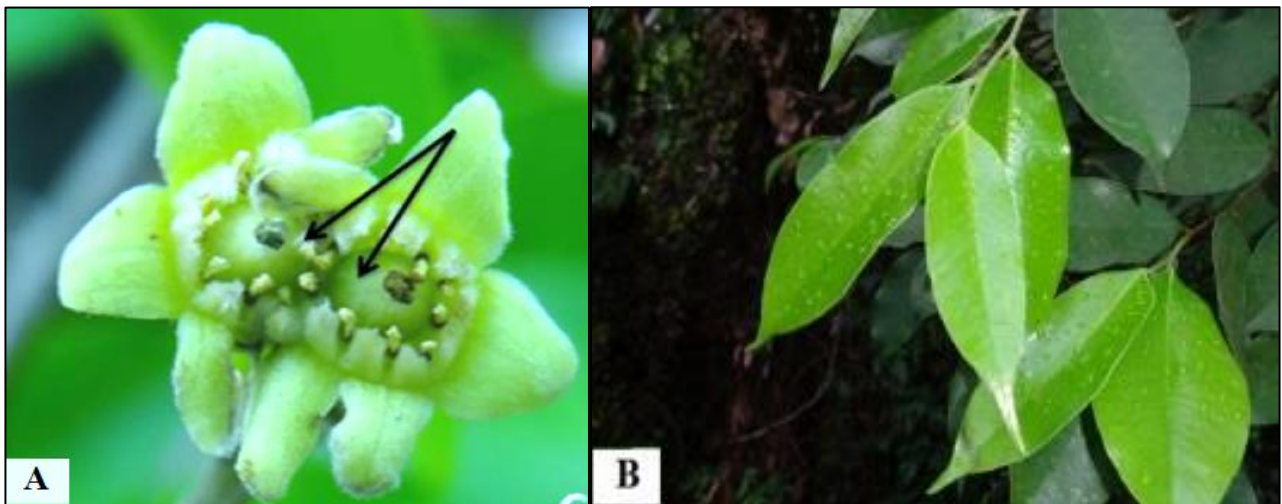


Figure 09: (A) Fleur d'*Aquilaria* (Venugopal et *al.*, 2015) (B) Feuilles d'*Aquilaria* (Hean, 2006)

Aquilaria à moyenne d'hauteur 15 à 25 m avec une tige modérément droite, avec un fût jusqu'à 60 cm de diamètre, L'écorce est lisse, épaisse, gris pâle; Un feuillage sombre et dense et des feuilles elliptiques brillantes persistantes de couleur vert jaunâtre et portées en grappes sur l'axe des feuilles (Venugopal et Estre, 2015). *Aquilaria* est un important producteur de bois d'agar pour le commerce international (Mun et *al.*, 2013), le cœur du bois d'*Aquilaria* qui imprégné de résine est parfumé, et donc très recherché et précieux et prend beaucoup de temps à se développer et



Figure 10 : La formation de bois d'agar dans l'*A. Malaccensis* (Karlinasar et *al.*, 2016)

à former le bois résineux sur une induction appropriée (Chai et *al.*, 2016). La formation de bois d'agar dans la tige d'*Aquilaria* est un type de réponse de défense à l'un ou l'autre de ces facteurs, blessure mécanique (figure 10), infection fongique, produit chimique, seul ou en combinaison. Cela implique l'activation des gènes de défense et ceux de la voie de synthèse des métabolites secondaires (Thanh et *al.*, 2015) (Saikia et *al.*, 2014),

2.2. Classification

Règne : Plantae

Superdivision : Embryophyta

Division : Trachéophytes

Subdivision : spermatophytes

Classe : Magnoliopsida

Ordre : Myrtales

Famille : Thymelaeaceae

Genre : *Aquilaria*

Espèce : *Aquilaria malaccensis*

(Kubitzki & Clemens., 2013)

2.3. Composition chimique

Aquilaria malaccensis est une source principale de bois résineux très précieux connu sous le nom de bois d'agar, qui est riche en métabolites secondaires (SitiSuh et *al.*, 2015), le bois d'agar est défini comme une sorte de bois avec une forme et une couleur spécifiques. Il contient du mastic (Akhsan et *al.*, 2015). Dans *Aquilaria*, les principaux métabolites de défense produits dans le bois contenant du bois d'agar sont des dérivés de terpènes, phénols alcaloïdes, tanins, quinones, flavonoïdes et chromone (Mun et *al.*, 2013).

Il est intéressant de noter qu'un composé majeur du bois d'agar identifié comme étant des 2- (2-phényléthyl) chromones, plusieurs terpénoïdes importants tels que l'eudesmol, le guaïène et l'oxyde d'alloaromadendrène ont été découverts à partir d'une culture en suspension cellulaire d'*A. Malaccensis* lorsqu'ils sont obtenus avec un extrait fongique (Chai et *al.*, 2016). Ces composés forment une énorme famille de métabolites secondaires dans les plantes et sont bien connus pour leurs rôles de défense contre un large spectre d'organismes (Sulaiman, 2015).

La qualité du bois d'agar repose sur la quantité de résine imprégnée dans les cellules. Dans le bois d'agar de la plus haute qualité, la résine contient divers sesquiterpènes oxygénés (sesquiterpénoïdes) et des dérivés chromoniques qui contribuent à l'arôme du bois d'agar (Umberto, 2016)

2.4. Utilisation traditionnelles et pharmacologique

Aquilaria malaccensis est une espèce de bois d'œuvre produisant du bois d'agar, utilisée dans de nombreux remèdes traditionnels et des traitements thérapeutiques modernes, en tant que digestif, sédatif et antiémétique (Pradeep et *al.*, 2015), activités antioxydants, analgésiques, antipyrétiques, anti-inflammatoires, antihyperglycémiques, et antimicrobiens à des fins médicinales diverses (Nik Wil et *al.*, 2014). Le bois est tonique, carminatif, stomachique, diurétique, Aphrodisiaque, utile dans les maladies de l'oreille et de la peau, la diarrhée chronique, la bronchite, l'asthme. La substance résineuse parfumée est prescrite dans la goutte et les rhumatismes, l'écorce est utilisée pour les maladies cardiaques (Begum, 2016). Outre ces utilisations, diverses activités pharmacologiques importantes ont été évaluées à partir de l'extrait bois d'agar a montré une forte activité anticancéreuse vis-à-vis des cellules cancéreuses du côlon humain (Shashita et *al.*, 2014).

Malaisiens utilise du bois dans l'accouchement, pour les affections féminines et pour les palpitations coronaires (Duke, 2007). Les utilisations médicales et les propriétés biologiques du bois d'agar se manifestent à la présence de nombreux constituants chimiques bioactifs (Hean, 2006).

Le bois résineux et l'huile de gaharu sont extrêmement chers en raison du faible rendement pendant l'extraction et la formation de bois résineux se produit rarement dans les arbres sauvages et jeunes (Sulaiman et *al*, 2015), ayant une utilisation locale et sur le marché international en particulier dans les pays arabes où il est utilisé comme encens et dans les cérémonies religieuses (Lok et *al.*, 1999). L'huile de bois d'agar est également incorporée dans la fabrication de parfums haut de gamme et de cosmétiques (Nurul et *al.*, 2012).

DEUXIEME PARTIE

PARTIE PRATIQUE

CHAPITRE I

Matériels & Méthodes

I. Matériels

1.1. Matériel végétal

Les plantes utilisées dans ce travail sont l'écorce de tronc d'*Aquilaria malaccensis* ont été achetées du marché local, pulvérisés avec un mixeur jusqu'à l'obtention d'une poudre fine, et les feuilles de *Portulaca oleracea* ont été récoltées dans la région d'El-Oued "Guemar" en Septembre 2016, sécher à l'abri des rayons solaires et à température ambiante pendant 20 jours puis pulvérisés avec un mixeur jusqu'à l'obtention d'une poudre fine. Les poudres des deux plantes sont conservées à la température ambiante dans des contenants hermétiques à l'abri de la lumière vive jusqu'à le début de l'expérimentation (figure 11)



Figure 11 : A) *Portulaca oleracea* et B) *Aquilaria malaccensis* (photos originales)

1.2. Matériel animal

1.2.1. Animaux et conditions d'élevage

Notre étude a été réalisée sur vingt-sept ratte femelle ($n=27$) de type Wistar Albinos âgés de 10 semaines et pesant de moyenne 202 ± 3.12 g. Ces animaux amenés de l'institut pasteur d'Alger, et élevés à l'animalerie au niveau de département de biologie, faculté de sciences de la nature et de vie de l'université Echahid Hamma Lakhdar, où la température et l'humidité sont 24 ± 0.35 °C et $65.2 \pm 0.46\%$ respectivement et un cycle de lumière-obscurité de 12 h, les animaux ont accès à volonté à la nourriture et à la boisson.

1.2.2. Intervention diététique

Après une phase d'adaptation de 15 jours, les animaux sont divisés de façon aléatoire en 6 groupes, les rats du premier groupe (Témoin) ont reçu un régime standard (tableau 1), les autres groupes ont reçu un régime Hyper-gras composé de 25% régime standard (Avec le remplacement du glucose par fructose 32.6%) et 75% régime cafeteria est composé d'un mélange de biscuit sec, fromage, cacahuètes, salami, chips, chocolat, dont les proportions; 2: 2: 1: 1: 1 selon le protocole de Darimont *et al.*, (2004). Ce régime hypercalorique et hyperlipidique utilisé pour induire l'obésité et l'insulinorésistance, durant une période de 70 jours.

Tableau 1 : Composition de régime standard (Southon *et al.*, 1984).

Matières	Quantité (g/Kg)	Pourcentage (%)
Mais	326	32.6
Saccharose	326	32.6
Protéines	186	16.8
Cellulose	40	4
Minéraux	20	2
Vitamine	20	2
Huile	40	4

Tableau 2 : Pourcentage de lipides et protéine dans l'alimentation

	Régime Hyper-gras	Régime standard
Lipides %	29.13	5.52
Protéines %	3.05	1.4
Fructose %	32.6	0

La quantification des lipides et protéine de régime (tableau 2) a été réalisée au niveau de laboratoire d'agronomie «Le département des Sciences Agronomiques. Faculté Sciences exact et Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université Mohamed Khider – Biskra », et laboratoire d'analyse et de contrôle de qualité et de conformité « FatiLab »

1.2.3. Traitement des animaux

Groupe 1 (5rattes) témoin sain (Témoin) : recevant un régime alimentaire standard avec eau de boisson normal.

Groupe 2 (4rattes) IR (IR) : recevant chaque jour un régime alimentaire (HG-F) avec eau de boisson normal.

Groupe 4 (4rattes) IR + *Métformine* (Met) : recevant le régime (HG-F) avec l'eau de boisson traité par métformine 300mg/Kg,

Groupe 3 (5rattes) IR + *Portulaca* (Por) : recevant chaque jour le régime (HG-F) avec eau de boisson traité par extrait méthanolique de *Portulaca oleracea* 400 mg/Kg.

Groupe 4 (5rattes) IR + *Aquilaria* (Aq) : recevant le régime (HG-F) avec l'eau de boisson traité par extrait méthanolique de *Aquilaria malaccensis* 200 mg/Kg,

Groupe 4 (4rattes) IR + (Aq+Por) : recevant le régime cafeteria avec l'eau de boisson traité par 50% d' extrait méthanolique de *Portulaca oleracea* et 50% *Aquilaria malaccensis*,

Durant la période de traitement (5 semaine), la glycémie a été mesurée à jeun une fois chaque semaine à l'aide d'un appareil glucomètre "BIONIME GM550" , en effectuant une petite incision dans la partie finale de la queue des rats. Le poids corporel des rats à été mesurés de façon hebdomadaire.

1.2.4. Sacrifice et préparation des prélèvements

A la fin de la période du traitement (5 semaine), les animaux sont mis à jeun pendant une nuit. La glycémie à jeun et le poids des rats dans le dernier jour du traitement sont noté. Ensuite Ils sont sacrifiés par décapitation après une anesthésiés par chloroforme (94%), la glycémie a été mesurée et le sang a été immédiatement recueilli dans trois tubes différents : L'un à EDTA : destiné au dosage des paramètres hématologiques. L'autre tube sec tube héparine : a subit une centrifugation à 3000 tours/min pendant 15 minutes, ensuite le sérum résultant est récupéré puis conservé à -20 °C, il est destiné au dosage des paramètres biochimiques.

Après la dissection le foie, les reins, le cœur, le pancréas et les tissus adipeux sont soigneusement prélevés, rincés avec l'eau physiologique, ensuite pesés. Les homogénats des organes sont utilisés pour la quantification des lipides, et le dosage des peroxydations lipidiques.

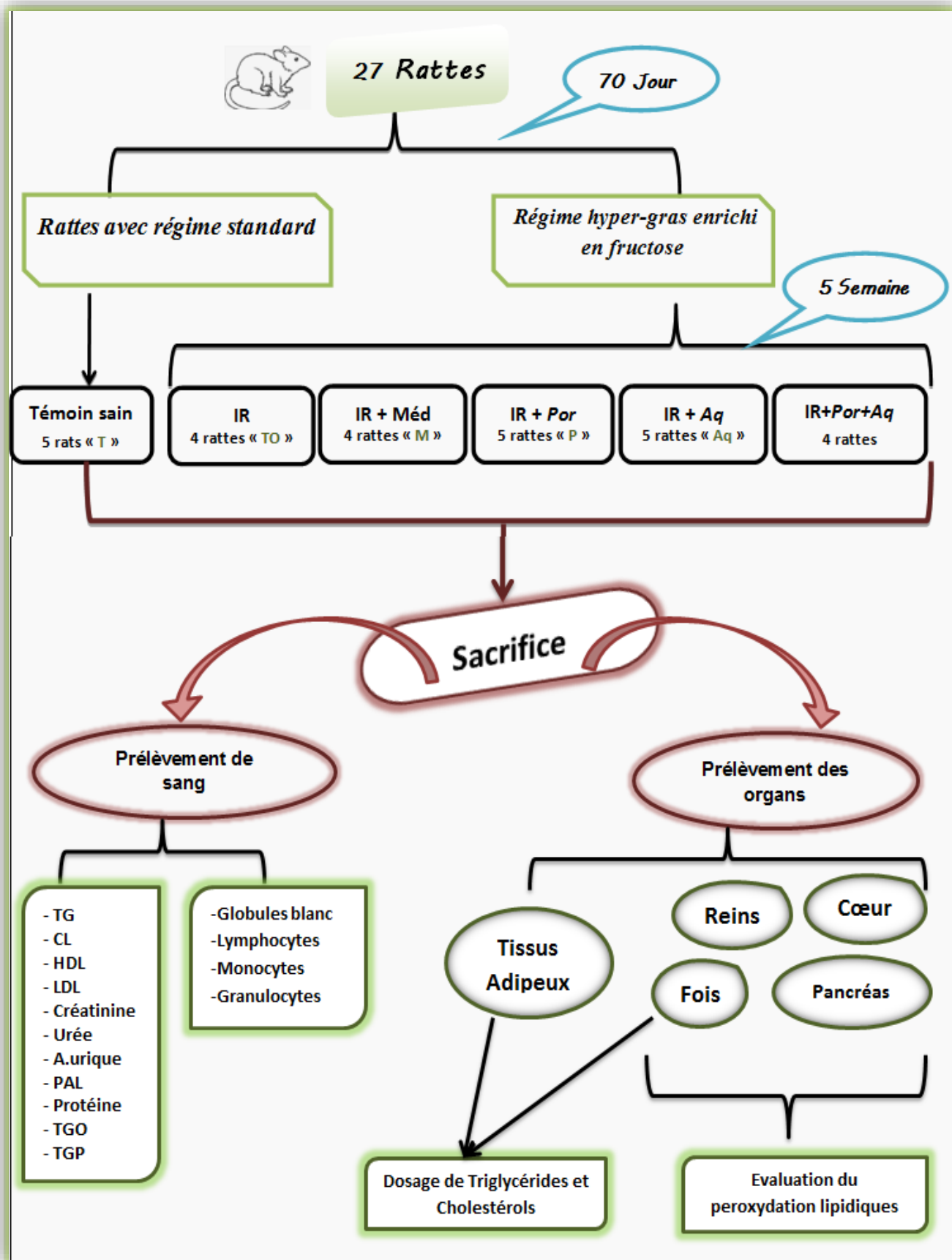


Figure 12 : Schéma récapitulatif du protocole expérimental de l'étude

1.3. Réactifs et produits utilisés

Acétone (CH_3COCH_3), Acide borique (H_3BO_3), Acide gallique, Acide phosphorique (H_3PO_4), Acide sulfurique (H_2SO_4), Acide thiobarbiturique (TBA), Acide trichloroacétique (TCA), Ammoniac, Bleu de Comassie, Bleu de méthylène, Chlorure d'hydrogène HCl , Chlorure d'aluminium (AlCl_3), Chlorure de sodium (NaCl), Chlorure ferrique (FeCl_3), DTNB (5-5'-dithiobis-2-nitrobenzoïque), Ethanol, Folin-Ciocalteu, Hexane (C_6H_{14}), Hydroxyde de sodium (NaOH), Liqueur de Fehling, Méthanol, Phénolphtaléine, Quercétine, Réactif de Mayer, Réactif de Wagner, Rouge de méthyle, Sélénium, Sérum bovin albumine (BSA), Sulfate de cuivre, Sulfate de potassium.

2. Méthodes

2.1. Méthode de préparation de l'extrait

Les échantillons bruts (chaque 3.75 g) ont été extraits en agitant avec 25 ml d'**Acétone** eau (70:30) à 25°C pendant 48 h et le filtrage à travers un papier filtre Whatman n°4. Les résidus ont été ré-extrait avec un 18.75 ml supplémentaires d'acétone aqueuse, comme décrit ci-dessus, pendant 3 h. Le solvant de l'extrait combiné a été évaporé sous basse température à 40°C dans l'incubateur, L'extrait ainsi obtenu a été utilisé directement pour les composés phénoliques et les tanins et l'estimation totale également pour l'évaluation de l'activité antioxydante à travers divers essais in vitro. A partir de l'extrait, un volume connu a été pris, séché dans un four à une température d'incubation de 40°C (Jusqu'à ce que l'échantillon d'obtenir un poids constant) et le pour cent de récupération a été calculé par l'équation suivante (Gunasekaran et *al.*, 2014)

$$\text{Rendement \%} = \frac{(\text{Extrait + conteneur (g)}) - (\text{Conteneur vide (g)})}{\text{poids échantillon (g)}} \times 100$$

Nous avons répété cette méthode avec le remplacement de l'Acétone par ; **Ethanol (60 %)** **Méthanol (60 %)** et **l'eau distillé** (tableau 3). Afin de conclure le solvant qui donne plus rendement.

Tableaux 3 : Rendement de différents méthode d'extraction

Solvant	Récupération %
Méthanol « P »	21.86
Ethanol « P »	18.13
Acétone « P »	13.86
Eau « P »	20.26
Méthanol « Aq »	23.46
Ethanol « Aq »	18.93
Acétone « Aq »	21.86
Eau « Aq »	14.93

P : *Portulaca oleracea* **Aq :** *Aquilaria malaccensis*

2.2. Screening chimique

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).

- **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 FeCl₃ à 2%, la présence des tanins est indiqué par une coloration verdâtre ou bleu noirâtre.

- **Flavonoïdes**

Ajouter dans un tube à essai, 5ml d'extrait à tester, 5ml ammoniac dilué et 1ml H₂SO₄. 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.

2.3. Dosage des polyphénols totaux

Les polyphénols sont déterminés par la méthode de Folin-Ciocalteu, Cette méthode, initialement décrite par Slinkard et Singleton (1977), permet de connaître le contenu polyphénolique total d'un échantillon donné.

L'échantillon de l'extrait méthanolique des feuilles (0.5ml) et 2 ml de carbonate de sodium (75g/L) ont été ajouté à 2.5 ml de 10% (V/V) du réactif de Folin-Ciocalteu avec l'acide gallique comme standard. Après 30 min de réaction à température ambiante, l'absorbance a été mesuré à 765 nm. Les tests ont été effectués trois fois afin de s'assurer de la reproductibilité des résultats. Le contenu phénolique total a été exprimé en mg Equivalent d'acide gallique par gramme d'échantillon (figure 24).

2.4. Dosage des flavonoïdes totaux

La détermination du taux des flavonoïdes totaux de l'extrait méthanolique des feuilles est réalisée par Ahn et *al.* On a ajouté 0.5mL d'une solution 2% $AlCl_3$ -éthanol à 0.5 ml d'échantillon ou étalon. Après 1h à température ambiante, l'absorbance a été mesuré à 420 nm. La Quercétine a été utilisée comme standard pour tracer la courbe d'étalonnage. Les tests ont été effectués trois fois afin de s'assurer de la reproductibilité des résultats. Les résultats ont été exprimés en milligramme équivalent Quercétine par gramme d'échantillon (figure 23).

2.5. Méthode d'analyse chromatographique par HPLC

Les extraits méthanolique de *Portulaca oleracea* et *Aquilaria Malaccensis* ont été filtré avant l'injection. Un système HPLC a été utilisé avec un détecteur à $\lambda = 280$ nm pour les polyphénols et 360 nm pour les flavonoïdes, les conditions expérimentales sont suivant :

La colonne utilisée est de longueur 150 mm et diamètre 4.6 mm, la phase stationnaire C₁₈

Phase mobile : - A : acétonitrile - B: solution d'acide acétique glacial à 2% (pH=2.6)

Gradient : 0-5 min : 5 % A

Débit : 0.5 ml/min

25-30 min : 35% A

Volume d'injection : 20µL

35-45 min : 70%A

Température : 30°C

L'identification des pics des polyphénols et flavonoïdes s'est fait grâce au standard réalisé par des composant pur en comparant les temps de rétention (figure 16 et 17 Annexes).

2.6. Méthode de dosage des protéines brutes

2.6.1. Principe :

L'azote organique de l'échantillon sec et broyé est transformé en azote minéral (sulfate d'ammonium), en présence d'acide sulfurique concentré à chaud et d'un catalyseur (sélénium). $Norganique + H_2SO_4 \longrightarrow (NH_4)SO_4 + CO_2$

Après transformation du sulfate d'ammonium en ammoniac par une base forte (NaOH, 6N), l'ammoniac est entraîné par la vapeur d'eau et repris dans une solution d'acide borique contenant un indicateur coloré. Il est alors titré par une solution d'H₂SO₄ (0,1N). Les étapes de distillation et de titration sont réalisées sur un auto-analyseur. (kirk, 1950)

2.6.2. Mode opératoire

a) La minéralisation

- Peser 1g de terre fine, passée au tamis à maille de 2mm.
- L'introduire dans un matras de Kjeldahal de 500ml.
- Ajouter 1g de catalyseur (0.25g de sélénium, 1g de sulfate de cuivre, 1g de sulfate de potassium)
- Ajouter 20ml d'H₂SO₄ concentré et homogénéiser par agitation.
- Porter à la rampe d'attaque sous hôte bien ventilée, chauffer d'abord à feu doux ; puis à feu vif jusqu'à l'obtention d'un liquide incolore. L'opération peut demander plusieurs heures. Chauffer encore ¼ h à ½ h après la décoloration.
- Laisser refroidir le matras.
- Ajouter avec précaution l'eau distillée jusqu'à 100 ml.

b) Distillation

- Prélever 25 ml pour la distillation.
- Ajouter 30 ml NaOH (6N) et distiller en recueillant le distillat dans un bécher qui contient 10 ml d'acides borique (2%) et un indicateur coloré jusqu'à 80 ml.
- Titrer avec l'acide sulfurique (0.1N)
- Faire un témoin avec la même méthode mais sans l'échantillon.

c) Calcule

$$N\% = (n - n') \times \frac{V}{V'} \times 0.05 \times 1.4 / P$$

n = volume de l'échantillon (lue sur la burette).

n' = volume de témoin (lue sur la burette).

V = volume de la solution d'extraction (100ml).

V' = volume prélevé pour la distillation.

P = poids du dol (1g).

En faisant l'hypothèse que la matière azotée totale (MAT) provient exclusivement de protéines contenant 16%N, on obtient : $P\% = N\% \times 6.25$

6.25 = Facteur de Conversion %N = Pourcentage d'azote

%P = pourcentage de Protéine totale

2.7. Dosage des lipides totaux

L'extraction des lipides dans l'alimentation est réalisée dans un extracteur de type multi-soxhlet à l'aide d'un solvant organique (le n- hexane) (Lecoq, 1965).

Après évaporation du solvant, le taux de matière grasse brute est déterminé gravimétriquement selon la méthode directe. La méthode directe consiste à peser l'huile obtenue directement après évaporation du solvant du ballon.

2.7.2. Formule et calcul

Le rendement (Rt) ou le taux en matière grasse brute est donné par la formule suivante : $Rt\% = (PB - PA/m) \times 100$

- peser le ballon vide séché poids A (PA).
- peser le ballon + huile extraite poids B (PB).
- m : masse en gramme d'échantillon séché.

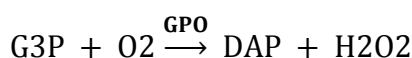
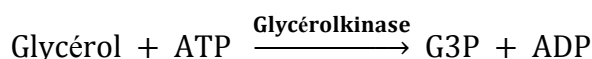
2.8. Dosage des paramètres hématologiques

Les paramètres hématologiques (hémoglobine, globules rouges, Granulocyte,) sont déterminés par la méthode de Coulter en utilisant l'auto analyseur avec un appareil MINDRAY spécifique de l'FNS (formule de numération sanguine).

2.9. Principe de dosage des paramètres biochimiques sériques

2.9.1. Dosage de triglycérides

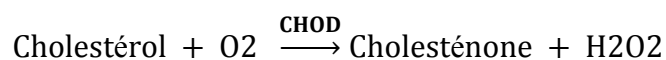
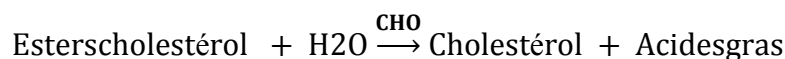
Les triglycérides incubés avec de la lipoprotéinlipase (LPL) libèrent du glycérol et des acides gras libres. Le glycérol est phosphorylé par du glycérophosphate déshydrogénase (GPO) et de l'ATP en présence de glycérol kinase (GK) pour produire du glycérol-3-phosphate (G3P) et de l'adénosine-5-di phosphate (ADP). Le G3P est alors transformé en dihydroxiacétone phosphate (DAP) et en peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) par le GPO. Au final, le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) réagit avec du 4-aminophénazone (4-AF) et du p-chlorophénol, réaction catalysée par la peroxydase (POD), ce qui donne une couleur rouge :



L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration de triglycérides présents dans l'échantillon testé (Buccoloet *al.*, 1973)

2.9.2. Dosage de cholestérols

Le cholestérol présent dans l'échantillon donne lieu à un composé coloré, selon la réaction suivante :



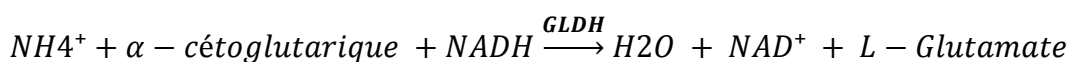
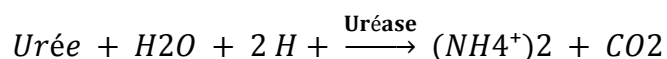
L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration de cholestérol présent dans l'échantillon testé (Naito et *al.*, 1984).

2.9.3. Dosage de HDL

Méthodologie «détergent sélectif et accélérateur » Méthode directe, sans prétraitement du spécimen. Au cours de la première phase, les particules LDL, VLDL, et Chylomicrons libèrent du Cholestérol libre qui, soumis à une réaction enzymatique, produit du peroxyde d'hydrogène, lequel est dégradé sous l'effet de la réaction avec la peroxydase (POD) et le N,N-bis (4-sulphobutyl)-m-toluidine-disodium (DSBmT). Aucun dérivé coloré n'est formé. Au cours de la seconde phase, un détergent spécifique solubilise le cholestérol-HDL. Sous l'action combinée de la Cholestérol Oxydase (CO) et Cholestérol Estérase (CE), le couple POD + 4-Aminoantipyrine (4-AAP) développe une réaction colorée proportionnelle à la concentration en cholestérol-HDL. La lecture s'effectue à 600 nm (Wamick, 1995).

2.9.4. Dosage de l'urée

L'échantillon d'urée est hydrolysé de manière enzymatique dans l'ammoniac (NH_4^+) et le dioxyde de carbone (CO_2). Les ions d'ammoniac réagissent avec α -cétoglutarique dans une réaction catalysée par le glutamate déshydrogénase (GLDH) avec une oxydation simultanée de NADH à NAD^+ :



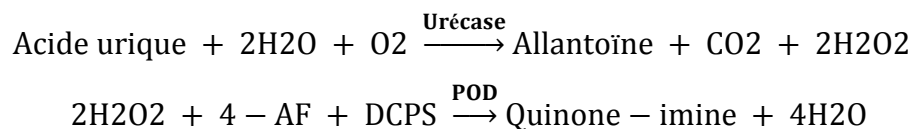
La baisse de la concentration du NADH est proportionnelle à la concentration de l'urée dans l'échantillonnage (Kaplan et *al.*, 1984)

2.9.5. Dosage de créatinine

Le test de la créatinine repose sur la réaction de la créatinine en contact avec le picrate de sodium, tel que décrit par Jaffé, La créatinine réagit avec le picrate alcalin en formant un complexe rougeâtre. L'intervalle de temps choisi pour les lectures permet d'éliminer la plupart des interférences connues de la méthode. L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration de créatinine présente dans l'échantillon testé (Murray, 1984).

2.9.6. Dosage d'acide urique

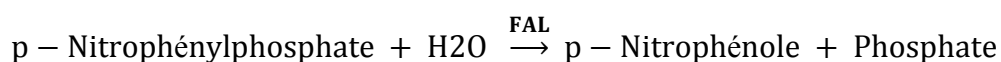
L'acide urique est oxydé par l'uricase en allantoïne et peroxyde d'hydrogène (2H₂O₂) lequel, en présence de peroxydase (POD), 4-aminophénazone (4-AF) et 2-4 Dichlorophénol Sulfonate (DCPS), forme un composé rosacé :



L'intensité de quinone-imine rouge formée est proportionnelle à la concentration d'acide urique présent dans l'échantillon testé (Schultz, 1984), (Fossati *et al.*, 1980).

2.9.7. Dosage de phosphatase alcaline

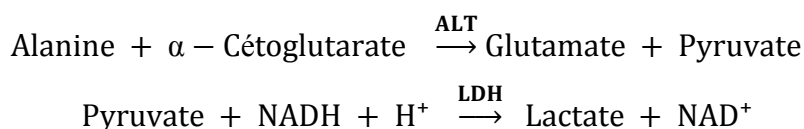
La phosphatase alcaline (FAL) catalyse l'hydrolyse du p-nitrophénylphosphate (pNPP) à pH 10,4 libérant du p-nitrophénole et du phosphate en fonction de la réaction suivante :



La vitesse de formation du p-Nitrophénole, déterminée par photométrie, est proportionnelle à la concentration catalytique de phosphatase alcaline dans l'échantillon testé (Wenger *et al.*, 1984).

2.9.8. Dosage d'alanine amino transférase TGP

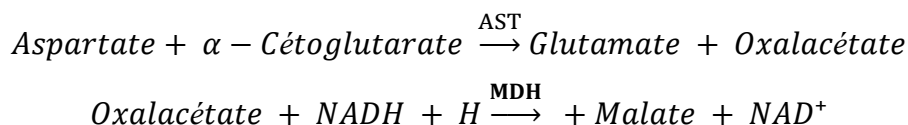
L'alanine amino transférase (ALT) initialement appelée transaminase glutamique pyruvique (GPT) catalyse le transfert réversible d'un groupe animique d'alanine vers l'alpha-cétoglutarate à formation de glutamate et de pyruvate. Le pyruvate produit est réduit en lactate en présence de lactate déshydrogéné (LDH) et NADH :



La vitesse de réduction de la concentration en NADH au centre, déterminée photométriquement, est proportionnelle à la concentration catalytique d'ALT dans l'échantillon (Murray, 1984).

2.9.9. Dosage d'aspartate amino transférase GOT

L'aspartate amino transférase (AST), initialement appelée transaminase glutamate oxaloacétique (GOT) catalyse le transfert réversible d'un groupe amine de l'aspartate vers l'alpha-cétoglutarate à formation de glutamate et d'oxalacétate. L'oxalacétate produit est réduit en malate en présence de déshydrogénées (MDH) et NADH :



La vitesse de réduction de la concentration en NADH au centre, déterminée photo numériquement, est proportionnelle à la concentration catalytique d'AST dans l'échantillon (Young, 1995)

2.9.10. Dosage de protéine sérique totale

Méthode colorimétrique décrite par Gomall et *al.* Les liaisons peptidiques des protéines réagissent avec Cu^{2+} en solution alcaline pour former un complexe coloré dont l'absorbance, proportionnelle à la concentration en protéines dans le spécimen, est mesurée à 550 nm. Le réactif Biuret contient du sodium potassium tartrate qui complexe les ions cuivriques et maintient leur solubilité en solution alcaline (Tietz, 1999).

2.10. Méthode de dosage des paramètres biochimique tissulaires

2.10.1. Préparation de l'homogénat des organes

Un gramme de tissu (foie et tissus adipeux) de chaque rat des différents groupes étudiés, a été utilisé. Après broyage et homogénéisation des tissus dans le TBS (Tris 50 mM, NaCl 150m M, pH 7.4), on a procédé à une centrifugation de la suspension cellulaire (3000 tours/min, 15 min), puis le surnageant obtenu est conservé à -20°C en attendant d'effectuer les dosages des Triglycérides et Cholestérols et l'évaluation de la peroxydation lipidique.

2.10.2. Dosage des protéines tissulaires

2.10.2.1. Préparation de la solution du bleu de Comassie

Mélangé 25 ml de méthanol (95%) et 50mg du bleu de Comassie, puis mettre la mélange sur l'agitateur pendants 2 heures et ajouté 50ml de H_3PO_4 et complète le volume jusqu'à 500ml avec d'eau distillé (La préparation de produit se fait à l'obscurité).

2.10.2.2. Principe de dosage

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

2.10.2.3. Mode d'opérateur

- Prélever 0.1 ml de l'homogénat.
- Ajouter 5 ml du bleu de Comassie.
- Agiter et laisser reposer 5 minutes.
- Lire à 595 nm les densités optiques contre le blanc.
- Comparer la concentration des protéines dans les tissus étudiés

La concentration des protéines est déterminée par comparaison à une gamme étalon d'albumine sérique bovine (BSA) (0.1, 0.25, 0.5, 0.75, 1mg/ml) préalablement réalisée dans les mêmes conditions (Figure 22 Annexes).

2.10.3. Méthode de dosage des lipides au niveau du tissu adipeux

2.10.3.1. Principe

Pour doser les lipides totaux tissulaires on a eu recours à la Méthode de Folch (Folch *et al.*, 1957). Celui-ci propose une extraction des lipides tissulaires par un mélange de solvants polaire/apolaire (chloroforme/méthanol). Le chloroforme permet une dissolution totale des lipides et le méthanol la précipitation des protéines libérées. Ces protéines sont éliminées par lavage avec de l'eau distillé. A la fin, une analyse gravimétrique est réalisée afin de déduire la quantité de lipides tissulaires pour chaque rat. La quantité de lipides totaux est exprimée en mg par 100 g de tissu.

2.10.3.2. Mode opératoire

- 1g de tissu est homogénéisé par 20 ml du chloroforme / méthanol (2/1). Après dispersion, le mélange total est agité pendant 15 à 20 minutes dans un agitateur orbital à température ambiante.
- L'homogénat est soit filtré (entonnoir avec un papier filtre plié), soit centrifugé pour récupérer la phase liquide.

- Le solvant est lavé avec 4 ml d'eau. Après un tourbillon de quelques secondes, le mélange est centrifugé à faible vitesse (2000 tr / min) pour séparer les deux phases et retiré le surnageant. Après centrifugation, la phase chloroforme inférieure contenant des lipides utiliser pour le dosage de TG et Cholestérols.

2.10.4. Méthode de dosage des Malondialdéhyde (MDA) tissulaires

2.10.4.1. Principe

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

1.10.4.2. Réactif

Pour 100 ml de réactif. Acide trichloroacétique (TCA) 20% P/V; Acide thiobarbiturique (TBA) 0,375% P/V; Butylhydroxytoluène (BHT) 0,01% P/V ; Chlorure d'hydrogène (HCl) 1 N. 375 mg de TBA, 20g de TCA, 0,01g de BHT, 25 ml de HCl 1 N et 50 ml d'eau distillée ont été introduit dans un bécher. La solution obtenue a été chauffée à 40°C dans un bain Marie jusqu'à dissolution complète du TBA, puis transférée dans une fiole de 100 ml et le volume complété à l'eau distillée jusqu'au trait de jauge.

1.10.4.3. Mode opératoire

Pipeter dans les tubes à essai en verre et à vis, 100ul d'échantillon, 400ul de réactif TBA et fermer hermétiquement. Chauffer le mélange au bain Marie à 100 °C pendant 15 minutes. Puis refroidir dans un bain d'eau froide pendant 30 minutes en laissant les tubes ouverts pour permettre l'évacuation des gaz formés lors de la réaction. Centrifuger à 3000 tours/minutes pendant 5 minutes et lire l'absorbance du surnageant à 532 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

1.10.4.4. 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 $\mu\text{mol/l}$.

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

CHAPITRE II

Résultats

I. Résultats

1- Étude phytochimique

Une investigation chimique préliminaire a été entreprise et a permis de mettre en évidence certains principes bioactifs. Les résultats de coloration et de précipitation ont été les principales voies d'identification de ces substances. Les résultats de tests phytochimiques de différents extraits qui sont regroupés dans le (tableau 4) montrent bien que les extraits de *P. oleracea* et d'*A. malaccensis* sont riches en métabolites secondaires notamment les flavonoïdes, tannins et saponines.

Tableau 4 : Tests phytochimiques de l'extrait aqueux de *P. oleracea* et d'*A. malaccensis*

Composés	Réactifs	<i>P. oleracea</i>	<i>A. malaccensis</i>
Flavonoïdes	H ₂ SO ₄	+	+
Tannins	FeCl ₃	+	+
Alcaloïdes	Mayer	+	+
Saponines	Test de mousse	+	+
Sucres réducteurs	Liqueur de Fehling	+	+

+ : présence

2- Teneur en polyphénols et flavonoïdes

D'après les résultats illustrés dans le (tableau 5) On remarque, que la teneur en composé phénolique dans l'extrait aqueux de *P. oleracea* et *A. malaccensis* est très importante qui présente 17% et 23% de l'extrait sec de chaque plante respectivement, ce qui confirme la grande richesse de ces espèces en substances polyphénoliques. De même le tableau 5 montre que la teneur en flavonoïde dans l'extrait *A. malaccensis* et *P. oleracea* est importante, ce qui présente un pourcentage 10% et 16 % de l'extrait sec de chaque plante respectivement.

Tableau 5 : Contenu en polyphénols et flavonoïdes de l'extrait aqueux de *P. oleracea* et d'*A. malaccensis*

Espèce	Polyphénols (g EAG/g MS)	Flavonoïdes (g EQ /g MS)
<i>P. oleracea</i>	0.171±0.011	0.101±0.007
<i>A. malaccensis</i>	0.236±0.013	0.166±0.011

3- L'analyse chromatographique en phase liquide à haute pression

3-1. Analyses des polyphénols

Les résultats de l'analyse chromatographique par HPLC (figure 13) montrent que l'extrait méthanolique de *Portulaca oleracea* et *Aquilaria malaccensis* sont riche en polyphénole en quantité différente et que Naringénin présente la substance majeur parmi ces constituants de *Portulaca oleracea* est l'Apigénin pour l'*Aquilaria malaccensis* (tableau 6)

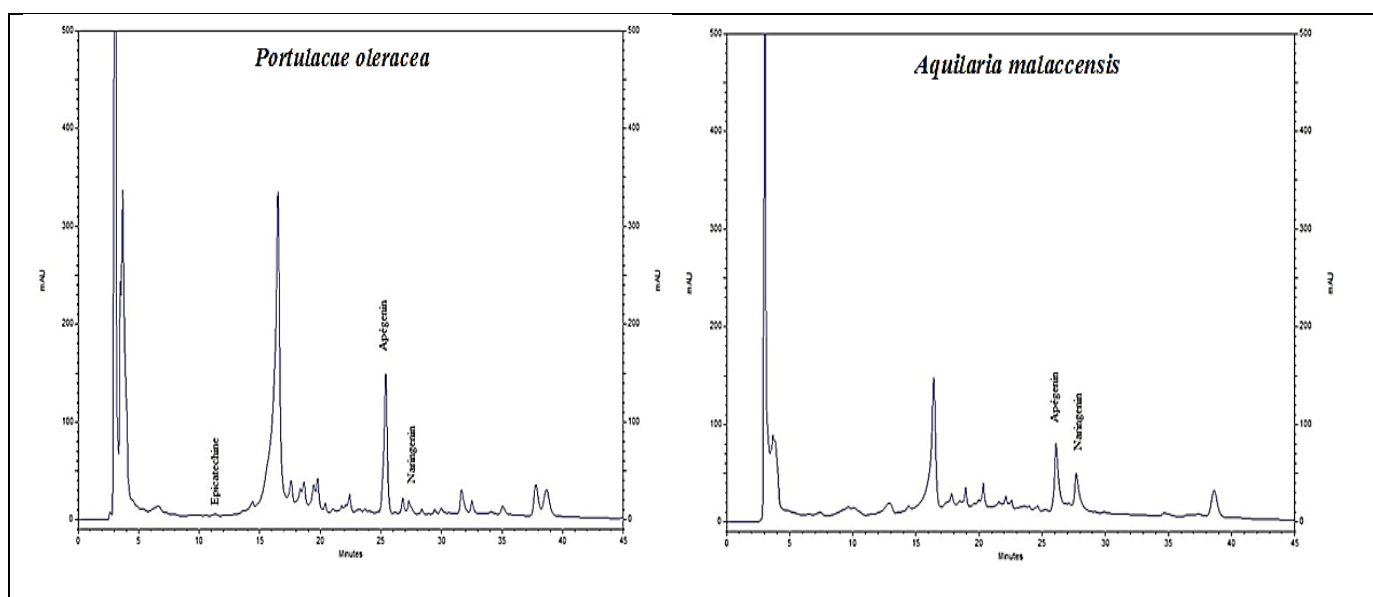


Figure 13 : Chromatogramme de polyphénole pour l'extrait méthanolique de *Portulaca oleracea* et l'*Aquilaria malaccensis*

3-2. Analyses des flavonoïdes

Les résultats de l'analyse chromatographique par HPLC montrent que les extraits méthanoliques de *Portulacae oleracea* et *Aquilaria malaccensis* sont riches en flavonoïdes en quantité différente et que la Rutin présente la substance majoritaire pour *Portulacae oleracea* et *Aquilaria malaccensis* (figure 14).

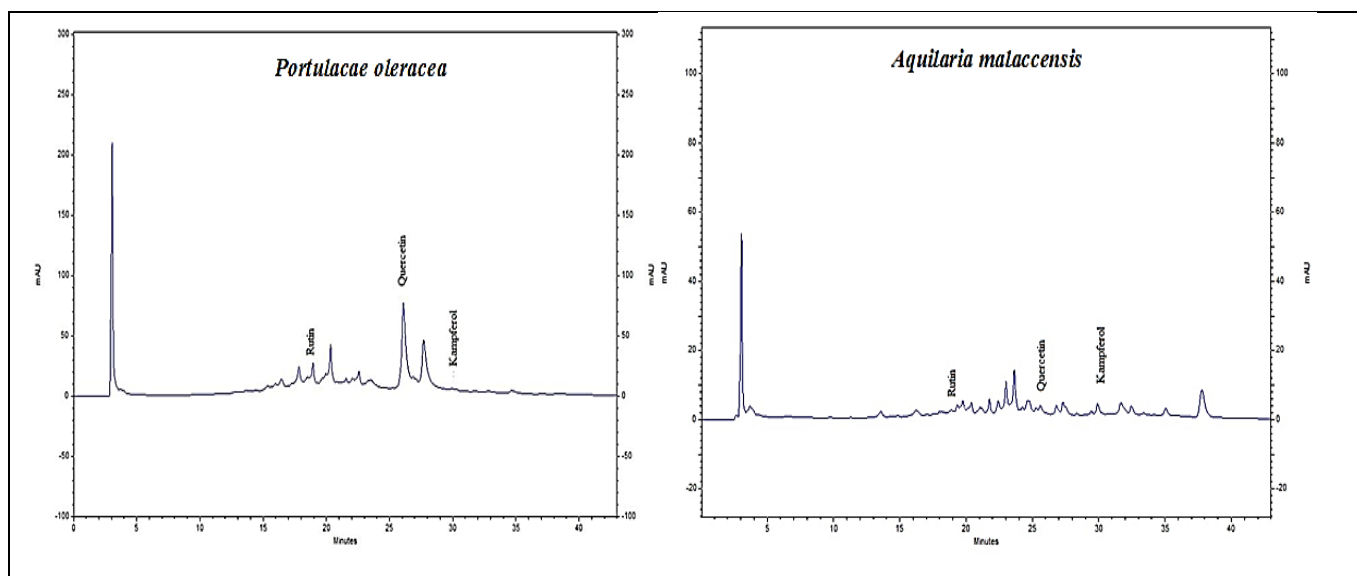


Figure 14 : Chromatogramme de flavonoïdes pour l'extrait méthanolique de *Portulacae oleracea* et *Aquilaria malaccensis*

Tableau 6 : Analyse quantitative en flavonoïdes de l'extrait méthanolique de *Portulacae oleracea* et *A. malaccensis*

Composants	<i>P. oleracea</i> (µg/mg)	<i>A. malaccensis</i> (µg/mg)
Epicatchine	0.00	3.86
Apigenin	0.89	27.84
Naringénin	15.95	4.26
Rutin	17.60	1.86
Quercetin	3.29	1.07
Kampferol	1.84	0.16

4- Evaluation de la croissance corporelle et le poids relatif des organes

Nos résultats (Tableau 7) montrent que l'induction de l'insulino-résistance provoque une augmentation hautement significative ($p < 0,01$) de gain du poids chez les rattes en comparaison avec le groupe témoin. Le traitement par l'extrait méthanolique de *P. oleracea* et *A. malaccensis* seule ou combinés induit une diminution significative ($p < 0,05$, $p < 0,001$ et $p < 0,01$) de gain du poids, chez les rattes par rapport au groupe malade par IR. Signalons que la metformine induit une diminution de façon significative ($p < 0,01$) de gain du poids chez les rattes par rapport au groupe IR.

Concernant le poids relatif des organes. Les résultats obtenus montrent une hépatomégalie sous l'effet d'IR chez les rats, mais la phytothérapie à base de l'extrait de *P. oleracea* et *A. malaccensis* ou combinés améliore totalement cette anomalie par rapport au groupe IR. D'une autre coté l'IR ne provoque aucun risque d'hypertrophie au niveau du cœur et reins avec moins d'effet de traitement phytothérapeutique et pharmacologique (metformine) sur ces cas.

Tableau 7 : Poids initiale, Gain du poids et poids relatif des organes des rattes.

		Témoin (n=4)	IR (n=5)	IR +M (n=4)	IR +Port (n=5)	IR +Aq (n=5)	IR +Port+Aq (n=4)
Poids initial (g)		203.3±2.3	268.5±1.96	242.3±1.01	239.25±6.87	241±4.04	230.75±5.06
Gain du poids (g/j/rat)		0.53±0.055	1.05±0.036**	-0.09±0.13 ^{a2}	0.26±0.25 ^{a1}	-0.14±0.06 ^{a3}	0.08±0.060 ^{a2}
Poids relatif (g)	Foie	2.71±0.12	3.31±0.09**	2.96±0.07	2.86±0.02 ^{a1}	2.81±0.03 ^{a2}	2.92±0.19 ^{a1}
	Reins	0.322±0.02	0.326±0.11	0.321±0.09	0.328±0.14	0.325±0.062	0.327±0.31
	Cœur	0.321±0.052	0.320±0.106	0.322±0.012	0.319±0.203	0.323±0.041	0.324±0.006

Les données sont présentés par Moy±ESM (n : nombre d'observation)

* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ comparaison avec le lot Témoin.

^{a1} $p < 0,05$; ^{a2} $p < 0,01$; ^{a3} $p < 0,001$ comparaison avec le lot IR.

IR ; Iisulinorésistance

5- Profil lipidiques tissulaire

Le taux des triglycérides et du cholestérol totale dans les tissus adipeux sont augmentée de façon hautement significative ($p < 0,01$) chez les rattes ont l'IR par rapport au Témoin.

Une amélioration remarquable de ces paramètres lors de traitement par l'extrait méthanolique de *A. malaccensis* ($p < 0,01$), *P. oleracea* ($p < 0,05$) et par le co-traitement par les deux extraits ($p < 0,05$) en comparaison avec le groupe IR sans traitement. Signalons que la metformine n'a aucun effet sur le profil lipidique tissulaire chez les rattes (figure 15).

Concernant la concentration de triglycérides et cholestérols dans le foie, nos résultats (Figure 15) montrent, une augmentation très hautement significative ($P < 0.001$) de ces paramètres chez les rattes Insulino-résistance par rapport au témoin. Par ailleurs, on a remarqué une diminution très hautement significative de concentration de triglycérides et cholestérol au niveau hépatique chez le groupe traité par l'extrait d'Aq ($P < 0.001$, $P < 0.01$), de Por ($P < 0.01$, $P < 0.05$) ou par l'extrait "Por+Aq" ($P < 0.01$, $P < 0.05$) par rapport au groupe IR respectivement. En outre, on a signalé une diminution significative de la concentration de triglycéride et cholestérol totale hépatique chez le groupe traité par le metformine par rapport au groupe Insulino-Résistance.

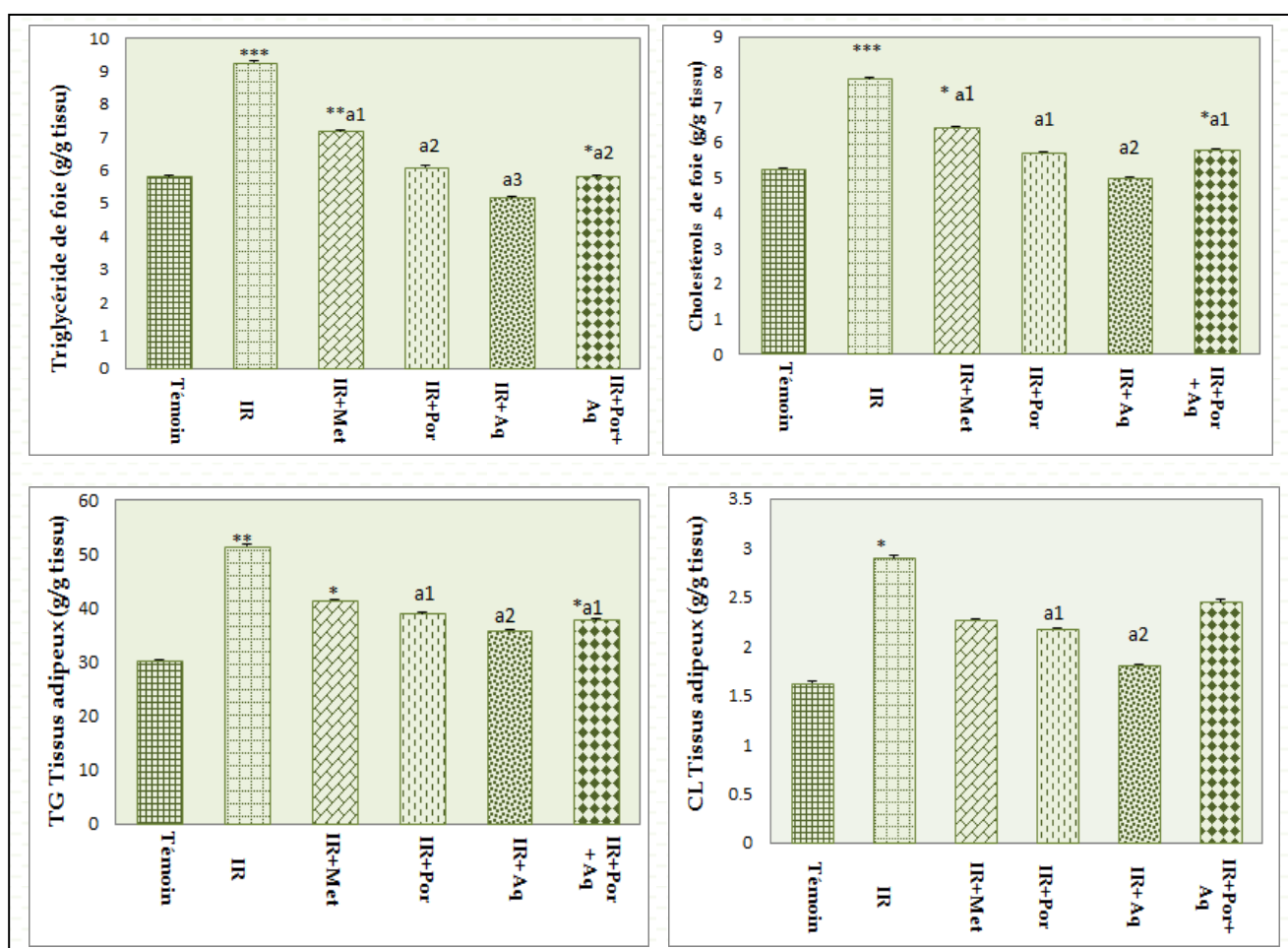


Figure 15 : Concentration de triglycérides TG (g/g tissu) et cholestérol CL (g/g tissu) dans les tissus adipeux et le foie chez le groupe témoin et les groupes traités. Comparaison avec groupe témoin * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$, comparaison avec le groupe IR $a^1 p < 0.05$; $a^2 p < 0.01$; $a^3 p < 0.001$.

6- Evaluation des paramètres hématologiques

Nos résultats présentés dans la (figure 16) révèlent que l'induction de l'insulino-résistance chez des ratte provoque une augmentation hautement significative des globules blancs ($p < 0,01$), granulocytes ($p < 0,01$), monocytes ($p < 0,001$) ainsi que les lymphocytes ($p < 0,01$) par rapport au témoin. En revanche, une diminution significative ($p < 0,05$) ont été signalées pour ces paramètres hématologiques chez les ratte traitées par l'*Aquilaria* ou Port+Aq par rapport au groupe IR. Mais pour le traitement par l'extrait de *Portulacae* ou par le metformine les résultats montrent une diminution remarquable pour le nombre de GB et une faible diminution pour les lymphocytes, granulocyte et les monocytes par rapport au groupe IR.

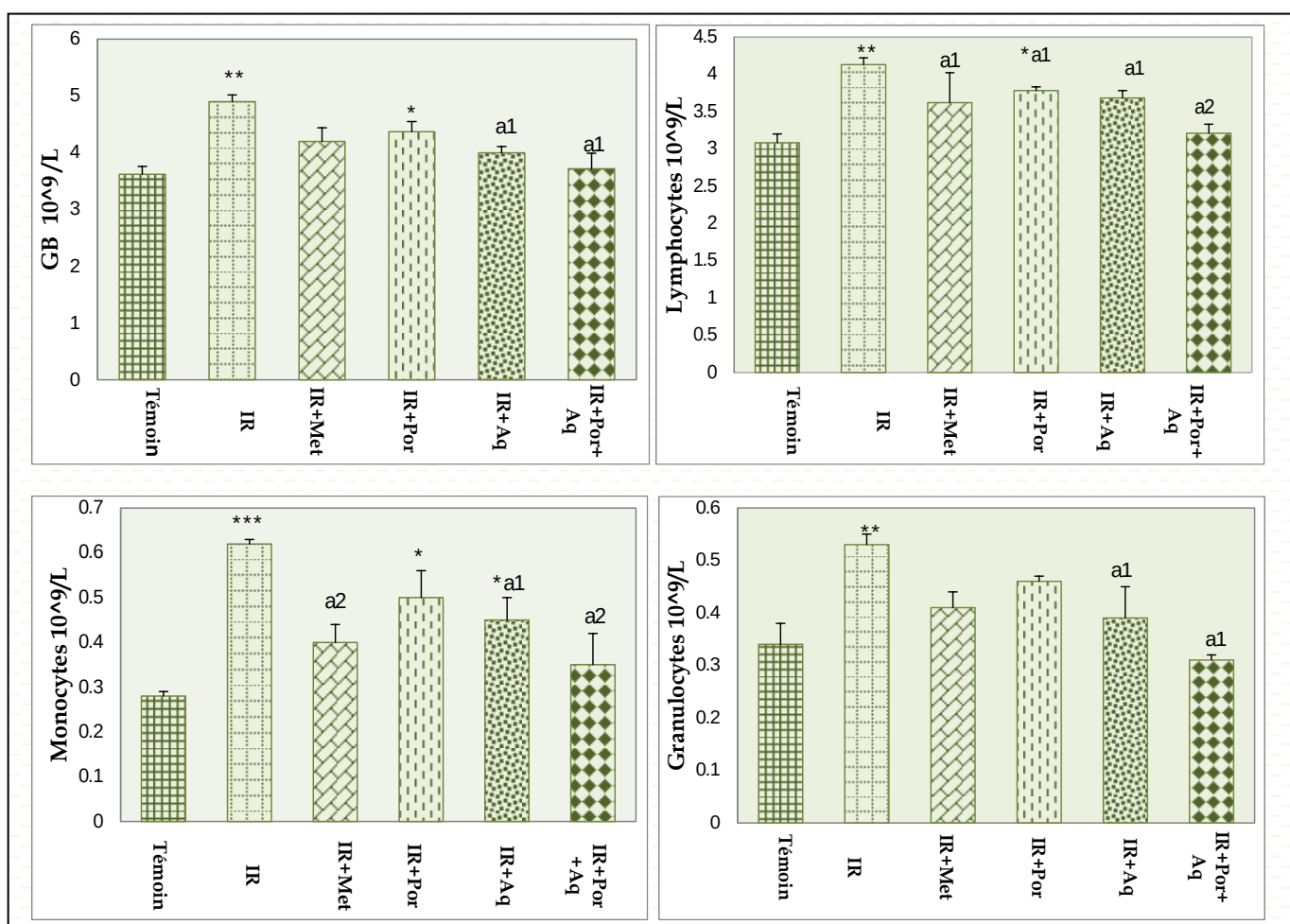


Figure 16 : Variation de nombre des globules blanc, lymphocytes, Monocyte et granulocytes chez le groupe témoin et les groupes traité. Comparaison avec groupe témoin * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, comparaison avec le lot Insulino-Résistance ^{a1} $p < 0.05$, ^{a2} $p < 0.01$ ^{a3} $p < 0.001$

7- Evaluation de la glycémie et le profil lipidique plasmatique

Nos résultats montrent (figure 17) une augmentation très hautement significative (44.5%) de la concentration sérique du glucose chez les rattes ont l'insulino-résistance par rapport au témoin. Cependant, on a enregistré une amélioration de la glycémie après le traitement par le *P. oleracea* (40.11%), *A. malaccensis* (41.20%) *Port+Aq* (32.96%) par rapport au lot IR. Notons que la métformine diminue ($p < 0.01$) le niveau de la glycémie chez les rattes par rapport au group IR mais avec un taux de 35.71%.

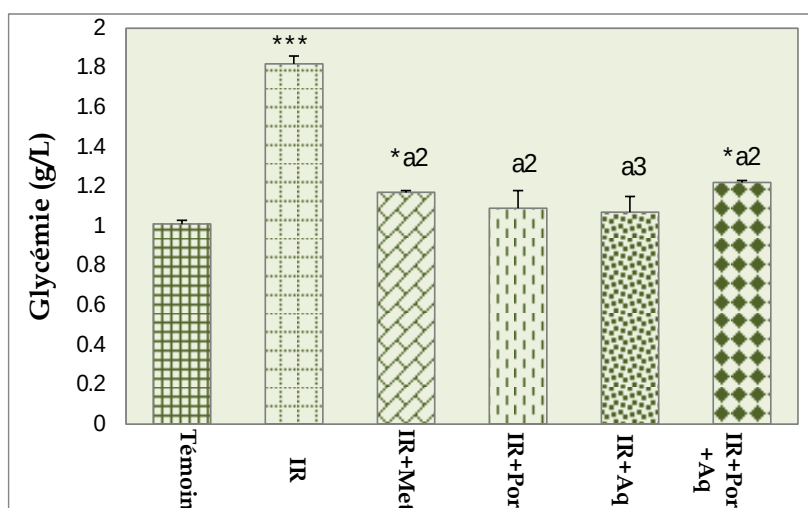


Figure 17 : Variation de la glycémie chez le groupe témoin et les groupes traités. Comparaison avec groupe témoin * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$, comparaison avec le groupe IR ^{a1} $p < 0.05$; ^{a2} $p < 0.01$; ^{a3} $p < 0.001$.

Concernant le bilan lipidique, les résultats illustrés dans la (figure 18) montrent une augmentation significative de la concentration des triglycérides ($P < 0,01$), cholestérols ($P < 0,01$) et LDL-cholesterol ($P < 0,001$) et une diminution significative ($P < 0,05$) du HDL-cholestérol chez le groupe des rattes IR en comparaison avec le groupe témoin.

Par ailleurs, les résultats obtenus montrent qu'il y a une amélioration significative ($p < 0.05$) du taux sérique de triglycérides, de cholestérols, VLDL et de LDL-C ($p < 0.01$) chez les rattes traités par Port (41.30%, 30.89%, 41.30% et 46.93%), Aq (63.76%, 41.31%, 63.76% et 34.69%), Port+Aq (49.49%, 26.10%, 49.49% et 33.67%) et par metformine (24.66%, 25.74%, 24.66% et 20.40%) respectivement par rapport aux rattes IR.

Tandis que, seule le traitement par Aq à augmenté significativement le taux de HDL-C (18.54%) chez les rattes par rapport au groupe IR, mais chez les groupes traités par Port, Port+Aq ou le médicament aucune différence significative n'a été enregistrée pour le HDL-C.

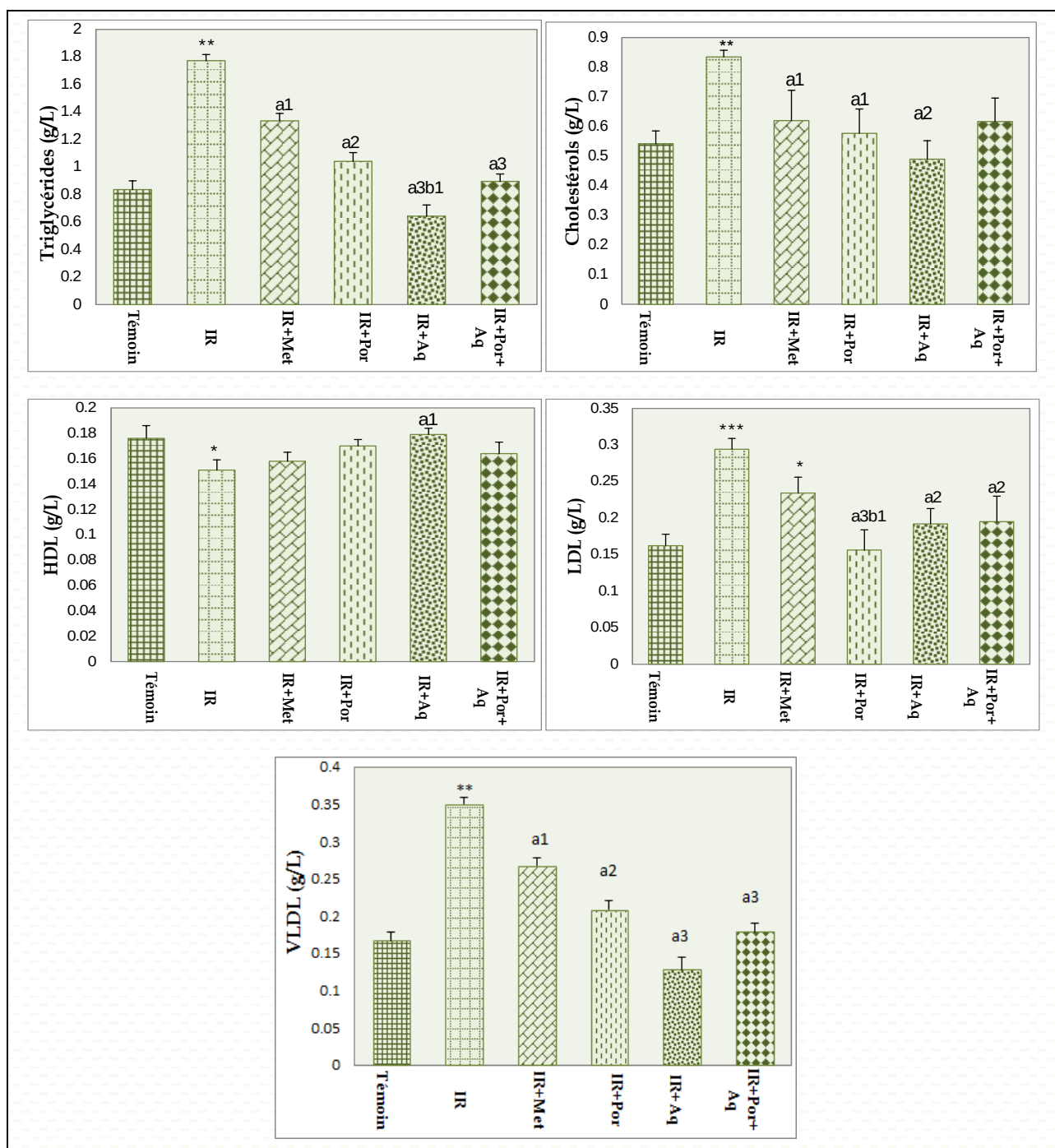


Figure 18 : Concentration plasmatique de triglycérides, cholestérol, HDL et LDL chez le groupe témoin et les groupes traité. Comparaison avec groupe témoin * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, comparaison avec le groupe Insulino-Résistance ^{a1} $p < 0.05$, ^{a2} $p < 0.01$, ^{a3} $p < 0.001$

8- Evaluation de bilan rénal

Les résultats présentés dans la figure 19 illustrent une augmentation significative ($P < 0,05$) de la concentration de l'urée et de la créatinine et une diminution hautement significative ($P < 0,01$) du taux de l'acide urique chez les ratte ont l'insulino-résistance comparant aux témoins. Par contre le traitement des ratte a l'IR par l'extrait méthannique de *P. oleracea*, *A. malaccensis* ou *Por+Aq* corrige cette perturbation par rapport aux ratte IR non traitées. On note aussi une diminution significative de l'urée chez les ratte traitées par le médicament par rapport au groupe IR.

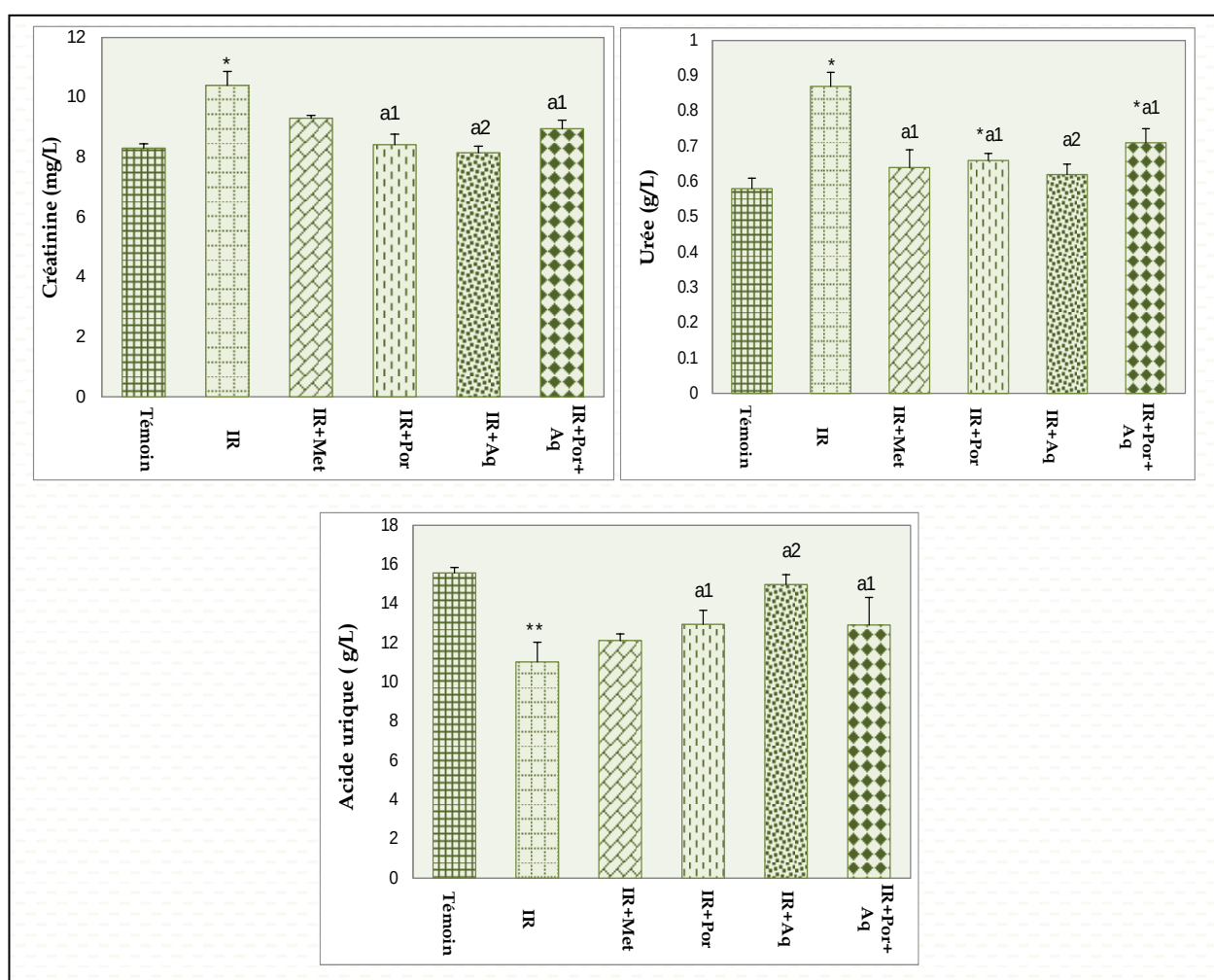


Figure 19 : Concentration plasmatique de Créatinine, Urée et l'Acide urique chez le groupe témoin et les groupes traité. Comparaison avec le groupe témoin * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$, comparaison avec le groupe Insulino-Résistance

9- Evaluation de bilan hépatique

L'induction de l'insulino-résistance chez les rattes entraine une augmentation significative ($P < 0,05$) de l'activité des transaminases (TGO et TGP), de la phosphatase alcaline et de la concentration des protéines totale en comparaison avec les rattes témoins, En revanche, une diminution significative ($P < 0,05$) de l'activité de TGO, TGP et de la concentration de protéines totale ont été signalé sous l'effet de traitement par l'extrait de *P. oleracea* ou *A. malaccensis* par rapport aux rattes IR. Mais pour le Co-traitement par les deux plantes n'entraine une diminution que l'activité de PAL et TGO par rapport aux rattes témoin. En ce qui concerne le traitement par le metformine, nous ne remarquons aucune amélioration significative de la fonction hépatique en comparaison avec le groupe IR (figure 20)

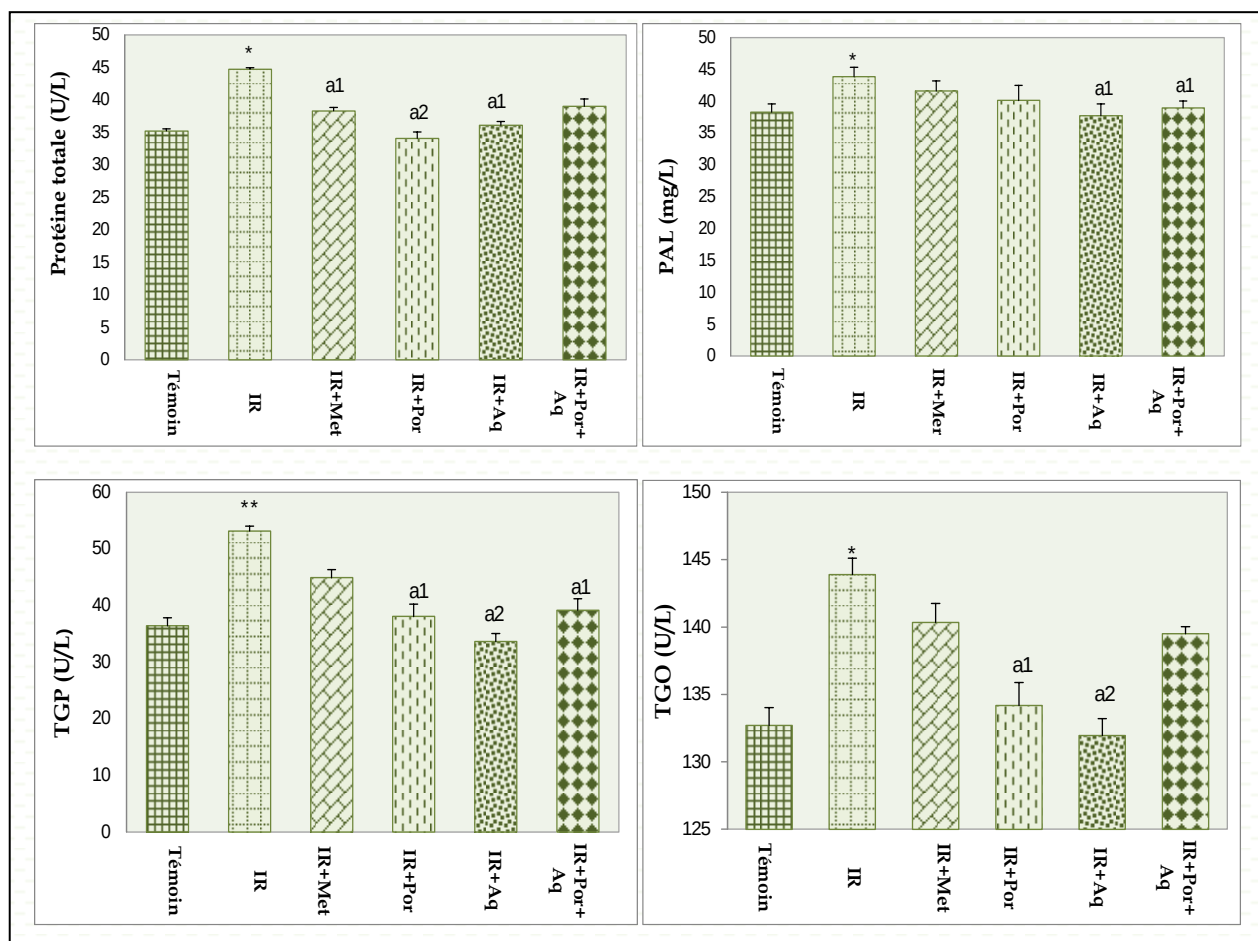


Figure 20 : Concentration plasmatique de Protéine totale et l'activité de transaminases chez le groupe témoin et les groupes traité. Comparaison avec groupe témoin * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$, comparaison avec le groupe Insulino-Résistance.

10- Mesure du taux de peroxydation lipidique

Les résultats obtenus (figure 21) montrent une augmentation significative ($p < 0,05$) du taux de la peroxydation lipidique dans le foie, les reins et le pancréas chez le groupe ont l'insulino-résistance. Tandis que le traitement par l'*Aquilaria*, *Portulaca* ou Por + Aq conduit à une réduction significative ($p < 0,05$), de cette augmentation au niveau hépatique, rénale et pancréatique mais avec moins d'effet au niveau cardiaque en comparaison avec le groupe IR. En fin, on a trouvé une diminution significative de la concentration de MDA cardiaque et pancréatique chez les rattes traitées par le *metformine* par rapport au témoin.

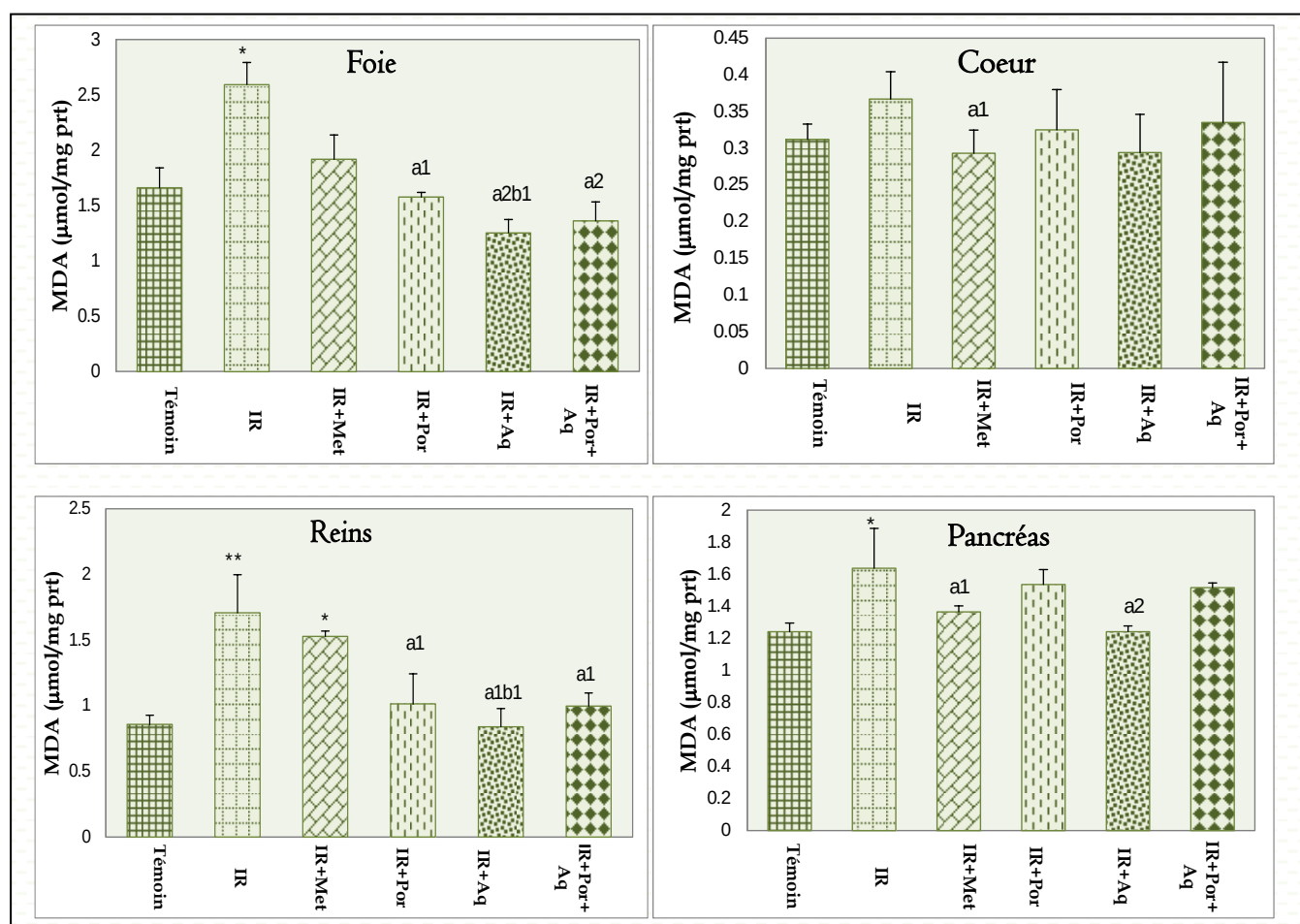


Figure 21 : Taux de la peroxydation lipidique dans le foie, reins, cœur et le pancréas chez le groupe témoin et les groupes traités. Comparaison avec groupe témoin * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ *** $p < 0,001$, comparaison avec le groupe Insulino-Résistance ^{a1} $p < 0,05$; ^{a2} $p < 0,01$; ^{a3} $p < 0,001$, ^{b1} $p < 0,05$;

CHAPITRE II

Discussion

Discussion

Un déséquilibre alimentaire constitue un facteur de risque majeur de nombreuses pathologies telles que les maladies cardiovasculaires, le diabète et l'obésité (Zuhanis et *al.*, 2016). Depuis l'Antiquité, les herbes et autres plantes ont été utilisées comme médicaments pour de nombreuses maladies, et ils sont encore la base d'un système de médecine traditionnelle dans différentes cultures (Yen-Chen et *al.*, 2017).

L'objectif de ce travail est d'évaluer l'effet hypoglycémiant, hypolipidémiant et antioxydant de l'extrait aqueux de *Portulaca oleracea* et de *Aquilaria malaccensis* pendant 5 semaines de traitement chez des rats rendus insulino-résistants par un régime enrichi en fructose.

Les résultats de l'analyse chromatographique l'HPLC et de screening phytochimique à révéler que l'extrait aqueux de feuilles sèches de *Portulaca oleracea* et l'écorce de tronc de *Aquilaria malaccensis* contiennent plusieurs composés bioactifs, notamment les polyphénols (17% et 23%) respectivement, des saponines, les tanins, les alcaloïdes, les flavonoïdes (présentes 10% et 16% dans *P. oleracea* et *A. malaccensis*, respectivement) et des sucres réducteurs.

1. Teneur phytochimique de *Portulaca oleracea* et de *Aquilaria malaccensis*

Les substances phytochimiques diététiques peuvent agir sur une ou plusieurs cibles moléculaires qui soulagent multiples processus pathologiques, y compris les dommages oxydatifs, les altérations épigénétiques, l'inflammation chronique (Tadeusz, 2015). Les saponines appartient à un groupe de glucosides huileux naturels qui moussent abondamment lorsqu'on les agite dans une solution, sont constituantes de nombreux médicaments végétaux et de médicaments populaires (Hostettmann & Marston, 2005). Il y a différentes applications en médecine et pharmacie, du fait des changements qu'elle induit dans la perméabilité intestinale utile pour l'absorption de certains médicaments (Waller & Yamasaki, 2013), pour ses effets favorisant l'hypocholestérolémie ou encore ses propriétés antibiotiques et antifongiques (Didier, 2015). Les tanins et les flavonoïdes constituent un sous ensemble des substances polyphénoliques végétales (polyphénols tient notamment à leur abondance dans l'alimentation et à leurs potentiels effets bénéfiques sur la santé, tout particulièrement dans leur rôle dans la prévention de diverses maladies associées au stress oxydatif. Ces effets dépendent de leur quantité mais aussi de leurs propriétés pharmacocinétiques (Anthony et *al.*, 2013), qui peuvent réagir avec les espèces réactives de l'oxygène pour produire des radicaux phénoxy stables, ils peuvent aussi agir comme des antioxydants grâce à leur capacité à complexer les ions métalliques (Collin & Crouzet, 2011). Les alcaloïdes sont des molécules organiques hétérocyclique azotées et basique, ils sont dérivés des acides aminés, ont des

propriétés thérapeutiques (Jean-Pierre et Yan-Chim, 2016). Ils sont biologiquement significatifs en tant que stimulateurs actifs, inhibiteurs et terminateurs de croissance et une partie d'un mécanisme endogène de sécurité et de régulation (Tadeusz, 2015), ont des qualités analgésiques antidépresseur comme la morphine ou la codéine (Margaret, 2013), stimulants centraux comme strychnine, Anti-hypertensifs comme réserpine, Diaphorétique comme pilocarpine, Agents anti tumorale comme camptothécine. Cependant, la plupart des alcaloïdes sont toxiques à des concentrations plus élevées, et la réponse physiologique qu'ils suscitent dépend principalement de la dose (Daniel, 2016).

2. Effet de régime Hyper-gras enrichi en fructose (HG-F)

Le régime (HG-F) contient le modèle de régime cafétéria qui utilise des produits alimentaires hautement savoureux à haute teneur en matières grasses ou à forte teneur en sucre (Gomez-Smith et *al.*, 2016), et le fructose avec pourcentage de 32%, Des études menées chez l'homme ont montré qu'une consommation importante de fructose induisait une augmentation des apports énergétiques et une prise de poids, une réduction de la sensibilité à l'insuline, et une dyslipidémie (Herron., 2016) (Claudine., 2014).

Dans notre étude, Nos résultats montrent que chez les rattes recevant un régime hyper gras avec le fructose provoque une augmentation hautement significative ($p < 0,01$) de gain de poids comparant au rattes recevant un régime standard, qui résulte un phénotype obèse, Ces résultats sont en accord avec l'étude de Johnson et *al.*, (2016), qui utilise seulement le régime cafeteria, nos résultats aussi montre augmentation hautement significative de poids relatif du foie. Cela est dû à la variété des aliments choisis, des aliments hautement savoureux et avec proportion élevés de lipides permet d'augmenter la palatabilité et provoquer l'hyperphagie des animaux et induit une augmentation de l'énergie absorbée, il conduit à une prise de poids rapide (Armani et *al.*, 2010), Les lipides forment un élément qui a le plus d'impact sur la satiété et la prise de poids. Il est bien établi qu'une alimentation à haute densité énergétique, riche en graisses diminue la satiété et provoque la sensation de faim et augmente le poids corporel (Claudine., 2014). Le régime Cafétéria conduit également au développement excessif du tissu adipeux, pourrait être par une diminution de la capacité à oxyder les lipides alimentaires (Tiago et *al.*, 2012), l'énergie excessive provoque des cellules pré-adipocytaires pour devenir des adipocytes (hyperplasie) ou un élargissement de la taille des adipocytes (hypertrophie). En outre, l'accumulation de graisse est régulé par le cycle lipolyse, lipogenèse (Yen-Chen et *al.*, 2017). Ce qui explique le taux significativement élevé ($p < 0.01$) de triglycérides et cholestérols dans les tissus adipeux chez les rattes recevant le régime (HG+F) en comparaison avec les rattes recevant un régime standard, ceci est en accord avec l'étude de Bocarsly et *al.*, (2010) qui montre la haute teneur en fructose provoque des caractéristiques de

l'obésité chez les rats, augmentation du poids corporel et des graisses corporelles (Bocarsly et *al.*, 2010), chez le rongeur une alimentation riche en fructose conduit en l'espace de quelques semaines au développement d'une obésité, avec l'augmentation de différents signaux de satiété corporel, engendrerait la promotion d'une surconsommation d'énergie, un gain de poids et le développement d'insulino-résistance (Nicolantonio et *al.*, 2015), suggérant que le fructose est bien le principale médiateur de l'intolérance au glucose et de la résistance à l'insuline (Schwarz et *al.*, 2015). Nos résultats confirment que le modèle des animaux recevant le régime (HG+F) est un modèle animal efficace pour étudier l'insulino-résistance associé à l'obésité.

3. Effet de *Portulaca oleracea* et/ou *Aquilaria malaccensis* sur le profil lipidique sériques et tissulaires et la Glycémie

Nos résultats montrent aussi que le traitement des rats insulino-résistants par l'extrait aqueux de *Portulaca oleracea* et/ou *Aquilaria malaccensis* induit à une diminution du gain de poids corporel, la phytothérapie peuvent fournir une approche thérapeutique meilleure ou plus efficace pour traiter l'obésité. Ainsi, de nombreux scientifiques s'intéressent à l'étude des produits naturels potentiels dans les plantes pour combattre l'obésité (Santos et *al.*, 2010), les composés naturels issus de la nourriture sont perçus comme sûrs et acceptables pour le patient par rapport aux agents thérapeutiques synthétiques (Fuentes et *al.*, 2015). Les propriétés anti-obésités des plantes peuvent s'exercer suivant différents modes d'action, par effet direct sur la prise alimentaire en supprimant l'appétit et induisant la sensation de satiété (Atta-ur-Rahman & Choudhary., 2014), comprennent aussi une réduction de l'absorption des lipides, une réduction de la consommation d'énergie, une augmentation de la dépense énergétique, une diminution de la différenciation et de la prolifération pré-adipocytaires, la diminution de l'apport énergétique du tractus gastro-intestinal (Hasani-Ranjbar et *al.*, 2013).

Les résultats obtenus montrent que le poids relatif de foie est augmenté de façon hautement significative ($p < 0.01$) chez le groupe recevant le régime (HG+F) par rapport le groupe Témoin. Cela est en accord avec les résultats de Milagro et *al.* en (2006), qui montrent que le poids total du foie a augmenté (36%) chez les rats nourris au régime cafeteria en comparaison avec un groupe témoin (Milagro et *al.*, 2006). L'utilisation de nourriture à haute teneur en graisses, conduit à l'augmentation de leur masse corporelle et à l'accumulation de triglycérides dans le foie (Bonet et *al.*, 2013), ainsi que le lipase hépatique a été augmentée chez les rats ayant consommé le régime riche en fructose ce qui augmente le stockage de triglycérides hépatique (Zaman, 2012), ces données est concordant avec notre résultats concernant la concentration de triglycérides et cholestérols hépatique montre une augmentation très hautement significative ($P < 0.001$) chez les rattes recevant le régime (HG-F) comparé au témoin recevant régime standard, et présentant une hyperlipidémie caractérisé

par élévation de triglycérides, cholestérols et cholestérols LDL, aussi un faible taux de cholestérol HDL et l'hyperglycémie, Ces résultats est bien corrélés avec plusieurs études tel que Villarroel et *al.*, (2014) et Andrea et *al.*, (2015), Afin d'interpréter ces troubles métaboliques, des études récentes ont été démontrées chez l'animal comme chez l'homme que l'administration de fructose de façon aiguë ou chronique stimulait la lipogenèse de novo hépatique (Yen-Chen et *al.*, 2017), ainsi des modèles animaux hautement reproductibles de suralimentation en fructose ont montré des triglycérides élevés en raison de l'augmentation de la sécrétion de triglycérides, de la clairance de la VLDL altérée et de l'estérification accrue des acides gras (David et *al.*, 2014). La phosphorylation irréversible du fructose par la fructokinase conduit au fructose-1-phosphate qui est clivé par l'Aldolase B en des métabolites phosphorylés à 3 atomes de carbone qui entrent dans la glycolyse ou la néoglucogenèse. Le glycérol-3-phosphate est un substrat pour la synthèse des triglycérides et autres glycérolipides (Zschocke & Hoffmann., 2017), et donc le fructose favorise la production de triglycérides hépatiques, il favorise la lipogenèse de novo, on a donc une augmentation du taux de VLDL, d'où une augmentation de la triglycémie (Neetu et *al.*, 2017), une autre étude a confirmé cet effet, a montré que la restriction isocalorique du fructose réduisait le triglycéride à jeun et le cholestérol LDL, La réduction la plus spectaculaire a été observée pour l'apo C-III, qui a été associée à une hypertriglycémie athérogène (Gugliucci et *al.*, 2016), en outre, la dyslipidémie typique de l'obésité se compose d'une augmentation des triglycérides, il a été interprété par la lipolyse des lipoprotéines riches en TG est altérée dans l'obésité par une réduction des niveaux d'expression de l'ARNm de lipoprotéine lipase (LPL) dans le tissu adipeux (Mercedes et *al.*, 2011) (Boudewijn et *al.*, 2013). Des taux élevés d'acides gras libres peuvent diminuer l'expression ou l'activité de l'ARNm de LPL dans le tissu adipeux et le muscle squelettique et une augmentation de la synthèse de VLDL dans le foie peut inhiber la lipolyse des chylomicrons, ce qui favorise l'hypertriglycémie (Unju & Myung-sook, 2014). Hypertriglycémie peut être la principale cause des autres anomalies lipidiques car elle conduira à une clairance retardée des lipoprotéines riches en TG et la formation accrue de LDL (Boudewijn et *al.*, 2013), la carence en insuline dans les cellules en cas d'insulino-résistance se traduit par une réduction de l'inhibition de l'ACAT (Acyl CoA Cholestérol Acyl Transférase) au sein des HDL et donc par une augmentation de synthèse et de sécrétion de cholestérol estérifié par l'anthérocyte (Johansson et *al.*, 2016), cet effet est lié à la perte de l'effet positif de l'insuline sur le catabolisme des LDL, et donc apparaît une diminution importante du HDL-cholestérol et augmentation du LDL-cholestérol (Ballantyne, 2014). En outre, l'expression d'Apo E diminue avec l'équilibre calorique positif, Apo E se trouve dans les adipocytes, et facilite adipocytes pour l'efflux de cholestérol à des particules HDL. Le

nombre de particules HDL ont tendance à diminuer avec le gain de poids (Kirsti et *al.*, 2015), ces mécanismes conduisent à l'apparition et le développement dyslipidémie ce qui peut expliquer nos résultats concernant le profil lipidique.

L'hyperglycémie observée dans notre étude chez le groupe recevant un régime (HG-F) et accorde avec l'étude de Ajiboye et *al.*, (2017) chez des rats consommer régime à haute teneur en fructose (Ajiboye et *al.*, 2017). Contrairement au glucose, le fructose n'induit pas la sécrétion d'insuline par les cellules β du pancréas : en effet, les transporteurs du fructose (GLUT5) ne sont pas présents dans ces cellules (Sareen et *al.*, 2016). Le fructose serait un moins inducteur des mécanismes de la satiété que le glucose/sucrose, et va aussi diminuer la sensibilité du foie et des tissus périphériques à l'insuline (Tappy et *al.*, 2010), l'hyperglycémie à jeun caractéristique est en effet largement liée à l'augmentation endogène de la production de glucose, l'oxydation des AGL dans le foie fournit des co-facteurs (ATP, NADH, acétyl-CoA) nécessaires à certaines étapes clés de la néoglucogenèse, conduisant à une production accrue de glucose par le foie (Goran et *al.*, 2013), cela va inhiber la signalisation de l'insuline, le foie va alors produire plus de VLDL augmentant ainsi le taux de TG dans le sang, et plus de glucose, ce qui va stimuler la sécrétion d'insuline par le pancréas et participer à la mise en place d'une insulino-résistance généralisée dans l'organisme (Stanhope et Havel, 2009).

Le traitement par l'*Aquilaria malaccensis* induit une réduction de l'hyperglycémie et la dyslipidémie observé chez les rats recevant le régime (HG+F), dans une étude plus récente dans Thailand sur thé de Tri-Sura-Phon (TSP) dont l'*Aquilaria* et l'un de composition essentielle dans (TSP) montre la propriétés bénéfique de cette thé sur la modulation de taux élevé du glucose et perturbation du profil lipidique chez des sujet obèses (Sirigoon et *al.*, 2017), l'anti-hyperglycémiant et activités d'amélioration de l'absorption du glucose de extraits méthanoliques du bois d'agar sont semblables à ceux de l'insuline (Pranakhon et *al.*, 2011), mais leur contribution à l'activité anti-hyperglycémique et à l'amélioration des activités d'absorption du glucose n'est pas connue (Vandana et *al.*, 2013). D'autre part l'analyse de notre plantes par HPLC montre que l'*Aquilaria* est riche en flavonoïdes type Kaempferol, ce dernier est capable de diminuer l'augmentation du taux de glucose sérique et augmenter l'absorption de glucose dans le muscle du rat de façon plus efficace que l'insuline (Ramachandran & Baojun, 2015). L'extrait d'*Aquilaria* représenter des suppléments diététiques potentiels qui peuvent être utiles pour permettre une flexibilité dans la planification des repas et réduira automatiquement le nombre de patients diabétiques dans la population mondiale (Kouakou & Kamagate, 2015), ces effet peut être du a la présence de plusieurs composé bioactif dans cette plants, le bois d'agar est contient le cafestols c'est un

type de di terpènes (Veronica et *al.*, 2016), Cafestols inhibe la synthèse des acides biliaires et réduit le taux de triglycérides hépatiques; empêché l'obésité (Cruchten et *al.*, 2010), l'adiposité et la stéatose du foie induite par le régime forte teneur en matières grasses et normalisé les taux de glycémie et d'insuline, la réduction du gain de poids corporel (Mellbye et *al.*, 2015), d'après les résultats des tests phytochimique, l'*Aquilaria malaccensis* contiennent des saponines. Les saponines forment des micelles avec des stérols tels que le cholestérol et les acides biliaires. La partie hydrophobe de la saponine (l'aglycone ou la sapogénine) s'associe (liaison lipophile) avec le noyau de stérol hydrophobe dans une agrégation micellaire empilée (El-Newary, 2016). Les saponines empêchent l'absorption du cholestérol en interférant avec sa circulation entéro-hépatique et en augmentant l'excrétion fécale du cholestérol, ce qui réduit la concentration de cholestérol LDL plasmatique (Taylor, 2011). Cet effet est probablement le résultat de la liaison de la saponine au cholestérol dans la bile de l'intestin et la prévention de sa réabsorption (Marston & Oleszek, 2013). Par ailleurs, le chromatogramme de polyphénols pour l'extrait d'*Aquilaria malaccensis* montre qu'il contient une quantité très importante de apigénine, selon l'étude de jung et *al.*, (2016) l'apigénine amélioré la dyslipidémie et la stéatose hépatique. Ces effets bénéfiques ont été accompagnés d'une diminution des activités des enzymes hépatiques contrôlant la synthèse des triglycérides et l'estérification du cholestérol et par l'augmentation de l'expression des gènes hépatiques impliqués dans l'oxydation des acides gras.

Nos résultats montrent que le traitement par *Portulaca oleracea* exerce un effet hypoglycémique, hypolipédémique et réduit le gain de poids de façon significative, ces résultats en accord avec plusieurs études (Peipei et *al.*, 2017; El-Sayed, 2011; Zidan et *al.*, 2014), l'activité anti-hyperglycémique significative lors de traitement par la *P. oleracea* peut être attribuée à la présence de polyphénols rapportés comme un rôle majeur dans la réduction du diabète qui aide à la régulation des taux plasmatiques de glucose et du métabolisme hépatique du glucose (Bose et *al.*, 2008). Plusieurs chercheurs ont confirmé que les polyphénols réduisent le taux de glycémie en rats alimentent un régime alimentaire à forte teneur en graisse en augmentant le transporteur de glucose musculaire (Hae-Jin et *al.*, 2012). Chemler et *al.*, (2007) ont rapporté que les polyphénols pouvaient inhiber les enzymes digestives telles que l'amylase salivaire, la sucrose intestinale et l' α -glucosidase, ce qui a réduit l'action de la digestibilité et favorise la régénération des cellules β pancréatiques (Chemler et *al.*, 2007). En outre, la présence de Rutin dans le *P. oleracea* présentait une diminution du taux de glucose plasmatique avec une augmentation des taux d'insuline, ainsi que la restauration de la teneur en glycogène et les activités des enzymes métaboliques des glucides (Ramachandran & Baojun, 2015), la rutine stimule aussi l'absorption de glucose

via le PI3K, une protéine kinase C et des voies de la protéine kinase activées par un mitogène (Kappel et *al.*, 2013).

De nombreux composés naturels ont été documentés comme des agents hypolipidémiants dans *P. oleracea* tels que les polyphénols, les flavonoïdes, les tanins, les alcaloïdes, le phytostérol, les acides gras insaturés et les fibres alimentaires (El-Newary, 2016), une diminution significative des taux sériques de glucose, TG, cholestérol total, LDL tandis qu'une augmentation significative du taux de cholestérol des HDL, pourraient être efficaces et sûres en tant que thérapie adjuvante pour les sujets diabétiques de type 2 (El-Sayed, 2011). Il a été montré qu'un régime riche en polyphénols conduit à une diminution de l'absorption intestinale de TG par inhibition de la lipase pancréatique (Zern & Fernandez, 2005), ainsi que l'activité hypocholestérolémiant des composés phénoliques peut résulter du catabolisme rapide du LDL-C par ses récepteurs hépatiques pour l'élimination finale sous forme d'acides biliaires, D'autre part, une diminution significative du niveau TG peut être en augmentant l'activité de l'enzyme lipase ou en augmentant l'excrétion de TG via des excréments (Sukla et *al.*, 2004). L'HDL transporte le cholestérol par des tissus périphériques au foie pour catabolisme, ce qui a entraîné une réduction significative de TG et VLDL (Ballantyne, 2014). Les fibres alimentaires existe dans nos plantes, soit des fibres solubles soit des fibres insolubles traversent l'estomac et l'intestin grêle et ne sont pas digérées, mais il est fermenté dans le gros intestin par les bactéries coliques cause une diminution du cholestérol. (Raquel & Paula, 2016), il produit des acides gras à chaîne courte tels que les acides acétique, propionique et butyrique en particulier, le propionate a inhibé la synthèse du cholestérol et des acides gras dans le foie (Bruce, 2016), L'inclusion de fibres visqueuses ou solubles dans l'alimentation peut réduire les niveaux de LDL-C, qui dilue les teneurs gastro-intestinales peuvent entraver la digestion et l'absorption des graisses alimentaires entraîne une augmentation du taux de passage dans le tractus gastro-intestinales (Hark et *al.*, 2014), par conséquent, la libération de cholestérol dans le foie par les restes de chylomicron a diminué, avec une régulation positive concomitante du récepteur de LDL et une diminution de la sécrétion de lipoprotéines pour maintenir l'homéostasie du cholestérol dans le foie (El-Newary, 2016).

Les feuilles ont une forte quantité de fer, des acides gras oméga-3 et de l'acide α -linoléique (Gunasekaran et *al.*, 2014), les acides gras ω -3 ont considérablement abaissé le cholestérol total et les triglycérides (Canavy, 2016), qui exercent un effet hypocholestérolémique potentiel par l'inhibition des enzymes clés liées à la synthèse et au transfert du cholestérol, telles que la 3-Hydroxy-3-méthylglutaryl réductase et l'acyl-CoA: le cholestérol acyltransférase (Eissa et *al.*, 2015). Les acides gras ω -3 réduisent sélectivement les

triglycérides en augmentant le flux de glucose vers le glycogène, en augmentant la β -oxydation mitochondriale et en diminuant la synthèse des triglycérides (Flachs et *al.*, 2014).

4. Effet de *Portulaca oleracea* et/ou *Aquilaria malaccensis* sur l'amélioration de la fonction hépatique

Le foie joue un rôle majeur dans la détoxification et l'excrétion de nombreux composés endogènes et exogènes, toute blessure ou altération de sa fonction peut entraîner plusieurs implications sur sa santé (Ikhajiangbe et *al.*, 2014). Concernant le bilan hépatique, notre étude montre que l'induction de l'insulino-résistance chez les rattes par le régime HG+F entraîne une augmentation significative des transaminases, des protéines totale et de la phosphatase alcalins en comparaison avec les rattes témoins. Les transaminase sont positivement corrélée avec les taux de glucose et TG et l'indice de masse corporelle (IMC) chez les patients diabétiques (Howayda et *al.*, 2017). Les lésions du tissu du foie dû à une hyperlipidémie altèrent leur fonction de transport et leur perméabilité membranaire, conduisant à une fuite d'enzymes à partir des cellules, par conséquent, la libération marquée d'AST et ALT dans la circulation indique des dommages sévères aux membranes de tissu hépatique (Tai-Hwan et *al.*, 2007). Wijekoon et *al.*, (2004) ont rapporté une diminution des concentrations d'acides aminés dans le foie et le rein des rats gras diabétiques de Zucker (rats résistance à l'insuline), ce qui indique une augmentation du catabolisme de ces acides aminés dans des conditions résistant à l'insuline (Wijekoon et *al.*, 2004). L'hépatosteatose est en corrélation avec une insuffisance d'action de l'insuline hépatique, Néanmoins, il est débattu si la résistance à l'insulin ou l'excès de concentration de Triacylglycérol hépatique se développe en premier (Cynthia et *al.*, 2009), en présence d'une résistance à l'insuline, l'augmentation de masse des tissus adipeux entraîne une suppression inappropriée de la lipolyse et une augmentation du flux d'AGL non-estérifié de la graisse viscérale au foie. Par conséquent, il y a une augmentation de la taille du pool d'AGL hépatique qui favorise l'accumulation de triglycérides dans les hépatocytes (Kotronen et *al.*, 2008; Andrew, 2014). La surcharge de triglycérides fournit des quantités abondantes de substrat pour les voies non oxydatives, en plus de provoquer un dysfonctionnement mitochondrial. On pense que ces changements induits par les lipides, conduisent finalement à une apoptose cellulaire (Judi et *al.*, 2010). Les activités transaminases tissulaires sont augmentées dans des situations associées à un catabolisme amélioré des acides aminés et à la gluconéogenèse, une indication d'une augmentation de la dégradation des protéines et du catabolisme des acides aminés dans ces conditions métaboliques, fournissant des précurseurs pour la gluconéogenèse (Naeem et *al.*, 2017). En outre, les niveaux AST et ALT augmentent en raison de composés toxiques

affectant l'intégrité des cellules du foie (Ikhajiangbe et al., 2014), une glycation non enzymatique améliorée des protéines dans des conditions hyperglycémiques peut diminuer la demi-vie des protéines contribuant ainsi à la dégradation accrue des protéines, ce qui entraîne augmentation de taux de protéines plasmatiques (Andrew, 2014).

En revanche, le traitement par le *P. oleracea* et/ou *A. malaccensis* montre une diminution significative ($P < 0,05$) de l'activité de ASAT, ALAT, PAL et la concentration de module) par rapport aux rattes insulino-résistance sans traitement. L'activité hépatoprotectrice de purslane a été signalée dans certaines situations comme la fibrose hépatique induite par la ligature (Ali et al., 2011), la toxicité induite par le cisplatine (Sudhakar et al., 2010) et lors de la lésion ischémique-reperfusion rénale (Askaripour et al., 2015), La diminution des niveaux de transaminases indique la stabilisation de la membrane plasmique et la protection des hépatocytes contre les dommages causés par glycotoxité et la lipotoxité (Ikhajiangbe et al., 2014). Le traitement par le *P. oleracea* et/ou *A. malaccensis* en voie les fonctions hépatiques à la normalisation en ce qui concerne le contrôle hyperlipidémique. Cette action protectrice peut être due à l'amélioration de l'accumulation de graisse dans le foie (El-Newary, 2016). Cela suggère que les interventions diététiques et de vie contribuent à une restauration rapide de la sensibilité à l'insuline dans le foie, au moins à un stade précoce de la résistance à l'insuline hépatique (Khale et al., 2015).

5. Effet de *Portulaca oleracea* et/ou l'*Aquilaria malaccensis* sur les paramètres hématologiques

Nos résultats révèlent que l'administration de régime HG-F chez des rattes provoque une augmentation hautement significative ($p < 0,01$) des globules blancs, granulocytes, ainsi que les lymphocytes, ce qui indique la présence d'une inflammation ces résultats est d'appui avec l'étude de Gomez-Smith et al., (2016) qui utilisé le model de régime cafeteria seul, aussi l'étude de Kalivarathan et al., (2017), Ajiboye et al., (2017) et Incir et al., (2016) montrent que les niveaux des facteurs pro-inflammatoires augmentés par le régime à forte teneur +en fructose, régime riche en fructose peut induire une inflammation, car le fructose en association avec une augmentation de l'infiltration de monocyte-macrophage (Glushakova et al., 2008). En outre, le fructose exerce un effet pro-oxydant et pro-inflammatoire, puisque il active la NADPH-oxydase, responsable de la production d'anion superoxyde. Ce dernier active des facteurs de transcription inflammatoires redox-sensibles, notamment ceux qui codant pour le TNF- α (Tumor Necrosis Factor α) et l'IL-6 (interleukine-6) (Ludivine, 2013), aussi plusieurs études ont mis en évidence l'existence de cette inflammation de bas grade avec augmentation de marqueurs inflammatoires circulants proportionnellement à l'IMC aussi il existe un lien entre l'insulino-résistance et l'inflammation de faible échelle (Ashton, 2012), le

tissu adipeux des obèses est caractérisé dès l'enfance non seulement par le stockage des triglycérides en excès, mais aussi par un changement majeur de la matrice extracellulaire et par une dérégulation des fonctions sécrétoires (Tsuguhito, 2015). Les adipocytes sécrètent plusieurs cytokines (TNF α , IL-6, leptine, adiponectine), responsable de la détermination de la sensibilité à l'insuline hépatique et musculaire (Lacolley et *al.*, 2007). TNF α peut être associé au développement de la résistance à l'insuline dans les modèles animaux avec obésité génétique ou induite par le régime alimentaire par la suppression de la transduction du signal d'insuline (Zaman, 2012). En effet, l'inflammation du tissu adipeux obèse induit des taux circulants élevés de cytokines pro-inflammatoires TNF α , IL-6 et d'acides gras libres, comme cela a été montrée chez la souris et chez l'homme. Ces cytokines pro-inflammatoires réduisent la sensibilité à l'insuline des tissus cibles et entraînent des dysfonctionnements de la cellule β (Hivelin, 2016 ; Tam et *al.*, 2010).

D'après nos résultats, le traitement par le *Portulaca oleracea* exerce un effet anti inflammatoire chez les rattes insulino-résistance, ces résultats en accord avec plusieurs études, Lee et *al.*, en 2012 montrent que *P. oleracea*, supprime l'inflammation vasculaire diabétique chez les souris (Sook et *al.*, 2012), Xiaohang et *al* en 2015 révèle que le *P. oleracea* réduit l'expressions de l'ARNm des cytokines pro-inflammatoires (TNF- α , IL-1 β et IL-6) et les expressions protéiques de TNF- α chez des souris souffrent la colite ulcéreuse (Xiao-Lin et *al.*, 2015). De nombreux agents nutritionnels et pharmacologiques, notamment les polyphénols, les flavonoïdes, les acides gras polyinsaturés oméga-3 ont été étudiés pour déterminer leurs effets anti-inflammatoires (Celine, 2016). De nombreuses études ont prouvé que les flavonoïdes déploient leurs activités pharmacologiques, notamment anti-inflammatoires, par l'inhibition d'importantes enzymes de régulation (Sook et *al.*, 2012). En effet, certains flavonoïdes sont de puissants inhibiteurs de la production des prostaglandines, des molécules pro inflammatoires très actives (Martini, 2011). Cet effet serait dû à la réduction du métabolisme de l'acide arachidonique par l'inhibition de la lipooxygénase, de la cyclooxygénase et de la phospholipase A2 (Qinghu et *al.*, 2016). Ainsi que l'acide gallique et ses dérivés sont responsables de l'inhibition de la fixation du NF- κ B, essentiels pour l'expression des cytokines pro-inflammatoires telles que l'histamine, TNF- α et IL-6 (Angélica et *al.*, 2013). Les stéroïdes provoquent également une réaffectation des granulocytes, entraînant une augmentation des granulocytes circulants et des pools de tissus réduits. Ces effets inhibiteurs sont parallèles aux puissances anti inflammatoires relatives de ces stéroïdes (Agyare et *al.*, 2015). En outre, l'Oleracimine un nouveau alcaloïde de *Portulaca oleracea* qui inhibait notablement la production d'oxyde nitrique et pourrait diminuer de manière dose-

dépendante les sécrétions d'interleukine 6, facteur de nécrose tumorale α (Cui-Yu et *al.*, 2016 ; Kopaei & Alesaeidi, 2016).

Le traitement par l'*Aquilaria malaccensis* entraînant une réduction des signes inflammatoire chez les rattes insulino-résistance en comparaison avec le témoin, cela probablement due à la présence des molécules bioactive dans le bois d'agar. Il est intéressant de noter qu'un composé majeur du bois d'agar identifié comme étant des 2- (2-phényléthyl) chromones et plusieurs terpénoïdes importants tels que l'eudesmol, le guaïène (Chai et *al.*, 2016), L'étude de l'ancrage moléculaire chez silico suggère que le composé 10-épi- γ -Eudesmol, sont de préférence plus actifs que d'autres composés identifiés avec une forte affinité de liaison pour les principaux récepteurs anti-inflammatoires et immuno-modulateurs, conduit à une réduction de manière significative des cytokines pro-inflammatoires (IL-1 β , IL-6 et TNF- α) et a contribué à la validation de son utilisation traditionnelle pour traiter les affections liées à l'inflammation (Yadav et *al.*, 2013), L'huile d'*Aquilaria* a présenté un effet de stabilisation de la membrane lysosomales et cette effets est importante pour limiter la réponse inflammatoire en empêchant la libération de constituants lysosomaux de neutrophiles activés tels que les enzymes bactéricides et les protéases, ce qui entraîne une inflammation tissulaire supplémentaire et des dégâts suite à une libération cellulaire supplémentaire (Habibur et *al.*, 2012), autre études plus récent montre cinq nouveaux dérivés de 2-(2-phényléthyl) chromone possèdent des activités anti-inflammatoires sur la production d'oxyde nitrique (NO) induite par les lipopolysaccharides (Huo et *al.*, 2017), GYF-17, un autre dérivé de 2- (2-phényléthyl)-chromone, a été isolé à partir de bois d'agar et a montré une activité supérieure d'inhibition de la production de NO et des principaux facteurs pro-inflammatoires, y compris le TNF- α , d'IL-6 et d'IL-1 β l'expression et la sécrétion (Zhixiang et *al.*, 2016).

6. Effet de *Portulaca oleracea* et/ou l'*Aquilaria malaccensis* sur la fonction rénal

Concernant les résultats de la fonction rénale notre résultats, il montrent une augmentation très hautement significative de la concentration de la créatinine et de l'urée chez les rattes insulino-résistante par apport au rattes témoin, le niveau de créatinine dans le sang augmentera en raison de la mauvaise clairance de la créatinine par les reins (Bispo et *al.*, 2013). Des niveaux anormalement élevés de créatinine permettent ainsi de prévenir un dysfonctionnement ou une défaillance des reins (Piquet & Hébuterne., 2007), l'augmentation de la créatinine sérique dans notre étude peut être signe d'une toxicité rénale qui est un marqueur très spécifique d'une atteinte rénale et une augmentation importante d'urémie signe un état d'hypercatabolisme protéique (Christopher, 2010), Comme la filtration glomérulaire

(c.-à-d. La fonction rénale) diminue, l'excrétion urinaire de l'urée et de la créatinine est aussi diminué ce qui reflète sur la concentration sanguine de ces deux paramètres qui sont augmenté (Harber, 2014). On peut expliquer aussi l'augmentation de l'urée et la créatinine par la déshydratation par ce que ces deux paramètres sont augmenté avec la déshydratation, dont l'hyperglycémie entraîne une glycosurie avec diurèse osmotique, déshydratation et diminution de la perfusion rénale, ceci aboutit à la diminution de l'excrétion rénale de glucose qui est normalement un mécanisme majeur de défense contre l'hyperglycémie (Fourcade et *al.*, 2014). En effet l'élévation de la créatinine et l'urée peut expliquer par la néphropathie diabétique qui est le principal déterminant de la morbidité et de la mortalité chez les patients atteints de diabète. L'hyperglycémie chronique est un initiateur majeur de la perturbation de la fonction rénale (Yang et *al.*, 2015).

Le traitement des rattes insulino-résistantes par *Portulaca oleracea* et l'*Aquilaria malaccensis* améliore la fonction rénale par diminution des concentrations sériques de créatinine et urée par apport aux rattes insulino-résistantes, En fait que les effets hypoglycémiques de deux plantes peuvent être associés à la néphroprotecteur, les flavonoïdes ayant un effet protecteur sur le dysfonctionnement rénal chez les rats nourris avec un régime riche en fructose, par la modulation des voies pathologiques induites la résistance à l'insuline (Ramachandran & Baojun, 2015). Il convient également de noter que les preuves cumulatives indiquent que certains médicaments à base de plantes ralentissent la progression des maladies rénales et des lésions rénales (Gondwe et *al.*, 2008).

7. Effet de *Portulaca oleracea* et/ou l'*Aquilaria malaccensis* sur la peroxydation lipidique

Finalement, concernant l'état du stress oxydatif, l'un des marqueurs biologiques les plus fréquemment utilisés fournissant une indication du niveau de la peroxydation lipidique est la concentration plasmatique de malondialdéhyde (MDA), l'un de plusieurs sous-produits du processus de peroxydation lipidique (Guéraud et *al.*, 2015). Notre résultats montrent que le taux de l'MDA tissulaires étaient significativement plus élevés chez les rattes insulino-résistantes par apport au témoin, Les régimes à forte teneur en fructose peuvent avoir un pro-oxydant, et les rats nourris avec du fructose ont montré moins de protection contre la peroxydation lipidique (Ramesh et *al.*, 2015). Il a été démontré que les conditions hyperglycémiques peuvent augmenter la production de ROS par l'auto-oxydation du glucose et la glycation des protéines (Kun-Ning et *al.*, 2013). Des niveaux excessifs de ROS, décrit comme le stress oxydatif, est dérivé par le déséquilibre entre la production cellulaire de pro-

oxydant et de systèmes antioxydants (Erdi & Kartal, 2017), ce qui contribue à l'apparition et à la progression de la résistance à l'insuline (Chang, 2016). La production excessive de ROS dans des conditions d'insulino-résistance/ hyperglycémiques attaque les organites cellulaires locales, y compris les lipides membranaires, ce qui entraîne une peroxydation lipidique (Kun-Ning et *al.*, 2013). Les membranes biologiques, par leur richesse en acides gras polyinsaturés, constituent des cibles privilégiées pour les espèces oxydantes. La peroxydation des membranes biologiques est ainsi à l'origine de la production de nombreux radicaux libres (Armstrong, 2016). L'augmentation de l'exposition à l'oxydation induite par le fructose a été démontrée par des niveaux élevés de MDA dans notre étude. La production de ROS a augmenté de façon sélective dans le tissu adipeux des souris obèses, accompagnée par l'expression augmentée de la NADPH oxydase et une diminution de l'expression d'enzymes antioxydants (Shigetada et *al.*, 2004), l'organisme dispose de plusieurs systèmes antioxydants. La première ligne de défense comporte des molécules non enzymatiques et des enzymes. Les antioxydants non enzymatiques sont constitués de vitamines, d'oligo-éléments (zinc, sélénium), du glutathion et de l'acide urique (Papazian & Antoine, 2008), comme notre résultats présentent une diminution significative de taux d'acide urique chez les ratte insulino-résistantes, l'acide urique s'accumule comme produit final du catabolisme des purines, et est présent en quantité importante dans le plasma humain avant d'être éliminé par voie rénale, puisqu'il a été démontré que l'acide urique possédait des propriétés antioxydants (Kimmel et Rosenberg, 2014). En effet, l'acide urique possède une fonction de piègeur important vis-à-vis de certains composés très réactifs, comme l'oxygène singlet, les radicaux peroxydes et hydroxydes, ainsi que de l'acide hypochloreux produit par la myéloperoxydase (Lacolley et *al.*, 2007). La diminution du statut antioxydant avec l'alimentation en fructose peut être attribuée à une peroxydation lipidique accrue et la progression de stress oxydatif (Kun-Ning et *al.*, 2013), ce qui contribue à l'apparition et à la pathogenèse de la néphropathie diabétique, et les lésions rénales induites par le glucose sont associées à une production excessive d'espèces réactives d'oxygène (ROS) dans des conditions hyperglycémiques *in vitro* (Yang et *al.*, 2015). Le stress oxydatif est associé à l'activation d'une cascade de voies de signalisation inflammatoire et caractérisé par une production anormale de cytokines (TNF- α et IL-6). On a montré que le TNF- α augmentait la lipolyse des adipocytes, ce qui augmente encore les acides gras libres et provoque ses effets négatifs directs sur la voie de signalisation de l'insuline (Samarghandian et *al.*, 2017). Cela indique que le stress oxydatif responsable à la progression de l'insulino-résistance associé à l'obésité.

Nos résultats suggèrent que les extraits aqueux de *Portulaca oleracea* et/ou d'*Aquilaria malaccensis* réduit l'état de stress oxydatif par la réduction du taux de MDA tissulaire, cela peut être dû à la richesse de ces plantes en composés bioactifs et en substances antioxydants qui inhibent la lipoperoxydation et l'altération causées par la production excessive des radicaux libres. Plusieurs études montrent une grande activité antioxydant dans *P. olearcea* qui est capable d'inhiber la peroxydation lipidique (Bin et al., 2012; Silva et Carvalho, 2014; Mousavi et al., 2015), ces propriétés antioxydants sont principalement en raison de son contenu élevé de composés phénoliques (Amirul et al., 2015), qui signalé comme une excellente source de vitamines antioxydants α -tocophérol, d'acide ascorbique et de β -carotène ce qui rend cette plante des propriétés nutritives et antioxydants élevées, en raison de leur capacité à neutraliser les radicaux libres et ont le potentiel de prévenir les maladies cardiovasculaires et le diabète (Yahiaoui et al., 2016).

La réduction de taux de peroxydation lipidique après le traitement d'*A. malaccensis*, peut être dû à la présence des composés antioxydants dans l'extrait, Les tests préliminaires de dépistage phytochimique des extraits bruts d'*A. malaccensis* révèlent la présence d'alcaloïdes, de flavonoïdes, de saponines et de tannins. Certains produits phytochimiques ont une activité antioxydant où ils offrent une protection contre les dommages et le risque de développer des maladies métaboliques (Nik Wil et al., 2014). Hendra et al., (2016) a révélé que la variété de la molécule puissante comme les flavonoïdes était présent dans l'écorce et aussi la plante possède une valeur antioxydants important (Hendra et al., 2016) et possède également une importante activité de balayage des radicaux libres (Tintumol et al., 2013).

D'autre part les résultats d'analyse chromatographique par l'HPLC montrent l'existence d'une quantité très importante de naringinine et Rutin dans l'extrait de *P. oleracea*, et Apigenin dans l'extrait d'*A. malaccensis* qui sont des composés chimiques de la famille des flavones, une sous-classe des flavonoïdes qui ont des effets bénéfiques contre la résistance acquise à l'insuline (Martina Blundera et al., 2017), ces substances ont été rapportée comme étant associée à une réduction du risque de maladies cardiovasculaires et à la protection contre l'inflammation, le cancer, l'oxydation et les bactéries (Veena & Pracheta, 2014). Ces activités biologiques peuvent être attribués à leur structure chimique, degré de polymérisation et la forme de conjugaison (malonylation ou glycosylation) (Hsu et al., 2017), qui préviennent efficacement la peroxydation lipidique puisqu'ils peuvent réagir avec la plupart des radicaux libres susceptibles d'arracher un hydrogène sur le groupement CH_2 situé entre les deux doubles liaisons des acides gras polyinsaturés, ils formeraient des espèces radicalaires intermédiaires peu réactives (Min-Jung et al., 2014).

CONCLUSION

Conclusion et perspective

Ce travail a été mené pour évaluer l'efficacité de traitement par deux plantes *Portulaca oleracea* et *Aquilaria malaccensis* avec une dose de 400mg/kg et 200 mg/kg contre l'insulino-résistance chez les rattes Wistar.

L'analyse phytochimique des plantes montre que l'extrait méthanolique de *Portulaca oleracea* et *Aquilaria malaccensis* sont très riche en polyphénols (Apigénin), flavonoïdes (Quercétin Kampferol), tanins, trapézoïdes, saponines, ascorbate et sucres réducteurs, ce qui pourrait représenter une nouvelle source potentielle des molécules bioactives ont un important effet thérapeutique contre plusieurs pathologie.

D'après notre étude, on peut conclure que le régime alimentaire utilisé pour les animaux (régime hypergras riche en fructose) conduit à l'induction de l'insulino-résistance associée à des perturbations métaboliques comme dyslipidémie, l'hyperglycémie et induit par la suite un hépatopathie et un stress oxydatif.

Nos résultats ont montré aussi que l'extrait aqueux de *Portulaca oleracea* et l'*Aquilaria malaccensis* induit une perte du poids corporel ce qui permet d'orienter ce type de traitement contre l'obésité et le surpoids .

De plus, nous avons constaté de façon très remarquable d'après notre étude que l'extrait aqueux de *Portulaca oleracea* et l'*Aquilaria malaccensis* ont des effets hypoglycémiant et hypolipidémiant et hépatoprotecteur (symptômes majeur de l'insulino-résistance) au niveau plasmatique et tissulaire (tissus adipeux et hépatique). Ces résultats montrent bien l'efficacité de ces plantes sur mobilisation et la sensibilisation cellulaire de l'action de l'insuline et ces effet sur le métabolisme énergétique.

Nos résultats ont montré également que les extraits méthanoliques de *portulaca oleracea* et l'*Aquilaria malaccensis* réduit la peroxydation lipidique et améliore l'état de stress oxydatif ce qui permet d'utiliser des plantes pour la protection contre les dégâts des radicaux libre et les complications de l'insulinorésistance sur le foie, cœur et les reins.

Concernant la comparaison entre l'effet bénéfique de ces plante et le metformine, nos résultats présentent un effet comparable de ces composants avec un effet dominant de l'*Aquilaria malaccensis* dans plusieurs cas Ce qui nous permet d'augmenter l'avantage d'utilisation de la phytothérapie à base de cette plante contre l'insulino-résistance avec grande efficacité thérapeutique et moins d'effet secondaire.

A la lumière de cette étude, nous avons constaté que la *Portulaca oleracea* et l'*Aquilaria malaccensis* ont des effets bénéfiques sur les altérations métaboliques associe de l'insulinorésistance chez les rattes. Son intégration dans l'alimentation peut participer à

améliorer le profil métabolique et réduire l'incidence de diabète et ses complications à long terme.

Des études plus approfondies sont nécessaires pour mieux comprendre les mécanismes moléculaire et cellulaire impliqués dans les différents effets observés. Par conséquent, notre travail pourrait être complété par l'isolement et l'identification des composés bioactifs des plantes responsables des effets hypoglycémiant, hypolipidémies et antioxydants et d'évaluer l'effet de ces plantes sur le développement des cellules pancréatique et sur la synthèse et sécrétion de l'insuline à moyen et à long terme chez des rats diabétiques.

*RÉFÉRENCES
BIBLIOGRAPHIQUES*

1. Abdel Moneim, A., Dkhil, M., & Al-Quraishy, S. (2013). The potential role of *Portulaca oleracea* as a neuroprotective agent in rotenone-induced neurotoxicity and apoptosis in the brain of rats. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 105(1), 203-312. doi : 1016j.pestbp.2013.02.004
2. Agyare, C., Eunice, B., Apenteng, A. Boakye, D., & Louis, A. (2015). Anti-infective and Anti-inflammatory Properties of *Portulaca oleracea* L. *Donnish Journal of Medicinal Plant Research*, 2(1),1-6, <http://www.donnishjournals.org/djmpr>
3. Ahmad, F., Rizkita, R., Elfa, N., Erdy, S., & Maman, T., (2016). Formation of agarwood from *Aquilaria malaccensis* in response to inoculation of local strains of *Fusarium solani*. *Trees*, 65(1), 100-115. doi :10.1007/s00468-016-1471-9
4. Ajiboye, T.O., Hussaini, A.A., Nafiu, B.Y., & Ibitoye, O.B. (2017). Aqueous seed extract of *Hunteriaumbellata* (K. Schum.) Hallier f. (Apocynaceae) palliates hyperglycemia, insulin resistance, dyslipidemia, inflammation and oxidative stress in high-fructose diet-induced metabolic syndrome in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 19(8), 184-193.
5. Akhsan, N., Mardji, D., & Sutisna, M. (2015). Response of *aquilaria microcarpa* to two species of *fusarium* under two different cultivation systems. *Journal of Tropical Forest Science*, 27(1), 447-455. <http://www.jstor.org/stable/43596221>
6. Ali, S., Mostafa, M., Ehsan, K., & Mohammed, H. (2011). Prophylactic and curative effects of purslane on bile duct ligation-induced hepatic fibrosis in albino rats. *Annals of Hepatology*.10(3), 340-346.
7. Alzamendi, A., Giovambattista, A., Raschia, A., Madrid, V., Gaillard, R., Rebolledo O., &Gagliardino. J., &Spinedi, E., (2009). Fructose-rich diet-induced abdominal adipose tissue endocrine dysfunction in normal male rats. *Endocrine*, 35(2), 227-232.
8. Amirul, A., Juraimi,A ., Rafii,M., Hamid, A.,& Aslani, F ., & Alam, M. (2015). Effects of salinity and salinity-induced augmented bioactive compounds in purslane (*Portulacaoleracea* L.) for possible economical use. *Food Chemistry*, 169(1), 439-447. doi: 10.1016/j.foodchem.2014.08.019
9. Andrea, L., Silvia, M., & Lorenzo, M. (2015). Multidisciplinary Approach to Obesity. *Springer International Publishing*, 14(1), 121-130.
10. Andrew, K., (2008). *Insulin Resistance: A Clinical Handbook*. (1é èd). John Wiley & Sons, USA. Blackwell Science.
11. Angélica, G., Candida A, Kassuya, João, C., & R, Petrovick. (2013). Anti-inflammatory, antiallodynic effects and quantitative analysis of gallic acid in spray dried powders from *Phyllanthusniruri* leaves, stems, roots and whole plant. *Revista*

- Brasileira de Farmacognosia Brazilian Journal of Pharmacognosy*, 23(1), 124-131.
doi: 10.1590/S0102-695X2012005000133
12. Anthony, F., Isabelle, S., & Didier Dupont. (2013). *Structure des aliments et effets nutritionnels*. Paris : Editions Quae.
 13. Armani, A., Mammi, C., Marzolla, V., Calanchini, M., Antelmi, A., Rosano, G., Fabbri, A., & Caprio, M. (2010). Cellular models for understanding adipogenesis, adipose dysfunction, and obesity. *J Cell Biochem*. doi:10.1002 / jcb.22598.
 14. Armstrong, D. (2016). *Oxidative Stress and Antioxidant Protection: The Science of Free Radical Biology and Disease*, USA: John Wiley & Sons.
 15. Ashton, A. (2012). *Insulin Resistance: New Insights for the Healthcare Professional*, Atlanta : Scholarly Editions.
 16. Askaripour, M., Reza, F., Foruzan, H., Masoome, R., & Shahab G. (2015). Effects of Aqueous Extract of Purslane (*Portulaca oleracea*) on Hepatic Enzymes in Two Models of Renal Ischemia-Reperfusion Injury in Rats, *Zahedan Journal of Research in Medical Sciences* 52 (2),29-31.
 17. Atta-ur-Rahman, M., & Choudhary, I. (2014). *Anti-Obesity Drug Discovery and Development*. (Vol. 2). USA : Bentham Science Publishers.
 18. Azzarina, B., Rozi, M., Shiou, Y., & Mohd, N. (2016). Temporal and spatial expression of terpene synthase genes associated with agarwood formation in *Aquilaria malaccensis* Lam. *New Zealand Journal of Forestry Science*, 46(12), 1-13. doi:10.1186/s40490-016-0068-9
 19. Ballantyne, C.M. (2014). *Clinical Lipidology: A Companion to Braunwald's Heart Disease E-Book. Companion to Braunwald's Heart Disease*. (2^e éd.). Canada : Elsevier Health Sciences.
 20. Basaranoglu, M., Basaranoglu, G., & Sabuncu, T., & Senturk, H., 2013. Fructose as a key player in the development of fatty liver disease. *New Zealand Journal of Forestry Science*. WJG 19, 1166–1172. doi:10.1186/s40490-016-0068-9
 21. Begum, Y. (2016). Study on Agarwood (*Aquilaria malaccensis*) to evaluate Antibacterial and Antioxidant activities of n-hexane, chloroform and ethyl acetate extracts. *PharmaTutor*, 4(2), 47-50.
 22. Bin, W., Liyan Y., & Xiaodan, W., & Jianbo, C. (2012). New CuCl₂-induced glucoside esters and other constituents from *Portulaca oleracea*. *Carbohydrate Research*, 351(1), 68-73. doi:10.1016/j.carres.2012.01.012
 23. Bispo, J., Elzo Everton, V., Landulfo, S., & Adriana, B. (2013). Correlating the amount of urea, creatinine, and glucose in urine from patients with diabetes mellitus

- and hypertension with the risk of developing renal lesions by means of Raman spectroscopy and principal component analysis. *Journal of Biomedical Optic*, 18(8), 087004-087012.
24. Bocarsly, E., Powell, S., & Avena, M., & Hoebel, G. (2010). High-fructose corn syrup causes characteristics of obesity in rats: increased body weight, body fat and triglyceride. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 97(1), 101-106. doi:10.1016/j.pbb.2010.02.012
 25. Bonet, M.L., Oliver, P., & Palou, A. (2013). Pharmacological and nutritional agents promoting browning of white adipose tissue. *BiochimBiophysActa*, 1831(5), 969-985, doi:10.1016 / j.bbalip.2012.12.002
 26. Bose, M ., Lambert, J.D ., Ju, J ., Reuhl, K.R ., &Shapses, S.A ., & Yang, C.S. (2008). The Major Green Tea Polyphenol, (-)-Epigallocatechin-3-Gallate, Inhibits Obesity, Metabolic Syndrome, and Fatty Liver Disease in High-Fat–Fed Mice. *Journal of Nutrition*, 138(9), 1677-1683
 27. Boudewijn, K., Willem, F., & Elte, M., & Castro, C. (2013). Dyslipidemia in Obesity: Mechanisms and Potential Targets. *Nutrients*, 5, 1218-1240.
 28. Bradford M.M., (1976) A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. Academic Press. 72 (57): 248-254
 29. Brandãoa , B., & Beatriz, A., & Marcelo, A. (2017). Shortcuts to a functional adipose tissue: The role of small non-coding RNAs. *Redox Biology*, 12(1), 82-102. doi:10.1016/j.redox.2017.01.020
 30. Brandt, N., De Bock, E., & Richter, P., & Hespel, M. (2010). Cafeteria diet-induced insulin resistance is not associated with decreased insulin signaling or AMPK activity and is alleviated by physical training in rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 299: E215-24. doi.10.1152 / ajpendo.00098.2010.
 31. Bray, A., & Nielsen, S., & Popkin, B. (2004). Consumption of high-fructose corn syrup in beverages may play a role in the epidemic of obesity. *Am J Clin Nutr*. 79:537-43
 32. Bruce, M., (2016). *Detox with Fiber: Fiber Helps To Naturally Eliminate Waste & Toxins From Your Body. Oak Better Health Series*. Malaysia: Oak Publication SdnBhd
 33. Bruna, B.B., Beatriz, A.G., & Marcelo, A.M. (2017). Shortcuts to a functional adipose tissue: The role of small non-coding RNAs. *Redox Biology*, 12, 82-102. doi:1016/j.redox.2017.01.020

34. Brunt, K., Riccardo, P., & Jillian, R., & Sheila, M. (2017) . Behaviours, thoughts and perceptions around mealtime insulin usage and wastage among people with type 1 and type 2 diabetes mellitus: A cross-sectional survey study. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 26(1), 30-42. doi:10.1016/j.diabres.2016.12.002
35. Buccolo, G et al. (1973). Quantitative determination of serum triglycerides by use of enzymes. *ClinChem*, 19 (5): 476-482.
36. Buch, G. (2010). *Quick Review of Pharmacology*. (3è éd). Rajkot. PDU Medical college
37. Canavy, B. (2016). *Restez Jeune et en bonne santé à tout âge*. Paris : HippCrate.
38. Catalina, E., Victoria, R., & Ángeles, P., & Juan, A. (2014). Characterization of purslane (*Portulaca oleracea* L.) accessions: Suitability as ready-to-eat product .*Scientia Horticulturae*, 172 (1), 73-81. doi:10.1016/j.scienta.2014.03.051
39. Celine., H. (2016). Etude des mécanismes de libération du propeptide de la sortiline et de ses effets sur l'homéostasie glucidique : Thèse de doctorat en sciences de la Vie et de la Santé, Université Nice Côte d'Azur.
40. Chai, H., & Parameswari, N., & Rozi, M. (2016). Transcriptome reveals senescing callus tissue of *Aquilaria malaccensis*, an endangered tropical tree, triggers similar response as wounding with respect to terpenoid biosynthesis. *Tree Genetics & Genomes*, 12(33), 2-10. doi.10.1007/s11295-016-0993-z
41. Chang, Y., (2016). Roles of Reactive Oxygen Species on Insulin Resistance in Adipose Tissue. *Diabetes & Metabolism Journal*, 40(1), 272-279, doi:10.4093/dmj.2016.40.4.272
42. Charmaine, S., Karine, C., Louise, A., & Tordjman, J. (2009). Obesity and low-grade inflammation: A paediatric perspective, *Obesity Reviews* 11(2), 118-126, doi:10.1111/j.1467-789X.2009.00674.x
43. Cheke, L., Bonnici, H., Nicola, S., & Simons, J. (2017). Obesity and insulin resistance are associated with reduced activity in core memory regions of the brain. *Neuropsychologia*, 96(1), 137–149, doi.org/10.1016/j.neuropsychologia.2017.01.013
44. Chemler, J.A., Lock, L.T., & Koffas, M.A. G., & Tzanakakis, E.S. (2007). Standardized biosynthesis of flavan-3-ols with effects on pancreatic beta-cell insulin secretion. *Applied Micro biology and Biotechnology*, 77(4), 797–807, doi :10.1007/s00253-007-1227-y
45. Christian, M., (2005). *Biologie moléculaire. Biochimie des communications cellulaires*. Belgique. De Boeck Supérieur

46. Christophe, B. L. (2010). Pathophysiology of obesity. *Nutrition clinique et metabolism*, 15(3), 194-197.
47. Claudine, R.H. (2014). *Alimentation santé Alimentation plaisir une question d'équilibre*. (6^é éd). Paris : Fernand Lanore.
48. Coelho, M., K.L. Lopes, A., Freitas B., Oliveira C., Bergasmaschi, R., Campos, E., Casarini, K., Carmona, S. Araujo Mda, J.C. & Heimann, M.S. & Dolnikof, F. (2010). High sucrose intake in rats is associated with increased ACE2 and angiotensin-(1-7) levels in the adipose tissue. *Regulatory Peptides* 8(1), 162-617. doi: 10.1016/j.regpep.2010.03.008
49. Collin.S., & Crouzet, J. (2011). Polyphénols et procédés : *Transformation des polyphénols au travers des procédés appliqués à l'agro-alimentaire*. Paris : Lavoisier.
50. Cruchten, S. (2010). Cafestol: a multi-faced compound Kinetics and metabolic effects of cafestol in mice. Thèse de doctorat en médecine non publié, Université de Wageningen.
51. Cui-Yu, L., Yi-Han, M., Zhe-Ming, Y., Nan, X., Dong, H., Ming-Zhe, G., Wen-Jie, Z., Liang, X., Yu-Cong, G., & Xi-Xiang, Y. (2016). Three Novel Alkaloids from *Portulaca oleracea* L. and Their Anti inflammatory Effects. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64(1), 5837-5844. doi:10.1021/acs.jafc.6b02673
52. Cynthia, A., & Eric, L., & Rosalind, A. (2009). Hepatic triacylglycerol accumulation and insulin resistance. *Journal Lipid Resarch*. 50(1), S74-S79. doi:10.1194/jlr.R800053-JLR200
53. Dali-Youcef, N. (2015). Inflammation métabolique et insulino-résistance : Les connaissances actuelles. *Médecine des Maladies Métaboliques*, 9(3), 279-291, doi:10.1016/S1957-2557(15)30075-4
54. Daniel, M. (2016). *Medicinal Plants: Chemistry and Properties*. Boca Raton : Certified Rehabilitation Counselor Press.
55. Darimont, C., Marco, T., Micheline, E., Irène, Z., Richelle M., Eulàlia, M., Andreu, F., & Katherine, M. (2004). β 3-adrenoceptor agonist prevents alterations of muscle diacylglycerol and adipose tissue phospholipids induced by a cafeteria diet. *BioMed Central Ltd*, 1(4), 1-9. <http://www.nutritionandmetabolism.com/content/1/1/4>
56. David, W. D., Sievenpiper, J.L., Souza, R.J., Cozma, A.I., Chiavaroli, L., Ha, V., Mirrahimi, A., Carleton, A.J., Di Buono, M., Jenkins, A.L., Leiter, L.A., Wolever, T.M., Beyene, J., & Kendall, C.W., & Jenkins, D.J. (2013). Effect of fructose on postprandial triglycerides: a systematic review and meta-analysis of controlled feeding trials. *Atherosclerosis* , 232(1), 125-33. doi :10.1016/j.atherosclerosis.2013.10.019

57. Derouiche, S., & Djermoune, M., & Abbas, K., (2017). Beneficial Effect of Zinc on diabetes induced kidney damage and liver stress oxidative in rats. *Journal of Advances in Biology*. 10 (1), 2347-6893. doi:10.4103/0256-4947.59369
58. Despland, C., Barbara, W., Christina, K., Vanessa, C., Valentine, R., Nathalie, S., & Luc, T., (2017). A randomized-controlled clinical trial of high fructose diets from either Robinia honey or free fructose and glucose in healthy normal weight males. *Clinical Nutrition*, 19(2), e1-e7, doi: 10.1016/j.clnesp.2017.01.009
59. Didier, B. (2015). *Le Quinoa, les enjeux d'une conquête*. Paris : Editions Quae.
60. Duke, J. (2007). *Duke's Handbook of Medicinal Plants of the Bible*. New York : CRC Press
61. Eissa, L., & Noha, N., & Salma, M. (2015). Effects of omega-3 fatty acids and pioglitazone combination on insulin resistance through fibroblast growth factor 21 in type 2 diabetes mellitus. *Egyptian Journal of Basic and Applied Sciences*, 2(2), 75–86, doi:10.1016/j.ejbas.2015.01.002
62. El-Newary, S. (2016). The hypolipidemic effect of Portulacaoleracea L. stem on hyperlipidemic Wister Albino rats. *Annals of Agricultural Science*, 61(1), 111-124.
63. El-Sayed, M. (2011). Effects of Portulaca oleracea L. seeds in treatment of type-2 diabetes mellitus patients as adjunctive and alternative therapy. *Journal of Ethnopharmacology*, 137(1), 643-651.
64. Erdi, S., & Kartal, N. (2017). Impact of high cholesterol and endoplasmic reticulum stress on metabolic diseases: An updated mini-review. *Redox Biology*, 12(1), 456-461. doi:10.1016/j.redox.2017.02.025
65. Evans, W., (2009) *Trease and Evans' Pharmacognosy*, (16^é èd). London: Saunders Elsevier.
66. Farrukh, M., Sajil, I., Maryem, A., & Abdul, M., & Muhammad, A. (2011). Ethnomedicinal Flora of District Mandi Bahaudin, Pakistan. *middle-east journal of scientific research*, 9(2), 233-238
67. Flachs, P., Rossmeis, M., Kopecky, J. (2014). The effect of n-3 fatty acids on glucose homeostasis and insulin sensitivity. *Physiological Research*, 63(1), 93-118.
68. Folch J., & Lees M., & Sloan S.G. H. (1957). A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *Journal of Biological Chemistry* (Vol. 226). 497-509.
69. Fossati, P et al. (1980). *Clin Chem*, 26:227-231.
70. Fourcade, O., Geeraerts, T., Minville, V., & Samii, K. (2014). *Traité d'anesthésie et de réanimation* (4^é èd.). USA : Lavoisier

71. Fueger, C., Newgard, B., & Makowski, L. (2011). Cafeteria diet is a robust model of human metabolic syndrome with liver and adipose inflammation: comparison to highfat diet. *Obesity Silver Spring*, 19(2), 1109-1117.
72. Fuentes, C.T., Schellekens, H., & Dinan, T.G., & Cryan, J.F. (2015). A natural solution for obesity: Bioactives for the prevention and treatment of weight gain. *Nutrition Neuroscience*, 18, 49–65.
73. Gerald, L. (2011). *Stem Cell Regulators de Vitamins and hormones* (1^è éd). USA: Academic Press
74. Ghorbanali, S., Ahmad, K., Foad, S., Asaad, V., & Danial, F. (2016). The Effects of purslane (*Portulaca oleracea* L.) powder on growth performance, carcass characteristics, antioxidant status, and blood metabolites in broiler chickens. *Livestock Science*, 184(1), 35-40. doi: 10.1016/j.livsci.2015.12.003
75. Girard, J. (2003). Rôle des acides gras libres dans la sécrétion et l'action de l'insuline: mécanismes de la lipotoxicité. *Médecine sciences*, 198 (9), 827-833 .
76. Glushakova, O., Kosugi, T., Roncal, C., Heinig, M., Cirillo, P., Sánchez-Lozada, L., Johnson, R., & Nakagawa, T. (2008). Fructose induces the inflammatory molecule ICAM-1 in endothelial cells. *Journal of the American Society of Nephrology*. 19(9), 1712-1720, doi:10.1681/ASN.2007121304
77. Godsland, F. (2010). Insulin resistance and hyperinsulinaemia in the development and progression of cancer. *Clinical Science*, 118(1), 315-332. doi:10.1042/CS20090399
78. Gomez-Smitha, M., Karthikeyana, S., Jeffersa, M.S., Janikb, R., Thomasonb, L.A., & Stefanovicb, B., & Corbett, D. (2016). A physiological characterization of the Cafeteria diet model of metabolic syndrome in the rat. *Physiology & Behavior*. 167, 328-391. doi :10.1016/j.physbeh.2016.09.029
79. Gondwe, M., Kamadyaapa, D., Tufts, M., Chuturgoon, A., & Musabayane, C. (2008). Sclerocaryabirrea [(A. Rich.) Hochst][Anacardiaceae] stem-bark ethanolic extract(SBE) modulates blood glucose, glomerular filtration rate (GFR) and mean arterial blood pressure (MAP) of STZ-induced diabetic rats. *Phytomedicine: International Journal of Phytotherapy & Phytopharmacology*, 15(9): 699-709. doi: 10.1016/j.phymed.2008.02.004
80. Goran, MI., & Ulijaszek, SJ., & Ventura, EE. (2013). High fructose corn syrup and diabetes prevalence: a global perspective. *Global Public Health*, 8(1), 55–64.
81. Grundy, M., Bryan, H., Cleeman, J., Sidney, C., & Claude, L. (2004). Definition of Metabolic Syndrome Report of the National Heart, Lung, and Blood

- Institute/American Heart Association Conference on Scientific Issues Related to Definition. *Circulation*, 109(1), 433-438. doi: 10.1161/01.CIR.0000111245.75752.C6
82. Guéraud, F., Sylviane, T., Jean-Paul, S., Lidija Milkovic, Suzana, B., Neven, Z., Eric, G., Nathalie, N., Cécile, H., Fabrice, P., & Nathalie, P. (2015). Dietary polyunsaturated fatty acids and hemeiron induce oxidative stress biomarkers and acancer promoting environment in the colon of rats, *Free Radical Biology & Medicine* 98 (15), 891-849, doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2015.02.023
83. Gugliucci, A., Lustig, R.H., Caccavello, R., Erkin-Cakmak, A., Noworolski, S.M., Tai, V.W., Wen, M.J., & Mulligan, K., & Schwarz, J.M. (2016). Short-term isocaloric fructose restriction lowers apoC-III levels and yields less atherogenic lipoprotein profiles in children with obesity and metabolic syndrome. *Atherosclerosis*, 253, 171-177. doi:10.1016/j.atherosclerosis.2016.06.048
84. Gunasekaran, N., Arumugam, A., Prasad, N., & Perumal, S. (2014). Effect of hydrothermal processing on total polyphenolics and antioxidant potential of underutilized leafy vegetables, *Boerhaaviadiffusa* and *Portulacaoleracea*. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 4(1), 468-477. doi: 10.12980/APJTB.4.2014C1108
85. Habibur, R., Kamala, V., & Chinna, E. (2012). In-Vivo and In-Vitro Anti-Inflammatory Activity of *Aquilaria agallocha* Oil. *International Journal of Basic Medical Sciences and Pharmacy*, 2(1), 2049-4963.
86. Hae-Jin, P., Jung, U., Mi-Kyung, L., Su-Jung, C., Hee-Kyoung, J., JooHeon, H., Yong Bok, P., Sang, R., Sangphil, S., Jieun, J., & Myung-Sook, C.(2012). Modulation of lipid metabolism by polyphenol-rich grape skin extract improves liver steatosis and adiposity in high fat fed mice. *Molecular Nutrition & Food Research*, 57(2), 360–364, doi: 10.1002/mnfr.201200447
87. Harber, M. (2014). *Practical Nephrology*, London : Springer.
88. Harborne, J. (1998). *Phytochemical methods : a guide to modern techniques of plant analysis*. Ed. Chapman and Hall . London. 302 p.
89. Hark, L., & Deen, D., & Morrison, G. (2014). *Medical Nutrition and Disease: A Case-Based Approach*. USA: John Wiley & Sons.
90. Hasani-Ranjbar, S., Zahra, J., & Mohammad, A. (2013). A systematic review of anti-obesity medicinal plants - an update. *Journal of Diabetes & Metabolic Disorders*, 12(28), 1-10. doi:10.1186/2251-6581-12-28
91. Hean, C. (2006). *Tanamanhiasan: khasiatmakanan & ubatan*. *Malaydia* (3è éd.): Utusan Publications

92. Hendra, H., Sukarti, M., & Nuringtyas, T. (2016). Antioxidant and antibacterial activities of agarwood (*Aquilaria malaccensis* Lamk.) leaves. *Advances of Science and Technology for Society*, 1755(1), 140004-1-140004-9. doi: 10.1063/1.4958565
93. Herron, J.G. (2016). *The Gut Health Protocol: A Nutritional Approach To Healing SIBO, Intestinal Candida, GERD, Gastritis, and other Gut Health Issues*. (2è éd.). Eagle Stock Publishing.
94. Hongbin, Z., Yuzhi, W., Hao, L., Qingmei, C., Peng, Z., & Jia, T. (2010). Identification of *Portulaca oleracea* L. from different sources using GC–MS and FT-IR spectroscopy. *Talanta*, 81(1), 129-135. doi:10.1016/j.talanta.2009.11.047
95. Hostettmann, K., & Marston, A. (2005). *Saponines*. (2è éd.). New York: Cambridge University Press.
96. Howayda, N., Lobna, M., Abdullaziz, A., & Azza, E. (2017). The role of elevated alanine aminotransferase (ALT), FasL and atherogenic dyslipidemia in type II diabetes mellitus. *Journal of Taibah University Medical Sciences*, 12(1), 8-13.
97. Hsu, B., Lin, S., Stephen, I., & Chen, B. (2017). Simultaneous determination of phenolic acids and flavonoids in *Chenopodium formosanum* Koidz. (djulis) by HPLC-DAD-ESI–MS/MS. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 132(1), 109-116. doi:10.1016/j.jpba.2016.09.027
98. Huan, S., Guo, T., Guang, Z., Yongjin, Y., Xingwei, C., Dongli, L., Hongchen, L., & Ningxin, Z. (2013). Purification and characterization of an antitumor polysaccharide from *Portulaca oleracea* L. *Carbohydrate Polymers*, 93(1), 395-400. doi.org/10.116/j.carbpol.2012.11.107
99. Huo, H., Gu, Y., Sun, H., Zhang, Y., Liu, W., Zhu, Z., Shi, S., Song, Y., Jin, H., Zhao, Y., & Tu P. (2017). Anti-inflammatory 2-(2-phenylethyl)chromone derivatives from Chinese agarwood. *Fitoterapia*, 118(1), 49-55. doi: 10.1016/j.fitote.2017.02.009
100. Ikhajiangbe, H., Ezejindu, D., & Akingboye, A. (2014). Hepatoprotective Effects of *Portulaca oleracea* on Liver Enzymes of Potassium Bromate Induced Hepatotoxicity in Adult Wistar Rats. *International Invention Journal of Medicine and Medical Sciences*, 1(3), 26-31.
101. Jean-Pierre, J., & Yan-Chim, J.T. (2016). L'Automédication chez les animaux dans la nature: et ce que nous pourrions encore apprendre d'eux: Connaissances et Savoirs.
102. Johnson, A.R., Wilkerson, M.D., Sampey, B.P., Troester, M.A., & Hayes, D.N., & Makowski, L. (2016). Cafeteria diet-induced obesity causes oxidative damage in white adipose. *Biochem Biophys Res Commun*, 473(2), 545-550. doi :10.1016/j.bbrc.2016.03.113

103. Jörg, N., & Michalis, K. (2011) Se former à la vie elle-même : une étude ethnographique de la prévention cardiovasculaire. *in JaninaKehret al. De la vie biologique à la vie sociale*,44(1), 242-267.
104. Judi, L., Toukan, A., Khader, Y., Ajlouni, K., Khatib, A. (2010). Prevalence of elevated hepatic transaminases among Jordanian patients with type 2 diabetes mellitus. *Ann Saudi Med*, 30(1), 25-32,
105. Jung, J.,& Yun-Young C., & Myung-Sook, C. (2016). Apigenin Ameliorates Dyslipidemia, Hepatic Steatosis and Insulin Resistance by Modulating Metabolic and Transcriptional Profiles in the Liver of High-Fat Diet-Induced Obese Mice. *Nutrient*, 8(1), 2-16. doi:10.3390/nu8050305
106. Kahle, M., Schäfer, A., Seelig, J., Schulthei, M., Wu1, M., Aichler, J., Leonhardt, B., Rathkolb, J., Rozman, H., Sarioglu, M., Hauck, M., Ueffing, E., Wolf, G., Kastenmueller, J., Adamski, A., & Walch, M. (2014). High fat diet-induced modifications in membrane lipid and mitochondrial-membrane protein signatures precede the development of hepatic insulin resistance in mice. *Molecular Animal Breeding and Biotechnology*.5(1),39-50 doi.org/10.1016/j.molmet.2014.11.004
107. Kaplan, A et al. (1984). ClinChem The C.V. Mosby Co. St Louis.Toronto. *Princeton*, 1257-1260 and 437 and 418.
108. Kappel, V., Cazarolli, L., Pereira, D., Postal, B., Zamoner, A., Reginatto, F., & Silva, F. (2013). Involvement of GLUT-4 in the stimulatory effect of rutin on glucose uptake in rat soleus muscle.*Journal Pharmacy and Pharmacology*. 65(8),1179-86. doi: 10.1111/jphp.12066
109. Kenneth, B., Denis, G., & David, L. (2016). Stable carbon isotope values ($\delta^{13}\text{C}$) of purslane (Portulacaoleracea) and their archaeological significance. *Journal of Archaeological Science: Reports*, 7(1), 189-194. doi:10.1016/j.jasrep.2016.04.009
110. Kenny, L., Theresa, H.,Parastoo, B., Stephen, E.,Girardin, J., Philpott, K., & Amira., K. (2017). Circulating NOD1 Activators and Hematopoietic NOD1 Contribute to Metabolic Inflammation and Insulin Resistance. *Cell Reports*, 18(1), 2415-2426. doi:10.1016/j.celrep.2017.02.027
111. Kimmel, P., Rosenberg, M. *Chronic Renal Disease*, Tokyo: Elsevier.
112. kirk PL. (1950). kejeldah method for total nitrogen. *Anal.Chem.*, 22(2): 354-358
113. Kirsti, T., Rautonen, N., Alhoniemi, E., Ahotupa, M., & Stowell, S., & Vasankari, T. (2015). Postprandial triglyceride response in normolipidemic, hyperlipidemic and obese subjects – the influence of polydextrose, a non-digestible carbohydrate. *Nutrition Journal*. 14(23), 2-9.

114. Kopaei, M., & Alesaeidi, S. (2016). Portulaca oleracea:a review study with antiinflammatory and muscle relaxant perspective. *Indian Journal of Medical Research and Pharmaceutical Sciences*, 3(11), 2349-5340. doi:10.5281/zenodo.177275
115. Kotronen, A., Juurinen, L., Hakkarainen, A., Westerbacka, J., Cornér, A., Bergholm, R., Yki-Järvinen, H. (2008). Liver fat is increased in type 2 diabetic patients and underestimated by serum alanine aminotransferase compared with equally obese nondiabetic subjects. *Diabetes Care*.31(1),165-169. doi: 10.2337/dc07-1463
116. Kouakou, A., &Kamagate, A. (2016). Contribution of Ivorian Traditional Medicine in the Treatment of Obesity and Diabetes, *International Journal of Innovation and Applied Studies*, 18 (4),1159-1166.
117. Kretschmer, B., Schelling, N., Beier, C., Liebscher, S., Treutel, N., Kruger, H., Scholz, &Haus, A. (2005). Modulatory role of food, feeding regime and physical exercise on body weight and insulin resistance. *Life Sci*. 76:1553-73.
118. Kubitzki, K., & Clemens, B. (2013).*Flowering Plants · Dicotyledons: Capparales, Malvales and Non-betalain Caryophyllales*. Germany: Springer Science & Business Media.
119. Kun-Ning, C., Wen-Huang, P., Chien, H., Chung-Yu, C., Hwei-Hsien C., Chia-Hua, K., & Mallikarjuna, K. (2013). Codonopsis javanica root extracts attenuate hyperinsulinemia and lipid peroxidation in fructose-fed insulin resistant rats, *Journal of food and drug analysis*, 2 1 (1), 347-355, doi: 10.1016/j.jfda.2013.08.001
120. Lacolley, P., Babuty, D., Boulanger, C., & Ghaleh, B. (2007). *Biologie et pathologie du coeur et des vaisseaux*. Paris, John LibbeyEurotext
121. Leverve, X., Boudon, C., Cosnes, J., Piotrowski, P., Hasselmann, E. (2001). *Traité de nutrition artificielle de l'adulte*. Paris. Springer Science & Business Media.
122. Lillian, S., Lian, C. (2008). Agarwood (Aquilaria malaccensis) in malaysia.*Trees*, 34(1), 105-110
123. Lok, E., Chang ,Y.,& Aziah., M. (1999). Early survival and growth in field trials of aquilaria malaccensis (Karas) and azadirachta excelsa (Sentang).*Journal of Tropical Forest Science*, 11(4), 852-854. <http://www.jstor.org/stable/43582333>
124. Ludvine, M., (2013). *Activité e physique et produits déerivées du soja : intérêts dans la prise en charge du stress oxydant associé au diabète de type 1*.Thèse de doctorat en Sciences Humaines et Sociales, Université Rennes. Lyon.

125. Magnan, C., & Ktorza, A. (2005). Production et sécrétion de l'insuline par la cellule b pancréatique Production and secretion of insulin by the pancreatic b-cell. *EMC Endocrinologie*, 2(1), 241-264. doi:10.1016/j.emcend.2005.07.001
126. Malek, F., Boskabady, M., Borushaki, M., Tohidi, M. (2004). Bronchodilatory effect of *Portulaca oleracea* in airways of asthmatic patients. *Journal of Ethnopharmacology*, 93(1), 57-62. doi:10.1016/j.jep.2004.03.015
127. Margaret, F.R. (2013). *Alkaloids: Biochemistry, Ecology, and Medicinal Applications*. (1^{ère} éd.). New York : Springer Science & Business Media.
128. Martina, B., Andreas, O., Rudolf, B., Franz, B., & Olaf, K. (2017). Efficient identification of flavones, flavanones and their glycosides in routine analysis via off-line combination of sensitive NMR and HPLC experiments. *Food Chemistry*, 218(1), 600-609. doi: 10.1006/jmre.1996.1063.
129. Martini. M., (2011). *Introduction à la dermatopharmacie et à la cosmétologie*. USA : Lavoisier
130. Massin, P., Gaudric, A., Dupas, B. (2014). *Pathologie vasculaire du fond d'oeil / Rétinopathie diabétique (Vol 3 - coffret rétine)*. Paris, Lavoisier.
131. Meiattini, F et al. (1978). The 4-hydroxybenzoate/4-aminophenazone Chromogenic System. *Clin Chem*, 24(12): 2161-2165.
132. Mellbye, F., Jeppesen, PB., Hermansen, K., & Gregersen, S. (2015). Cafestol, a Bioactive Substance in Coffee, Stimulates Insulin Secretion and Increases Glucose Uptake in Muscle Cells: Studies in Vitro. *Journal of Natural Product*. 78(10), 2447-2451. doi:10.1021/acs.jnatprod.5b00481.
133. Mercedes, C., Maria, I., Diego, F., Ricardo, G., & Francisco, J., & Fernando, C. (2011) Adipose Tissue. *Gene Expression of Factor Related to Lipid Processing in Obesity*. 6(5), 1-8.
134. Milagro, F.I., & Campion, J., & Martinez, J.A. (2006). Weight gain induced by high-fat feeding involves increased liver oxidative stress. *Obesity (Silver Spring)*. 14(7), 1118-1123.
135. Min-Jung, K., Chan-Ick, C., & Myong-Soo, C. (2014). Relationship analysis between flavonoids structure and subcritical water extraction (SWE). *Food Chemistry*, 143(1), 147-155. doi:10.1016/j.foodchem.2013.07.104
136. Mousavi, S., Niazmand, R., & Shahidi, N. (2015). Antioxidant Activity of Purslane (*Portulaca oleracea* L.) Seed Hydro-alcoholic Extract on the Stability of Soybean Oil. *J. Agr. Sci. Tech*, 17(1), 1473-1480.

137. Mun, T., Chai, H., Qamaruz, Z., & Rozi, M. (2013). Characterization of wound responsive genes in *Aquilaria malaccensis*. *J. Plant Biochem. Biotechnol*, 22(2), 168-175. doi:10.1007/s13562-012-0144-z
138. Murray, R., & Kaplan, A. (1984). *ClinChem* The C.V.Mosby Co. St Louis. Toronto. *Princeton*, 1088-1090.
139. Naciye, E. (2012). Antioxidant activity and phenolic compounds of fractions from *Portulaca oleracea* L. *Food Chemistry*, 133(1), 775-781. doi:10.1016/j.foodchem.2012.01.091
140. Naeem, M., Tariq, A., Masroor A., & Khan, R. (2017). *Catharanthus roseus: Current Research and Future Prospects*. India : Springer.
141. Naito, H.K., & Kaplan, A (1984). *Clin Chem*. The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. *Princeton*, 1194-11206 and 437.
142. Neetu, S., Hanyuan, Z., Kaichao, P., Xiao, Chenga., Juan, C., & Qiaozhu., S. (2017). Aberrant expression of micro RNA induced by high-fructose diet: implications in the pathogenesis of hyperlipidemia and hepatic insulin resistance. *The Journal of Nutritional Biochemistry*. 43(1), 125–131, doi: 10.1016/j.jnutbio.2017.02.003
143. Nicolantonio, J.J., & O’Keefe, J.H., & Lucan, S.C. (2015). Added fructose: a principal driver of type 2 diabetes mellitus and its consequences. *Mayo Clin. Proceedings*, 90, 372–381.
144. Nik Wil, A., Adila, O., Noorhuda A., & Tajuddin, S. (2014). In vitro antioxidant activity and phytochemical screening of *Aquilaria malaccensis* leaf extracts. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 6 (12):688-693.
145. Nurul, H., Shashita, J., & Rozi, M. (2012). Methods Paper: An improved surface sterilization technique for introducing leaf, nodal and seed explants of *Aquilaria malaccensis* from field sources into tissue culture. *AsPac J. Molecular Biology and Biotechnology*, 20(2), 55-58.
146. Oleszek, A., & Marston, W. (2013). Proceedings of the Phytochemical Society of Europe Vol 45; Saponins in Food, Feedstuffs and Medicinal Plants. *Springer Science & Business Media*.
147. Oliveira, I., Patrícia, V., Rosário, L., Paula, B., Albino, B., & José, A. (2009). Phytochemical characterization and radical scavenging activity of *Portulaca oleracea* L. leaves and stems. *Microchemical Journal*, 92(1), 129-134. doi:10.1016/j.microc.2009.02.006
148. Panchal, S., et Brown, L., (2011). Rodent models for metabolic syndrome research. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*. 35(1), 1-14, doi:10.1155/2011/351982

149. Papazian, L., Antoine, R. (2008). *Le syndrome de détresse respiratoire aiguë*. Marseille : Springer Science & Business Media
150. Peipei, W ., Hongxiang, S ., Dianyu, L ., Zezhao, J ., Su, Y., Xiuquan, H ., Wen, X ., & Jianbo, J ., & Lan, X. (2017). Protective effect of a phenolic extract containing indoline amides from Portulacaoleracea against cognitive impairment in senescent mice induced by large dose of D-galactose /NaNO₂. *Journal of Ethnopharmacology*, 203(5), 252-259. doi :10.1016/j.jep.2017.03.050
151. Philippe, J., Jornayvaz, F., Jaafar, J., & Kalbermatte, B. (2014). Traitement combiné d'insuline et d'analogue du GLP-1 : qu'en attendre. *Rev Med Suisse*, 10(12), 35-40.
152. Piquet, M., & Xavier, H. (2007). Nutrition en pathologie digestive. Progrès en hépatogastroentérologie, Doin Editeurs.
153. Pottekat, A., Becker, S., Kathryn, R., John, R., Gerard, M., Pamelam, I., & William, B. (2013). Insulin Biosynthetic Interaction Network Component, TMEM24, Facilitates Insulin Reserve Pool Release. *Cell Reports*, 4(1), 921-930. doi:10.1016/j.oalrep.2013.07.050
154. Pradeep, S., Himanshu, S., Akshay, N., Brijmohan, S., & Ram, K. (2015). Development and characterization of polymorphic microsatellites markers in endangered *Aquilaria malaccensis*. *Conservation Genet Resour*, 7(1), 61-63. doi:10.1007/s12686-014-0287-4
155. Pranakhon, R., Patchareewan, P., & Chantana, A. (2011). Antihyperglycemic activity of agarwood leaf extracts in STZ-induced diabetic rats and glucose uptake enhancement activity in rat adipocytes. *Songklanakarin J. Sci. Technol*, 33(4), 405-410.
156. Qinghu, W., Jinmei, J., Nayintai, D., Narenchaoketu, H., Jingjing, H., & Baiyinmuqier, B. (2016). Anti-inflammatory effects, nuclear magnetic resonance identification, and high-performance liquid chromatography isolation of the total flavonoids from *Artemisia frigid*. *Journal of food and drug analysis*, 24(1), 385-391, doi: 10.1016/j.jfda.2015.11.004
157. Raffaella, R., Maria, L., & Giancarlo, C. (2010). Effect of temperature and exogenous ethylene on the physiological and quality traits of purslane (*Portulaca oleracea* L.) leaves during storage. *Postharvest Biology and Technology*, 58(1), 147-156. doi:10.1016/j.postharvbio.2010.05.012
158. Rains, L., & Jain. S., 2011. Oxidative stress, insulin signaling, and diabetes. *Free Radi Biol Med*. 50:567-575. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2010.12.006

159. Ramachandran, V., & Baojun, X. (2015). Antidiabetic properties of dietary flavonoids: a cellular mechanism review. *Vinayagam and Xu Nutrition & Metabolism*, 12(60), 1-20. doi 10.1186/s12986-015-0057-7
160. Ramesh, L., & Hanumanatappa, B. (2013). Effect of ethanol extract of *Portulaca oleracea* L on ovulation and estrous cycle in female albino rats. *journal of pharmacy research*, 6(1), 431-436 . doi: 10.1016/j.jopr.2013.02.030
161. Ramesh, B., Sainath, S., Karuna, R., Sreenivasa, R., Manjunatha, G., Sudhakara, B., SasiBhusana, R., Saralakumari, D. (2015). Effect of Commiphoramukul gum resin on hepatic and renal marker enzymes, lipid peroxidation and antioxidants status in pancreas and heart in fructose fed insulin resistant rats. *beni-suef university journal of basic and applied sciences*, 4 (1), 269–278. doi:org/10.1016/j.bjbas.2015.11.001
162. Raquel, P., & Paula, C . (2016). *Engineering Aspects of Cereal and Cereal-Based Products. Contemporary Food Engineering*, USA : CRC Press.
163. Rashed, A., Afifi, F., & Disi, A. (2003). Simple evaluation of the wound healing activity of a crude extract of *Portulaca oleracea* L. (growing in Jordan) in *Mus musculus* JVI-1. *Journal of Ethnopharmacology*, 88 (1), 131-136. doi:10.1016/S0378-8741(03)00194-6
164. Rodrigo, M., Agustina, T., María, I., Carlos, S., & María, V. (2015). Identification of genes involved in the drought adaptation and recovery in *Portulaca oleracea* by differential display. *Plant Physiology and Biochemistry*, 90(1), 38-49. doi:10.1016/j.plaphy.2015.02.023
165. Saikia, P., & Khan, M. (2014). Homegardens of upper Assam, northeast India: a typical example of on farm conservation of Agarwood (*Aquilaria malaccensis* Lam.). *International Journal of Biodiversity Science, Ecosystem Services & Management*, 10(4), 262-269. doi:10.1080/2151372.2014.973449
166. Saltiel, R., Jeffrey E. (2008). *Mechanisms of Insulin Action*. USA, Springer Science & Business Media.
167. Samarghandian, S., Abasalt, B., & Tahereh, F., P. (2017). Attenuation of Oxidative Stress and Inflammation by *Portulaca oleracea* in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *Journal of Evidence-Based Complementary & Alternative Medicine*, 32(1), 1-5. doi: 10.1177/2156587217692491
168. Santos, A.P., & Marcelo, M. R. (2010). Deborah H.M. Bastos. Edible plants, their secondary metabolites and antiobesogenic potential. *Recent Pat Food Nutr Agric*, 2, 195–212.

169. Sareen, S.G., & Jack, L.S., & Timothy, P.C. (2016). *Advanced Nutrition and Human Metabolism*. (7^è éd.). USA : Cengage Learning.
170. Schultz, A., & Kaplan, A. (1984). ClinChem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. *Princeton*, 1261-1266 and 418.
171. Schwarz, J.M., Noworolski, S.M., Wen, M.J., Dyachenko, A., & Prior, J.L., & Weinberg, M.E. (2015). Effect of a high-fructose weight-maintaining diet on lipogenesis and liver fat J. Clin. *Endocrinol. Metab*, 100,2434–2442.
172. Sharma, O. (2011). Plant taxonomy. (2^é èd). New Delhi: Tata McGraw-Hill Education
173. Shashank, R., Rakesh, M., & Das, K. (2007). Insulin History, Biochemistry, Physiology and Pharmacology. *Supplement of japi*, 55(1), 19-25.
174. Shashita , J., Nurul, H., Rasmina, H., &Rozi, M. (2014). Effects of plant growth regulators, carbon sources and pH values on callus induction in *Aquilaria malaccensis* leaf explants and characteristics of the resultant calli. *Journal of Forestry Research*, 25(3), 535-540. doi:10.1007/s11676-014-0492-8
175. Shigetada, F.,¹ Takuya, F., Michio, S., Masanori, I., Yukio, Y.,¹ Yoshimitsu, N., Osamu, N., Makoto, M., Morihiro, M., &Iichiro, S.(2004). Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. *J. Clin. Invest*, 144(1),1752-1761. doi:10.1172/JCI200421625
176. Siddle, K. (2011). Signalling by insulin and IGF receptors: supporting acts and new players. *J MolEndocrinol*, 47(1) 1-10, doi: 10.1530/JME-11-0022
177. Silva, R., &Carvalho, I. (2014). In vitro antioxidant activity, phenolic compounds and protective effect against DNA damage provided by leaves, stems and flowers of *Portulacaoleracea* (Purslane).*Natural Product Communication*. 9(1), 45-50.
178. Sirigoon, K., Pariyaphat, S.,Wipawee, C., Nicharee, C., Warissara, S., Sasithorn, H., Thammarat, K., & Sasitorn, C. (2017). Improved Lipid Profile Associated with Daily Consumption of Tri-Sura-Phon in Healthy Overweight Volunteers: An Open-Label, Randomized Controlled Trial. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2(1), 1-10. doi.org/10.1155/2017/2687173
179. SitiSuh, A., Norihanm, M., Norwati, M., Nor, M., Mahani, M., Parameswari, N., Kodi, I., Mattina, J., Azrina, A., Nor, H., Haliza, I. ,& Nazirah, A.(*Aquilaria malaccensis* polyploids as improved planting materials.*Journal of Tropical Forest Science* , 27(3), 376-387. <http://about.jstor.org/terms>
180. Slinkard, K., & Singleton, L. (1977). Total Phenol Analysis: Automation and Comparison with Manual Methods. *American Journal of Enology and Viticulture*, 28(1), 49-55

181. Sonksen, P., & Sonksen, J.(2000). Insulin, action in health and diseaseii understanding: *British journal of Anaesthesia*, 85(1), 69-79.
182. Sook, L., Yun, J., Min, L., Jung Joo, Y., Jin Sook, K., Gill, K., & Ho Sub, L. (2011). Portulaca oleracea Ameliorates Diabetic Vascular Inflammation and Endothelial Dysfunction in db/dbMice. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 212(7), 1-10, doi:10.1155/2012/741824
183. Southon, S., & Gee, J., & Johnson,T. (1984). Hexose transport and mucosal morphology in the small intestine of the zinc-deficient rat. *British Journal of Nutrition*. 52(5): 371-382.
184. Stanhope, K.L., & Havel, P.J. (2009). Fructose consumption: considerations for future research on its effects on adipose distribution, lipid metabolism, and insulin sensitivity in humans. *Journal of Nutrition*,139, 1236S–1241S.
185. Stephan, H. (2016), Handbook of Experimental Pharmacology, *Metabolic Control*, Germany. Springer
186. Sudhakar, D., Krishna, R., & Parthasarathy, R. (2010). Portulacaoleracea L. extract ameliorates the cisplatin-induced toxicity in chick embryonic liver. *Indian Journal of biochemistr & biophysics*, 47(1), 185-189.
187. Sudhesh, K., & Stephen, R. (2005). *Insulin Resistance: Insulin Action and its Disturbances in Disease* (1è éd.). England: John Wiley & Sons.
188. Sukla, R ., & Gupta, S ., &Gambhir, J.K. (2004). Antioxidant effect of aqueous extract of the bark of Ficusbengalensis in hypercholerolaemic rabbits. *Journal of Ethanopharmacol*, 92, 47–51.
189. Sulaiman, N., Ida, M., Ramlan, A., Fashya, M., Farahiyah, N., Mailina,J., & Azah, M . (2015). Effects of extraction methods on yield and chemical compounds of gaharu (aquilaria malaccensis). *Journal of Tropical Forest Science*, 27(3), 314-419.
190. Szablewski, L. (2011). *Glucose Homeostasis and Insulin Resistance*, Medical University of Warsaw. Poland Bentham Science Publishers.
191. Tadeusz, A. (2015). *Alkaloids: Chemistry, Biology, Ecology, and Applications*. (2è éd.). Elsevier Science.
192. Tai-Hwan, A., Young-Su, Y., Jong-Chan, L., Chang-Jong, M., Sung-Ho, K., Woojin, J., Seung-Chun, P., &Jong-Choon, K. (2007), Ameliorative effects of pycnogenol® on carbon tetrachloride-induced hepatic oxidative damage in rats,Phytotherapy Research, 21(11), 1015–1019, doi:10.1002/ptr.2146
193. Tappy, L., Lê. K., Tran, C., & Paquot, N. (2010). Fructose and metabolic diseases: new findings, new questions. *Nutrition*, 26, 104- 116.

194. Taylor, S. (2011). *Advances in Food and Nutrition Research*, Vol(45). USA: Academic Press
195. Thanh, L., Dolj, T., Son, N., Sato, T., & Kozan, O. (2015) Impacts of biological, chemical and mechanical treatments on sesquiterpene content instems of planted *Aquilaria crassna* trees. *Agroforestry Systems*. 89(6) , 973-981, doi: 10.1007/s10457-015-9829-3
196. Thierry, M. (2014). *Rôle des acides gras polyinsaturés alimentaires dans l'homéostasie lipidique de la rétine en conditions physiologiques et pathologiques liées au vieillissement*. THESE pour obtenir le grade de Docteur en science de la vie, Université de Bourgogne.
197. Thomas, N., Johan, B., David ,N., Marcus, T., Anna, N., & Jan ,W. (2017). Second line initiation of insulin compared with DPP-4 inhibitors after metformin monotherapy is associated with increased risk of all-cause mortality, cardiovascular events, and severe hypoglycemia. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 23(1), 199-208. doi:10.1016/j.diabres.2016.12.004
198. Tiago, R., Adelino, S., & Camila, M. (2012). Diet-induced obesity: rodent model for the study of obesity-related disorders. *Elsevier Editora Ltda. Rev AssocMed Bras*, 58(3), 383-387.
199. Tietz, N.W. (1999). *Text book of clinical chemistry*, r Ed. C.A. Butts, ER. Ashwood, W.B. *Sounders*, p.577-530.
200. Tintumol, K., Shana, S., Farisha, K., Sudha, D., Shafi, K., & Hashim K. (2013). Phytochemical investigation and in-vitro anti-oxidant activity of the non- polar extract of agarwood. *Asian Journal of Plant Science and Research*, 3(4), 38-41.
201. Tsuguhito, O. (2015). *Obesity-induced inflammation and insulin resistance* *Frontiers Research Topics*. Frontiers Media
202. Umberto, Q. (2016). *World Dictionary of Medicinal and Poisonous Plants: Common Names, Scientific Names, Eponyms, Synonyms, and Etymology*. (5^é èd). New York : CRC Press
203. Unju, J., & Myung-sook, C. (2014). Obesity and Its Metabolic Complications: The Role of Adipokines and the Relationship between Obesity, Inflammation, Insulin Resistance, Dyslipidemia and Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *International Journal of Molecular Sciences*, 15(1), 6184-6223.
204. Vandana, G., Bipin, K., Tiwari, K., & Murthy, N. (2013). A review on antidiabetic action of asanadi Gana. *Vanadana Gupta et al / int. J. Res. Ayurveda pharm*, 4(5), 638-646. doi:10.7897/2277-4343.04502

205. Veena, S., & Pracheta, J. (2014). Extraction, isolation and identification of flavonoid from *Euphorbia neriifolia* leaves. *Arabian Journal of Chemistry*, 4(1), 1-6. doi:10.1016/j.arabjc.2014.08.019
206. Venugopal, N., & Estre, J. (2015). An unusual development of flowers in *Aquilaria malaccensis* J. Lamarck (Thymelaeaceae) growing in Meghalaya, Northeast India. *East Himalayan Society for Spermatophyte Taxonomy*, 9(1), 140-143. <https://www.researchgate.net/publication/279524360>
207. Veronica, A., Mohamad, A., Nurhaslina, C., & Halim, K. (2016). Compounds Identification in Agar Wood Soaking Water by Using GC-MS. *international Journal of Chemical Engineering and Applications*, 9(1), 340-344. doi: 10.18178/ijcea.2016.7.5.602
208. Villarroel, P., Villalobos, E., & Reyes, M., & Cifuentes, M. (2014). Calcium, obesity, and the role of the calcium-sensing receptor. *Nutrition*, 72(10), 627–637. doi:10.1111/nure.12135.
209. Waller, G. R., & Yamasaki, K. (2013). *Saponins Used in Traditional and Modern Medicine* (Vol. 404). New York : Springer Science & Business Media.
210. Wamick, G., & Wood, D. (1995). National Cholesterol Education Program Recommendations for Measurement of High-Density Lipoprotein Cholesterol : Executive Summary, *Clinical Chemistry*, Vol. 41, No 10, 1427-1433.
211. Wang, P., Hong-Xiang, S., Ce-Jia, L., Ming-Hong, H., Xiu-Quan, H., Su, Y., Ze-Zhao, J., & Lan, X. (2016). Racemic oleracein E increases the survival rate and attenuates memory impairment in D-galactose/NaNO₂-induced senescent mice. *Phytomedicine*, 23(1), 460-467. doi.org/10.1016/j.phymed.2016.02.014
212. Wenger, C., & Kaplan, A. (1984). *ClinChem The C.V. MosbyCo.* St Louis. Toronto. Princeton, 1094-1098.
213. Whittaker, L., Caili, H., Wen, Fu., & Jonathan, W. (2008). High Affinity Insulin Binding: Insulin Interacts with Two Receptor Ligand Binding Sites. *Biochemistry*, 47(48), 1-22. doi:10.1021/bi801693h
214. Wiernsperger, N., & Bouskela, E. (2009). Microvascular haemodynamic reactions to insulin: *The Journal of Physiology*, 587(21), 5289, doi: 10.1113/jphysiol.2009.179911
215. Wiernsperger, N., Guilherme, L., & Aguiar, K. (2009). *Microcirculation and Insulin Resistance*. USA. Bentham Science Publishers.

216. Wijekoon, P., Craig, S., Margaret, E., & John, T. (2014). Amino acid metabolism in the Zucker diabetic fatty rat: effects of insulin resistance and of type 2 diabetes. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 82(1), 506–514, doi: 10.1139/y04-067
217. Xiao-Lin, Q., Xiao P., Yu-Yan, H., Lia, L., Zuo-Fu, W., Yuan-Gang, Z., & Yu-Jie, F. (2015). Green and efficient extraction of bioactive flavonoids from *Equisetum palustre* L. by deep eutectic solvents-based negative pressure cavitation method combined with macroporous resin enrichment. *Industrial Crops and Products*, 70(1), 142-148
218. Yadav, D., Mudgal, V., Agrawal, J., Maurya, A., Bawankule, D., Chanotiya, C., & Khan, F. (2013). Molecular docking and ADME studies of natural compounds of Agarwood oil for topical anti-inflammatory activity. *Current Computer Aided Drug Design*, 9(3), 360-370.
219. Yagi, K. (1976). Simple fluorimetric assay for lipoperoxide in blood plasma. *Biochem. Med.* Vol. 15: 212-216.
220. Yahiaoui, Z., Sherazade, B., Anne-Claire, M., Marie-Aleth, L., & Malika, B. (2016). Portulacaoleracea aqueous extract reduces oxidative stress in erythrocytes and tissues, in rats fed enriched-cholesterol diet. *Journal of Experimental and Integrative Medicine*, 2(1), 21-25. doi: 10.5455/jeim.260116.or.145
221. Yang, Y., Gang, C., Xiaolan, Ch., Zhiying, T., Xueting, C., Jie, Y., Xiaoyan, S., Wuguang, L., Xiaoning, W., Yuanzhang, Y., Chunping, H., & Peng, Cao. (2015). Therapeutic potential of digitoflavone on diabetic nephropathy: nuclear factor erythroid 2-related factor 2-dependent anti-oxidant and antiinflammatory effect. *Scientific Reports*, 5(1), 1-13. doi: 10.1038/srep12377
222. Yen-Chen, T., Pei-Hsuan, H., Min-Hsiung, P., & Chi-Tang, H., (2017). Cellular models for the evaluation of the antiobesity effect of selected phytochemicals from food and herbs. *Journal of food and drug analysis*, 25(1), 100 -110, doi: 10.1016/j.jfda.2016.10.018
223. Young, D.S. (1995). Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press.
224. Zaman, M., (2012). *Obesity and insulin resistance in rats consuming diets enriched in fat or fructose. Nutritional intervention with EPA or flavanones* : Thèse de doctorat en sciences physiologie de la vie et de la santé non publié, Université de Nantes.
225. Zern, L., & Fernandez, M.L. (2005). Cardioprotective Effects of Dietary Polyphenols. *Journal of Nutrition*, 135(10), 2291-2294
226. Zhixiang, Z., Yufan, G., Yunfang, Z., Yuelin, S., Jun, L., & Pengfei, T. (2016). GYF-17, a chloride substituted 2-(2-phenethyl)-chromone, suppresses LPS-induced inflammatory mediator production in RAW264.7 cells by inhibiting STAT1/3 and

- ERK1/2 signaling pathways. *International Immunopharmacology*, 35 (1),185–192
doi :10.1016/j.intimp.2016.03.044
227. Zidan, Y., Bouderbala, S., Djellouli, F., Lacaille-Dubois, M., Bouchenak, M. & (2014). Portulacaoleracea reduces triglyceridemia, cholesterolemia, and improves lecithin: cholesterol acyltransferase activity in rats fed enriched-cholesterol diet. *Phytomedicine*, 21(1), 1504-1508. doi:10.1016/j.phymed.2014.07.010
228. Zschocke, J., & Hoffmann, G. F. (2017). *Vademecum Metabolicum: Diagnostic et Traitement des Maladies Héritaires du Métabolisme*. (2è éd.) Allemagne: Schattauer Verlag.
229. Zuhani, Y., Philip, G., Phirdaous, A., & Salleh, H. (2016). Aquilaria Spp. (Agarwood) as Source of Health Beneficial Compounds: A Review of Traditional Use, Phytochemistry and Pharmacology. *J Ethnopharmacol*, 18(9), 331-360.
doi: 10.1016/j.jep.2016.06.055

ANNEXES

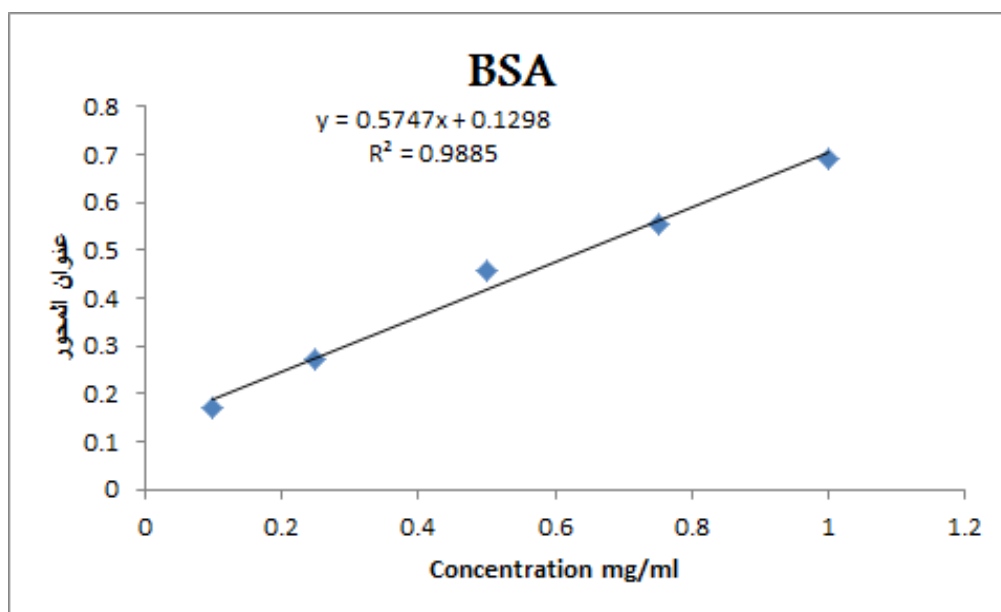


Figure 13 : Courbe d'étalonnage utilisée (BSA 1mg/ml) pour le dosage des protéines tissulaire.

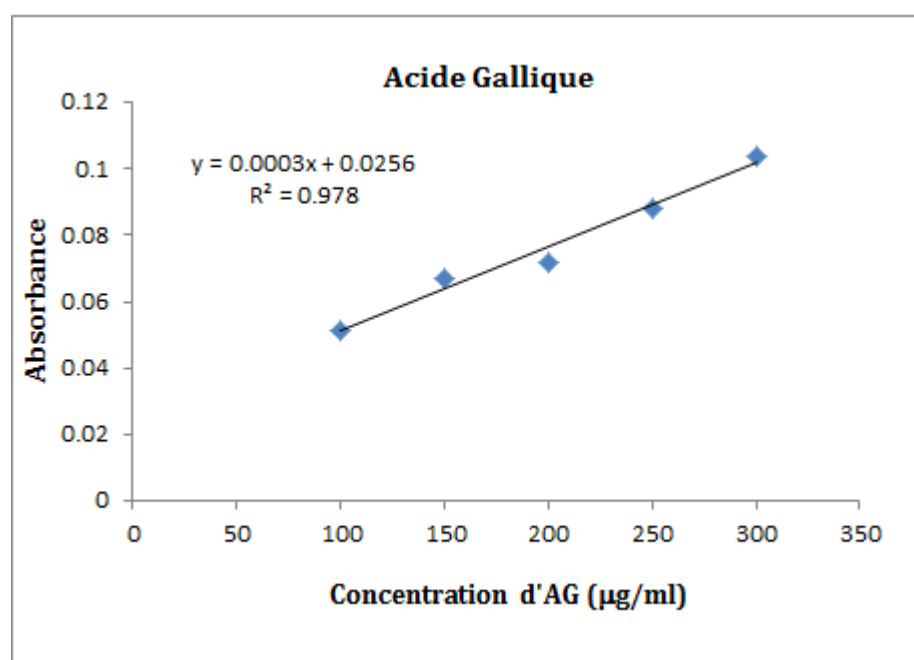


Figure 14 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux.

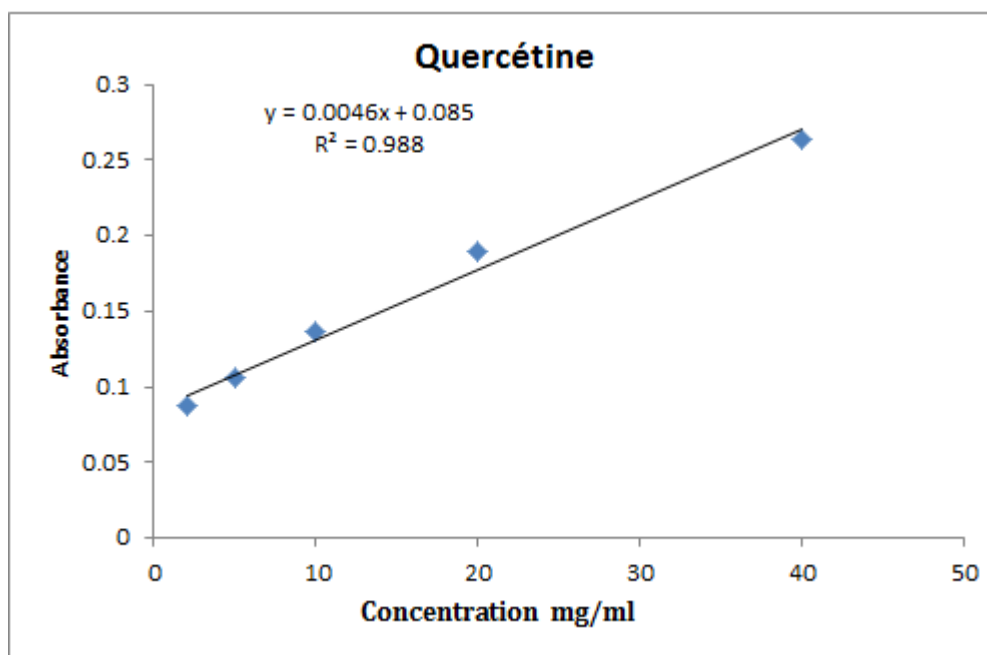


Figure 15 : Courbe d'étalonnage de Quercétine pour le dosage des flavonoïdes.

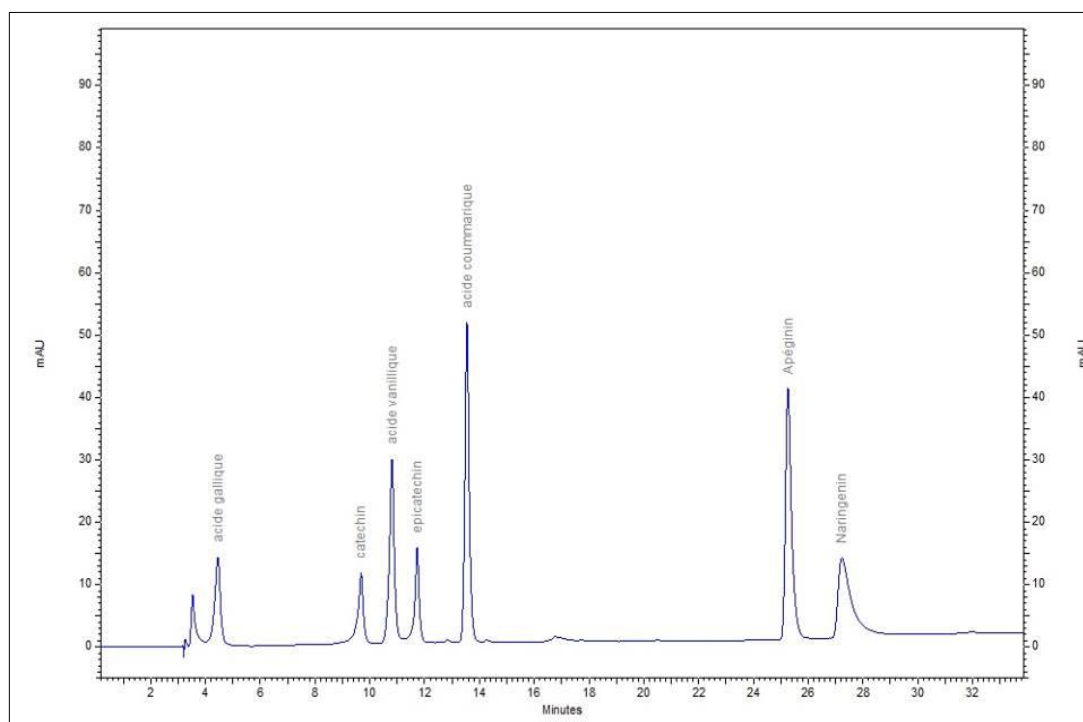


Figure 16 : Chromatogramme d'étalonnage pour les polyphénols.

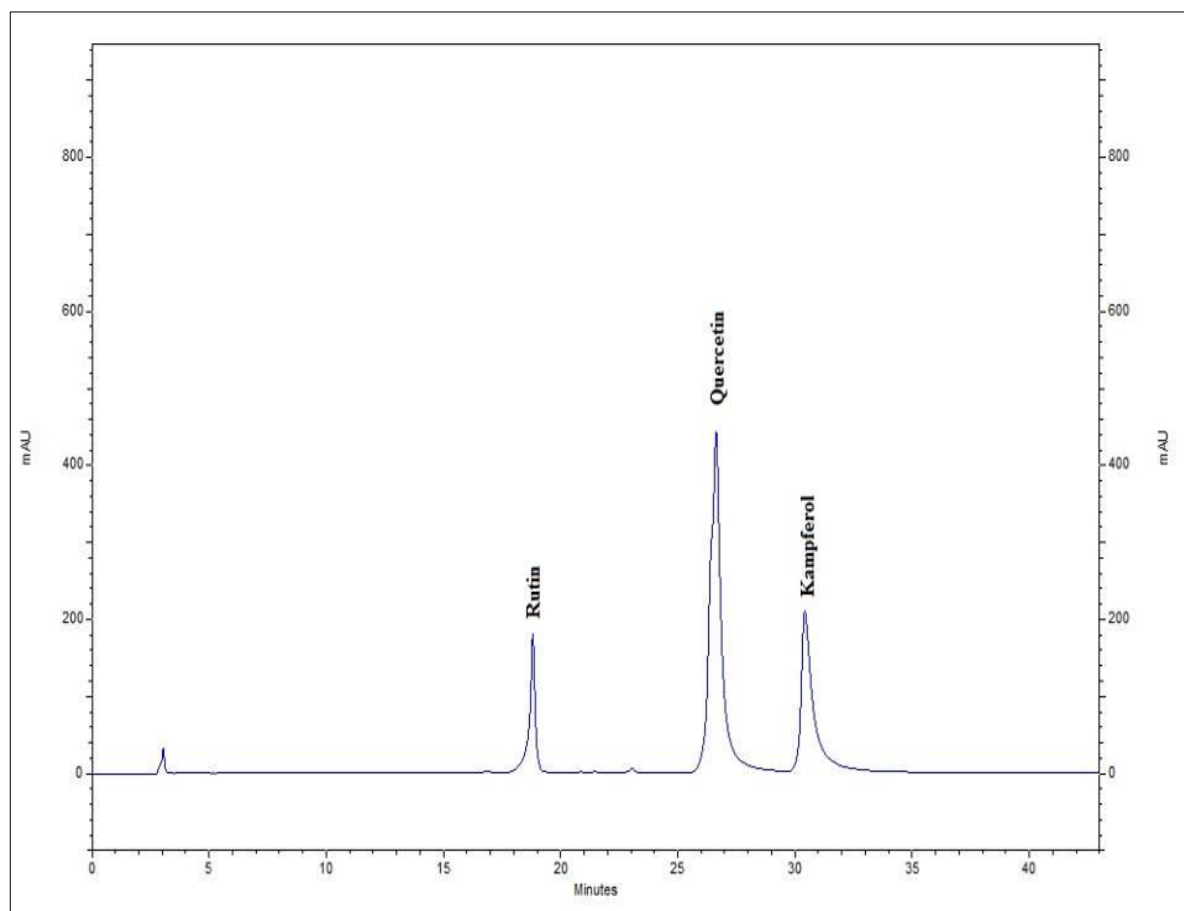


Figure 17 : Chromatogramme d'étalonnage pour les flavonoïdes.

Résumé

L'objectif de la présente étude est d'évaluer l'effet hypoglycémiant, hypolipidémiant et antioxydant de l'extrait de *Portulaca oleracea* (Por) et de *Aquilaria malaccensis* (Aq) chez des rattes insulino-résistantes. Pour cela 27 rattes Wistar Albinoes âgées de 10 semaines et pesant de 202 ± 3.12 g ont été utilisées et divisées en six groupes ; le 1^{er} groupe rattes témoins, 2^{ème} groupe rattes insulino-résistantes, 3^{ème} groupe rattes insulino-résistantes traitées par le métformine, 4^{ème} rattes insulino-résistantes traitées par l'extrait de Por, 5^{ème} groupe rattes insulino-résistantes traitées par l'extrait d'Aq et le 6^{ème} groupe rattes insulino-résistantes traitées par l'extrait de Por + Aq pendant 5 semaines. L'insulino-résistance est induite par un régime hyper gras (75%) enrichi avec le fructose (32%) pendant 73 jours. Le traitement par les plantes se fait par voie orale avec une dose 400mg/kg de *Portulaca oleracea* et 200mg/kg d'*Aquilaria malaccensis* pendant 3 semaines. Les résultats obtenus dans notre étude montrent que le régime (HG+F) induit un phénotype obèse caractérisé par une perturbation métabolique exprimé par l'hyperglycémie, hyperlipidémie, dysfonction hépatique et rénal, inflammation et un état de stress oxydatif. Ces marqueurs sont des meilleurs indicateurs de l'insulino-résistance. Cependant le traitement par l'extrait méthanolique de *P. oleracea* et/ou *A. malaccensis* a provoqué une diminution du gain de poids corporel ($p < 0.05$, $p < 0.001$), une hypoglycémie (40.11% et 41.20%) et une hypolipidémie ($p < 0.01$) respectivement. Par ailleurs, les résultats obtenus montrent une diminution remarquable de la concentration de l'urée, créatinine, l'activité des transaminases et de la phosphatase alcaline chez les groupes traités par les plantes par rapport au groupe de l'insulino-résistance. D'autre part nos résultats montrent aussi que nos plantes diminuent significativement ($p < 0.05$) le nombre des GB, lymphocytes et de la peroxydation lipidique chez les groupes traités par le régime HG+F. En effet, l'absence d'une variation significative entre l'effet de deux plantes et le metformine sur l'homéostasie glucidique et lipidique chez les rattes insulino-résistantes montre que nos plantes possèdent une activité pharmacologique comparable à l'effet du médicament. En conclusion, la présente étude montre que l'extrait méthanolique de *P. oleracea* et/ou *A. malaccensis* sont des systèmes thérapeutiques efficaces contre l'hyperglycémie, l'hyperlipidémie et le stress oxydatif ce qui permet de limiter le développement des maladies comme le diabète et ses complications.

Mots clé : *Portulaca oleracea*, *Aquilaria malaccensis*, Insulino-résistance, Fructose, ratte Wistar

المخلص

الهدف من هذه الدراسة هو تقييم التأثير الخافض للسكر و الدهون والفعالية المضادة للأكسدة لمستخلص أوراق نبات الرجل (Por) *Portulaca oleracea* ولحاء ساق نبات العود *Aquilaria malaccensis* (Aq) لدى فئران مقاومة للأنسولين، من أجل ذلك استعملنا 27 أنثى فأر من جنس الويستر بعمر 10 أسابيع و وزن 202 ± 3.12 غ تم تقسيمها الى 6 مجموعات: الأولى مجموعة شاهدة تستهلك نظام غذائي قياسي، الثانية مقاومة للأنسولين بدون معالجة، الثالثة مقاومة للأنسولين معالجة بدواء الميتفورمين، الرابعة مقاومة للأنسولين معالجة بمستخلص نبات الرجل، الخامسة مقاومة للأنسولين معالجة بمستخلص نبات العود، السادسة مقاومة للأنسولين معالجة بمستخلص نباتي الرجل والعود لمدة 5 أسابيع، المقاومة للأنسولين حرضت عن طريق نظام غذائي عالي السعرات الحرارية (75%) غني بالفريكتوز (32%) لمدة 73 يوم. المعالجة بالمستخلص النباتي تكون عن طريق الفم بتركيز 400مغ/كغ لنبات الرجل و 200مغ/كغ لنبات العود لمدة 3 أسابيع. النتائج المتحصل عليها من هذه الدراسة أظهرت بوضوح أن حماية (HG-F) تسبب نمط ظاهري سمين يتميز بارتفاع في تركيز السكر في الدم، الدهون في الدم والأنسجة، اختلال في عمل الكبد والكلية، تدهور في حالة النظام المناعي و التوتر التأكسدي. هذه العلامات هي أفضل مؤشر لمقاومة الأنسولين. من جهة أخرى، المعالجة بواسطة المستخلص الميثانولي لنبات الرجل أو مع نبات العود أدت إلى خفض معدل الزيادة في الوزن ($p < 0.05$), خفض نسبة السكر (40.11%, 41.20%) والدهون في الدم ($p < 0.01$) على التوالي. من جهة أخرى، وأظهرت النتائج التي تم الحصول عليها انخفاضاً ملحوظاً في تركيز اليوريا والكرياتينين و نشاطية ناقلات الأمين والفوسفاتاز القلوي في المجموعات المعالجة من قبل النباتات مقارنة بالمجموعة المقاومة للأنسولين. وعلاوة على ذلك تظهر نتائجنا أيضاً أن النباتات تؤدي خفض في عدد الكريات البيضاء (P) < 0.05 , الخلايا اللمفاوية وبيروكسيد الدهون في المجموعات الخاضعة لحماية HG-F، في الواقع لم نلمس وجود تباين فيما يخص تأثير المستخلص لنبات الرجل والعود مقارنة مع تأثير دواء الميتفورمين على التوازن السكري والدهني، مما يدل على أن نبات الرجل والعود يمتلكان نشاط خافض للسكر والدهون ينافس تأثير الأدوية. في الختام، تبين هذه الدراسة أن مستخلص الميثانول لكل من نبات الرجل و/أو العود، أنظمة علاجية فعالة ضد ارتفاع مستوى السكر والدهون والأكسدة التي يمكن أن تحد من تطور أمراض مثل مرض السكري ومضاعفاته.

الكلمات المفتاحية : نبات الرجل، نبات العود، مقاومة الأنسولين، فريكتوز، فئران ويستر.