République Algérienne Démocratique & Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieure et la Recherche scientifique

Université De Saida Dr. Tahar-Moulay

Faculté des Sciences

Département de Biologie

Mémoire en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et la Vie (SNV)

Thème

Etude phytochimique des extraits de feuilles du roncier (Rubus ulmifolius-rubus-ulmifolius)

Présenté par :	***Filière:***	***Spécialité:***
- Mlle LAKEL Hadjira	*Sciences Biologiques*	*Biochimie*
- Mlle BEDIAR Khadidja	*Ecologie*	*Protection et gestion des écosystèmes*

Soutenu le 08 / 07 /2021 devant le jury :

Président:	*Mr AMMAM Abdelkader*	*MCA*	*Université de Saida*
Examinateur:	*Mr TERRAS Mohamed*	*Prof*	*Université de Saida*
Encadreur:	*Mr BERROUKCHE Abdelkrim*	*Prof*	*Université de Saida*

Année Université 2020/ 2021

بسم الله الرحمن الرحيم

Remerciements

Tout d'abord, merci à **Allah** pour m'avoir donné le pouvoir et l'aide accomplir cette recherche. Sans la grâce d'Allah, je n'ai pas pu accomplir ce travail.

Je tiens tout d'abord à remercier mon directeur de recherche, **Mr BERROUKCHE Abdelkrim**, professeur à Université de Saida « **Dr. Tahar-Moulay** » d'avoir dirigé cette mémoire, pour son soutien, sa disponibilité, son aide, son encouragement dans les moments difficiles et durant toute la période de ce travail et les nombreuses discussions qui m'a permis d'y voir plus clair au sujet.

Mes vifs remerciements vont également aux membres du jury pour l'intérêt qu'ils ont porté à mon travail en acceptant d'examiner cette mémoire et de l'enrichir par leurs propositions.

J'adresse aussi mes remerciements et ma profonde gratitude à ma mère qui n'a jamais cessé de me soutenir pour que je puisse finir mes études. Merci aussi à toute ma famille.

Personnellement, je ne saurais exprimer assez de reconnaissance pour mon père «Que Dieu lui apporte paix et miséricorde » pour leur amour et soutien qui n'ont cessé de jalonner ma vie. Merci d'avoir cru en moi, je vous dédie ma vie et humblement ce modeste effort. Les mots ne peuvent exprimer combien je suis reconnaissante envers mon père.

Merci à tous ceux qui, de près ou de loin, m'ont encouragé et soutenu tout au long de ce travail.

Melle . LAKEL Hadjira

Remerciements

Au terme de ce travail, nous tenons à remercier Allah le tout puissant pour nous avoir donné la santé.

*Nous tenons vivement à remercier notre promoteur **Mr BERROUKCHE Abdelkrim** Prof à l'Université de Saida qui nous a guidées et encouragées à établir ce modeste travail.*

*Nous exprimons nos remerciements aux honorables membres du jury : **Mr AMMAM Abdelkader** qui nous a honorés de sa présidence de notre jury et **Mr TERRAS Mohamed** avoir accepté d'examiner notre travail.*

*Nous remercions, **Mr BOUDOU farouk** le technicienne du laboratoire de chimie organique.*

Nos remerciements vont à tous nos enseignants qui nous ont guidés sur le chemin de la science tout au long de notre cursus universitaire.

Je tiens tout spécialement à remercier ma profonde gratitude à ma mère qui n'a jamais cessé de me soutenir pour que je puisse finir mes études. Merci aussi à toute ma famille.

Personnellement, je ne saurais exprimer assez de reconnaissance pour mon père «Que Allah lui apporte paix et miséricorde » pour son amour et soutien qui n'ont cessé de jalonner ma vie. Merci d'avoir cru en moi, je vous dédie ma vie et humblement ce modeste effort. Les mots ne peuvent exprimer combien je suis reconnaissante envers mon père.

Melle. BEDDIAR khadidja

Résumé

L'objectif assigné à notre travail consiste à l'étude de l'activité antioxydante et antimicrobienne de l'extrait organique et aqueux de feuilles de Rubus ulmifolius Schott, couramment utilisées dans la médecine traditionnelle comme agent antidiabétique, antimicrobiens et antihypertensif.

Le screening photochimique a révélé la présence des métabolites secondaires tel que: polyphénols, flavonoïdes dans l'extrait organique et l'extrait aqueux de feuilles de Rubus ulmifolius Schott.

Le dosage des polyphénols a donné une teneur dans l'extrait aqueux de feuilles de Rubus ulmifolius Schott 124,84±11.03 (ugAGeq/mg EX), tandis que dans l'extrait organique a donné une teneur 191.24±25.73 (ugAGeq/mg EX).

Le dosage Flavonoïdes a donné une teneur dans l'extrait aqueux de feuilles de Rubus ulmifolius Schott 184.20±2.65 (ugCeq/mg EX), tandis que dans l'extrait organique 309.57±7.07 (ugAGeq/mg EX).

L'extrait orgaqnique de feuille de Rubus ulmifolius a démontré une l'activité antioxydante intéressante à l'aide du test chimique au DPPH estimée par IC 50 et égale 8729.47µg / ml,tandis que dans l'extrait aqueux 1671.41µg / ml.

L'extrait organique des feuilles de Rubus ulmifolius Schott a révélé une activité antimicrobienne plus élevée que ce de l'extrait aqueux.

Sur Pseudomonas aeruginosa avec des diamètres d'inhibitions allant de 10 mm à 25 mm.C'est le même Sur Staphylococcus aureus l'extrait organique de feuilles de la Rubus ulmifolius a montré une réduction de croissance plus élevée (zone d'inhibition de 9mm à 23 mm).Sur *E. coli*, il estmodérément actif enregistrant des auréoles dont le diamètre est de 9 mm à 13mm.

Mots-clés: Rubus ulmifolius, DPPH, Antioxydant, Antibactérien.

الملخص

الهدف المخصص لعملنا هو دراسة النشاط المضاد للأكسدة ومضاد الميكروبات من المستخلص العضوي والمستخلص المائي من أوراق توت العليق Rubus ulmifolius Schott، والذي غالبا يستعمل في الطب التقليدي لخفض نسبة السكر في الدم، مضاد للميكروبات وخفض ارتفاع الضغط الدموي للانسان.

كشف الفحص الكيميائي النباتي عن وجود مستقلبات ثانوية مثل: البوليفينول والفلافونويدات في المستخلص العضوي والمستخلص المائي لأورا ق Rubus ulmifolius Schott.

أعطى تحديد البوليفينول محتوى في المستخلص المائي يقدر ب 124,84 ±11.03 بينما في استخراج العضوية (ميكروغرام حمض غاليك مكافئ/ميللي غرام من المستخلص)،بينما أعطى في المستخلص العضوي قيمة 191.24±25.73 (ميكروغرامحمض غاليك مكافئ/ميللي غراممن المستخلص).

أعطى تحديد الفلافونويدات محتوى في المستخلص المائي يقدرب 184.20±2.65 (ميكروغرام كاتشين مكافئ/ميللي غرام من المستخلص). بينما أعطى في المستخلص العضوي قيمة 309.57±7.07 (ميكروغرام حمض غاليك مكافئ/ميللي غرام من المستخلص).

أظهر المستخلص العضوي من أوراق *Rubus ulmifolius Schott* نشاط مضادات الأكسدة مثير للاهتمام باستخدام اختبار DPPH الكيميائية مقدرة من قبل IC 50 ويساوي 8729.47 ميكروغرام / مل، بينما في المستخلص 1671.41 ميكروغرام / مل.

وكشف المستخلص العضوي لأوراق Rubus ulmifolius Schott عن نشاط مضاد للميكروبات أعلى من نشاط المستخلص المائي على Pseudomonas aeruginosa مع أقطار تثبيط تتراوح بين 10 ملم إلى 25 ملم. نفس الشيء على المكورات العنقودية أوريوس المستخلص العضوي من أوراق *Rubus ulmifolius Schott* أظهرت انخفاض النمو أعلى (منطقة تثبيط من 9 ملم إلى 23ملم). على *E. coli*، فهي هالات تسجيل نشطة بشكل معتدل قطرها من 9 مم إلى 13 مم.

الكلمات المفتاحية: Rubus ulmifolius، DPPH، النشاط المضاد للجذور الأكسجينية، النشاط المضاد للبكتيريا.

ABSTRACT

The objective assigns to our work is the study of the antioxidant and antimicrobial actIvity of the organic and the aqueous extract of the leaves of Rubus ulmifolius Schott commonly used in traditional medicine as antimicrobial, antidiabetic, and Anti-hypertensive.

Photochemical screening revealed the presence of secondary metabolites such as: polyphenols, flavonoids in the organic and aqueous extract of the leaves of Rubus ulmifolius Schott.

The determination of polyphenols gave a content in the aqueous extract of the leaves of Rubus ulmifolius Schott 124, 84±11.03 (ugAGeq/mg EX), whereas in the organic extract gave a content of 191.24±25.73 (ugAGeq/mg EX).

The Flavonoids assay gave content in the aqueous extract of the leaves of Rubus ulmifolius Schott 184.20±2.65 (ugCeq/mg EX), while in the organic extract 309.57±7.07 (ugAGeq/mg EX).

The orgaqnic extract from the leaves of Rubus ulmifolius Schott demonstrated interesting antioxidant activity using the DPPH chemical test estimated by IC 50 and equals 8729.47 µg / ml, while in the aqueous extract 1671.41 µg / ml.

The organic extract of the leaves of Rubus ulmifolius Schott revealed a higher antimicrobial activity than that of the aqueous extract. On Pseudomonas aeruginosa with inhibition diameters ranging from 10 mm to 25 mm. This is the same on Staphylococcus aureus the organic extract of the leaves of the Rubus ulmifolius showed a higher growth reduction (inhibition zone from 9mm to 23mm). On E. coli, it is moderately active recording halos with a diameter of 9 mm to13mm.

Keywords: **Rubus ulmifolius**, **antioxidant activity**, **DPPH**, **antimicrobial activity**.

Sommaire

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction générale..... **01**

Chapitre I : Diabète Type 2

Introduction..... **05**

I.1 Classification..... **06**

I.1.1 Diabète de type 1 (diabéte insulino dépendant « DID ») **06**

I.1.2 Diabéte de type 2 (le Diabète non insulino dépendant « DIND » **07**

I.1.3 Diabète gestationnel..... **07**

I.1.4 Autres types de diabète..... **07**

I.2 Epidémiologie..... **08**

I.2.1 Prévalence mondiale..... **08**

I.2.2 Prévalence En Europe..... **10**

I.2.3 Prévalence En Afrique..... **11**

I.2.4 Prévalence En Algérie..... **11**

I.3 Etiologie et immunopathologie du diabète de type 2..... **13**

I.3.1 Facteurs génétiques..... **13**

I.3.2 Facteurs de risque liés à l'environnement et au comportement de type 2..... **14**

I.3.2.1 Sédentarité..... **14**

I.3.2.2 Obésité..... **14**

I.3.2.3 Nutrition..... **15**

I.3.2.4 Tabac..... **15**

I.4 Relation diabète de type 2 et stress oxydant..... **16**

I.4.1 Molécules pro-oxydantes et antioxydantes de la cellule β..... **17**

I.4.1.1 Enzymepro-oxydante:la NADPHoxydase..... **17**

I.4.1.2 Défenses antioxydantes des cellules β..... **18**

I.4.2 Effet du stress oxydant surl'insulino-résistance..... **18**

Chapitre II : Plantes médicinales retenu pour l'étude de leur effet sur diabète type2

Introduction..... **23**

II.1 Plantes antidiabétiques en Algérie..... **24**

II.2 Mécanismes d'action..... **30**
II.3 Métabolites secondaires des plantes antidiabétiques..... **30**
II.3.1 Polyphénols..... **31**
II.3.1.1 Flavonoïdes..... **32**
II.3.1.2 tanins..... **33**
II.3.2 Terpènes..... **33**
II.3.3 Alcaloïdes..... **34**
II.3.4 Polysaccharides..... **34**
II. 3.5 Polypeptides et acides aminés..... **35**
II.4 Etude sur plante sélectionnée..... **35**
II.4.1 Genre Rubus..... **35**
II.4.2 Rubus ulmifolius Schott..... **35**
II.4.2.1 Appellations et synonyme..... **35**
II.4.2.2 Systématique..... **36**
II.4.2.3 Description morphologique..... **37**
II.4.2.4 Mode de la reproduction..... **39**
II.4.2.5 Exigences écologiques..... **39**
II.4.2.6 Habitat et répartition..... **39**
II.4.2.6.1 Habitat..... **39**
II.4.2.6.2 Répartition..... **40**
a. Répartition mondiale..... **40**
b. Répartition en Algérie..... **41**
c. Répartition au niveau de la wilaya de Saida..... **41**
II.4.2.7 Composition chimique..... **42**
II.4.2.8 Propriétés et vertus thérapeutique..... **45**

Chapitre III : Matériels et méthodes

III.1.Matériels..... **48**
III.1.1.Matériels non biologique..... **48**
III.1.2 Matériel biologique..... **49**
III.1.2.1Matériel végétal..... **49**
III.1.2.2 Matériel microbiologique..... **49**
III.2. Méthodes..... **50**
III.2.1 Préparation des extraits..... **50**

III.2.1.1 Préparation de l'extrait aqueux..... **50**
III.2.1.2 Préparation de extrait organique..... **51**
III .2.2.Screenning phytochimique..... **52**
III.2.2.1 Dosage des polyphénols totaux..... **53**
III.2.2.2 Dosage des flavonoïdes totaux..... **54**
III.2.2.3 L'activité antioxydante..... **55**
III.2.2.4 Activité antibactérienne..... **57**
Chapitre IV: Résultats et discussion
IV.1 Rendement et aspects des extraits..... **60**
IV.2 Détermination de teneur en composés phénoliques..... **60**
IV.2.1 Dosage des composés polyphénoliques totaux..... **60**
IV.2.2 Dosage des flavonoïdes totaux..... **63**
IV.3 Evaluation des activités biologiques in vitro..... **64**
IV.3.1 L'activité antioxydante et antiradicalaire..... **64**
IV.3.2 L'activité antimicrobienne..... **67**
Conclusion et perspective..... **71**
Annexe.
Références bibliographiques.

Liste des figures

Figure	Page
Figure 01: Classification du diabète……...….....……...….....	**06**
Figure 02: Physiopathologie du diabète de type1.....	**07**
Figure 03: Répartition mondiale du diabète selon la Fédération Internationale Du Diabète …….....…….....…….....…….....……	**09**
Figure 04: Incidence du DT1 de l'enfant en Europe	**11**
Figure 05: Représentation schématique de la NADPH de type phagocytair sous forme activité…….....	**17**
Figure 06: Structure de récepteur de l'insuline…….....…….....	**19**
Figure 07: La voie de signalisation de l'insuline…….....…….....	**20**
Figure 08: Inhibition du signal insuline par phosphorylation sur Ser/Thr des protéines IRS...	**20**
Figure 09: Mécanisme de résistance à l'insuline induite par les ROS…….....	**21**
Figure 10 : Les principales classes des polyphénols.....	**32**
Figure 11: Cycle de développement de Rubus fruticosus.....	**37**
Figure 12: les feuilles de la Rubus ulmifolius à feuille d'orme ….....……...	**39**
Figure 13: la fleur de la Rubus ulmifolius.....	**38**
Figure 14: les fruitsdelaRubus ulmifolius à feuilled'orm.....	**36**
Figure 15: Tige de la Rubus ulmifolius à feuille d'orme.....	**37**
Figure 16: Carte de répartirions mondiale de la Rubus ulmifolius.....…….....……..	**40**
Figure 17: Carte de répartition géographique du rebus ulmifolius dans la wilaya de Saida....	**41**
Figure 18: Profil de l' HPLC représente la nature des polyphénols qui compose les fruits deRubus ulmifolius.....	**43**
Figure 19: Structures de certains composés phénoliques typiques détectés dans les fruits de Rubus ulmifolius.....	**44**
Figure 20: Polyphénols identifiés dans l'extrait de feuilles de mûre, en utilisant l'analyse UHPLC.....	**44**
Figure 21: Feuilles de la Rubus ulmifolius séchées (A). Poudre de feuilles après broyage (B).	**49**
Figure 22: Préparation de l'extrait aqueuxx par décoction.....	**50**
Figure 23: Schéma de la décoction de la poudre de feuille de Rubus ulmifolius….....	**51**
Figure 24: L'extrait organique après séchage…….....	**52**
Figure 25: Schéma de la macération de la poudre de feuille de Rubus ulmifolius …….....	**52**
Figure 26: Changement de couleur du a reduction de molybdate d'ammonium (jaune) avec	

le noyaeu de phenol du CFR (bleu)…..... …….....	**53**
Figure 27: Réaction antioxydant / radical libre DPPH ……....…….....	**54**
Figure 28: Réaction antioxydant / radical libre DPPH.……. .....…	**55**
Figure 29: Protocole de mesure de l'activité anti radicalaire DPPH …….....	**56**
Figure 30: Courbe d'étalonnage d'acide gallique pourle dosage des polyphénols totaux.……	**61**
Figure 31: Courbe d'étalonnage du catéchine (0-40 µg/ml) pour le dosage des flavonoïdestotaux..... …….....	**63**
Figure 32: Extrait aqueux vis-à-vis du radical DPPH.....	**65**
Figure 33: Extrait organique vis-à-vis du radical DPPH.	**65**
Figure 34: Représentations graphiques de l'évolution du pourcentage d'inhibition du radical DPPH en fonction des concentrations des extraits enµg/ml.	**66**
Figure 35: Photo montrant l'effet antibactérien de de l'extrait organique et l'extrait aqueux de feuilles du Roncier contre Staphylococcus aureus.....	**68**
Figure 36: Photo montrant l'effet antibactérien de de l'extrait organique et l'extrait de feuilles du Roncier contre Escherichia coli.	**68**
Figure 37: Photo montrant l'effet antibactérien de de l'extrait aqueux et l'extrait organiquede feuilles du Roncier contre Pseudomonas aeruginosa.	**68**

Liste des tableaux

Tableau	Page
Tableau 01: Evolution du nombre de personnes atteintes de diabète dans le monde de 1985 à 2014 …….....……...….....	**10**
Tableau 02: Les 10 premiers pays comportant le plus d'adultes atteints de diabète en 2017 ……....……....……	**10**
Tableau 03: Plantes citées par les sujets diabétiques en Algérie …….	**26**
Tableau 04: Composition chimique de la partie aérienne….....….	**42**
Tableau 05: Composition chimique du fruit de Rubus ulmifolius)…… …….....	**42**
Tableau 06: Les polyphénols dans les fruits de Roce	**42**
Tableau 07: Composition en polyphénol des fruits de	**43**
Tableau 08: Composition en polyphénols des feuilles de Rubus ulmifolius	**45**
Tableau 09: Présentation des souches microbiennes testées.....	**50**
Tableau 10: Caractéristiques des extraits de feuilles de Rubus ulmifolius.....	**60**
Tableau 11: Résultats du dosage des polyphénols totaux, des extraits Rubus ulmifolius. ....…… ....…… ……	**62**
Tableau 12: Résultats du dosage des falvonoides totaux, des extraits Rubus ulmifolius. ....…… ....…… ……	**63**
Tableau 13: Quelques activités biologiques des polyphénols. ....…… .. ..…	**64**
Tableau 14: Valeurs des concentrations d'IC50. ....……	**66**
Tableau 15: Sensibilité des différentes souches vis-à-vis des extraits de feuilles de la Ronce. ....…… ....…… ……	**67**

Liste des abréviations

ADA	**Association Américaine du Diabète**
ADN	Acide désoxyribonucléique
ADP	Adénosine di-phosphate
AKT	protéine kinase B
AlCl3	Trichlorure d'aluminium
ATP	Adénosine triphosphate
EVA	éthylène-vinylacetate
ATCC	American Type Culture Collection
°C	Degré Celsius
CD4	Cluster de Différenciation 4
CHU	Centre hospitalier Université
COX	Cyclooxygénase
COX2	Cyclooxygénase 2
CLN	Clinique
CPA	Cellules présentatrices d'antigène
DPPH2	2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl
DT1	diabète type 1
DT2	diabète type 2
EX–AC	extrait acetate d'ethyl
EX-AQ	extrait aqueuxx
GAD-65	Glutamate Decarboxylase 65
Grb2	Growth Factor Receptor
HIT-T15	Hamster Islet Transformed-Tioguanine resistant clone15
HGPO	Hyper Glycémie Provoquée par voie Orale
I %	Pourcentage d'inhibition
IA-2	Anti-Ilots de langerhans
IC50	Concentration inhibitrice de 50 %
IL	Interleukines
IL-1	Interleukine-1
IL-6	Interleukine-6
IRS	Inhibiteurs de la recapture de la sérotonine

L	Litre
LPS	LipoPolySacharides
MAPK	Mitogene Activated Protein Kinase
mg/mL	Milligramme par millilitre
mm	Millimètre
mn	Minute
MODY	Maturity Onset Diabetes of the Young
mTOR	mammalian target of rapamycin
NF-KB	Facteur nucléaire-kappa B
NO	monoxyde d'azote
NOS	oxyde nitrique synthase (Nitrique oxyde synthase)
O2	Oxygène
O2•−	Le Radical Superoxyde
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
P13K	Phosphoinositide de 3-kinase
PAF	Facteur d'activation plaquettaire
PDK1	Phosphoinositide-dependent protein kinase-1
PIP2	Phosphatidylinositol 4’-5’-biphosphatase
PKC	Protein Kinase C
Po	Peros
ROS	Reactive oxygen species.
SHP-2	Srchomology-2-domain containing protein tyroçsine phosphatase-2
TNF	Facteur de nécrose tumorale
µL	Microlitre
USA	United States America
UV	Ultraviolet
%	Pourcentage

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Introduction générale

Le diabète est l'une des plus anciennes maladies connues de l'humanité dont l'effet dévastateur augmente de jour en jour et gravement à un niveau épidémique (Wild et al., 2004). C'est une maladie du métabolisme désordonné des glucides, qui affecte également les protéines et les graisses qui sont causées par l'insuffisance totale ou relative de l'action de l'insuline (Rodier, 2001).

Plusieurs données expliquent que les principaux facteurs de risques responsables de la propagation du diabète sucré, sont l'urbanisation, le changement de mode de vie, l'inactivité physique, l'obésité, et le stress psychosociologique qui menace les individus jour après jour (Whiting et al., 2011).

Le diabète, constitue un exemple des maladies associées au stress oxydant. Sa prévalence à travers le monde, et ses complications s'ajoutent à la nouvelle notion du stress oxydant et constituent un sujet d'actualité. Il est maintenant admis que des concentrations élevées en glucose dans les milieux extra et intracellulaires induisent un stress oxydant défini comme un déséquilibre de la balance entre les pros oxydants et les antioxydants et qui est considéré comme le moteur mobilisant des différents facteurs pathologiques vers les complications du diabète.

A l'inverse, l'évolution des connaissances portant sur le «stress oxydant» s'effectue plutôt dans le sens de la fusion. De multiples savoirs et des constatations éparses tendent à se compléter pour s'intégrer dans un ensemble cohérent d'événements biologiques.

La complexité de ce nouveau concept et son implication dans de nombreuses maladies explique au moins en partie l'accumulation des recherches portant sur ce phénomène et la recherche de nouvelles substances permettant de mettre fin à ses dégâts pathologiques ou leur prévention.

Parmi les traitements du diabète de type2, on trouve également des traitements de phytothérapie ou de médecine traditionnelle. Ces traitements sont fréquemment utilisés, surtout en dehors des pays industrialisés et sont en général peu ou mal étudiés.

Plusieurs recherches s'orientent vers les plantes médicinales considérées comme source énorme de multiples substances phytothérapiques douées d'activités à la fois antidiabétiques et antioxydantes et qui peuvent être l'arme permettant de faire face au stress oxydant et ses dégâts au niveau des organes de l'être vivant.

Les plantes sont une excellente source d'ingrédients actifs qui peuvent être utilisées pour traiter de nombreuses maladies. Ces ingrédients dites composant phytochimiques «les polyphénols».

Les composés phénoliques sont largement distribués dans le règne végétal. Considérés comme étant les métabolites secondaires les plus abondants dans les plantes.

Au cours des dernières années, l'identification et le développement de composés phénoliques ou des extraits de différentes plantes est devenu un domaine de recherche important de santé (Aliouat, 2014).

Dans le présent travail nous nous sommes intéressés à l'étude d'une plante médicinale Rubus Ulmifolius Schott connue par ces nombreuses vertus thérapeutiques qui sont dus à ses composants phytochimiques essentiellement les polyphénols.

Notre travail s'inscrit dans le cadre de :

-Estimation de quantité des composés phénoliques et flavonoïdes trouvés dans l'extrait aqueuxx et l'extrait organique de feuilles de Rubus ulmifolius Schott.

-L'estimation de l'activité antioxydante au DPPH in vitro de l'extrait organique et l'extrait aqueuxx de feuilles de Rubus ulmifolius Schott.

-L'évaluation de l'activité antibactérienne in vitro de l'extrait organique et l'extrait aqueuxx de feuilles de Rubus ulmifolius Schott.

Chapitre I
Diabète Type 2

Introduction

Le diabète est une maladie décrite pour la première fois en 4000 avant Jésus-Christ dans les ouvrages de Chine. Dans l'Antiquité, les Egyptiens et les Grecs en identifient les premiers symptômes tels la soif et la polyurie (urines fréquentes). L'origine du mot diabète émane d'ailleurs du Grec «diabainen» désignant «passer à travers» (Terrien, 2017).

Le terme «diabète» désigne un groupe de maladies métaboliques hétérogènes caractérisées par un état d'hyperglycémie chronique (Monnier, 2019).

Cette augmentation résulte d'un défaut de l'utilisation de l'insuline par l'organisme ou d'une carence de production de cette même hormone qui a un rôle de faire passer le glucose du sang vers les cellules des tissus de l'organisme (Carpentier, 2014) ou il est transformé en énergie nécessaire au bon fonctionnement des muscles et des tissus(Hirst, 2013).

De plus, L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) définie le terme «diabète» comme étant un trouble métabolique à l'étiologie multiple, caractérisé par une hyperglycémie chronique accompagnée de perturbations du métabolisme de hydrates de carbone, des lipides et des protéines dues à des désordres dans la sécrétion et/ou l'action de l'insuline (insulino résistance)(Romli, 2016).

Cette hyperglycémie chronique est associée, à des degrés divers, à des complications à long terme, touchant en particulier les yeux, les reins, les nerfs, le cœur et les vaisseaux sanguins (Rodier, 2008).

I.1 Classification

Il existe plusieurs types de diabète, selon l'ADA, l'OMS et FID (ADA, 2016), le diabète a été classé en quatre types de diabète, le diabète de type 1, le diabète de type 2, le diabète gestationnel et autres formes de diabète (cf. Figure 01).

:

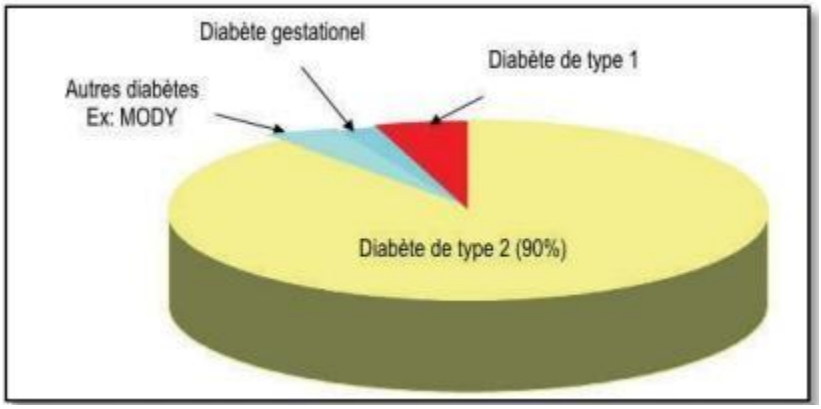

Figure 01: Classification du diabète (selon l'OMS, 2016).

I.1.1 Diabète de type 1 (diabète insulino dépendant « DID »)

Le diabète de type 1 est provoqué par une réaction auto-immune au cours de laquelle le système immunitaire de l'organisme attaque les cellules bêta du pancréas, qui produisent l'insuline. L'organisme produit alors très peu ou ne produit pas d'insuline, Le diabète de type 1 est l'une des maladies chroniques les plus courantes dans l'enfance (Atlas mondial de diabète, 2019).

L'hyperperméabilité intestinale pourrait être la conséquence des modifications du comportement alimentaire. La destruction des cellules béta par l'infection libère des antigènes qui seront reconnus par les cellules présentatrices d'antigène (CPA) au niveau des noeuds lymphatiques pancréatiques. Les lymphocytes T CD4+ activés par les CPA migrent vers les cellules béta pancréatiques et relâchent des chimiokines attirant ainsi les lymphocytes T CD8+ cytotoxiques. Ces derniers produisent des cytokines, vont permettre le recrutement des macrophages et détruire les cellules béta, induisant ainsi l'insulite (cf. Figure 02) (Tenenbaum1 et al., 2018).

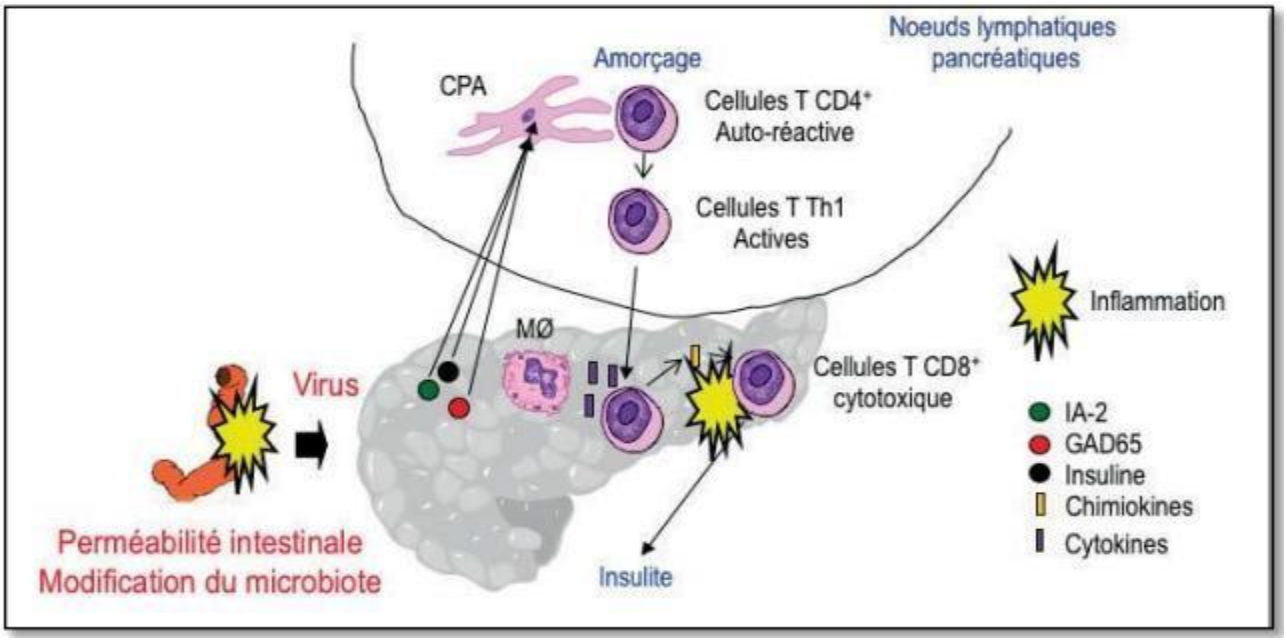

Figure 02: Physiopathologie du diabète de type 1 (Revue francophone des laboratoires, 2018).

I.1.2 Diabète de type 2 (le Diabète non insulino dépendant« DIND »

Le diabète type 2 est une maladie hétérogène, non auto-immune (Buysschaert, 2006; Perlemuter et al., 2000). Le diabète de type 2 est le type le plus courant et il représente environ

90 % de l'ensemble des cas de diabète dans le monde. Dans le cas du diabète de type 2, au départ les cellules sont moins sensibles à l'insuline, ce qui provoque l'hyperglycémie, une situation appelée «insulino-résistance». Lorsqu'il y a résistance à l'insuline, l'hormone est inefficace et, le moment venu, cela provoque une augmentation de la production d'insuline. Avec le temps, la production d'insuline devient anormale en raison de l'incapacité des cellules bêta du pancréas à répondre à la demande. Le diabète de type 2 se manifeste le plus souvent chez les personnes âgées, mais on l'observe de plus en plus chez les enfants et les jeunes adultes eu égard à la progression de l'obésité, du manque d'activité physique et d'une mauvaise alimentation (Atlas mondial de diabète, 2019).

I.1.3 Diabète gestationnel

Les femmes qui développent une résistance à l'insuline et, par conséquent, une glycémie élevée pendant leur grossesse sont atteintes de diabète gestationnel (Guariguata *et al.*, 2014).Un diabète gestationnel peut se révéler dès les 24émes semaines de grossesse, lors d'une glycémie à jeun. Cette affection, touchant 3% des femmes enceintes et disparait en général après la grossesse (Mouraux & Dorchy, 2005).

I.1.4 Autres types de diabète

1. Diabète mitochondrial: Le diabète mitochondrial (MIDD) est une mutation ponctuelle de

l'ADN mitochondrial en position 3243 conduisant à un déficit en ATP provoquant une diminution de l'insulino-sécrétion (Buysschaert et all, 2006).

2. Diabète médicamenteux: Diabète d'origine médicamenteuse et chimique provoqué par des médicaments qui perturbent la sécrétion d'insuline ou son action et capables de provoquer une intolérance au glucose, par exemple les corticoïdes; oestro progestatifs combinés ; les diurétiques thiazidiques ; diazoxide et propranolol (Perlemuter et al., 2000).

3. **Diabètes de types MODY:** Maturity Onset Diabètes of the Young (MODY) sont des formes héréditaires de diabète sucré transmises sous le mode autosomique dominant, ces maladies monogéniques sont caractérisées par un diabète de gravité variable se développant chez l'enfant et chez l'adulte jeune (Hennen, 2001). Ce type de diabète ressemble au diabète de type 2 dans leur expression clinique mais surviennent avant l'âge de 30 ans, ils présentent 50% des enfants de couples dont un est atteint (Buysschaert, 2006).

4. **Diabète rénal:** Il existe un diagnostic différentiel avec le diabète insipide et le diabète rénal., et au cours desquelles la glycémie est normal. Le diabète insipide est la conséquence d'un déficit en hormone antidiurétique entrainant un manque de réabsorption de l'eau au niveau du tube rénal se traduisant par une polyurie et une polydipsie chronique. Le second est considère par le diabète rénal qui est à l'origine d'une diminution du seuil rénal du glucose se caractérisant par une glycosurie (Maunand, 2002).

I.2 Epidémiologie

I.2.1 Prévalence mondiale

Au niveau mondial le nombre de diabétique ne cesse d'augmenter à travers le monde. Aucun continent n'est épargné par le diabète (cf. Figure 03) (Atlas mondial de diabète, 2019).

En effet, cette pathologie lourde touche toute la population qu'elle soit jeune ou adulte, femme ou homme, personne ne semble épargné par cette affection, mais avec des fréquences qui varient d'un pays à l'autre, d'une région ethnique à l'autre (Sahnine et Yahiaoui, 2018).

Les statistiques que nous allons présenter sont issues des études et enquêtes faites par la Fédération internationale du diabète (FID) et l'organisation mondiale de la santé (OMS) (Ferdjellah et Ghemari, 2013).

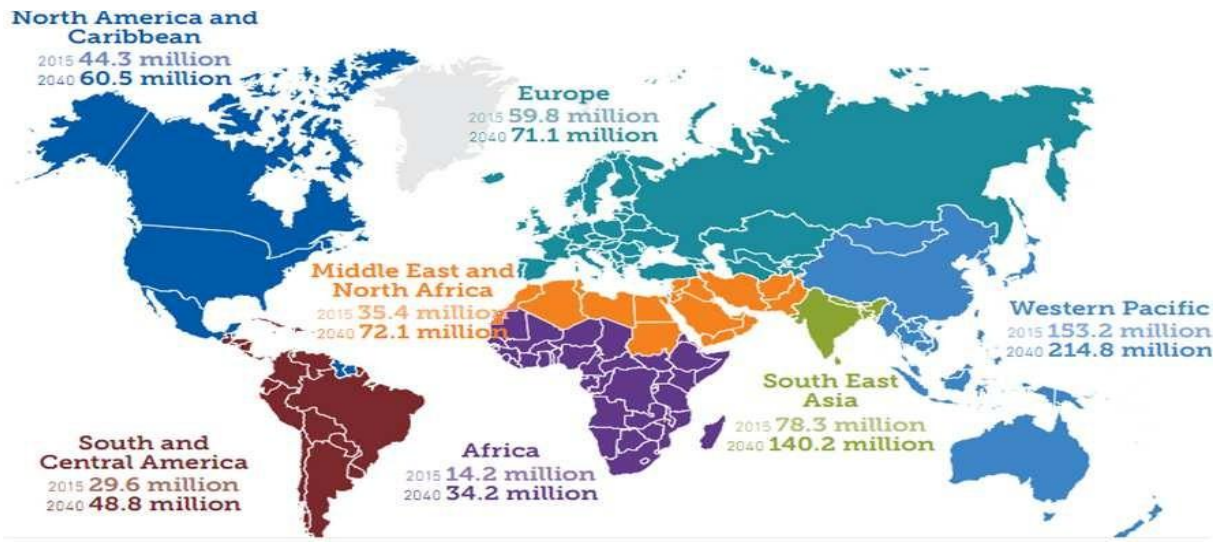

Figure 03: Répartition mondiale du diabète selon la Fédération Internationale Du Diabète (Atlas mondial de diabète, 2019).

Le diabète de type 1 ne concerne généralement qu'une minorité de la totalité de la population atteinte du diabète, soit 10 à 15% des diabétiques. Cela dit, son incidence ne cesse d'augmenter, aussi bien dans les pays pauvres que les pays riches. Ce type de diabète apparait le plus souvent chez le sujet jeune, alors que le diabète de type 2 constitue 85 à 95 % de l'ensemble des diabétiques dans le monde et affecte particulièrement la population adulte, mais peut survenir à n'importe quel âge. Le diabète de type 2 est répandu et se présente aujourd'hui comme un sérieux problème de santé publique (OMS, 2016).

Selon FID, le nombre des diabétiques dans le monde en 2014 est estimé 422 millions de personnes. De plus, cette même organisation estime qu'en 2030, 552 millions de personnes à travers le monde pourraient être diabétiques (Sahnine et Yahiaoui, 2018).

Cependant, le nombre de personnes atteintes de cette maladie est toujours sous-estimé du fait de l'existence d'un nombre important de cas méconnus pour plusieurs raisons, tels que le Caractère asymptomatique du diabète de type 2 et l'abstention des gens de faire le dépistage d'une manière volontaire (Ferdjellah et Ghemari, 2013).

La prévalence du diabète a connu une augmentation considérable, voire exponentielle à travers tous les pays du monde. Le Tableau 01 ci-dessous nous présentera l'évolution du nombre de personnes atteintes de diabète, tout type confondu, dans le monde de 1985 à 2014 (Atlas mondial de diabète, 2017).

Le Tableau 01 nous donne une image globale de la gravité de la maladie diabétique et l'augmentation vertigineuse de sa fréquence d'une année à une autre. En effet, le nombre de diabétique dans le monde est passé de 30 millions en 1985 à 422 millions en 2014, ce qui présente une véritable épidémie mondiale (Sahnine et Yahiaoui, 2018).

Années	1985	1995	2000	2003	2007	2010	2012	2014
Nombre diabétique (millions)	30	135	177	194	246	346	371	422

.

Tableau 01: Evolution du nombre de personnes atteintes de diabète dans le monde de 1985 à 2014 (OMS, 2016)

Le Tableau 02 illustre les dix premiers pays qui comptent le plus grand nombre d'adulte atteints de diabète en 2017 :

Les pays	Le nombre de diabétiques (en millions)
Chine	144.4
Inde	72.9
Etat unis d'Amérique	30.2
Brésil	12.5
Mexique	12.0
Indonésie	10.3
Russie	8.5
Egypte	8.2
Allemagne	7.5

Tableau 02: les 10 premiers pays comportant le plus d'adultes atteints de diabète en 2017 (Atlas mondial de diabète, 2017).

Nous remarquons à partir de cette classification que la répartition des diabétiques est très inégale dans le monde. En effet, deux tiers d'entre-deux vivent dans les pays en voie de développement, dont la Chine et l'Inde qui sont les plus touché; ils comptent à eux seuls, plus de 210 millions de diabétiques, ce qui peut s'expliquer par leur démographie importante (Sahnine et Yahiaoui, 2018).

Les autres pays dans le Tableau 02 comptent un nombre moins important de personnes diabétiques par rapport aux deux premiers, mais reste toujours élevé d'où la nécessité de lutter contre cette maladie. En plus de ces pays, plusieurs autres sont menacés par cette épidémie de diabète en enregistrant des taux de prévalence très élevés (Atlas mondial de diabète, 2017).

I.2.2 Prévalence En Europe

En France, l'incidence annuelle dans quatre régions (Haute et Basse-Normandie, Lorraine

et Aquitaine) est passée de 7,8 à 10 nouveaux cas pour 100 000 enfants de moins de 15 ans, de 1988 à 1997, et à 13,5 pour 100 000 en 2004 pour la région Aquitaine. Les causes de ces différences et de cette évolution sont inconnues (Hdidou, 2017).

L'étude épidémiologique réalisée par le groupe EURODIAB Tiger est publiée en Février 2004 effectuée dans neuf centres à travers l'Europe indique que l'incidence du diabète variait de 4,8/100000 en Slovaquie à 13,4/100000 habitants en Angleterre (Hdidou, 2017).

Chez l'enfant l'incidence du diabète type 1 varie de 5,3/100000 en Roumanie à 42/100000 en Sardaigne. Donc, il existe une disparité géographique puisqu'elle est 350 fois supérieure chez les enfants Finlandais par rapport aux enfants Chinois. Dans Les neuf centres, le diabète type 1 semble toucher plus les garçons que les filles Contrairement à ce qui est observé chez l'adulte (cf. Figure 04) (Benharrat et Habi, 2017).

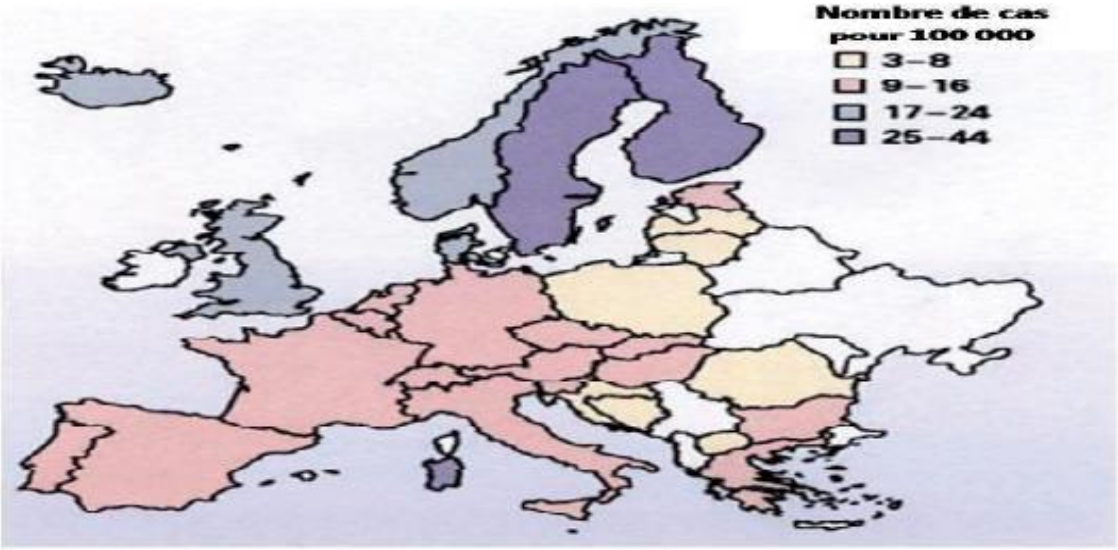

Figure 04: Incidence du DT1 de l'enfant en Europe selon Eurodiab (Benharrat et Habi, 2017).

I.2.3 Prévalence en Afrique

Au Mali, une étude a montré que sur 1296 patients diabétiques hospitalisés ou suivi en consultation externe, 20 étaient les enfants et adolescents de moins de 15 ans, soit une fréquence de 1,54 % (Hdidou, 2017). Cette fréquence rapportée dans ce travail (1,54 %) est superposable à celle publiée en Afrique Occidentale, en Côte d'Ivoire; au Cameron; au Sénégal; ou ses fréquences vont respectivement de 1,52 à 3,66 % et au Congo 2,8 %. Par contre, elle diffère de celle rapportée en Ethiopie ou l'on trouve 7.4% (Benharrat et Habi, 2017).

I.2.4 Prévalence En Algérie

L'Algérie est en pleine transition épidémiologique et le diabète pose un vrai problème de santé publique par le biais des complications chroniques dominées par les complications cardiovasculaires, le pied diabétique, l'insuffisance rénale chronique et la rétinopathie

(Belhadj et al., 2003).

Une étude menée dans l'ouest algérien entre 1989 et 1993, montre que seul le pied diabétique représente près de 10 % des hospitalisations, avec une mortalité de 9,1 % et une amputation chez un tiers des cas (Malek et al., 2001). D'après ONS, la population Algérienne était estimée à 33,5 millions de personnes au 1er juillet 2006. Le diabète sucré pose de sérieux problèmes de santé publique (Abdelkebir, 2014).

La répartition des causes de décès selon une enquête par interview, réalisée en 1990 par l'institut national de santé publique (INSP) et ayant porté sur un échantillon représentatif de la population algérienne, montre que, parmi les dix premières causes de décès, le diabète occupe la 4eme place dans les maladies non transmissibles avec une prévalence de 0,54 %. En 1992, une autre enquête, par sondage sur des ménages, réalisée à Alger, portant sur 1 302 ménages, soit 9 384 habitants, retrouve un taux de prévalence des diabétiques connus de 2,1% (Lamdjadani et Bouazza, 2017).

En 1994, une étude menée dans une commune d'Alger, intéressant 985 sujets âgés de plus de 25 ans, en utilisant comme moyen de dépistage l'interrogatoire et une glycémie à jeun > 130 mg/dl, a révélé un taux de prévalence de diabète de 8,7 %, dont 3, 14 % étaient méconnus (Abdelkebir, 2014). À la même période, une étude utilisant l'épreuve (HGPO), dans l'Ouest algérien (région d'Oran) sur un échantillon de 641 sujets a trouvé une prévalence de diabète de 6,8 % Pour les sujets âgés de 30 à 64 ans. En utilisant les nouveaux critères diagnostiques de diabète (GPJ ≥ 126 mg/dl), la prévalence passe à 6, 6 % (Guendouz et Hamza Zerigat, 2018).

En 1998, en se basant sur l'HGPO (critères de l'OMS, 1985) comme méthode diagnostique, parmi un échantillon de 1 457 sujets de 30 à 64 ans, dans l'Est algérien (Sétif), la prévalence du DT2 était de 8,2 %. L'application des nouveaux critères diagnostiques du diabète (GPJ ≥ 126 mg/dl) donne des taux de 8,8 % pour le DT2 (Malek, 2008).

En 2002, chez les Touaregs du Sud algérien, à Adrar, et sur un échantillon de 1000 sujets, la prévalence était de 1,3 % (Malek, 2008).

En 2003, une enquête (l'approche « Step Wise »), dirigée par la direction de la prévention du ministère de la Santé, en collaboration avec le bureau de liaison de l'OMS en Algérie, fut menée dans deux zones pilotes à l'Est (Sétif) et à l'Ouest (Mostaganem), sur un échantillon total de 4 050 sujets. Elle a retrouvé une prévalence globale du diabète chez les 25-64 ans de 8,9 % dont 2,9 % de diabétiques connus et 6,02 % non connus (Guendouz et Hamza Zerigat, 2018).

Une autre enquête nationale de santé (projet TAHINA 2005), avec un échantillon de 4 818

sujets âgés de 35 à 70 ans, a montré une prévalence du DT2 de 12, 29 % (Abdelkebir, 2014). Toutes ces études ne montrent pas de différence selon le sexe, mais une relation croissante avec l'âge (Abdelkebir, 2014).

Grâce aux projections faites par la FID dans sa 3ème édition de «Diabètes Atlas» (2006) et sur la base des résultats publiés, une estimation sur la population algérienne âgée de 20 à 75 ans, estimée à 20 346 000 individus en 2007, donne une prévalence du diabète de 7,3% sur le plan national (Malek, 2008).

Les données existantes sur le diabète de type 2 en Algérie restent parcellaires, sousestimées et ne répondent pas aux critères de l'OMS. L'ampleur des complications dégénératives cardio-vasculaires, souvent associées aux autres facteurs de risques (obésité, hypertension artérielle, hyperlipidémie) et le caractère asymptomatique du diabète de type 2 (diagnostiqué en moyenne avec un retard de 7 ans et demi), sont autant d'arguments pour nous inciter d'avantage à dépister cette affection (Malek et al., 2001).

I.3 Etiologie et immunopathologie du diabète de type 2

Le développement d'un diabète de type 2 est associé à de fortes prédispositions génétiques combiné à des facteurs environnementaux favorisants.

I.3.1 Facteurs génétique

Le mode de transmission de la maladie reste encore mal connu, le diabète de type 2 est probablement une affection polygénique, c'est-à-dire déterminé par l'interaction d'anomalies de plusieurs gènes, aboutissant à une altération de la production et ou de l'action de l'insuline (Slama, 2000). La concordance s'élève à 90 %. Le risque de devenir soi-même diabétique, si l'un des parents est diabétique de type 2, est d'environ 40 %. Cette fréquence varie au sein de différents groupes ethniques vivant dans un environnement socio- géographique identique (Buysschaert, 2011).

Les régions du génome associées au DT2 varient en effet selon les populations étudiées, ce qui souligne le caractère hétérogène de la maladie et sa nature polygénique. Le DT2 pourrait être lié à l'association de mutations ou de polymorphismes de gènes « mineurs», comme le suggèrent les modèles de souris transgéniques. Les gènes incriminés sont nombreux (Substrat 1 du récepteur de l'insuline (IRS-1), Glycogène-synthase musculaire (GSY1), Protéine RAS (RAD), Protéine de liaison 2 des acides gras libres (FABP2), Protéine phosphatase 1(PP1G), Récepteur b3 adrénergique, PPARc, AMP1 (adiponectine), …) (Guillausseau et Laloi-Michelin, 2003).

La part du déterminisme génétique dans le diabète de type 2 est très importante puisque l'on

estime que le risque de développer la maladie est de 30% avec un parent atteint de diabète de type 2 et de 70% si les deux parents le sont. Le taux de concordance entre jumeaux monozygotes est de près de 90%. Cependant, au regard de l'importante prévalence du diabète de type 2 dans la population générale, il est probable que les gènes de susceptibilité soient très nombreux, très répandus et de faible pénétrance, ce qui les rend difficile à identifier. Ainsi de nombreux gènes ont été analysés notamment ceux impliqués dans la régulation de la sécrétion de l'insuline ou de son action mais les variations interindividuelles et inter-ethniques limitent les conclusions (Monnier, 2010) (Féry et Paquot, 2005).

Cependant, en dehors du cas particulier du MODY, ces gènes ne sont pas encore identifiés avec exactitude, bien que certains d'entre eux aient fait l'objet de recherche approfondie (Mouraux et Dorchy, 2005).

I.3.2 Facteurs de risque liés à l'environnement et au comportement de type2

I.3.2.1 Sédentarité

L'urbanisation, la mécanisation du travail ainsi que celle des transports et la nature des loisirs conduisent à une sédentarité croissante. La réduction de l'activité physique est responsable d'une diminution du captage du glucose par les muscles et du renforcement du phénomène de l'insulino résistance. Associée à la disparition des défenses de thermorégulation (Guillausseau et Laloi-Michelin, 2003), Cette situation réalise un environnement bien éloigné de celui des campagnards chez qui le mode de vie repose sur l'effort physique. Il en résulte que la prévalence du DT2 est plus élevée chez les habitants des zones urbaines par rapport à ceux des zones rurales (Buysschaert, 2011) (Knowler et al., 2002).

La sédentarité constitue un facteur de risque, elle est plus en plus présente dans les sociétés industrialisées, des études récentes montrent que l'exercice continu entraîne l'amélioration de l'équilibre glycémique et donc présente un effet protecteur (Atallah, 2007).

I.3.2.2 Obésité

La majorité des patients DT2 sont obèses, or, l'obésité chronique induit une résistance accrue à l'insuline qui peut évoluer en diabète. On a pu aussi montrer que l'obésité et la conséquence de la résistance à l'insuline. L'insuline est en effet une hormone déclenchant le stockage des graisses et un excès d'insuline se traduit par une prise de poids. Il a été montré aux USA et en Europe une corrélation franche entre surcharge pondérale et diabète (Astrup, 2005).

Outre l'obésité dans son ensemble, nommée comme facteur de risque important, c'est l'obésité androïde (distribution abdominale des graisses) qui prédispose le plus au développement du DT2. Cette obésité androïde est reflétée par une augmentation du rapport tour de taille/tour de hanche qui, normalement, doit être inférieur à 80 chez la femme et à 94

chez l'homme. On constate aussi que le taux de personnes diabétiques est inversement proportionnel au niveau socio-économique de la population. Un dernier facteur influençant la survenue de diabète cité est l'hypotrophie fœtale. En effet deux études ont montré que la masse des cellules Bêta se développe de la douzième semaine de grossesse au cinquième mois après la naissance (Lapillonne, 2011).

Mécanismes impliqués dans la pathogénèse de l'obésité résident dans l'installation de l'insulino résistance (Kahn et Flier, 2000) (Shulman, 2000) (Kahn, 1994). Favorisé par les sécrétions des adipocytes viscéraux: cytokines pro-inflammatoires (TNF-a, IL-6, IL-1β), résistine, acides gras libres, augmentation de la production de leptine et diminution de la sécrétion d'adiponectine (Gunawardana, 2014). L'infiltration du tissu adipeux avec macrophages pourrait être la raison de l'évolution de son état sécrétoire (Bãcanu et al., 2014) (Martinerie et al., 2014) (Langenberg et al., 2014). Les acides gras libres diminuent le captage musculaire du glucose et augmentent sa production par le foie (Guillausseau et Laloi- Michelin, 2003) (Gunawardana, 2014).

I.3.2.3 Nutrition

La qualité de la composition du régime alimentaire, notamment l'alimentation riche en acides gras et pauvre en fibres double le risque de diabète (Guerin, 2014). Un apport alimentaire excessif en chlorure de sodium a aussi été incriminé dans la genèse du diabète mais cette constatation reste à être prouvée (Steyn et al., 2004). Au cours de la vie fœtale une dénutrition protéino-calorique (alimentation déséquilibrée) aurait pour certains auteurs un effet diabétogène (Atallah, 2007).

I.3.2.4 Tabac

Au cours des dix dernières années, plusieurs études ont démontré que la cigarette pouvait réduire considérablement la sensibilité à l'insuline, tant chez les personnes atteintes de diabète de type 2 que chez celles non diabétiques. Il interviendrait dans la genèse de l'insulino résistance selon deux mécanismes. Tout d'abord par l'intermédiaire des catécholamines dont il stimule la sécrétion d'insuline. La nicotine, par activation d'un récepteur situé à la surface des cellules lipolytiques, stimule la lipolyse entrainant une augmentation du taux d'acides gras libres dans le sang ce qui a un effet négatif sur l'insulinosensibilité et même sur l'insulino sécretion. Des données scientifiques ont fait leur apparition suggérant un lien entre le tabagisme et le développement du diabète de type 2 (Ko et Cockram, 2005).

L'exposition à la fumée secondaire est courante dans de nombreux pays, mais l'ampleur du problème dans le monde entier est maldécris. Beaucoup d'études ont signalé une association positive entre le tabagisme actif ou passif et le diabète de type 2. Suite à la propagation des

habitudes de fumer, le taux de diabète ne cesse d'augmenter chez les adultes qu'il s'agit d'hommes ou de femmes (Wipfli et Samet, 2009).

Les gros fumeurs (plus d'une boite de cigarettes par jour) sont plus prédisposés à contracter la maladie dans les deux à trois ans qui succède à l'arrêt du tabac (Hur et al., 2007) (Yeh et al., 2010).

La prise de poids après arrêt, les effets directs des composés nicotiniques et les fumées sont tous incriminés dans l'atteinte au fonctionnement des cellules bêta. L'association de la cigarette à la pancréatite chronique et au cancer du pancréas est déjà évoquée (Talamini et al., 1999) .

La réduction de la sensibilité à l'insuline due à l'augmentation des marqueurs inflammatoires suite aux bronchites et aux infections pulmonaires est aussi prouvée (Timón et al., 2014).

I.4 Relation diabète de type 2 et stress oxydant

Le stress oxydatif correspond globalement à un déséquilibre entre la production cellulaire de radicaux libres, d'espèces réactives de l'oxygène (ROS: Reactive Oxygen Species) et les défenses antioxydantes de l'organisme (Haleng et al., 2007).Un état de stress oxydant existe lorsqu'au moins une des trois conditions suivantes est présente :

- Excès des espèces réactives d'O2, N2 ou Cl2.
- Défenses insuffisantes (endogènes et exogènes).
- Mécanismes de réparation insuffisants.

Le stress oxydant n'est pas une maladie mais un mécanisme physiopathologique. Un excès d'espèces réactives mal maîtrisé favorisera une maladie ou un vieillissement accéléré. Le rôle pathogène des radicaux libres sur les cellules β a souvent été évoqué car ces cellules ont des défenses limitées face au stress oxydant (Rigalleau et al., 2007).

En effet les espèces réactives de l'oxygène perturbe la sécrétion de l'insuline stimulée par le glucose par la diminution du rapport ATP/ADP intracytosolique, par l'hyperpolarisation anormale de la membrane mitochondriale et une surexpression du complexe de la chaine respiratoire ce qui conduit à l'apoptose des cellules β et pourrait expliquer la réduction de la masse des cellules β observée dans le DT2 (Guillausseau et al., 2008).

Selon certains auteurs (Bonnefont-Rousselot et al., 2004) ces radicaux libres pourraient être aussi à l'origine du diabète de type 1. Les résultats des différentes études et essais cliniques visant à déterminer les effets du sélénium sur le diabète divergent. Dans l'étude prospective EVA réalisée en France, le statut élevé de sélénium chez les hommes (entre 94 et 155 µg/L) était associé à une diminution du risque d'hyperglycémie (Akbaraly, 2010). De même, aux États-Unis, dans une récente étude prospective sur deux cohortes de sexe différent incluant

3630 femmes et 3535 hommes, le taux de sélénium dans les ongles était inversement associé au risque de diabète de type 2 (Park, 2012).

À l'opposé, deux autres grandes études transversales réalisées aux États-Unis ont montré que le sélénium était associé à une augmentation de la prévalence du diabète (Bleys et al., 2007). Les résultats de supplémentation en sélénium étaient aussi controversés. Certaines d'entre elles n'ont trouvé aucune association alors que d'autres révèlent une augmentation du risque de diabète du type 2 en relation avec l'apport en sélénium (Stranges, 2007).

L'explication de la non-concordance de tous ces résultats peut être attribuée à des différences du statut en sélénium entre les populations et par conséquent à l'activité de certaines espèces de sélénoprotéines, incluant la gluthation peroxydase1 (GPx1), iodothyroninedeiodinase type 2 (DIO2) et la Sélénoprotéine P (SelP) (Rayman, 2012).

I.4.1 Molécules pro-oxydantes et antioxydantes de la cellule β

I.4.1.1 Enzyme pro-oxydante (la NADPH oxydase

L'enzyme pro-oxydante NADPH oxydase permet la génération d'anions superoxyde par oxydation du NADPH, H+ en NADP+. Elle est exprimée dans les cellules β d'îlots de rat et in vitro sur des cellules β de hamster syrien HIT-T15 (Oliveira et al., 2003) et de souris MIN-6 (Tsubouchi et al., 2005). (Uchinozo et al., 2006) ont montré que les cellules β de rat exprimaient une NADPH oxydase de type phagocytaire (cf. Figure 05). Elles expriment les ARNm de différentes sous-unités associées à la membrane plasmique de la NADPH oxydase, Nox1, Nox2 (gp91phox), Nox4 et p22phox, et les sous unités cytosoliques Noxo1 (homologue de p47phox) et Noxa1 (homologue de p67phox).

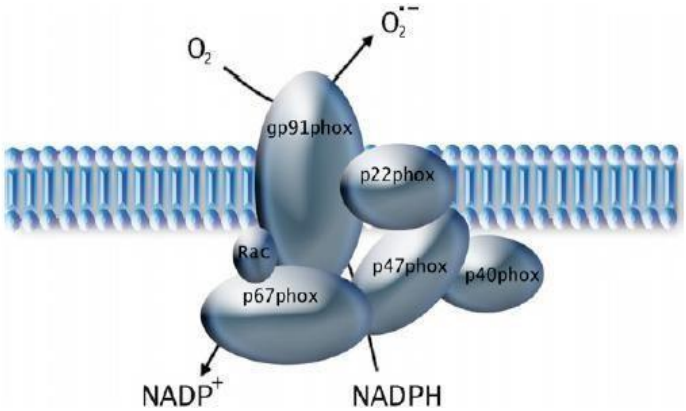

Figure 05: Représentation schématique de la NADPH de type phagocytaire sous forme active (RayandShah, 2005).

Des études ont montré une augmentation de Nox2 et Nox4 dans un modèle de rats rendus diabétiques par injection de streptozotocine STZ (Etoh *et al.*, 2003) et chez des rats et souris diabétiques de type 2 (Nakayama *et al.*, 2005). L'activation de la NADPH oxydase résulte en

une augmentation du stress oxydant.

I.4.1.2 Défenses antioxydantes des cellules β

Les cellules β pancréatiques sont très vulnérables au stress oxydant de par leur déficience en enzymes antioxydantes telles que la catalase, la superoxyde dismutase à cuivre/zinc (Cu/Zn SOD) et la glutathion peroxydase (Grankvist *et al.*, 1981; Lenzen *et al.*, 1996) qui représentent la première ligne de défense contre le stress. De plus, elles présentent une faible concentration en glutathion réduit GSH (Ammon et *al.*, 1983).

Des études ont montré qu'une sur expression de la Gpx, de la CAT et de la SOD à cuivre/zinc dans des cellules insulino-sécrétrices les protégeaient du stress oxydant (Tiedge *et al.*, 1999 ; Kralik *et al.*, 1998). *In vivo*, d'autres études ont mis en évidence l'effet protecteur d'une surexpression dela SOD à cuivre/Zinc chez une souris transgénique en augmentant la tolérance des cellules β au stress oxydant induit par l'alloxane (Kubisch *et al.*, 1994; Kubisch, 1997). De plus, l'effet diabétogène de la streptozotocine est diminué chez des souris transgéniques surexprimant dans les cellules β, la thiorédoxine, une enzyme antioxydante (Hotta *et al*., 1998).

Dans les cellules RINm5F, la surexpression de la catalase, de la Gpx et de la Cu/Zn SOD protège les cellules β contre la fragmentation de l'ADN induit par des cytokines (Lortz *et al.*, 2000).

I.4.2 Effet du stress oxydant sur l'insulino-résistance

Le récepteur de l'insuline RI appartient à la famille des récepteurs de facteurs de croissance qui possèdent une activité tyrosine kinase dans leur domaine intracellulaire. Le RI est formé de deux chaînes α extracellulaires reliées par des ponts disulfure à deux chaînes β transmembranaires. On peut considérer le récepteur comme un hétéro dimère pré-associé dans la membrane. Chaque sous-unité α possède un domaine complet de liaison de l'hormone situé de part et d'autre d'une séquence riche en cystéines permettant l'établissement de ponts disulfure structurant ce domaine. Cependant, une seule molécule d'insuline, en se liant avec une haute affinité sur les deux sous-unités α,va permettre d'activer complètement le récepteur. Les sites vacants ne peuvent alors être occupés qu'avec une basse affinité par une autre molécule d'insuline, du fait de l'encombrement stérique du domaine de liaison par la première molécule et ne participent pas à l'activation du récepteur (cf. Figure 06) (Mangmool et al., 2016)

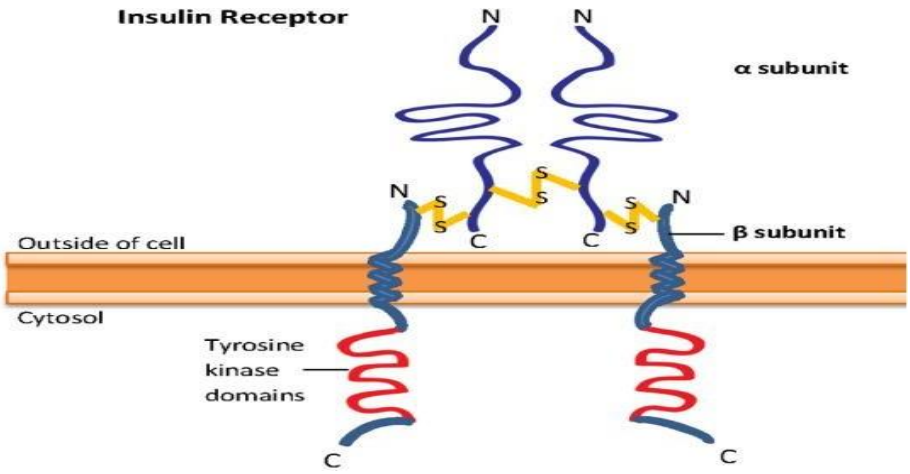

Figure 06: Structure de récepteur de l'insuline (Mangmool et al., 2016).

Lors de la liaison de l'insuline à son récepteur, une cascade d'événements intracellulaires dans les cellules est initiée. Le récepteur d'insuline en état de phosphorylation active des protéines de substrat telles que Shc et IRS. La phosphorylation de Shc favorise la formation du complexe Shc / Grb-2 / SOS qui stimule la voie MAP kinase, entraînant la mitogènèse, la croissance cellulaire et la différenciation (Mangmool et al., 2016) :

Les protéines IRS phosphorylées interagissent avec de nombreuses autres protéines de signalisation, y compris Grb-2 et PI3K et changent la fonction cellulaire. PI3K catalyse la formation de PIP3 qui, à son tour, active Akt et aPKC, et contrôle de nombreux aspects de l'action de l'insuline, y compris la synthèse des protéines, la synthèse du glycogène, et le transport de glucose par translocation de GLUT4 à la membrane plasmique. Le glucose qui pénètre dans les cellules est rapidement phosphorylé par l'hexokinase pour générer du glucose-6-phosphate (G-6-P) et est ensuiteutilisé pour le métabolisme et / ou stocké dans les cellules sous forme de glycogène ou TG (cf. Figure 07) (Strycharz et al., 2017).

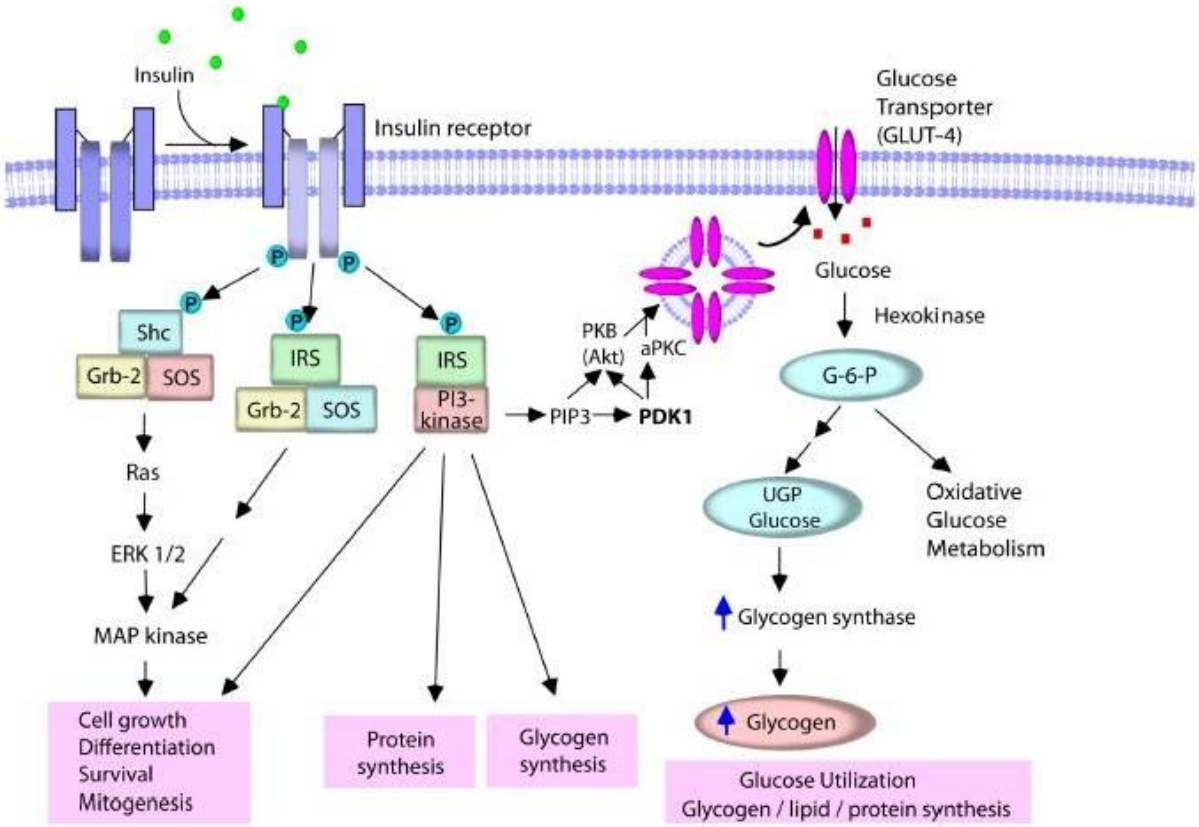

Figure 07 : La voie de signalisation de l'insuline (Mangmool et al., 2016).

La phosphorylation des résidus sérine ou thréonine semble jouer, vis-à-vis du récepteur et des protéines IRS, un rôle antagoniste de celui de la phosphorylation des seuls résidus tyrosine, intervenant probablement de façon majeure dans les mécanismes de résistance à l'insuline. Cette phosphorylation des résidus sérine ou thréonine permettrait de mettre fin à l'activation physiologique du récepteur, son exacerbation en pathologie ayant en revanche un rôle délétère induisant une résistance à l'hormone (cf. Figure 08) (Capeau, 2003).

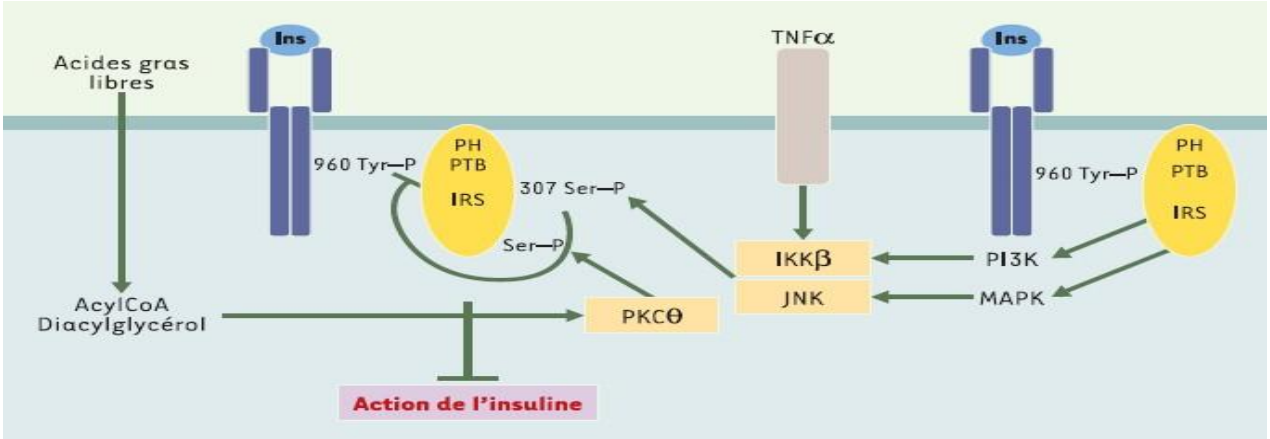

Figure 08: Inhibition du signal insuline par phosphorylation sur Ser/Thr des protéines IRS (Capeau, 2003).

Cette phosphorylation peut résulter d'un rétrocontrôle du signal insuline ou de l'action d'autres agents comme le TNFα (tumor necrosis factor α) et les acides gras libres, mais aussi de l'IL - 1β, et même l'insuline. La kinase IKK β (inhibitor of nuclear factor κB kinase), la MAP-kinase et surtout la Jun kinase (JNK) sont capables d'effectuer de telles phosphorylations. En phosphorylant la sérine 307 de l'IRS1 murin, la JNK empêche l'interaction du domaine PTB de IRS1/2 avec la tyrosine 960 phosphorylée du RI et donc la transmission du signal insulinique. Cette kinase est activée par l'insuline et par le TNFα. Par ailleurs, l'élévation des acides gras libres et l'accumulation du diacylglycérol et d'acylCoA pourraient conduire à une activation de la PKC θ et à une phosphorylation de l'IRS1 sur les résidus Ser/Thr (Capeau , 2003).

Les ROS également impliquées dans l'insulino-résistance. Des études sur des cellules en culture démontrent que les ROS inhibent la transduction du signal de l'insuline. Elles empêchent l'autophosphorylation du récepteur à l'insuline et par conséquence celle de la protéine IRS-1, conduisant à un blocage des voies en amont de la IP3K. La translocation du récepteur GLUT4 est alors inhibée (Rudich *et al.*, 1998) ne permettant pas l'entrée du glucose dans la cellule (cf. Figure 09).

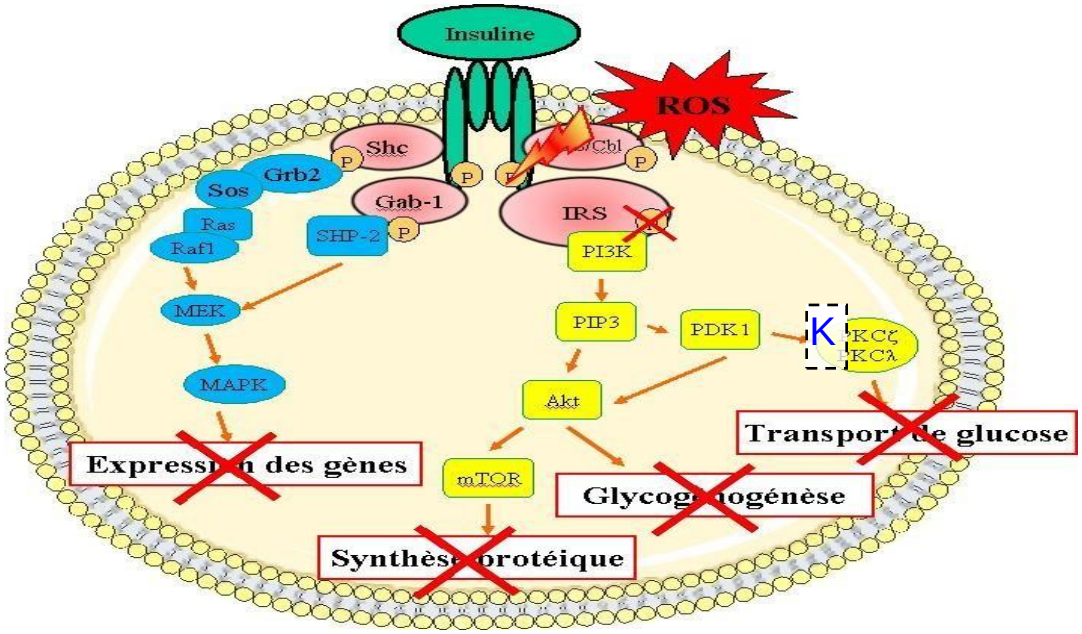

Figure 09: Mécanisme de résistance à l'insuline induite par les ROS (Source personnelle, d'après Voet & Voet, Edition de Boeck, 2005).

En effet, des concentrations de l'ordre du micromolaire en peroxyde d'hydrogène suffisent à inhiber l'autophosphorylation du récepteur à l'insuline sur des cellules en culture (Hansen *et al.*,1999) entraînant ou favorisant l'insulino-résistance.

CHAPITRE II
Plantes médicinales retenu pour l'étude de leur effet sur diabète type2

Introduction

Depuis l'antiquité, on a traité le diabète par des plantes médicinales. Le traitement traditionnel de cette maladie était centré sur le traitement de ses symptômes telles que la soif et la polyurie (Grover et al., 2002).

Des études menées dans les années 80 et 90 ont indiqué que plus de 1200 espèces végétales, soit plus de 725 genres appartenant à 183 familles, sont utilisées pour leurs propriétés hypoglycémiantes et anti-hyperglycémiantes (Marles et Farnsworth, 1995).

En effet, des travaux expérimentaux ont été réalisés afin de vérifier l'activité antidiabétique de certaines de ces plantes (Eddouks *et al.*, 2007). Ainsi que les composés actifs responsables de cette activité.

L'étude menée par Marles et Farnsworth en 1995, a montré aussi que les investigations ethnopharmacologiques ont été centrées sur la validation expérimentale des propriétés curatives, traditionnellement attribuées à ces remèdes.

Certaines de ces plantes, dont l'activité pharmacologique a été confirmée sur des modèles animaux, ont également fait l'objet de plusieurs études cliniques. Pour plusieurs plantes, les composés actifs responsables de l'activité pharmacologique ont été identifiés et isolés et les mécanismes cellulaires et moléculaires impliqués dans les effets thérapeutiques ont été partiellement ou complètement élucidés (Eddouks et al., 2007).

Actuellement, d'autres plantes et molécules actives font l'objet de plusieurs études (Sobhi, 2014).

II.1 Plantes antidiabétiques En Algérie

Plus de 75% des diabétiques de type 2 utilisent les plantes médicinales en association avec les médicaments synthétiques (Eddouks et al., 2002).Les plantes médicinales trouvent encore leurs indications thérapeutiques dans le traitement de plusieurs maladies en Algérie, y compris le diabète, mais ce traitement traditionnel n'est pas mis enplace au niveau des hôpitaux et reste limité aux patients, tradithérapeutes et herboristes (Hamza, 2011).

L'Algérie bénéficie d'un climat très diversifié, les plantes poussent en abondance dans les régions côtières, montagneuses et également sahariennes. Ces plantes constituent des remèdes naturels potentiels qui peuvent être utilisés en traitement curatif et préventif (Belouad, 1998).

De nombreuses plantes utilisées en Algérie sont réputées posséder une action antidiabétique avec un usage fréquent dans une grande partie de la population. Parmi ces plantes, certaine sont un effet déjà mis en évidence telles que:

a. Olea europea

l'olivier La feuille d'olivier est riche en triterpènes tel l'acide oléanolique, flavonoïdes, sécoiridoïdes dont l'oleuropéoside, et en acides phénoliques (Ghedira, 2008). L'utilisation de la feuille de l'olivier contre le diabète a été confirmée expérimentalement chez l'animal où l'extrait de feuilles inhibe l'hyperglycémie et le stress oxydatif chez les sujets sujets diabétiques (Fehri et al., 1994).

b. Trigonella foenum-graecum

Le fenugrec. Les composantes essentielles de l'extrait des graines du fenugrec sont les alcaloïdes, les flavonoïdes, les acides aminés et les oligo- éléments (Sobhi ,2014).

c. Artemisia herba-alba

Armoise famille des Composées, la partie utilisée est la partie aérienne (Marrif et al., 1995).

Nigella sativa : cumin noir est une plante aromatique avec ses graines noires, laco (Ahmed et al., 2013), le traitement avec diverses préparations de Nigella sativa L. entraîne systématiquement une diminution de la glycémie chez différents modèles animaux (Cihan , 2012).

d. Zygophyllum album

Connue sous le non de « Bougriba » plante saharienne endémique utilisée contre le diabète on a révélé effet positif non seulement sur l'hyperglycémie mais aussi sur les perturbations métaboliques associées et principalement sur le stress oxydant qui résulte de cet état pathologique (Boumaza ,2009).

e. Urtica dioica

L'ortie, la partie utilisée est la parie aérienne de l'ortie qui ont été utilisées après avoir été

séchées et pulvérisées (Bnouham et al., 2003).

f. Globularia alypum

la globulaire, l'administration par voie orale de l'extrait aqueuxx de feuilles de la globulaire aux rats diabétiques a montré une augmentation de la concentration plasmatique de l'insuline (Skim et al., 1999).

Cependant, un grand nombre de plantes réputées antidiabétiques n'a pas encore fait l'objet d'études expérimentales.

Famille	Nom latin	Citation %	Nom vernaculaire	Partie utilisée	Mode de préparation et voie d'administration	Goût	Posologie	Moment de consommation	Dose
Aloaceae	*Aloe ferox Miller*	3,6	el mor et sbor	gomme	infusion, *po* utilisation directe : *po* application locale (pieds) combustion, inhalation des fumées	amer	1 à 4 fois/j, 1 à 3 fois/s	à jeun avant repas après repas aléatoire	250 mL une gomme
Alliaceae	*Allium cepa* L.	0,6	Basal	bulbe plante entière	consommation en en salade après cuisson	bon piquant	1 fois/j, 3 fois/s	avant repas lors des repas	1 assiette
Apiaceae	*Ammoides verticillata* (Desf.) Briq.	0,2	Enounkha	feuille plante entière	infusion, *po*	bon	1 fois/j	à jeun	250 ml
	Carum cuminum L.	0,6	Kamoune	fruit	infusion, *po* graine, poudre, *po*	sapide bon	1 fois/j, 2 fois/s	avant repas après repas lors des repas	75 mL 250 mL
	Petroselinum crispum (Mill.) Nyman	0,4	elmaadnousse	plante entière	infusion, *po*	sapide bon	1 à 3 fois/j	après repas aléatoire	250 mL
Apocynaceae	*Nerium oleander* L.	1	Edafla	feuille plante entière	infusion, *po* application sous les aisselles	amer	1 à 3 fois/s, au lieu de l'eau	à jeun après repas	75 mL 250 mL
Asteraceae	*Artemisia absinthium* L.	1	chagret meriem	feuille plante entière	infusion, *po*	amer pas de goût	1 à 3 fois/j, 1 fois/s	à jeun avant repas après repas	75 mL 250 mL
	Artemisia herba-alba Asso	13,3	chih	plante entière	infusion, *po* macération, *po* mastication, sous la langue	amer bon	1 à 3 fois/j, 1 à 3 fois/s, au lieu de l'eau irrégulière	à jeun avant repas après repas aléatoire	75 mL 250 mL
	Cynara cardunculus L.	1,8	el khorchaf	plante entière	infusion, *po* macération, *po* consommation après cuisson	amer bon	1 à 2 fois/j, 2 fois/s, au lieu de l'eau irrégulière	à jeun après repas lors des repas aléatoire	75 mL 1 assiette
Burseraceae	*Boswellia sacra* Flueck.	8,4	Loubane	gomme	infusion, *po* macération, *po* mastication	amer	1 à 3 fois/j, 1 à 2 fois/s, au lieu de l'eau irrégulière	à jeun après repas aléatoire	75 mL 250 mL une gomme
	Commiphora myrrha Engl.	0,2	Elmorra	gomme	infusion, *po*	amer	1 à 3 fois/j, 3 fois/s, au lieu de l'eau	après repas	75 mL
Chenopodiaceae	*Spinacia oleracea* L.	0,6	asalk	plante entière	utilisation directe, *po*	bon	1 à 2 fois/j	à jeun lors des repas	250 mL assiette
Cucurbitaceae	*Citrullus colocynthis* (L.) Schrad.	1,4	Elhdadj	graine	infusion, *po* utilisation directe, *po*	amer	1 à 2 fois/j	à jeun avant repas après repas	75 mL 250 mL 1 graine
	Ecballium elaterium (L.) A.Rich.	0,2	fagous elhmir	fruit	application locale (pieds)		1 fois/j	après repas	1 fruit

Famille	Nom latin	Citation %	Nom vernaculaire	Partie utilisée	Mode de préparation et voie d'administration	Goût	Posologie	Moment de consommation	Dose
Cupressaceae	*Juniperus communis* L.	0,8	Elaraar	feuille plante entière	infusion, *po*	amer	1 à 3 fois/j, au lieu de l'eau	après repas	75 mL 250 mL
Ericaceae	*Arbutus unedo* L.	0,2	Sasnou	feuille plante entière	infusion, *po*	bon	1 fois/j	après repas	250 mL
Fabaceae	*Cassia angustifolia* Vahl.	0,2	sana makia	feuille plante entière	infusion, *po*	amer	2 fois/j	avant repas	250 mL
	Ceratonia siliqua L.	0,2	Elkharoub	fruit	infusion, *po*	amer astringent	2 fois/j	aléatoire	250 mL
	Trigonella foenum-graecum L.	3,6	Elhalba	plante entière	infusion, *po* mastication et succion	amer sapide bon	1 à 2 fois/j, 2 à 3 fois/s, au lieu de l'eau	à jeun avant repasaprès repas lors des repas	75 mL 250 mL
Gentianaceae	*Centaurium erythraea* Rafn	1	mraret lahnache	feuille plante entière	infusion, *po*	amer	2 à 3 fois/j, 2 fois/s	avant repas après repas	75 mL 250 mL
Globulariaceae	*Globularia alypum* L.	0,4	essalha,tasalfa	feuille plante entière	infusion, *po*	amer pas de goût	1 à 3 fois/j	après repas	250 mL
Iridaceae	*Crocus sativus* L.	0,2	Zâafrane	stigmate	infusion, *po*	amer	2 fois/j	après repas	75 mL
Juglandaceae	*Juglans regia* L.	1,2	Eswak	écorce	infusion, *po* macération, *po* mastication	amer astringent bon piquant	1 à 2 fois/j, 3 fois/j, 1 fois/s	après repas aléatoire	75 mL 250 mL
Lamiaceae	*Ajuga iva* (L.) Schreb.	1	Chandgoura	feuille	infusion, *po*	amer bon	1 à 4 fois/j, irrégulière	à jeun avant repas après repas	75 mL 250 mL
	Marrubium vulgare L.	7,2	mariwat, tamariwat	feuille plante entière	infusion, *po* mastication, *po* application locale (pieds)	amer	1 à 3 fois/j, 1 à 2 fois/s au lieu de l'eau irrégulière	à jeun avant repasaprès repas aléatoire	75 mL 250 mL
	Mentha piperita L.	4	Naanaa	feuille plante entière	infusion, *po*	amer sapide bon pas de goût	1 à 4 fois/j, 2 à 3 fois/s, irrégulière	à jeun avant repasaprès repas	75 mL 250 mL
	Mentha pulegium L.	0,4	Fliou	plante entière	infusion, *po*	amer sapide	1 fois/j, 1 fois/s	à jeun après repas	75 mL 250 mL
	Origanum vulgare L.	4,6	Zâatar	feuille plante entière	infusion, *po* macération, *po*	amer sapide bon	1 à 4 fois/j, 1 à 2 fois/s, irrégulière	à jeun après repas après repas	75 mL 250 mL
	Rosmarinus officinalis L.	3,8	Iklil	feuille plante entière	infusion, *po*	amer bon pas de goût	1 à 4 fois/j, 3 fois/s, au lieu de l'eau	à jeun avant repasaprès repas aléatoire	75 mL 250 mL

Famille	Nom latin	Citation %	Nom vernaculaire	Partie utilisée	Mode de préparation et voie d'administration	Goût	Posologie	Moment de consommation	Dose
	Salvia officinalis L.	0,2	Salmia	feuille plante entière	infusion, *po*	pas de goût particulier	au lieu de l'eau	après repas	250 mL
	Thymus vulgaris L.	2	Zâaitra	feuille tige	infusion, *po*	amer bon	1 à 3 fois/j, 1 à 3 fois/s	avant repas après repas aléatoire	75 mL 250 mL
Lauraceae	*Cinnamomum zeylanicum* Blume	0,2	Elkorfa	écorce	infusion, *po*	pas de goût	1 fois/j	après repas	250 mL
	Laurus nobilis L.	0,4	Erand	feuille	infusion, *po*	amer sapide	2 à 3 fois/j	après repas aléatoire	75 mL
Lythraceae	*Lawsonia inermis* L	3,6	Elhana	plante entière	infusion, *po* mastication et succion	amer sapide bon	1 à 2 fois/j, 2 à 3 fois/s, au lieu de l'eau	à jeun avant repasaprès repas lors des repas	75 mL 250 mL
	Punica granatum L.	0,4	kchour eroumane	péricarpe du fruit	infusion, *po* macération, *po*	amer astringent	1 fois/j	à jeun après repas	75 mL 250 mL
Myrtaceae	*Myrtus communis* L.	5,4	Rehan	feuille plante entière	infusion, *po*	amer astringent	1 à 4 fois/j, 1 fois/s, au lieu de l'eau	à jeun avant repasaprès repas lors des repas aléatoire	75 mL 250 mL
Oleaceae	*Olea europaea* L.	1,2	riche ezzitoune	feuille	infusion, *po*	amer astringent bon pas de goût	1 à 2 fois/j, 1 fois/s, au lieu de l'eau	à jeun avant repasaprès repas	75 mL 250 mL
Pinaceae	*Pinus halepensis* Mill.	1	alk esnoubar	écorce	infusion, *po* mastication	amer	1 à 2 fois/j	avant repas après repas aléatoire	75 mL 250 mL
Poaceae	*Avena sativa* L.	0,2	Elkhortal	partie aérienne	consommation après cuisson	amer	1 fois/j	avant repas	75 mL
	Hordeum vulgare L.	0,6	Chaiir	graine	infusion, *po* consommation après cuisson	bon	1 fois/j	après repas lors des repas aléatoire	250 mL
	Macrochloa tenacissima (Loefl.exl.) Kunth	0,2	Elhalfa	feuille plante entière	infusion, *po*	sapide	1 à 3 fois/j	aléatoire	250 mL
Ranunculaceae	*Nigella sativa* L.	0,6 0,2	sinoudj zit el haba saouda	graine	infusion, *po* macération, *po* huile, *po*	amer sapide amer piquant	1 à 3 fois/j 1 fois/j	à jeun après repasà jeun	75ml c à café
Rhamnaceae	*Zizyphus sps*	0,2	arouk essadra	racine	infusion, *po*	amer	2 fois/s	après repas	250 ml
Rosaceae	*Mespilus germanica* L.	0,4	riche ezzaarour	feuille	infusion, *po*	sapide	1 fois/j	après repas	250 mL
	Prunus amygdalus (L.) Batsch var. amara	1,6	elaouz elmor	graine	utilisation directe, *po*	amer	1 à 2 fois/j, 1 à 2 fois/s	à jeun après repas	3 à 4 graines

Famille	Nom latin	Citation %	Nom vernaculaire	Partie utilisée	Mode de préparation et voie d'administration	Goût	Posologie	Moment de consommation	Dose
	Prunus cerasur (L.) L.	0,2	hab elmoulouk	pédoncule	infusion, *po*	sapide	2 fois/j, 1 fois/s	après repas	75 mL
	Rubus idaeus L.	1	riche ettout	feuille	infusion, *po*	amer pas de goût	1 à 2 fois/j, au lieu de l'eau	à jeun après repas	75 mL 250 mL
	Rubus ulmifoluis Schott		Toute Allique	feuille	Décoction	Pas de gout	1 à 2 fois/j, au lieu de l'eau	à jeun après repas	20 feuilles
Rutaceae	*Ruta montana L.*	0,6	Elfijel	feuille plante entière	infusion, *po*	amer	1 à 2 fois/j	à jeun après repas	250 mL
Theaceae	*Camellia sinensis Kuntze*	4 0,4	tai lakhdar tai lahmar	feuille	thé vert, infusion, *po* thé noir, infusion, *po*	amer astringent bon bon	1 à 2 fois/j, 2 à 3 fois/s 1 à 3 fois/s	avant repas après repas aléatoire après repas aléatoire	75 mL 250 mL
Thymelaceae	*Thymelaea microphylla L.*	0,8	Elmatnan	feuille plante entière	infusion, *po*	amer	1 fois/j, 1 à 2 fois/s	à jeun après repas	75 mL 250 mL
Tiliaceae	*Corchorus olitorius L.*	0,2	elmouloukhia	feuille plante entière	consommation en salade	pas de goût	1 fois/j	après repas	250 mL assiette
Urticaceae	*Urtica urens L.*	0,2	el harayague	feuille plante entière	infusion, *po*	bon	1 fois/s	avant repas	250 mL
Zygophyllaceae	*Zygophyllum album L.*	1,8	eloga	feuille plante entière	infusion, *po* mastication	amer sapide bon	1 à 2 fois/j, 3 fois/s	à jeun avant repas après repas	75 mL 250 mL

Tableau 03: Plantes citées par les sujets diabétiques en Algérie (Hamza, 2011)

II.2 Mécanismes d'action des plantes antidiabétiques

Plusieurs modes d'action des plantes médicinales ayant un effet sur le diabète ont été rapportés suit à des études pharmacologiques. Les plantes médicinales ou leurs extraits utilisés dans le traitement du diabète peuvent agir par différents mécanismes :

- Stimulation de la sécrétion d'insuline à partir des cellules β et /ou induisent également leur régénération.
- Mimant l'action de l'insuline (Guendouz et Hamza Zerigat, 2018).
- Action par l'apport d'éléments nécessaires (Cu++, Mg++, Ca++) au fonctionnement des cellules β (Esmaeili et al., 2004; Mukherjee et al., 2006).
- Action sur les enzymes hépatiques en stimulant la glycogénogenèse et /ou l'inhibition de la glycogénolyse (El-Abhar et al., 2014).
- Modification de l'expression des gènes et l'activité d'hormones impliquées dans la digestion (Rios et al., 2015).
- Inhibition de la réabsorption rénale du glucose (Guendouz et Hamza Zerigat, 2018)
- Inhibition des enzymes tels que β-galactosidase, de α-glucosidase et de α amylase (Guendouz et Hamza Zerigat, 2018).
- Prévention du stress oxydatif, qui peut être impliqué dans le dysfonctionnement des cellules β (Guendouz etHamza Zerigat, 2018).
- Diminution des activités du cortisol (Jarald et al., 2008 ; Kashikar et al., 2011 ; Singh et al., 2012).

II.3 Métabolites secondaires des plantes antidiabétiques

La pharmacie utilise encore une forte proportion de médicaments d'origine végétale et la recherche trouve chez les plantes des molécules actives nouvelles ou des matières premières pour la hémisynthèse de composés actifs. L'isolement de principes actifs a contribué à l'amélioration des connaissances des structures, ce qui a permis de passer progressivement d'une phytothérapie traditionnelle souvent empirique, acceptée parfois avec une certaine méfiance à une thérapie moderne, acceptée scientifiquement (Azzi, 2013).

Il existe plus de 200 000 métabolites secondaires, dont plus de 200 présentent une activité hypoglycémiante (Marles et Farnsworth, 1995; Lamba et al., 2000 ; Sanjay, 2002).

Ainsi un certains nombres de groupes, tels que des alcaloïdes, des saponines, des flavonoïdes des glycosides, des polysaccharides, des peptidoglycanes, acides aminés et d'autres obtenus à partir de diverses sources végétales, semblent avoir des effets, d'une importance particulière, dans le traitement du diabète (Mukherjee et al., 2006; Soumyanath, 2006).

II.3.1 Polyphénols

Les polyphénols sont des métabolites secondaires présents chez toutes les plantes vasculaires (Lebham, 2005), et regroupent une grande variété de composants comprenant entre autres les flavonoïdes, les anthocyanes et les tanins. Près de 8000 composés naturels appartiennent à cette famille; ils ont en commun un noyau benzénique portant au moins un groupement hydroxyle. Selon le nombre d'unités phénoliques présents, on les classe en composés phénoliques simples et polyphénols. Par abus, on les appelle indifféremment composés phénoliques ou polyphénols et comprennent essentiellement les phénols simples, les acides phénoliques, les stilbènes, les flavonoïdes, les tanins hydrolysables et condensés, les coumarines, les lignanes les lignines et les xanthones (cf. Figure 10) (Stalikas, 2007 ; Kone, 2008).

Les polyphénols sont apportés par une alimentation d'origine végétale et présentent une grande diversité structurale. L'effet protecteur des polyphénols a été attribué à leurs propriétés antioxydantes, susceptibles de prévenir des dommages oxydatifs moléculaires et cellulaires induisant diverses pathologies (cancers, diabète de type 2, maladies cardiovasculaires et neurodégénératives) (Amiot, 2009).

Les polyphénols pourraient contribuer aux propriétés antidiabétiques. Diverses études expérimentales ontmisen évidencedes activités hypoglycémiantes de certains polyphénols (Gray et Flatt, 1997).

Les polyphénols possèdent des propriétés biologiques diverses : antioxydant, antidiabétique, anticancéreux, anti-inflammatoire, cardioprotecteur, ostéoprotecteur, neuroprotecteur, antihypertenseur, anti-âge, antiseptique, protecteur cérébrovasculaire, réducteur de cholestérol, hépatoprotecteur, antifongique, antibactérien (Ganesan et al., 2017). Certains polyphénols pourraient avoir une action sur la glycémie en modifiant la réabsorption rénale du glucose, comme cela avait déjà été mis en évidence avec la phloridzine (Dimitrakoudiset et al., 1992).

Quant aux études épidémiologiques, une seule «cohorte» réalisée sur plus de 10000 hollandais (hommes et femmes) a suggéré une association entre la consommation de polyphénols et un moin de risque de diabète de type2 (Bruneton, 1999).

Une hypothèse explique les effets hypoglycémiants des polyphénols par une augmentation de la captation du glucose par les tissus périphériques. Cet effet est démontré par une augmentation de l'absorption du glucose par des cellules musculaires, ou des adipocytes de rats ou de souris mises en culture en présence d'acide caféique ou d'épigallocatéchine gallate (Hamza, 2011).

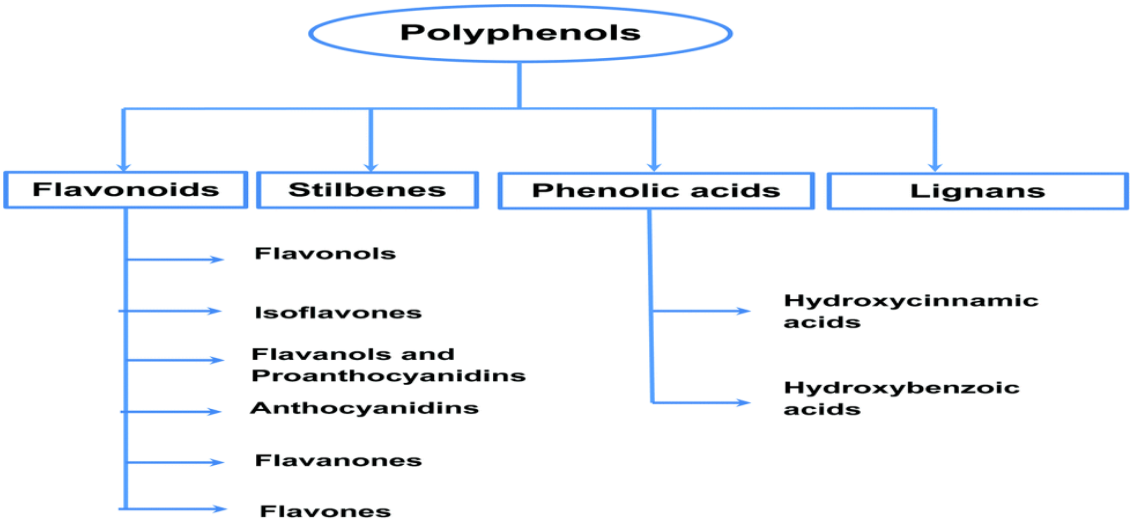

Figure 10: Les principales classes des polyphénols **(Oliver et *al.*, 2016).**

II.3.1.1 flavonoïdes

Le terme flavonoïde rassemble une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols. Leur fonction principale semble être la coloration des fleurs, des fruits et parfois de feuilles (au-delà de la chlorophylle, des caroténoïdes et des bétaïnes), assurant ainsi la protection des tissus contre les agressions des ultraviolets (Bruneton, 1999 ; Rajnerayanama et al., 2001). Les flavonoïdes sont des dérivés du noyau flavone ou 2-phenyl chromone portant des fonctions phénols libres, éthers ou glycosides. Le noyau flavone est lui même un dérivé du noyau flavane de base (Bruneton, 1999).

Ils ont un important champ d'action et possèdent de nombreuses vertus médicinales. Antioxydantes, ils sont particulièrement actifs dans le maintien de bonne circulation certains flavonoïdes ont aussi des propriétés anti-inflammatoire (Reynaud et al., 2005). Les flavonoïdes peuvent empêcher le diabète ou du moins le réduire en inhibant l'enzyme aldose réductase. La myricitine possède un effet hypoglycémian chez les animaux diabétiques (Das et 1994 ; Boussaid et al., 2014). Les flavonoïdes peuvent agir de différentes façons dans les processus de régulation du stress oxydant: par capture directe des espèces ROS, par chélatation de métaux de transition et par inhibition de certaines enzymes responsables de la production des ROS (Formica et Regelson, 1995). Certains flavonoïdes tels que: la quercétine, la naringénine, le chrysine augmentent significativement la sécrétion d'insuline à partir des îlots de Langerhans isolés de rats. L'administ ration intrapéritonéale de la quercétine pour des rats normaux et rendus diabétiques par las treptozotocine, induit une réduction des taux de glucose sanguin des rats diabétiques, ceux des rats normaux ne sont pas touchés par cette action.

La quercétine diminue également les taux de glucose chez des rats diabétiques en réponse à un test de tolérance au glucose. Elle réduit significativement le cholestérol et les triglycérides

plasmatiques, augmente l'activité des glucokinases hépatiques probablement par l'augmentation de la sécrétion d'insuline, à partir des îlots pancréatiques des rats diabétiques (Kimet et al., 2004).

II.3.1.2 Tanins

Les tanins sont des substances constituées par un mélange de glucosides et d'acide gallique, on les rencontre, en petite quantité, dans de très nombreuses plantes (Ticli, 1997). Ce sont des substances phénoliques assez complexes, dotes de propriétés tannantes, Elles sont également astringentes, cytostatiques et bactéricides car elles interférent également avec les protéines du protoplasme (Verdrager, 1978; Boussaid et al., 2014). On distingue habituellement chez les végétaux supérieurs deux groupes basés sur des différences structurales: les tanins hydrolysables et les tanins non hydrolysables, ou tanins condensés.

- **Tanins hydrolysables**

Ce sont des esters de glucose, c'est à dire un noyau central de glucose sur lequel se fixent, au moyen d'une liaison ester, des acides: l'acide gallique pour le groupe des gallo tanins, l'acide ellagique pour le groupe des ellagitanins (Ghestem et al., 2001). Comme leur nom l'indique, ces substances s'hydrolysent facilement en milieux acides et alcalins ou sous l'action d'enzymes (telle que latannase), pour donnerdes glucides et des acides phénoliques (Leinmüller et al., 1991; Boussaid et al., 2014). Quelques auteursdéfinissent deux classes supplémentaires de tanins hydrolysables: les taragotanins (l'acidegallique et l'acide quinique comme noyau) et les caffétanins (intégrant l'acide caféique et l'acidequinique) (Boussaid et al., 2014).

- **Tanins condensés**

De structure plus complexe, ils sont de loin les tanins les plus largement rencontrés dans les plantes vasculaires, des dicotylédones aux plantes plus primitives, fougères et gymnospermes (Okamura, 1993; Boussaidet al., 2014). Ils exerceraient un effet anti hyperglycémiant possiblement dû à l'activité insulinomimétique d'une part et d'autre part en stimulant l'utilisation du glucose au niveau des cellules insulinosensitives in vitro (Pinent, 2004).

II.3.2 Terpènes

Les triterpènes et les glucosides stéroïdiques sont des composants bioactifs présents naturellement dans plusieurs plantes ayant une activité hypoglycémiante connue (Rao et al., 1999; Hamza, 2011; Boussaid et al., 2014 ;Guendouz et Hamza Zerigat, 2018). Le charantine isolé à partir de Momordica charantia a un effet« insuline-like » responsable de l'activité hypoglycémiant en otamment dans le diabète de type2 invitro(Hamza, 2011; Boussaid et al., 2014 ;Guendouz et Hamza Zerigat, 2018).L'andrographolide (diterpenoïde lactone) isolé à partir d'Andrographis paniculata exerce invitroégalement une activité hypoglycémiante significative (Hou et al al., 2003 Hamza, 2011; Boussaid et al., .2014 ; Guendouz et Hamza Zerigat, 2018).

II.3.3 Alcaloïdes

Ce sont des composés organiques azotés, qui doivent leur activité pharmacologique au groupe aminé qu'ils contiennent en permanence (Koth, 2007). Plusieurs alcaloïdes isolés à partir de plantes médicinales ont montré une action hypoglycémiante sur différents modèles d'animaux, la magnoflorine, alcaloïde extrait de Tinospora cordifolia, possède une activité hypoglycémiante in vivo et in vitro. Le mode d'action est dû à l'inhibition de l'α-glucosidase (Patel et al., 2012). D'autres alcaloïdes tels que: la catharanthine, la vindoline et la vindolinine isolés à partir de Catharanthus roseus diminuent également le taux de glucose sanguin chez des rats normaux rendus diabétiques par la streptozotocine (Chattopadhyay, 1999; Hamza, 2011). Il a été démontré que les composés suivants: l'harmane, le norharmane, le pinoline et les beta-carbolines sont connus pour avoir une action insulinosécrétrice par l'activation de l'imidazoline I3, site de fixation au niveau des cellules ß pancréatiques. Ces composés augmentent la sécrétion d'insuline de deux à trois fois à partir des îlots de Langerhans isolés justifiant leur activité hypoglycémiante (Guendouz et Hamza Zerigat, 2018).

II.3.4 Polysaccharides

On les trouve dans toutes les plantes. Du point de vue phytothérapie, les plus importants sont les mucilages et les gommes qui absorbent de grande quantités d'eau, produisant une masse gélatineuse qui peut être utilisée pour protéger les tissus en flammés et calmer la douleur (Nowitz et Bottet, 2000). Un effet hypoglycémiant a été observé avec le fenugrec et le tamarin, éventuellement par ralentissement de la résorption des sucres induit par les mucilages (Teuscher et al., 2005). Plusieurs plantes hypoglycémiantes indiennes contiennent des polysaccharides telsque: Aloes vera, Ocimum sanctum, Alpinia galanga. Un polysaccharide «protein-bound» isolé à partir du potiron (Cucurbita maxima) possède une activité hypoglycémiante à différentes doses (500 et 1000 mg/kg de poids) chez des rats rendus diabétiques par l'alloxane.

Les résultats des études indiquent que ce polysaccharide augmente l'insulinémie, en réduisant la glycémie et en améliorant la tolérance au glucose (Quanhong et al., 2005).

II.3.5 Polypeptides et acides aminés

Ces substances exercent un excellent effet dans le traitement du diabète. Parmi ces composants, on peut donner ces exemples incluants: p-insuline «bitter polypeptide gourd» isolé

à partir de Momordica charantia;ginseng glycopeptides, αméthylène- cyclopropylglycine isolé à partir de Litchi chinensis; S-allyl cysteine sulfoxide isolé à partir d'Allium sativum.

Cette liste des composants cités ci- dessus n'est pas exhaustive, les plantes médicinales renferment des fibres, des vitamines, des minéraux et autres acides qui peuvent également avoir Une activité hypoglycémiante (Li et al., 2004).

II.4. Etude sur plante sélectionnée

II.4.1 Genre Rubus

Rubus, Rosaceae, connus communément sous le nom: des Rubus ulmifoliuss, Le genre Rubus peut se découper en 3 sous-genres:

-Les framboises avec leurs fruits rouges, recouverts de nombreux poils courts, c'est le «sous-genre idaeobatus».

-Le petit Rubus qui donne des fruits rouges vifs avec peu de drupéoles (petites boules qui forment le fruit) toutes glabres qui forme à lui seul le «sous-genre Cylactis».

-Sous-genre des Rubus ulmifoliuss qui donnent comme fruit ce que nous appelons les mûres et qui se nomme «sous-genre Rubus» (Folta et al., 2009 ; Hummer, 2010).

II.4.1 Rubus Ulmifolius Schott

Les Rubus ulmifoliuss sont des sous-arbrisseaux vivaces, plus ou moins épineux, dont la souche ligneuse produit de longs rejets d'une longueur moyenne de 3 m, appelés turions ou sarments, à section anguleuse. Ces rejets sont bisannuels et sont munis d'aiguillons droits ou crochus plus ou moins nombreux. A la fin de la première année, les turions se recourbent, touchent terre à leur extrémité et s'enracinent (wehrlen, 1985).

II.4.2.1 Appellations et synonyme

- **Etymologie**

Rubus ulmifolius Schott, un nom latin qui signifie Rubus ulmifolius à feuille d'orme (Dumesnil, 1821).

Rubus: Rubus ulmifolius Ulmifolius : feuille d'orme.

- **Nom scientifique:** Rubus ulmifolius Schott.
- **Ancienne appellation:** Rubus fructicosus L (Halimi, 1997 ; Hammer et al., 2004 ; Benhamza, 2008).
- **Synonymes:** (Evans et al., 2007): Plusieurs synonymes sont attribués à la plante Rubus rusticanus, Rubus ulmifolius var. Inermis, Rubus discolor, Rubus ulmifolius var. Ulmifolius, Rubus ulmifolius var. Anoplothyrsus.
- **Noms vernaculaires:** (Halimi, 1997 ; Babaaissa, 2000):
- **Nom vernaculaire algérien:** Allaique (Beloued, 2005;Halimi, 2004).
- **Nom français:** Rubus ulmifolius à feuilles d'ormes (Lavoisier, 2003).
- **Synonymes:** Murier sauvage, Murier de shaies (Messaoudi, 2008 ; Paul, 2007 ; Equipe des enseignants, 2007).
- **Nom anglais:** Elmleaf black berry (Annonyme, 2002; Anonyme, 2006).
- **Nom amazigh:** Tassenante (Ait youcef, 2006).

II.4.2.2 Systématique (Boukef, 1986) :

Règne	***Plantae***
Sousrègne	*Tracheobionta*
Embranchement	Spermatophyta
Sous embranchement	Angiospermatophyta
Classe	*Magnoliopsida, dicotylédones*
Sousclasse	*Rosidae*
Ordre	*Rosales*
Famille	*Rosaceae*
Genre	*Rubus*
Espèce	*Rubus ulmifolius Schott*

Le Rubus fruticosus est un Chaméphyte herbacé à base ligneuse : les pousses sont végétatives durant la première année et florifères durant la seconde année. Le renouvellement des sarments s'effectue par des pousses basales. Les uns, arqués, sont issus de bourgeons inférieurs, fixés sur la basedes sarments en place, les autres, plus vigoureux, sont issus directement de bourgeons fixés sur la souche, donnant l'illusion de pseudo-drageons(cf. Figure 11) (Montegut, 1982).

Généralement, en fin de seconde année, les rameaux meurent et se dessèchent **(**Richardson, 1980) citent le cas de tiges ayant vécu 3 ans). Le rameau arqué qui les a portés meurt et disparait presque totalement à son tour. Il ne conserve vivant que la base d'où étaient parties les ramifications de l'année, porteuses des boutons floraux pour l'année suivante, et ainsi de suite. Les sarments arqués de deux ans qui portent les inflorescences peuvent se marcotter en entrant en contact avec le sol.

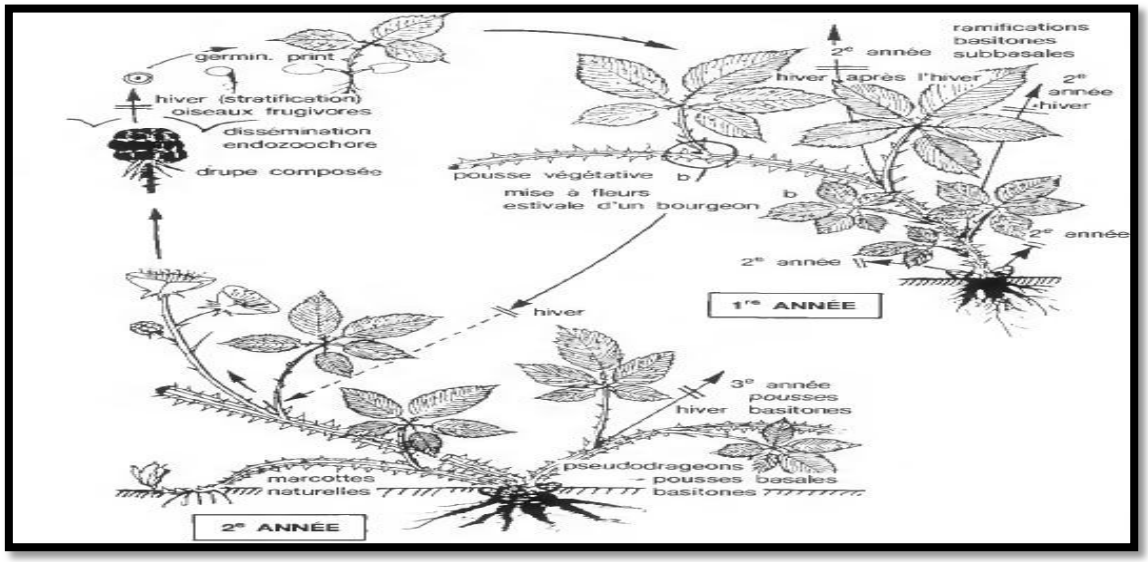

Figure 11: Cycle de développement de Rubus fruticosus (D'après Montegut, 1982)

II.4.2.3 Discription morphologique

- **Partie aérienne**

C'est un arbrisseau épineux vivace pouvant atteindre 3m de longueur. La tige est longue, rougeâtre et anguleuse pourvue d'aiguillons robustes à base dilaté, plus ou moins dense. Elle est garnie de nombreuses glandes pédicellées (Boukef, 1986;Lucienne, 2010 ; Messaoudi, 2008).

- **Feuilles**

Elles sont ovales et dentées, avec une nervure médiane couverte de fines épines (Messaoudi, 2008). Les feuilles convexes, vertes et glabrescentes en dessus, blanches-tomenteuses en dessous, 3 à 5 folioles elliptique peu profondément dentées, nettement pétiolulées sont alternes à 3 ou 5 folioles. Les pétioles sont armés d'aiguillons (cf. Figure 12) (Anonyme, 2003 ; Equipe de senseig nants, 2007; lavoisier, 2003).

Figure 12: les feuilles de la Rubus ulmifolius à feuille d'orme (https://www.altheaprovence.com/Rubus ulmifolius-murier-sauvage-rubus- spp).

- **Fleurs**

Elles sont disposées en grappes terminales. Les fleurs présentent cinq pétales blanches ou roses suborbiculaires, chiffonnés à pédoncules très étalé garnis d'aiguilles sépales tomenteux, réfléchis falciformes. Etamines égalant ou dépassant peu les styles roses (cf. Figure 13) (Boukef, 1986; Equipedesenseignants, 2007; Lavoisier, 2003).

- **Fruits**

Elles sont composés de nombreuses drupéoles noires plutôt luisantes (cf. Figure 14).

- **Floraison**

a lieu de juin à août.

- **Tiges**

Elles sont de couleur glauque, armé d'aiguillons sont recouvertes d'une pellicule poudreuse appelé pruine(cf. Figure15).

Figure 13: la fleur de la Rubus ulmifolius (https://www.altheaprovence.com/Rubus ulmifolius-murier-sauvage-rubus- spp).

Figure 14: les fruitsdelaRubus ulmifolius à feuilled'orm (https://www.altheaprovence.com/Rubus ulmifolius-murier-sauvage-rubus- spp).

Figure 15: Tige de la Rubus ulmifolius à feuille d'orme (https://www.altheaprovence.com/Rubus ulmifolius-murier- sauvage-rubus- spp).

II.4.2.4 Mode de la reproduction

La Rubus ulmifolius se reproduit sexuellement, la semence exige la stratification, où est mieuxsemé au début de l'automnesous châssis froid. Ou par stolons, marcottage, drageonsetbouturage (Messaoudi, 2008).

II.4.2.5 Exigences écologiques

Les différentes espèces de Rubus tolèrent les climats des régions froides comme des régions tempérées, on les trouve au borddes mers (Annonyme, 2008).

L'espèce Rubus ulmifolius, à l'état sauvage préfère les habits ouverts, on les rencontredans des endroits ensoleillés ou semi ombrés (Annonyme, 2000), au sol, elle tolère lacraie, les sols argileux, et même des solspauvres tant qu'ils ne sont pas à sec (Annonyme, 2000).

II.4.2.6 Habitat et répartition

II.4.2.6.1 Habitat

La Rubus ulmifolius est très commune dans tous les types d'habitats, mais elle ne fructifie régulièrement et abondamment que dans les haies, les clairières et les coupes forestières récentes (Becker et al., 1982). En montagne, on peut la trouver jusqu'à l'étage alpin.

Son aire de répartition se situe en majorité dans les régions où la pluviosité moyenne annuelle est de l'ordre de 750 mm (wehrlen, 1985).

Elle s'adapte aussi aux régions dont la pluviosité annuelle est plus importante (jusqu'à 1 500 mm), mais on trouve plus rarement la Rubus ulmifolius lorsque les précipitations annuelles sont inférieures à 500 mm. Pour le régime hydrique, la Rubus ulmifolius se plait aussi bien en régime normal qu'en régime sec (wehrlen, 1985).

Les besoins photiques d'une Rubus ulmifolius adulte peuvent être très faibles, ce qui explique sa présence sous les vieilles futaies. Tansley (1949) rapporte que la Rubus ulmifolius peut se maintenir en forêt avec un éclairement qui correspond à peine à 10% d'éclairement relatif. Mathieu (1897) note que la Rubus ulmifolius disparaît d'elle-même quand la terre reste trop longtemps en friche et que la végétation arbustive ou arborescente prend le dessus pour constituer un nouveau couvert. Toutefois, avant que d'autres espèces ligneuses ne soient présentes pour entrer en concurrence avec la Rubus ulmifolius, celle-ci a une préférence très marquée pour les forts éclairements(Picard et Timbal., 1980).

Le sol n'a pas une influence primordiale sur la Rubus ulmifolius, néanmoins Watson (1958) constate qu'elle préfère les sols légèrement acides aux sols calcaires. Les forestiers observent que la Rubus ulmifolius est plus vigoureuse sur les limons fertiles et frais (wehrlen ,1985),que sur les sols bruns calciques où elle est souvent moins abondante (Picard, Timbal., 1980). Le pH des sols convenant à la Rubus ulmifolius varie de 5,4 à 7(wehrlen, 1985).

II.4.2.6.2 Répartition

a. Répartition mondiale de la Rubus ulmifolius

On trouve Rubus fruticosus L. agg. entre le 30e et le 65e parallèle de l'hémisphère Nord et entre le 28e et le 40e parallèle de l'hémisphère Sud. Son aire de répartition s'étend sur toute l'Europe, l'Afrique du Nord (Atlas), l'Afrique australe, le Sud- estde l'Australie, la Nouvelle-Zélande,les Etats-Unis le Chili et l'équateur. Elle se rencontre dans les lisères des forêts, clairières, les talus, sur les décombres, ou elle forme des haies compactes et infranchissables.

C'est la Rubus ulmifolius la plus répandue du département depuis la plaine jusqu'à l'étage montagnar de et ce dans beaucoup de milieux différents ruines (In'Serboub, 2012).

La Figure 16 donne un aperçu de la répartition mondiale de la Rubus ulmifolius.

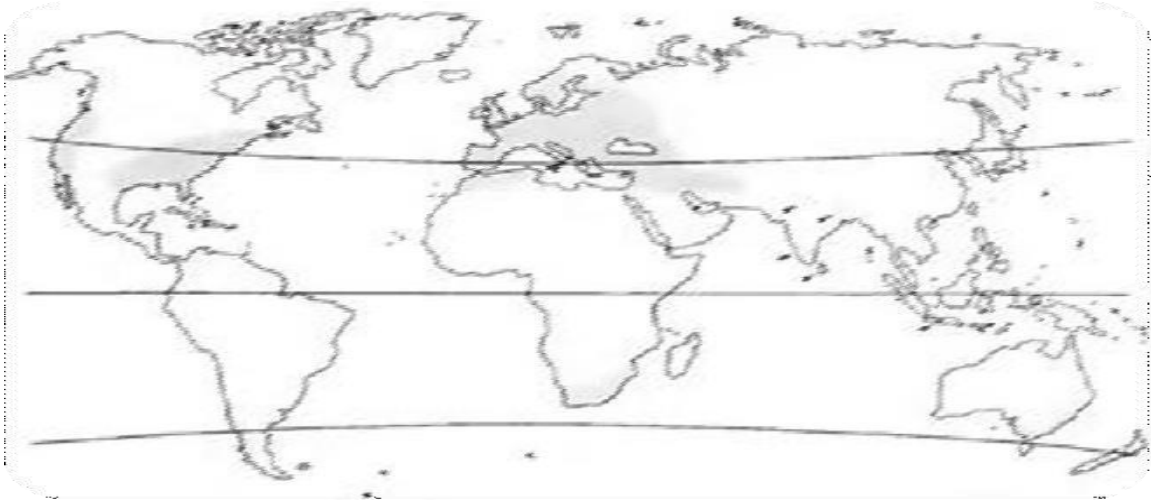

Figure 16: Carte de répartirions mondiale de la Rubus ulmifolius (Rubus fruticosus L. agg) (Wehrlen, 1985).

b. Répartition en Algérie

C'est une plante originaire d'Europe et du bassin méditerranéen. En Algérie, elle estcommune dans le Tell et dans le massif des Aurès. On la retrouve dans les forêts et les broussailles (Guide illustré de la flore Algérienne).

c. Répartition au niveau de la wilaya de Saida

On la trouve dans les régions suivantes:

Montagne de Sidi ahmed zagai (foret de wlad ibrahim), Sidi maamar, Foret de vieux Saida Sidi boubker, Chalalet Hounet, Chalalet tifrit (Province forestière.Youb. Saida) (cf. Figur 17).

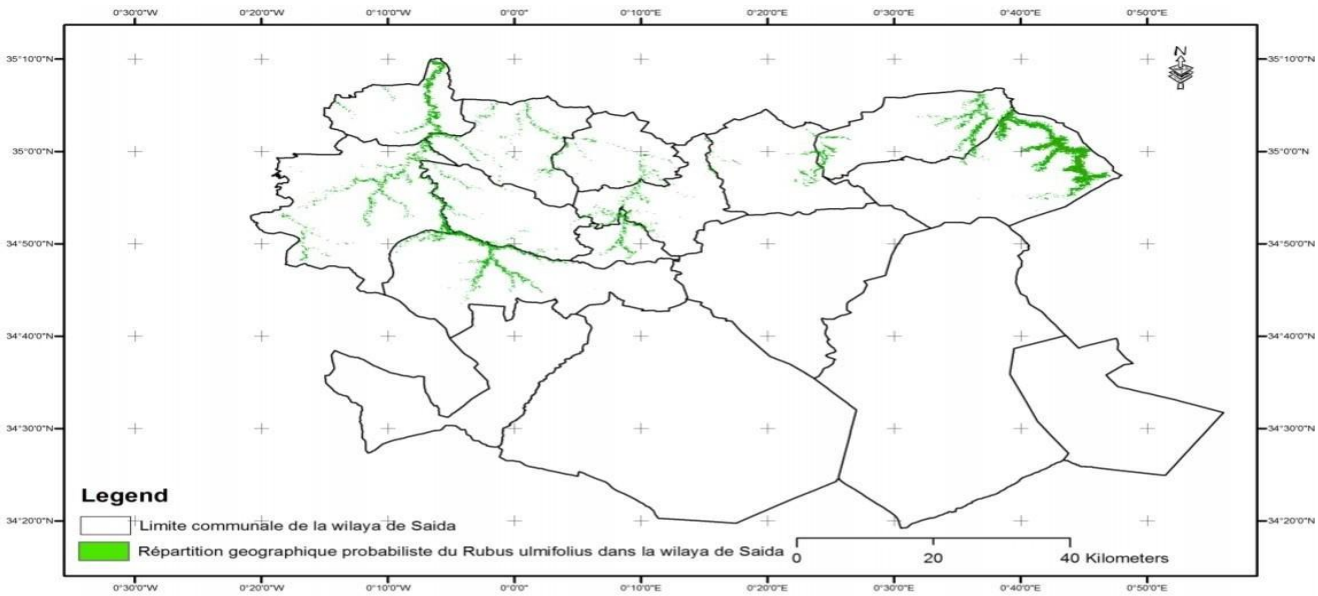

Figure 17 : Carte de répartition géographique du rebus ulmifolius dans la wilaya de Saida (Province forestière de Saida).

II.4.2.7 Composition chimique

Le contenu et la composition en polyphénols, dans le genre Rubus, sont déterminés par plusieurs facteurs (Samuel-peterson, 2013):

- ✓ Génétique.
- ✓ Environnement.
- ✓ Méthode deculture.
- ✓ Climat.
- ✓ Période decueillette.
- ✓ Temps et conditions de stockage.

Saponine	(Chaban et al., 2014)
Composés phénoliques:	(Panizzi et al., 2001 ; Sisti et al., 2008 ; Martini etal., 2009)
Acidecaféique	Tanins hydrosoluble (ellagitanins)
Acidefellurique	Tannins condensé (proanthocyanes)
Acidegallique	Flavonoles : rutin, acide ellagique,Kaempferol
Acidecoumarique	Quercetin
Anthocyanine	

Tableau 04: Composition chimique de la partie aérienne (Aliouat.2014)

- **Composition en polyphénols du fruit**

Les polyphénols sont des composés organiques, très abondants dans les fruits de Rubus ulmifolius (cf. Figure 18), qui jouent également un rôle sur la physiologie des plantes, particulièrement dans la défense contre les biotiques et le stress abiotique (cf. Figures 19) (Huang et al, 2012).

La teneur en flavonoides des fruits de mûres constitue la moitié des polyphénols (cf. Figure

06)(Base Phénol explorer, 2013).

Fibre	(Sariburun et al., 2010)
vitamine : C,K	
Mineraux	
Composés phénoliques :(Hager et al., 2008 ; Kylli, 2011)	
Tannins condensé(proanthocyanes)	✓ Flavan-3ols
Tanins hydrosoluble(ellagitanins)	✓ Anthocyanine
Quercetin	✓ Cyanidines
Flavonoles : rutin, acide ellagique, Kaempferol	

Tableau 05: Composition chimique du fruit de Rubus ulmifolius (Aliouat.2014).

Les polyphénols	Quantité (mg/100g)
Flavonoïdes	199,23
Acides phénoliques	57,43
Polyphénols	256,66

Tableau 06: Les polyphénols dans les fruits de Roce (Base Phénol explorer, 2013)

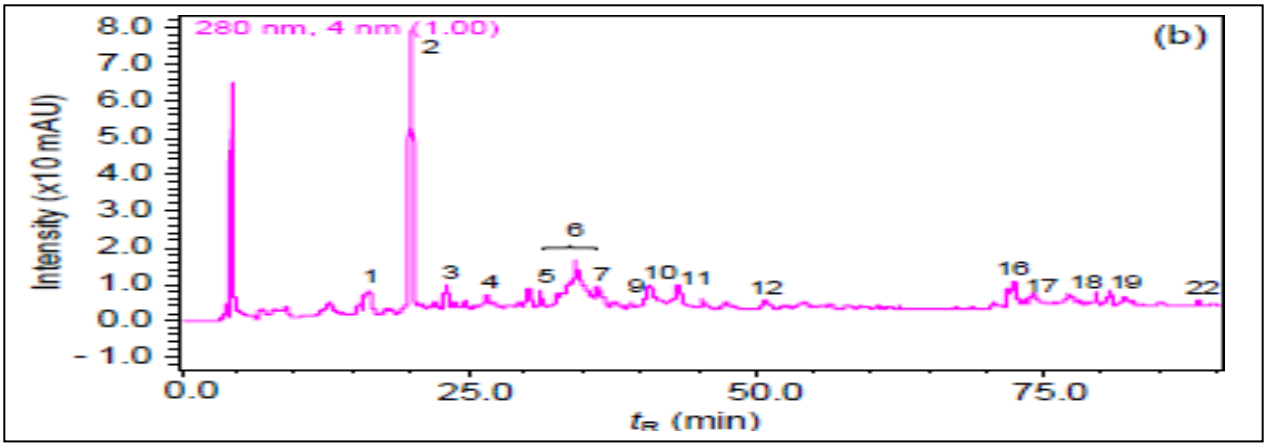

Figure 18: Profil de l' HPLC représente la nature des polyphénols qui compose les fruits de Rubus ulmifolius (Huang et al, 2012).

Numéro de pic	Composant
1	**Acide gallique.**
2	**Gallocatechine.**
3	Acide protocatechique.
4	Epigallocatechine.
5	Catechine.
6	Tannins (Proanthocyanidine).
7	Acide hydroxybenzoique.
9	Acide caféique.
10	malvidin-3-galactoside.
11	malvidin-3-glucoside.
12	p-coumaric acid.
16	quercetin-3-rutinoside.
17	**Acide éllagique.**
18	Myricetine.
19	quercetin-3-rhamnoside.
22	**Luteoline.**

Tableau 07: Composition en polyphénol des fruits de Ronce (Huang et al., 2012).

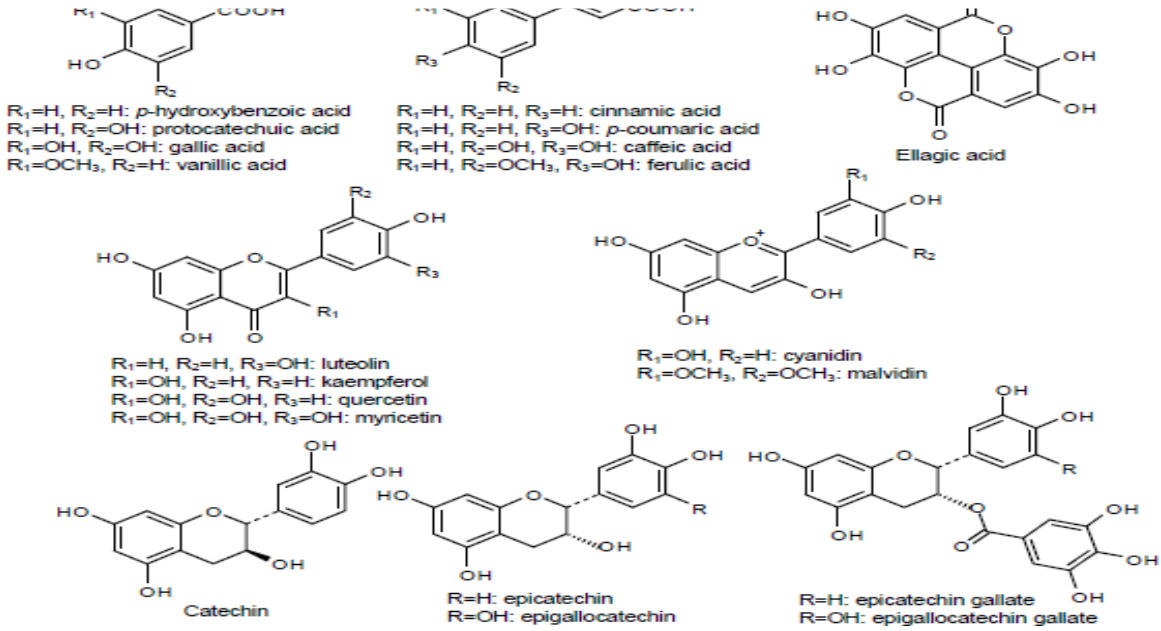

Figure 19: Structures de certains composés phénoliques typiques détectés dans les fruits de Rubus ulmifolius (Huang et al., 2012)

- **Composition en polyphénols des feuilles**

Les feuilles de Rubus ulmifolius sont utilisées depuis très longtemps pour leurs diverses propriétés et composants, au Japon notamment, qui utilisent les jeunes riches en micronutriments et en polyphénols (cf. Figure 20) (Huang et al., 2012) bénéfiques pour la santé humaine.

Figure 20: Polyphénols identifiés dans l'extrait de feuilles de mûre, en utilisant l'analyse UHPLC-LTQ OrbiTrap MS/Ms analysis (Aleksandra et al, 2016)

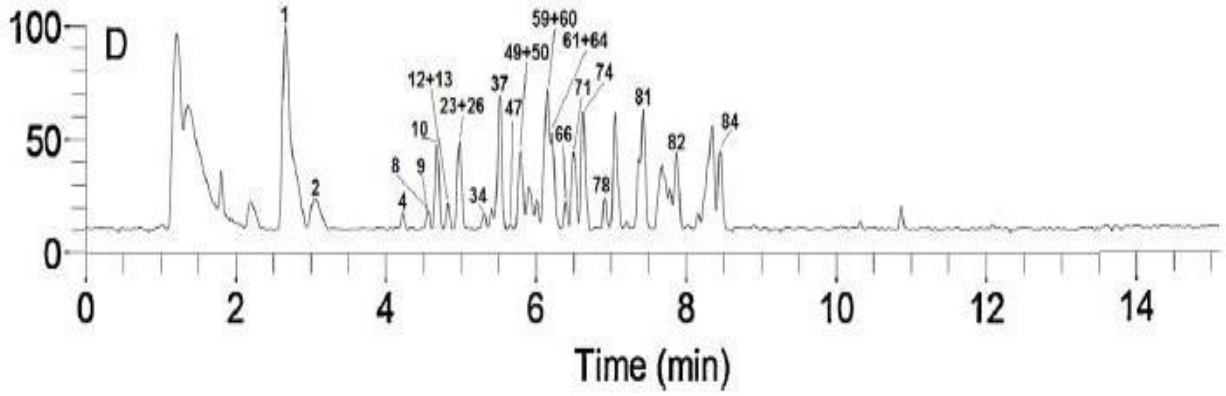

Figure 20: Polyphénols identifiés dans l'extrait de feuilles de mûre, en utilisant l'analyse UHPLC-LTQ OrbiTrap MS/Ms analysis (Aleksandra et al, 2016)

N° de pic	Structure	Nom de composé
1	$C_7H_5O_5^-$	Acide gallique.
2	$C_{13}H_{15}O_7^-$	Acide gallique hexoside.
4	$C_{13}H_{15}O_7^-$	Acide dihydroxybenzoique hexoside.
8	$C_{18}H_{23}O_{13}^-$	Acide dihydroxybenzoique.
9	$C_{16}H_{17}O_9^-$	Acide 3-O- caffeoylquinique.
10	$C_{15}H_{17}O_9^-$	Acide caféique hexoside isomére 1
12	$C_{15}H_{15}O_9^-$	Acide p-coumaroylhexarique isomére 1
13	$C_{13}H_{13}O_8^-$	Acide caffeoylthreonique isomére 1
23	$C_{15}H_{17}O_9^-$	Acide cafeique hexoside isomére 3
26	$C_{16}H_{17}O_8^-$	Acide 3-O-P coumaroylquinique.
34	$C_{20}H_{13}O_{14}^-$	Acide ellagique hexuronide.
37	$C_{17}H_{19}O_9^-$	Methyl 3-O-caffeoylquinate.
47	$C_{16}H_{19}O_9^-$	Acide ferulique hexoside.
49	$C_{17}H_{19}O_9^-$	Méthyl 4-O- caffeoylquinate.
50	$C_{19}H_{13}O_{12}^-$	Acide éllagique pentoside.
59	$C_{21}H_{19}O_{12}^-$	Quercitine-3-O- hexoside.
60	$C_{21}H_{17}O_{13}^-$	Quercitine -3-O-hexuronide.
61	$C_{14}H_5O_8^-$	Acide ellagique.
64	$C_{27}H_{20}O_{15}^-$	Kaempférol-7-O(6´´-O rhmnosyl)hexoside.
66	$C_{28}H_{31}O_{16}^-$	Isorhamnetine-7-O(6´´-O rhmnosyl)hexoside
71	$C_{21}H_{10}O_{11}^-$	Kampférol3-O-hexoside isomére 2.
74	$C_{22}H_{19}O_{13}^-$	Isorhamnetine 3-O-hexuronide.
78	$C_{22}H_{19}O_{11}^-$	Acide dicaffeocylthreonique.
81	$C_{30}H_{25}O_{13}^-$	Kaempférol3-O-(6´´O-P-coumaroyl)hexoside.
82	$C_{15}H_9O_7^-$	Quercetine.
84	$C_{15}H_9O_6^-$	Kampeférol.

Tableau 08: Composition en polyphénols des feuilles de Rubus ulmifolius (Aleksandra et al., 2016)

II.4.2.8 Propriétés et vertus thérapeutiques

La richesse de R.ulmifolius en tanins, lui confère des vertus astringentes (Messaoudi, 2008

; Anonyme, 2003 ; Bruneton, 2009), atantidiarrhéique. Elle a une action protectrice des vaisseaux capillaires (Equipe des enseignants, 2007; Anonyme, 2003).

Elle est utilisée en médecine traditionnel pour ses propriétés anti inflammatoire, antiviral et anti

microbienne (Anonyme, 2006 ; Chabane et al., 2014).

- **Activité antifongique** (Sisti et al., 2008).
- **Activité antidiabétique**

La poudre de feuilles R.ulmifolius, ont des effets cicatrisant et anti inflammatoire sur les brûlures profonde (Bouhedir ,2013).

- **Activités antioxydantes**
- **Antiproliférative**s

réalisées in vitro des extraits méthanoliques fruit et partie aérienne (feuilles et tige) *Rubus ulmifolius* Schott (Aliouat ,2014).

- **Activité antihyperglycémiante**

La molécule 1-Deoxynojirimycine (DNJ) de la Ronce possède de l'activité biologique antihyperglycémiante (Zhao-Jun et al, 2016).

Les proanthocyanidines exerceraient un effet antihyperglycémiant possiblement dû à l'activité insulinomimétique d'une part et d'autre part en stimulant l'utilisation du glucose au niveau des cellules insulinosensitives in vitro (Pinent et al., 2004).

La (-)-épicatéchine possède un effet « insuline-like» et protège les rats Wistar contre l'action diabétogène de l'alloxane (Chakravarthy et al., 1981). Ce flavanol agit en mimant l'action de l'insuline dans son action sur la membrane érythrocytaire acétylcholinestérase. Cet effet « insuline-like » est très prononcé chez les patients diabétiques de type 2 (Rizvi et al., 1995; Rizvi et Zaid, 2001).

Il existe également des données contradictoires montrant par exemple que la quercétine ou la génistéine inhibent au contraire cette absorption de glucose par les tissus périphériques (Shisheva et Shechter, 1992).

- **Anti-obésité**

La DNJ(1-Deoxynojirimycine) se lie de manière compétitive au site catalytique de glucosidase de l'intestin et inhibe ainsi son absorption de glucose (Chao-wei W. et al.,2016). la 1-dexoxynojirimicine DNJ, connu sous le nom de moranoline, bloque donc l'absorption des glucides par l'organisme, aussi la consommation de l'extrait des feuilles est recommandée dans un régime de perte de poids (Hyerisam, 2013)

- **Activité anti-virale**

Les molécules dérivées de la déoxynojirimycine (DNJ) perturbent le repliement et l'assemblage des glycoprotéines d'enveloppe et inhibent la formation de particules virales (Chapel et al, 2004)

Les molécules alkylées à courte chaîne (NB-DNJ) semblent agir différemment : un mauvais repliement et une mauvaise glycosylation des protéines d'enveloppe incorporées dans les virions pour le NB-DNJ, une modification de la composition en dimères des virions et une inhibition

potentielle de l'activité canal ionique de la protéine p7 dans le cas du NN-DNJ/NN- DGJ (Chapel et al, 2004)

CHAPITRE III
Matériels et méthodes

III .Matériels et méthodes

III.1 Matériels

III.1.1Matériels non biologique

Tous les produits chimiques utilisés sont de qualité analytique. Les réactifs chimiques et les solvants nous ont été fournis par laboratoire de chimie Organique(PFE2).

- **produits chimiques**
  - Folin-ciocalteux.
  - Bicarbonate de sodium (Na2CO3) .
  - Eau distillée.
  - DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) (Sigma- Aldrich).
  - Méthanol.
  - Acide gallique.
  - Acétate d'éthyle.
  - trichlorure d'aluminium(AlCl3)(10%).
  - $NaNO_2$ (7%).
  - Chatechin.
  - NaOH.
- **appareillages**
  - spectrophotomètre UV.
  - Balance analytique.
  - Agitateur magnetique.
  - Tubes à essai.
  - Papier aluminium.
  - Chronomètre (montre électronique).
  - Chauffe balon.
  - Refrigirant.
  - aparail de l'eau distilateur.
  - Micropipette (125ul;250ul).
  - Etuve (Mannert).
  - Bouteille de montre.
  - Boite Pétri.
  - Bischer. (Voir l'annexe)

Les Milieux de culture

Milieu Mueller Hinton:

La gélose Mueller-Hinton a été utilisée comme milieu de culture pour les bactéries. 38 gramme de poudrede Mueller-Hinton fure ajoutée dans 1 L d'eau distillée, respectivement. Bouillie avec agitation jusqu'à dissolution complète, autoclave pendant 15 min à 121°C. Ensuite, le milieu a été laissé refroidir à environ 55°C, puis versé dans des boîtesde Pétri stériles «12 ml pour chaque boite» et ont été laissé solidifier pendant une nuit. Les boîtes de Pétri ont été stockées à l'envers dans le réfrigérateur à 4°C.

III.1.2. Matériel biologique

III.1.2.1 matériel végétal

Le matériel végétal utilisé au cours de notre étude est constitué des feuilles de Rubus ulmifolius L. Elles ont été récoltées au mois de Mars 2021 à Sidi maamar (la commune de Ain El Hadjar Wilaya de Saida).

Après récolte, le matériel végétal (feuilles) environs 750g a été séché à l'air libre et à l'abri de la lumière et de l'humidité de la chaleur. Ensuite, ils ont été broyés (cf. Figure 21) afin de procéder à l'aide d'un broyeur électrique puis conservé dans des bocaux en verre fermants hermétiquement jusqu'à l'extraction.

Figure 21: Feuilles de la Rubus ulmifolius séchées (A). Poudre de feuilles après broyage (B).

III.1.2.2 matériel microbiologique

L'activité antimicrobienne des extraits Aqueuxx et Organique a été évaluée sur trois souches bactriennes,Les souches utilisées sont soit des souches de référence American Type Culture Collection (ATCC) ou bien des isolats cliniques isolées à partir de divers prélèvements de patients, obtenus du laboratoire de microbiologie du centre hospitalier universitaire (CHU) de Bel Abbes et conservées dans des tubes à essais contenant de la gélose inclinée voir

Tableau 09.

Groupes de germes	Espèces	Références	Infections
Bacilles à GRAM négatif	*Escherichia coli*	ATCC 35218/ CLN	-Infections urinaires et des Plaies, Septicémies, infections gastroentérites, méningite néonatale. - Infections de plaie, infection urinaires, septicémie, pneumopathies.
	Pseudomonas aeruginosa	ATCC 27853/ CLN	
Cocci à GRAM positif	*Staphylococcus aureus*	ATCC 25923/ CLN	- Infections de plaie, septicémies, furoncle, impétigo, ostéomyélite.

Tableau 09: Présentation des souches microbiennes testées (Edward et Sinai, 2004).

III.2 Méthodes

Deux solvants sont utilisés dans l'étape de l'extraction de principe actif: l'acétyle d'éthyle (solvant organique) et l'Eau distillée (milieu aqueuxx).

III .2.1 Preparation des extraits

III .2.1.1 Préparation de l'extrait aqueuxx

L'extrait aqueuxx de feuilles de Rubus ulmifolius a été préparé en suivant la méthode préconisée en médecine traditionnelle (décoction) (Konkon et al., 2006).

Pour cette étude expérimentale, la méthode a été adaptée aux réalités dans laboratoire de biochemie (PFE2). Un échantillon de la matière végétale a été finement pulvérisé d'un broyeur électrique (Thermomix 3000, VORWERK®). Dix (10) g de la poudre obtenue ont été délayés dans 100 ml d'eau distillée contenue dans un récipient adapté (Bécher). Le tout a été soumis à une décoction à reflux pendant 30 min dans le chauffe ballon. La Figure 23 montre la méthode.

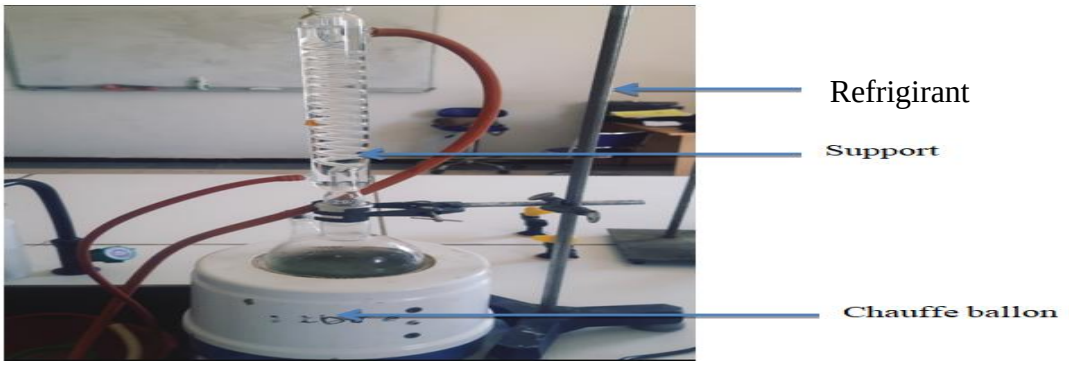

Figure 22: Préparation de l'extrait aqueuxx par décoction.

Après refroidissement, l'homogénat obtenu a été filtré une fois sur un papier filtre. Le filtrat obtenu a été recueilli dans des cristalloirs et séché à l'étuve (type Manert) pour séchage à 50°C pendant 48 heures. La poudre sèche de couleur verte obtenue constitue l'extrait aqueuxx de feuilles de Rubus ulmifolius.

Le rendement de l'extraction aqueux se des tiges, feuilles de Rubus ulmifolius est donné par la formule suivante le même:

$$R\ (\%) = M / M_0 \times 100$$

R: Rendement exprimé en %.

M : Masse en gramme de l'extrait sec obtenu.

M0 : Masse en gramme du matériel végétal à traiter.

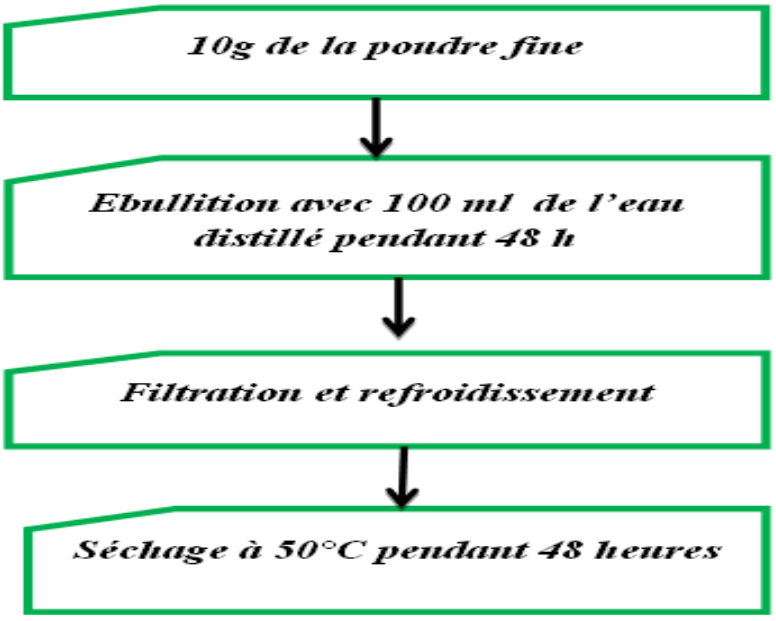

Figure 23: Schéma de la décoction de la poudre de feuille de Rubus ulmifolius.

II.2.1.2 Préparation des extraits organique

L'extrait organique a été préparé selon la méthode décrite par de Motamed et Naghibi (2010). Des pesées de 10 g de poudre de feuilles sont mises à une macération dans 100ml d'acetate d"ethyl (8:2 V/V) a froid sous une agitation magnétique pendant 48 heures à température ambiante et à l'abri de la lumière à l'ombre et à L'extrait d'acetyl d"ethyl est séché dans une étuve à 40°C pendant 48 heures. L'extrait sec a été récupéré par grattage puis conservé au réfrigérateur jusqu'à l'utilisation, la Figure 24 montre l'extrait organique après séchage.

Figure 24: L'extrait organique après séchage.

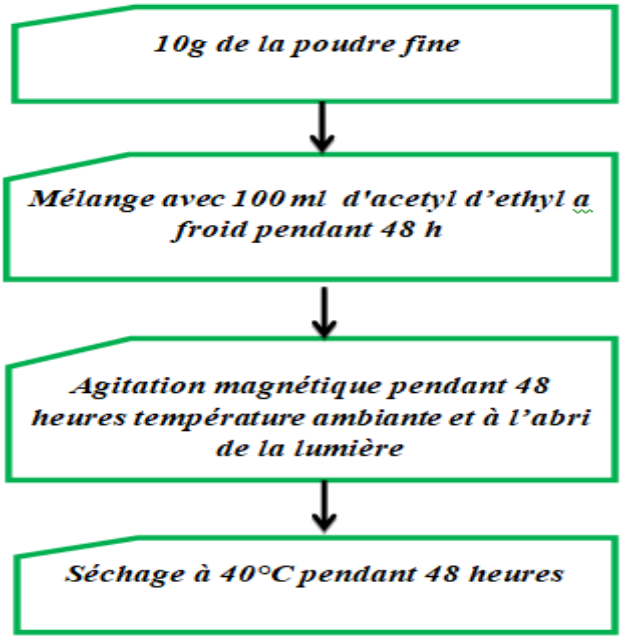

Figure 25: Schéma de la macération de la poudre de feuille de Rubus ulmifolius.

Calcul de rendement:

Le rendement désigne la masse de l'extrait obtenu, il est exprimé en pourcentage par rapport à la masse initiale de la plante soumise à l'extraction. Nous avons déterminé les rendements de notre plante en extrait sec par le calcul du rapport suivant :

$$Rdt\ (\%) = (P1 – P2/$$

P1: poids de la bouteille après lyophilisation.

P2: poids de la bouteille vide.

P3: poids de la matière végétale de départ (10g).

III .2.2 Screenning phytochimique

Les extraits de feuilles de Rubus ulmifolius ont été examinés pour leur composition chimique qualitative, en utilisant des méthodes standard (Danielle and Odile, 2007; Macheix

et al., 2005) pour révélation des de certaines familles chimiques que contienne la plante suivants: les polyphenols ,flavonoïdes, les tanins, les alcaloïdes, les quinones libres, les anthraquinones, les terpénoïdes et les saponosides.

Ces réactions sont basées sur des phénomènes de précipitation ou de colorations par des réactifs spécifiques de chaque famille de composés. De plus ces tests sont en relation avec l'intensité du précipité, de turbidité ou de coloration, qui sont proportionnelle à la quantité de la substance recherchée.

III .2.2.1 Dosage des polyphénols totaux

Principe

Les polyphénols sont déterminés par la méthode de Folin-Ciocalteu, qui est un mélange de complexes de l'acides phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et l'acide phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$) de couleur jaune (Figure 26). Elle entraine de la formation d'un nouveau complexe molybdéne-tungsténe de couleur bleu qui absorbe a 760 nm (Figure 26) (Agbor al., 2014).

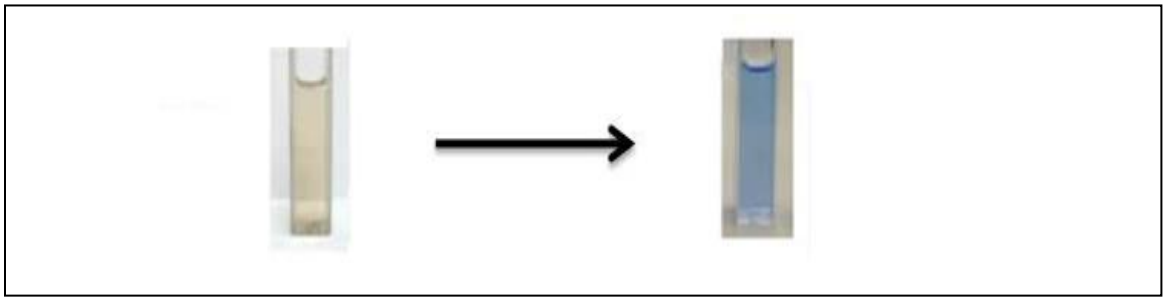

Figure 26: Changement de couleur du a reduction de molybdate d'ammonium (jaune) avec le noyaeu de phenol du CFR (bleu) (Agbor et al., 2014).

Mode opératoire

Le dosage de polyphénols totaux a été effectué par la comparaison de l'absorbance observée a celle obtenue par un étalon d'acide gallique de concentration connue (Vermerris et al., 2006).

Ce dosage a été réalissé selon la méthode décrite par dawanton et al.(2002)une prise de125ul d'éxtrait convenablement dilué a été mise dans un tube en présence de 500 ul d'eau distillée et de 125 ul du réactif de Folin-Ciocalteu. Ensuite 125 ul d'une solution de carbonate de sodium (Na2Co3) a 7% ont été ajoutés et le mélange a été ajusté a 3 ml avec de l'eau distillée. Le tube a éte placé au repos pendant 90mn à température ambiante et a l'obscurité, ensuite l'absorbance a été mésurée a 760 nm (dawanton et al.2002).

La quantification des polyphénols totaux a été faite en fonction d'une courbe d'étalonnage réalisée par un standard étalon (l'acide gallique) à différentes concentration (31.25, 62.5,

125, 250, 500, 1000 µg/ml) dans les mêmes conditions que les extraits et les résultats sont exprimés en microgramme d'équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait (ug EAG / mg Ex), utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique: Y=0,0005x + 0,245 ; R^2= 0.966.

III .2.2.2 Dosage des flavonoïdes

Principe

Le dosage des flavonoïdes est effectué selon la méthode décrite par Dewanto et al., (2002), avec le réactif de trichlorure d'aluminium (AlCl3) et la soude (NaOH). Le trichlorure d'aluminium forme un complexe jaune avec les flavonoïdes et la soude forme un complexe de couleur rose qui absorbe dans le visible à 510 nm (cf. Figur 27).

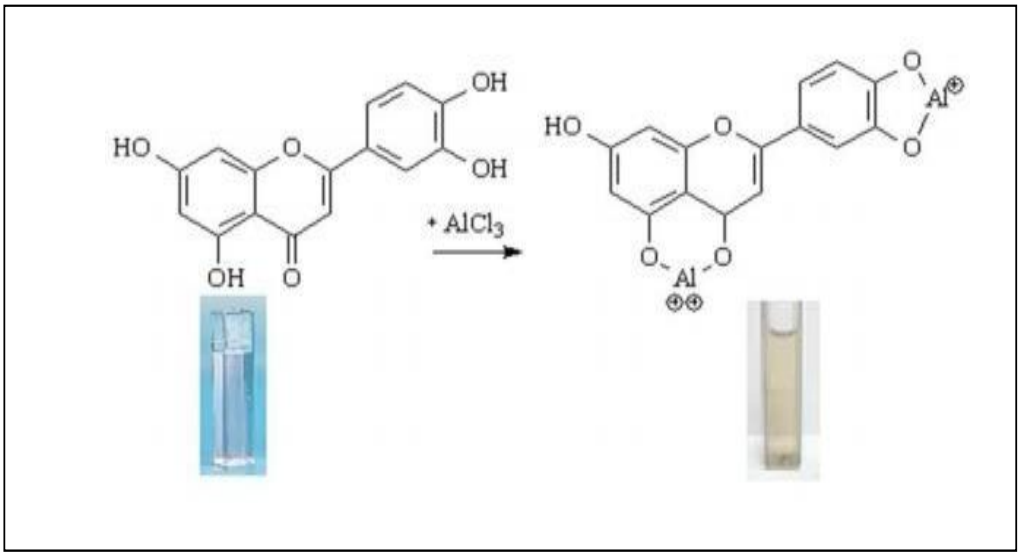

Figure 27: Réaction entre AlCl3+ et flavonoides (Molnar et al., 2014).

Mode opératoire

1 ml d'échantillon dissous a été placé dans une fiole jaugée de 3 ml, puis 75ul de NaN02 (7%) a été ajouté. 150ul d'AlCl3 (10%) a été ajouté 5 minutes plus tard. Au bout de 6 minutes, 500uL de NaOH (1M) ont été ajoutés .Le volume final a été ajuste a 2.5 ml et la solution a été bien mélangée et laissée au repos pendant 30 minutes. Les absorbances ont été mesurées immédiatement à une longueur d'onde égale à 510 nm. Les teneurs en flavonoïdes totaux dans chaque extrait sont calculées en se référant à l'équation de régression de la gamme d'étalonnage, établie avec le standard étalon la Catéchine à différentes concentrations (31.25, 62.5, 125, 250, 500, 1000 µg/ml) et dans les mêmes conditions et les mêmes étapes du dosage: Y = 0,0008x + 0,0817; R^2 = 0,9586. Elles sont exprimées en microgrammes d'équivalents de Catéchine par milligramme d'extrait (ug EC / mg EX).

III .2.2.3 L'activité antioxydante totale Principe

La capacité antioxydante totale est largement utilisée comme paramètre pour tester les aliments et les composants bioactifs. Cette méthode est définie comme la capacité d'un composé pour inhiber la dégradation oxydante comme de la peroxydation des lipides (Ìlhami, 2012).

Le test consiste à mettre le radical DPPH (de couleur violette) en présence des molécules dites « antioxydantes » afin de mesurer leur capacité à réduire ce radical La forme réduite (diphénylpicryl-hydrazine : de couleur jaune) n'absorbe pas à 517 nm, ce qui se traduit par une diminution de l'absorbance à cette longueur d'onde à 517 nm.(LUE et al., 2010 ; ABDELHADI et al., 2014). Afin d'évaluer le potentiel antioxydant des échantillons par le piégeage des radicaux de DPPH, la variation de la densité optique des radicaux DPPH est surveillée ; le dosage est basé sur la réduction de DPPH en solution alcoolique en présence d'un antioxydant donneur d'hydrogène en raison de la formation de la non-forme radicale DPPH-H (cf. Figure 28).

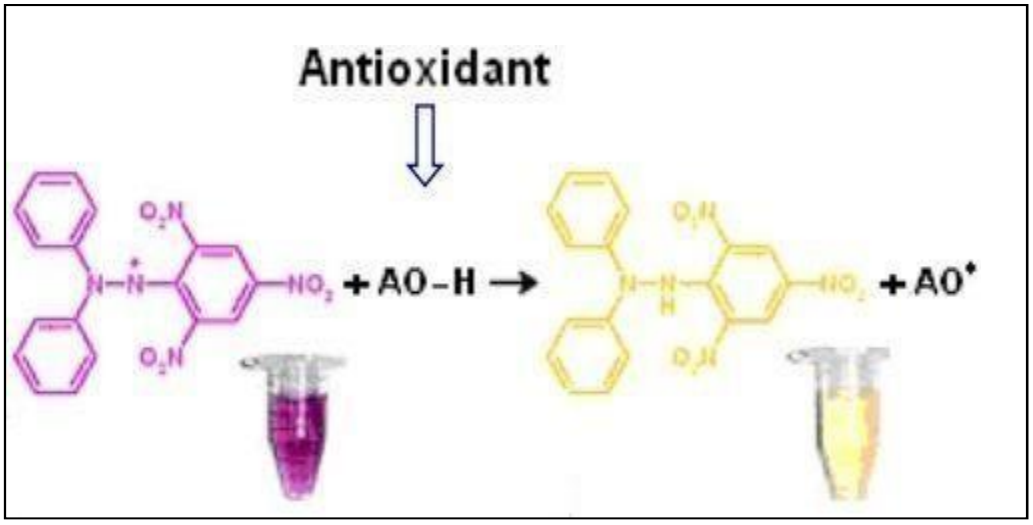

Figure 28: Réaction antioxydant / radical libre DPPH (Boligon et al. 2014).

Mode opératoire

Préparation de la solution du DPPH

Préparer une solution de 0.0012 g de DPPH. Solubiliser 0.025 g de DPPH dans 50 ml de méthanol absolu. Le mélange est conservé à l'abri de la lumière.

Préparation de l'extrait

L'activité antioxydante in vitro a été évaluée par la mesure du pouvoir de piégeage du radical DPPH (1,1-Diphenyl-2-picryhydrazyl) selon la méthode décrite par Burits et Bucar (Burits et Bucar 2000), où 50 µl de la solution d'extrait méthanolique testée à différentes concentrations (0.31, 0.62, 1.25, 2.5, 5mg/ml) sont mélangées avec 1.95 ml d'une solution

méthanolique de DPPH (1, 2mg/ml). les mélanges ont été placés à l'obscurité à température ambiante pendant 30 minutes. Après l'agitation au vortex, la lecture du changement de couleur a été effectuée par la mesure de l'absorbance à la longueur d'onde 517nm.

L'activité antiradicalaire de l'extraits aqueuxx et organique évaluée par le test DPPH est exprimé par les concentrations minimales inhibitrices 50 (IC50).Elle est définie comme étant la concentration du substrat qui cause la perte de 50% de l'activité de DPPH.

La IC50 (appelée aussi EC50) est inversement liée à la capacité antioxydante de l'extrait testé, car elle exprime la quantité d'antioxydant nécessaire pour diminuer la concentration du radical libre de 50%. Plus la valeur d'IC50 est basse, plus l'activité antioxydante est grande.

Les valeurs EC50 moyennes ont été calculées par régressions linéaires ou polynomiales sur les courbes qui portent en abscisse, la concentration des composés testés, et en ordonnée, l'activité antioxydante en pourcentage (Mensor et al., 2001).

La mesure de l'activité anti radicalaire DPPH a été effectuée en suivant le protocole de Brand-Williams et al. (1995) (cf. Figure 29).

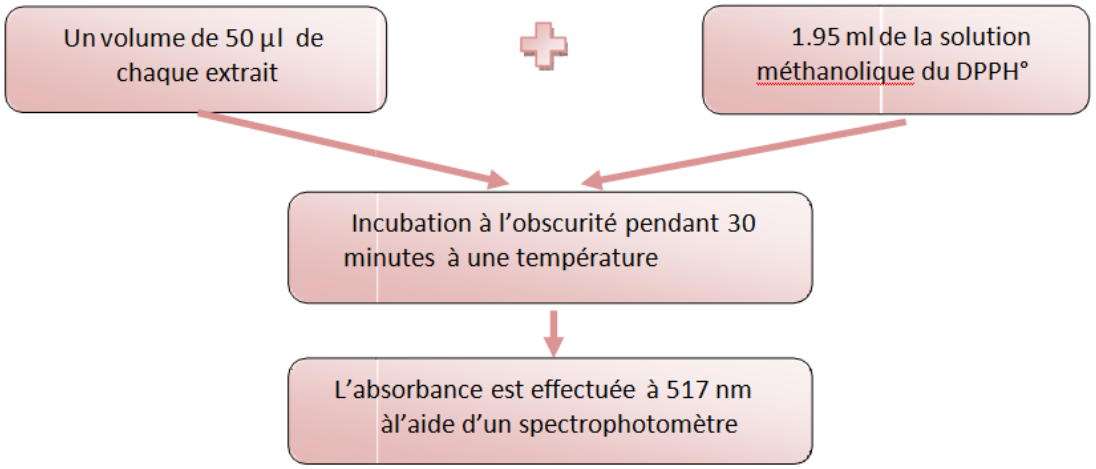

Figure 29: Protocole de mesure de l'activité anti radicalaire DPPH.

Expression des résultats

Les valeurs d'IC50 moyennes ont été calculées par les régressions linéaires des trois essais séparés où l'abscisse est représentée par la concentration des composés testés et l'ordonnée par le pourcentage de réduction (PR) du radical DPPH, qui est calculé par la formule suivante:

$$I\ \% = [(Abs_{\text{Control négatif}} - Abs_{\text{Echantillon}}) / Abs_{\text{Control négatif}}] \times 100$$

I %: Pourcentage de l'activité anti-radicalaire.

Abs Echantillon: Absorbance de l'échantillon.

Abs Control négatif: Absorbance du control négatif (solution de DPPH seulement).

Le contrôle négatif est composé de la solution de DPPH dans le méthanol seul.

III .2.2.4 Activité antibactérienne

Les souches

Afin de tester le potentiel antimicrobien de lextrait aqueuxx et organique, Trois souches bactériennes un gram positif (Staphylococcus aureus) et deux grams négatifs (Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa) sont été utilisées. Ces souches utilisées sont largement rencontrées dans diverses pathologies chez l'homme. Elles nous proviennent du laboratoire de microbiologie du centre hospitalier universitaire (CHU).

Une variété de méthodes peut être utilisée pour évaluer l'activité antimicrobienne in vitro d'un extrait ou d'un composé pur. Le test biologique constitue le meilleur précurseur permettant de découvrir les substances bioactives. Pour cela, nous avons testé l'effet antimicrobien de l'extrait de feuilles de Rubus ulmifolius sur les trois souches bactériennes. Cette étude a été réalisée au laboratoire de chimie organique (PFE2) de la faculté de biologie à l'université de Mouley Tahar (Saida).

La méthode de diffusion en milieu solide est une méthode officielle utilisée dans de nombreux laboratoires de microbiologie clinique pour les tests de routine de sensibilité aux antimicrobiens, elle présente la méthode la plus connue et la plus basique. Ses résultats également guident les cliniciens dans la sélection appropriée des traitements empiriques initiaux et les antibiotiques utilisés dans des situations particulières (Balouiri et al., 2016).

Principe

Le principe de cette méthode repose sur la diffusion du composé antimicrobien en milieu solide dans une boite de Pétri, à partir d'un point précis, avec la création d'un gradient de concentration. L'effet du produit sur la cible est mesuré par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition.

Préparation de l'activite antimicrobienne

Suivant les méthodes utilisées dans les essais et selon les souches, nous avons utilisé comme milieu de culture Muller Hinton (MH) pour la culture des bactéries. Dans le présent test, nous avons utilisé la technique de diffusion en milieux gélosés (Miller Hinton) en boites de Pétri en adaptant la méthode des puits pour l'extrait de feuilles de la Rubus ulmifolius (Rubus ulmifolius). Les milieux sont ensemencés par quelques millilitres de l'inoculum (Cavallo, 2006) de façon à recouvrir toute la surface gélosée. Les boîtes de Pétri sont ensuite mises à sécher 15 min à 37°C.On a utilisé deux boites petri pour chaque souche. L'un pour

l’extrait aqueuxx et l'autre pour l’extrait organique.

Dans chaque boite correspondante à une souche testée, et à l’aide d’emporte-pièce stérile ont été effectués des 4 puits de 6mm de diamètre, recevront chacun un des concentrations suivantes des extraits (EX AC;EX AQ) (5mg/ml; 2.5mg/ml; 1.25mg/ml; 0.625mg/ml).

CHAPITRE IV
Résultats et discussion

IV. 1 Rendement et aspects des extraits

Selon Azmir *et aL*,. (2013), l'efficacité d'extraction de toute méthode conventionnelle dépend principalement du choix des solvants, la polarité du composé ciblé qui est le facteur le plus important pour le choix du solvant ainsi que l'affinité moléculaire entre le solvant et le soluté. Le transfert de masse et la faisabilité financière devrait également être pris en compte dans la sélection du solvant pour l'extraction des composés bioactifs.

Résultats

Après l'évaporation à sec de l'extrait aqueuxx et organique de feuilles de Rubus ulmifolius la couleur, l'aspect ainsi que le rendement de chaque extrait sont représentés dans le Tableau 10. Les différents extraits obtenus après lyophilisation ont été pesés pour déterminer le poids sec résultant. Les rendements ont été déterminés par rapport au poids total de la poudre végétale réduite en poudre.

D'après nos résultats, les rendements d'extraction observés dépendent à la fois de la partie de la plante utilisé et aussi du solvant d'extraction.

Extraits	Aspect	Couleur	Masse de l'extrait en g	Rendement
Ex.Ac	hygroscopique	Verte	0.12	1.2%
Ex.Aq	Poudre	Vert foncé	0.48	4.8%

Tableau 10: Caractéristiques des extraits de feuilles de Rubus ulmifolius.

Discision

Selon les résultats du Tableau 10. On remarque que l'extrait organique est récupéré sous forme d'hygroscopique de couleur vert, alors que l'extrait aqueux est récupéré sous forme de poudre de couleur verte foncé. Les rendements sont variable, le rendement de l'extrait Aqueuxx (4.8%) est nettement supérieur de celui de l'extrait organique (1.2%). Les rendements d'extraction observés dépendent du solvant d'extraction.

D'après Singh (2008), les paramètres de base qui influent sur le rendement d'un extrait sont:

1. la partie de la plante utilisée comme matière première.
2. nature et la polarité du solvant utilisé pour l'extraction,
3. le procédé d'extraction (protocole) suivi et le type d'équipement.
4. le ratio poids/volume; matière végétale/solvant d'extraction.

IV.2.Détermination de teneur en composés phénoliques

IV..2.1 Dosage des composés polyphénoliques totaux

Les différents extraits de feuilles de la plante Rubus ulmifolius (Ex.Ac, Ex.Aq). Ont été

analysés quantitativement par spectrophotomètre UV- visible pour leur contenu en polyphénols selon la méthode utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu. Les résultats sont exprimés en microgramme d'équivalents acide gallique par milligramme d'éxtrait à l'aide d'une courbe d'étalonnage.

La méthode est basée sur la réduction chimique du réactif Folin-Ciocalteu, en milieu basique, le réactif de Folin-Ciocalteu (mélange phosphotungstate $(PW_{12}O_{40})^{3-}$ et de phosphomolybdate $(PMo_{12}O_{40})^{3-}$) initialement jaune, oxyde les groupements oxydables des composés polyphénoliques présents dans l'extrait végétal et est réduit en un mélange d'oxydes métalliques bleu. Cette coloration est mesurée par lecture de l'absorbance à 765 nm. Elle est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans l'extrait analysé.

Une courbe d'étalonnage d'acide gallique (0-200 µg/ml) a été tracée dans l'objectif de la détermination de la teneur totale des polyphénols (cf. Figure 30), la courbe montre une linéarité de l'absorbance en fonction des concentrations.Les quantités des polyphénols correspondantes de chaque extrait ont été rapportées en équivalent d'acide gallique (µg EAG/mg d'extrait sec) et déterminé par l'équation de type: Y=0,0005x + 0,245 ; sachant que R^2=0.966.

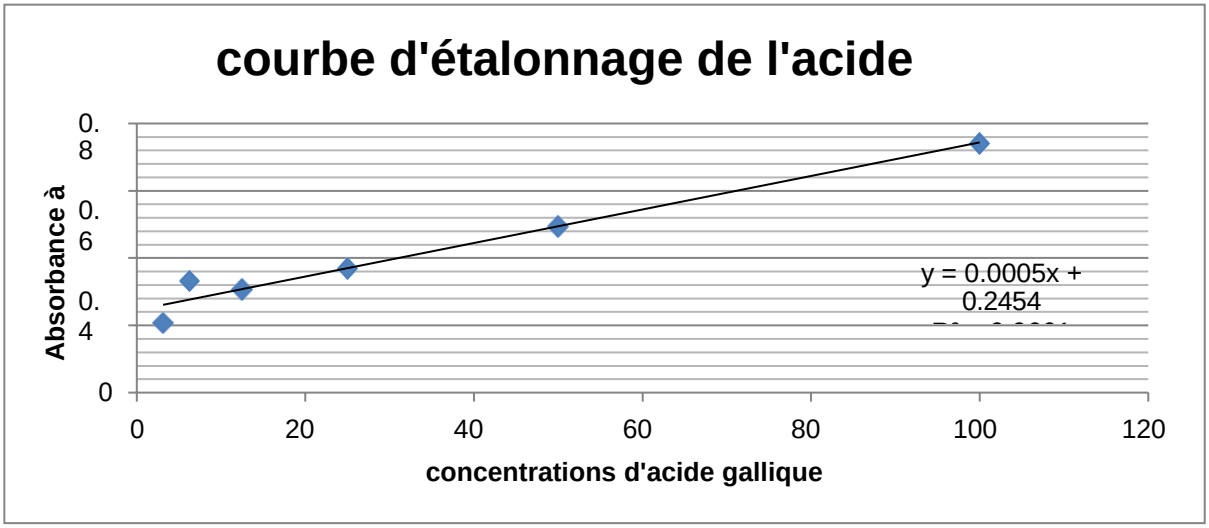

Figure 30: Courbe d'étalonnage d'acide gallique pourle dosage des polyphénols totaux.

Résultats

Les résultats des analyses quantitatives par spectrophotomètre UV-visible des extraits de feuilles étudiées sont représentés ci- dessous (Tableau 11). Après interprétation des résultats, nous constatons que ces résultats nous indiquent que les teneurs en polyphénols totaux varient considérablement en fonction de la nature du solvant d'extraction, où l'acétate d'étheyl possède les teneurs les plus élevées, avec des valeurs de 191.24±25.73 µg EAG/mg

d'extrait (Ex.Ac) et 124,84±11.03 µg EAG/mg extrait (Ex.Aq), la concentration en polyphénoles totaux de Ex.Ac est significativement plus élevée que celui de l'extrait Ex.Aq.

	Polyphenols totaux (ugAGeq/mg EX)
Extrait aqueuxx	124,84±11.03
Extrait organique	191.24±25.73

Tableau 11: Résultats du dosage des polyphénols totaux, des extraits Rubus ulmifolius.

Discussion

Les résultats montrent que les composés phénoliques sont abondants dans les éxtraits de feuilles de Rubus ulmifolius. La teneur élevée en polyphénols dans les différents extraits est liée à la solubilité élevée des phénols dans les solvants polaires (eau et acetyl d'éthyl), grâce à leurs richesse en groupement hydroxyle (Ghedadba et al., 2014). D'après le Tableau cidessus, nous constatons que la teneur en polyphénols des extraits organique est supérieure à celle des extraits aqueux, cela indique que le rendement de l'extraction le plus élevé est obtenu avec des solvants de polarité inférieure à celle de l'eau (Ouedraogo et al., 2015). Ce qui signifie, que le système de solvant d'extraction influencerait sur les teneurs en polyphénols totaux.

Plusieurs facteurs peuvent influencer la teneur en composés phénoliques, des études récentes sont montrées que les facteurs extrinsèques (facteurs géographiques et climatiques), les facteurs génétiques, mais également le degré de maturation de la plante et la durée de stockage ont une forte influence sur le contenu en composés phénoliques (Cheurfa et Allem, 2016).

En outre, la quantité des composés phénoliques des extraits de plantes dépend essentiellement: de leur origine (Ebrahimzadeh et al., 2008), la variété, la saison de culture, la saison de récolte, les conditions climatiques et environnementales, la localisation géographique, les différentes maladies qui peuvent affecter la plante, la maturité de la plante (Park et Cha, 2003) et la durée de conservation. Le solvant d'extraction permet d'extraire des substances non phénoliques comme les sucres, les protéines et les pigmentss qui peuvent interférer lors de dosage des composés phénolique (Djeridane et al. 2007). Ainsi, la faible spécificité du réactif de Folin- Ciocalteu est l'inconvénient principal du dosage colorimétrique.Le réactif est extrêmement sensible à la réduction de tous les groupes d'hydroxyles non seulement ceux des composés phénoliques, mais également de certains sucres et protéines cequi mène à avoir un taux phénolique apparent élevé (Vuorela, 2005 ; Gomez-Caravaca et al., 2006).

IV.2.2 Dosage des flavonoïdes totaux

Les différents extraits de feuilles de la plante Rubus ulmifolius (Ex.Ac, Ex.Aq) Ont été analysés quantitativement par spectrophotomètre UV visible pour leur contenu en flavonoïdes selon la méthode utilisant le réactif de trichlorure d'aluminium.

L'addition de chlorure d'ammonium entraine la formation d'un complexe organométallique (Flavonoide-Al3+). Dans ce complexe les ions Al3+vont réagir avec les fonctions alcools des 2 cycles aromatique et hétérocycle de la structure flavoidique. Cette réaction elle va générer un changement de la charge et de la couleur de milieu réactionnel (couleur jaune).

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé par la méthode de (AlCl3) et l'étalon été la Catéchine, en adaptant la même procédure utilisée pour l'établissement de la courbe d'étalonnage en remplaçant la Catéchine par des dilutions des extraits jusqu'à une concentration appropriée. Le courbe étalon donne l'équation y = 0,0264x+ 0,0293 ; R^2=0,9951 (cf. Figure 31).

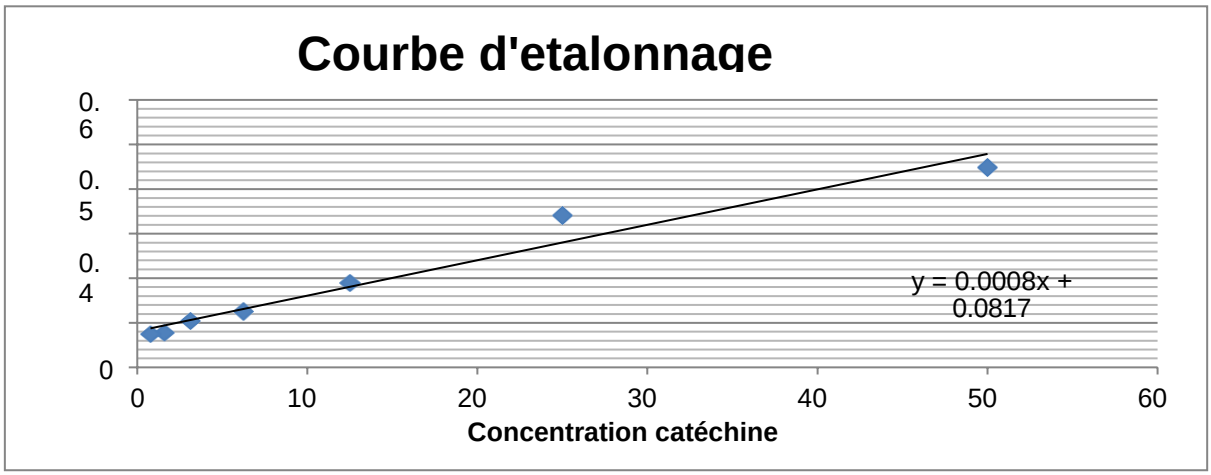

Figure 31: Courbe d'étalonnage du catéchine (0-40 µg/ml) pour le dosagedes flavonoïdestotaux.

Résultats

Le Tableau 12 montre la composition quantitative des flavonoïdes totaux des extraits de feuilles de Rubus ulmifolius analysés. L'analyse de ces résultats montre que l'extrait organique est le plus riche en flavonoïdes (309.57±7.07 µg EQ/mg EX AC) que celui de d'extrait aqueuxx (184.20±2.65).

	Flavonoides totales (ugCeq/mg EX)
Extrait aqueux	184.20±2.65
Extrait organique	309.57±7.07

Tableau 12: Résultats du dosage des falvonoides totaux, des extraits Rubus ulmifolius.

Discussion

Le screening phytochimique quantitatif a montré que la plante contient

184.20±2.65(ugCeq/mg EX) flavonoïdes dans l'extrait aqueuxx parmi, et a montré que la plante contient dans l'extrait organique parmi 309.57±7.07(ugCeq/mg EX)

ceci s'explique par le fait les hétérosides sont hydrosolubles et également solubles dans les alcools (Grotenwold, 2006).

Ces résultats nous donnent une bonne prévision concernant l'activité biologique de la plante, malgré qu'elle soit générale et imprécise, elle reste encourageante surtout que ces composés phytochimiques dont on a prouvés la présence sont connus par leurs effets pharmacologiques et d'être impliqués dans de nombreuses activités biologiques (Tableau 13).

Polyphénols	Activités	Auteurs
Acides Phénols (cinnamiques et benzoïques)	Antibactériennes Antifongiques Antioxydantes	Didry et al., 1982 Ravn et al., 1984 HayaseetKato.,1 984
Coumarines	Protectrices vasculaires et Antioedémateuses	MabryetUlubelen.,1980
Flavonoides	Antitumorales Anticarcinogènes Anti-inflammatoires Hypotenseurs et diurétiques Antioxydantes	Stavric et Matula.,1992 Daset al., 1994 Bidet et al., 1987 Bruneton, 1993 Aruomaetal., 1995
Anthocyanes	Protectrices veineux	Capillaro-Bruneton.,1993
Proanthocyanidines	Antioxydantes Antitumorales Antifongiques Anti-inflammatoires	Bahorun.,1997 DeOliveiraetal., 1972 Brownlee et al., 1992 Kreofskyet al., 1992
Tannins galliques et catéchiques	Antimicrobien	Okuda et al., 1983 Okamuraetal., 1993 Milalet al., 1996

Tableau 13: *Quelques activités biologiques des polyphénols.*

IV.3 Evaluation des activités biologiques in vitro

IV 3.1 L'activité antioxydante et antiradicalaire

Dans ce qui suit, nous présentons les résultats du potentiel antioxydant des extraits de feuilles de plante sélectionnée pour cette étude. L'activité antioxydante des différents

extraits de feuilles de la plante vis-à-vis du radical DPPH a été évalué spéctrophotométriquement en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagnepar son passage de la couleur violette à la couleur jaune. Cette capacité de réduction est déterminée par une diminution de l'absorbance induite par des substances anti radicalaires (Majhenic et al., 2007).

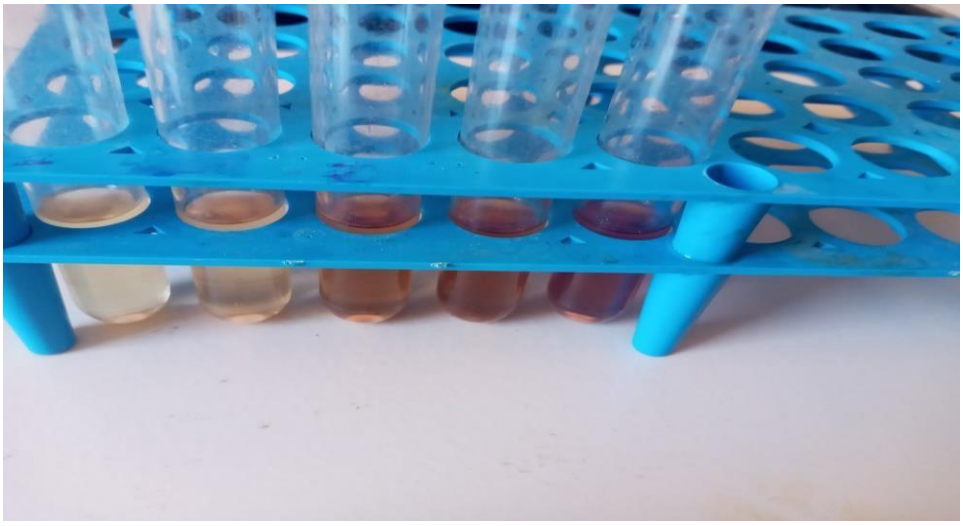

Figure 32: Extrait aqueux vis-à-vis du radical DPPH

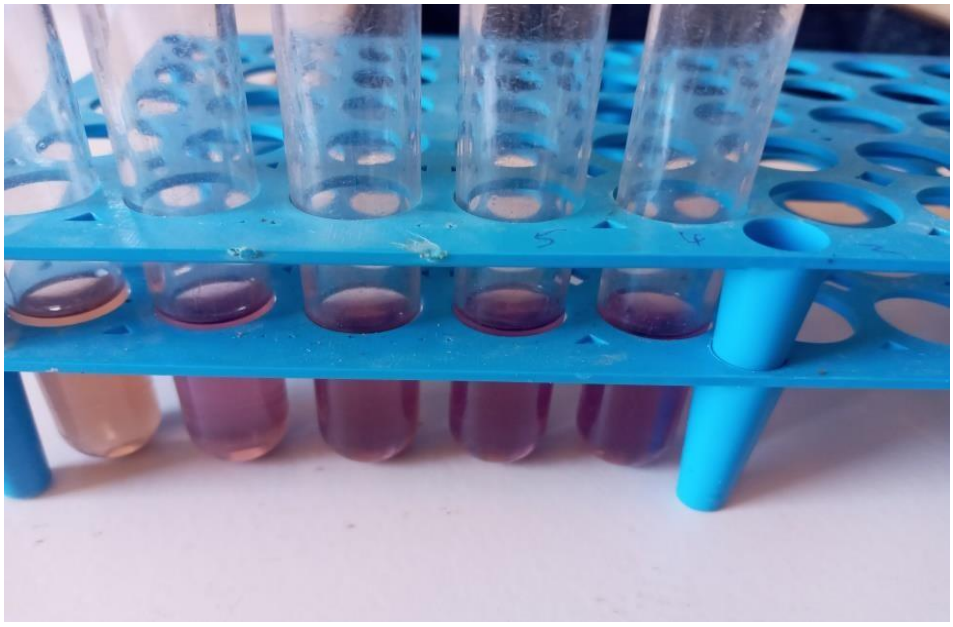

Figure 33: Extrait organique vis-à-vis du radical DPPH.

Résultats

Cette méthode est fréquemment utilisée pour sa simplicité, rapidité et sensibilité (NurAlamet al., 2013). Le résultat de l'activité antioxydante des extraits de feuilles selon l'équation: Y=0,012 x + 29.94; sachant que $R^2$0.862 pour l'extrait organiqueet Y=0,0003x + 16.82;

sachant que R^2=0.801 pour l'extrait aqueux. Les résultats sont présentés dans la Figure 34.

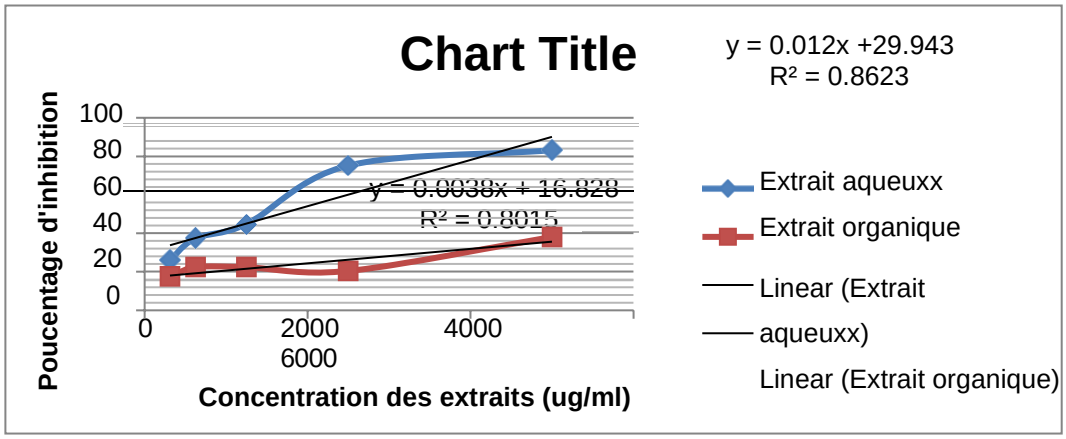

Figure 34: Courbe de pourcentage d'inhibition du radical DPPH en fonction des concentrations des extraits

En outre, dans le but d'identifier les sites potentiels au sein des flavonoides qui sont responsables de l'effet antiradicalaire vis-à-vis du radical DPPH, plusieurs travaux ont étudié le mécanisme réactionnel des flavonoides avec ce radical stable. Amic et al., (2003) ont mis en évidence la relation structure fonction de 29 flavonoides (flavones, Flavonol et flavanones) et leurs capacités de piéger le DPPH.

Détermination des IC50

IC50 exprime la concentration capable de piéger 50% du radical DPPH. Ce paramètre est utilisé pour estimer l'activité antioxydante. Une IC50 faible représente l'activité anti radicalaire la plus élevée (Molyneux, 2004). A partir des courbes de la figure nous pouvons déterminer la valeur d'IC50 de chaque extrait de Rubus ulmifolius. Les valeurs des concentrations des IC50 sont rapportées dans le Tableau 14 suivant:

	IC50 µg / ml
Extrait aqueux	1671.41
Extrait organique	8729.47

Tableau 14: Valeurs des concentrations d'IC50.

D'après le Tableau 14 ci-dessus, on remarque que l'extrait aqueux de Rubus ulmifolius est le plus actif avec un IC50 de l'ordre de 1671.41 µg / ml. Par contre, l'extrait organique faible activité anti radicalaire avec 8729.47 µg / ml.

Tous les extraits ont un pouvoir antiradicalaire envers le DPPH plus la valeur de l'CI50 est petite plus l'extrait est considéré comme un antioxydant puissant (Kadri et al., 2011). La plus part des études menées sur ce contexte expliquent les variations de l'activité antioxydante en fonction des solvants d'extraction par la polarité de ces derniers qui influent sur les rendements

d'extraction et par conséquent sur la composition phytochimique et sur le potentiel antioxydant (Barwick, 1997; Kolar et al., 2002; Yang et al., 2014).

Certains auteurs ont suggéré que la variation de l'activité antioxydante en fonction des solvants d'extraction est due essentiellement à leurs variabilité dans leurs profils d'absorbance de DPPH (Shizuka et Kawabata, 2005; Sharma et Bhat, 2009). Autres chercheurs ont démontré qu'il existe une corrélation entre l'activité antioxydante et l'intensité de la couleur de l'extrait; ils ont remarqué qu'un extrait de couleur foncée à une teneur élevée enpolyphénols et par conséquent une forte activité antioxydante (Frankel et al., 1998; Bretta et al., 2005). Cette constatation n'est pas était confirmé par notre étude car l'extrait acétate d'éthyl à partir des feuille de notre espèce d'étude présente une forte teneur en flavonoides totaux et une activité antioxydante moyenne par rapport l'extrait aqueux.

IV.3.2 L'activité antimicrobiènne

L'activité antimicrobienne se manifeste par l'apparition d'un halo d'inhibition de la croissance microbienne autour du puits contenant l'extrait (EX AC; EX AC) à tester. Le résultat de cette activité est exprimé par le diamètre de la zone d'inhibition et peut être symbolisé par des croix. La souche ayant un diamètre La souche ayant un diamètre D <8mm, 9mm ≥ D ≤ 14mm, 15mm ≥ D ≤19mm, D> 20mm est considérée respectivement comme souche résistante (-), sensible (+), très sensible (++), extrêmement sensible (+ + +) (Duraffourd et al., 1990; Ponce et al., 2003).

Les résultats du test de l'activité antimicrobiènne des extraits (EX AC; EX AQ) de feuilles sur les souches: Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Pseudomonas aueus, sont illustrés par le Tableau 15 et les Figures 35, 36 et 37.

	Concentration de l'extrait mg/ml	***Diamètre de la zone d'inhibition***		
		Escherichia coli	**Staphylococcs aureus**	**Pseudomonas aeruginosa**
Extrait organique	1 :5 mg/ml	13	23	25
	2 :2.5mg/ml	13	20	15
	3 :1.25mg/ml	13	15	10
	4 :0.625mg/ml	12	12	10
Extrait aqueux	1 :5 mg/ml	10	13	12
	2 :2.5mg/ml	10	11	10
	3 :1.25mg/ml	0	9	0
	4 :0.625mg/ml	0	0	0

Tableau 15: Sensibilité des différentes souches vis-à-vis des extraits de feuilles de la Ronce.

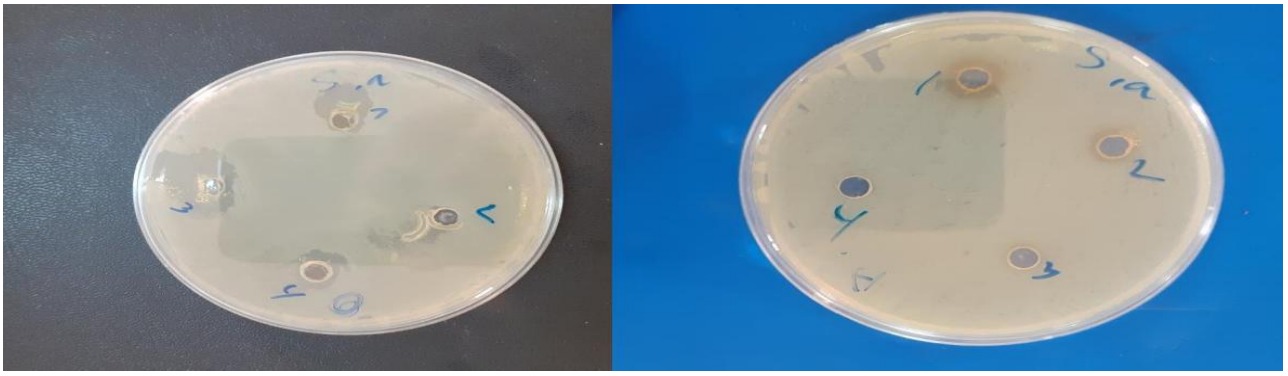

Figure 35: Photo montrant l'effet antibactérien de de l'extrait organique et l'extrait aqueux de feuilles du Roncier contre Staphylococcus aureus.

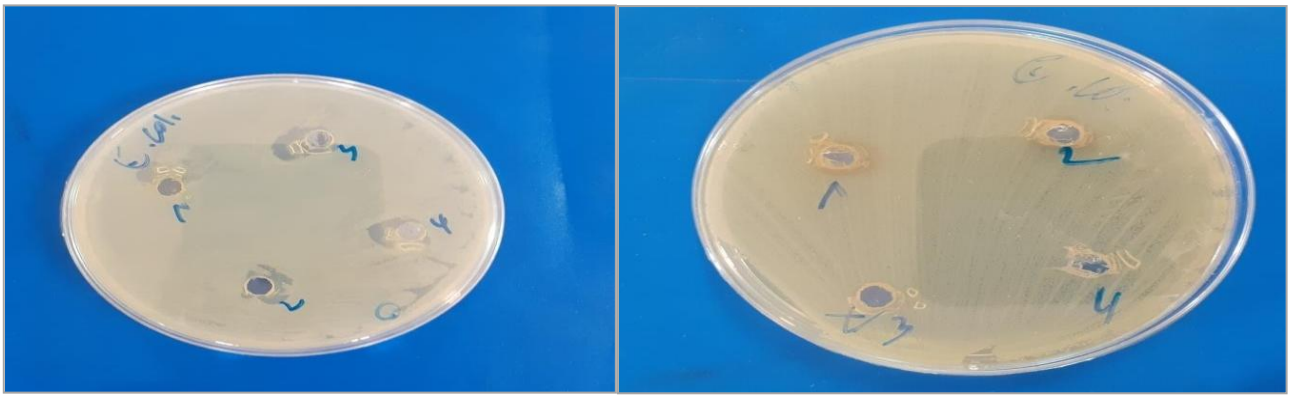

Figure 36: Photo montrant l'effet antibactérien de de l'extrait organique et l'extrait de feuilles du Roncier contre Escherichia coli.

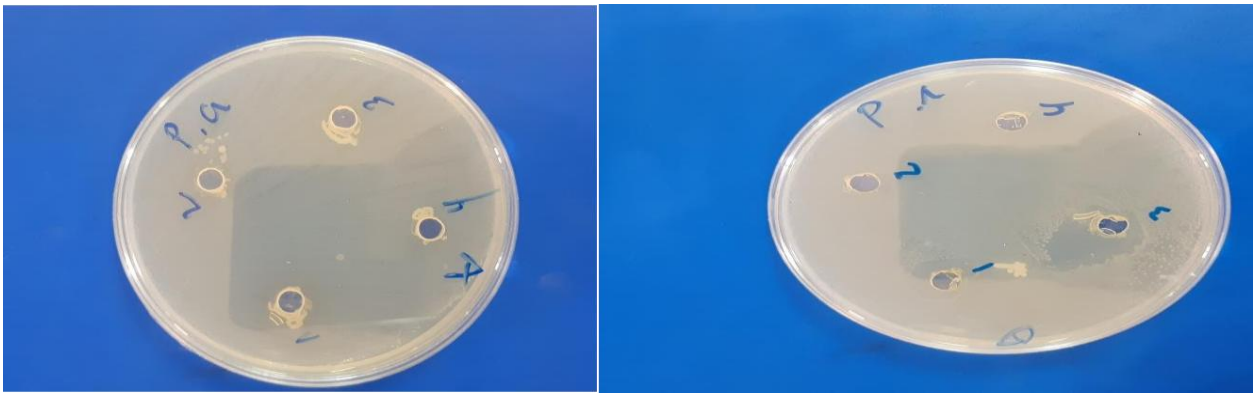

Figure 37: Photo montrant l'effet antibactérien de de l'extrait aqueux et l'extrait organique de feuilles du Roncier contre Pseudomonas aeruginosa.

Discussion

La résistance aux antimicrobiens est actuellement l'une des principales menaces pour l'humanité. L'émergence et la propagation rapide d'organismes multi résistants, qui a commencétrès tôt après l'introduction des antibiotiques mais s'est accélérée de façon marquée au cours de la dernière décennie, (tels que les organismes résistants à la vancomycine, à la méthicilline, à spectre étendu des β-lactamines) ont attiré l'attention sur la durabilité de la pratique médicale moderne dans le monde

(Moloney, 2016; Anyanwu & Okoye, 2017). A cet égard, les essais de criblage du pouvoir antimicrobien ont été réalisés par la méthodede diffusion en milieu gélosé. C'est un test préliminaire et qualitatif recommandé, afin d'avoir une idée sur le potentiel inhibiteur des extraits de feuilles de Rubus ulmifolius.

En utilisant la méthode de diffusion dans le milieu de gilose (Miller Hinton), on a constate que tous les souches testes sont sensibles aux l'extrait (EX AC; EX AQ) de feuilles de la Rubus ulmifolius. Les trois souches utilisées ont plus sensibles de l'extrait organique de feuilles de la Rubus ulmifolius (Rubus Ulmifolius) que ce de l'extrait aqueux. Ces résultats ont confirmé l'existence de composés antimicrobiens dansla majorité des extraits de feuilles de Rubus ulmifolius testés et ont validé l'utilisation de cette plante en médecine traditionnelle contre les maladies infectieuses.

Au regard des résultats de l'activité antibactérienne de sextraits (EX AC; EX AQ) de feuilles de la Rubus ulmifolius, nous avons observé que :

Ex.Ac est celui qui a montré l'activité antibactérienne la plus élevée vis-à-vis de Pseudomonas aeruginosaavec des diamètres d'inhibitions allant de 10 mm à 25 mm. Au meme Sur Staphylococcus aureus l'extrait organique de feuilles de la Rubus ulmifolius a montré une réduction de croissance plus élevée (zone d'inhibition de 9mm à 23 mm).Sur *E. coli,* il estmodérément actif enregistrant des auréoles dont le diamètre est de 9 mm à 13mm.

La variation de l'effet entre les extraits de feuilles de la Rubus ulmifolius est peut être due à plusieurs facteurs; Premièrement, la variation de la composition chimique explique les variations observées dans l'activité antimicrobienne des extraits pour la même plante. La composition chimique des extraits de plantes peut être influencée par de multiples facteurs, incluant l'espèce à laquelle appartient la plante prélevée, le matériel végétal (feuilles, fleurs, rameaux, fruits…) utilisé, ainsi que le procédé employé pour réaliser l'extraction (nature du solvant utilisé pour l'extraction).

La combinaison de ces divers paramètres semble être une explication aux différences d'activité observées entre les extraits de feuilles de la Rubus ulmifolius. En plus de la nature des métabolites secondaires, la teneur en polyphénols et en flavonoïdes entre les extraits testés peut être une explication probable de cette différence (Paiva *et al.* 2010). Il est à noter aussi que l'efficacité optimale d'un extrait peut ne pas être due à un constituant actif principal. Mais à l'action combinée « synergie » de différents composés à l'origine de cet extrait (Silva & Fernandes Júnior, 2010**)**. Comme rapporté dans la littérature, les antibiotiques d'origine végétale ont un potentiel thérapeutique énorme. Ils sont efficaces dans le traitement des maladies infectieuses tout en atténuant simultanément de nombreux effets secondaires qui sont souvent associés aux antimicrobiens synthétiques. Les effets médicinaux bénéfiques des matières végétales résultent typiquement des combinaisons de produits secondaires présents dans la plante. Un mécanisme de résistance aux maladies chez les plantes est

leur capacité à accumuler ces substances antimicrobiennes à la suite d'une infection, ces composés sont principalement des métabolites secondaires, tels que les alcaloïdes, les saponines, les huiles essentielles, les composés phénoliques, les flavonoïdes,…etc. (Rahmatullah *et al.* 2012; Wink, 2010; Kapoor *et al*. 2015; Dhiman *et al.* 2016).

Les mécanismes de l'action antimicrobienne des métabolites secondaires des plantes sont sans doute très complexes et ils ne sont pas entièrement compris, mais plusieurs études ont été menées dans ce sens. Ces métabolites pourraient agir suivants plusieurs mécanismes et avoir plusieurs cibles cellulaires, plutôt qu'un seul site d'action spécifique. Dixièmement, la sensibilité d'un microorganisme aux extraits des plantes dépend aussi des propriétés du microorganisme lui-même. Il est communément admis que les bactéries GRAM+ sont plus sensibles aux extraits et que les bactéries GRAM- le sont moins. (Kalemba *et al.* 2003). Le mode d'action des agents antimicrobiens dépend également du type de bactéries et est principalement lié à la structure de leur paroi cellulaire et à l'arrangement de la membrane externe (Kalemba et al. 2003).La sensibilité différentielle des bactéries GRAM+ et GRAM- aux extraits de plantes peut s'expliquer par les différences morphologiques entre ces microorganismes. Chez les bactéries à GRAM-, le peptidoglycane est très fin et associé à une enveloppe externe complexe définissant un espace périplasmique. Cette membrane externe estune bicouche lipidique asymétrique hydrophobe constituée de phospholipides, de protéines (porines) et de lipopolysaccharides (LPS). Cependant, chez les bactéries à GRAM+, devraient être plus sensibles car elles n'ont qu'une couche extérieure de peptidoglycane qui n'est pas une barrière de perméabilité efficace (Kalemba et al. 2003; Lewis et Ausubel, 2006; Paiva et al. 2010).

Conclusion générale

Conclusion générale

Notre pays possède une biodiversité immense dont chaque plante se caractérise par un réservoir assez important de molécules actives avec des caractéristiques thérapeutiques et pharmacologiques particulières qui méritent d'être exploitées.

L'objectif principal de ce travail était l'étude phytochipique des éxtrais des feuilles du rubus ulmifolius. Dans notre étude nous nous sommes intéressés surtout à l'étude de l'effet antidiabétique et antioxydant, parce qu'elle a montré une activité antioxydante.

L'étude phytochimique a mis en évidence la présence: des polyphenole et des flavonoïdes et une activité anti- radicalaire dans les feuieelles de la plante Rubus ulmifolius.

De cette étude, nous pouvons ressortir les points suivants:

L'évaluation quantitative des polyphénols totaux par la méthode de Folin-Ciocalteu a révélé la présence de quantités importantes de polyphénols dans les extraits de la plantes étudiée. Cependant, l'extrait organique est les plus riches en polyphénols que ceux de l'extrait aqueux. En parallèle, la quantification des flavonoïdes a été effectuée par la méthode de trichlorure d'aluminium. Les résultats obtenus par ce dosage nous ont permis de conclure que les teneurs en flavonoïdes dans l'extrait organique est les plus riches que ceux de l'extrait aqueux.

L'étude microbiologique avait pour but d'évaluer le pouvoir antibactérien des déferents extraits (aqueux et organique) obtenus à partir des feuilles de la plante étudiée, ces tests ont été réalisés sur trois souches bactériennes en utilisant la méthode de diffusion en milieu Miller Hilton. Les extraits ont révélé des activités antibactériennes variables vis-à-vis des différentes souches microbiennes testées: en fonction du type d'extrait et ses concentration ainsi que la résistance ou bien la sensibilité de la souche microbienne. Ceci offre à la médecine un potentiel qui peut être valorisé dans le cadre d'une étude pharmacologique.

Les résultats obtenus au cours de cette étude ont révélé un effet inhibiteur intéressant des extraits de feuilles de Rubus ulmifolius (extrait aqueux et organique) sur l'activité d'anti-oxydante.

Cette inhibition est proportionnelle à la concentration de l'extrait, plus en augment la concentration plus le pourcentage d'inhibition est importante.

Selon les résultats de l'analyse phytochimique des extraits testé cette activité est probablement liée à la richesse de cette plante en polyphenols et en flavonoïdes.

De ce fait, Rubus ulmifolius Schott, peut être recommandée dans la prévention du diabéte et des pathologies impliquant une production excessive de radicaux libres.

Perspectives

La médecine traditionnelle en Algérie utilise les feuilles de mûres sauvages pour soigner les brulures dans les premières semaines, aussi de diminuer la tension artérielle. Cependant, peu d'études expliquent ces propriétés. Le perspective, il serait intéressant de:

- ✓ Améliorer l'extraction des polyphénols et des flavonoïdes en salive artificielle d'un intérêt certain pour la santé humaine pour se rapprocher des conditions in vivo.
- ✓ Déterminer la composition des molécules bioactivess responsables de la baisse de tension artérielle, probablement due, à l'existence de l'acide Gamma Amino Butyrique (GABA) qui contrôle l'équilibre de la tension artérielle, comme dans les feuilles de mûrier blanc (Gérard, 2013).
- ✓ Faire des études approfondies sur le mécanisme d'action des molécules bioactives des feuilles pour expliquer leur effet sur les brûlures.
- ✓ Déterminer le mécanisme hypoglycémiant : effet sur la sécrétion de l'insuline, effet sur le tansporteur intestinal Glut2, effet sur les enzymes digestives (α-amylase, maltase…), effet sur la synthèse du glycogène…

Annexe

Spectrophotomètre UV-Visibl

Balance analytique

Etuve (mennert)

Références bibliographiques

Références bibliographiques:

1. Abdelkebir K (2014). Les Marqueurs Biologiques Des Complications Du Diabète Sucré. Thèse de Magistère en Physiologie Cellulaire & Moléculaire Akbaraly, T.N., et al., Plasma selenium and risk of dysglycemia in an elderly French population: resultsfrom the prospective Epidemiology of VascularAgeingStudy. NutrMetab (Lond), 2010. 7: p. 21.UniversiteConstantine1, 98 P.
2. Akbaraly, T.N., et al., Plasma selenium and risk of dysglycemia in an elderly French population: resultsfrom the prospective Epidemiology of VascularAgeingStudy. NutrMetab (Lond), 2010. 7: p. 21.
3. American Diabetes Association, « Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus », Diabetes Care 33, no 1 (2009): S62-S69.
4. American Diabetes Association. Standards of Medical Care in Diabetes. American Diabetes Association. Diabetes Care 2014; 37(Suppl. 1). :http://care. diabetesjournals.org/content/37/ Supplement_1/S 14 .full. Consulté le 15 Sept 2015.
5. American Diabetes Association. Ways to Give to the American Diabetes Association [Internet]. Alexandria, Virginie: ADA (USA); c1995 [updated 02 Fév 2015]. : http://www.diabetes.org/donate/. Consulté le 16 Nov 2015.
6. American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. Diabetes Care 2012;35 (Suppl 1):64-71.
7. Amiot M-J, Riollet C, Landrier J-F (2009). Polyphenols et syndrome metabolique. Elsevier Masson SAS. Vol 5, No 3: 476-482.
8. Ammon HP, Hagele R, Youssif N.A possible role of intracellular and membrane thiols of rat pancreatic islets in calcium uptake andinsulin release.*Endocrinology*, 1983, 112:720-726.
9. Anonyme., 2003 -ANAT : Dossier agro-pédologique. Schéma directeur desressources en eau (Biskra).Schéma synoptique de l'AEP : 50 p.
10. Anonyme., 2008 -L'ABC du conseiller agricole, Fiche technique, Synthèse des connaissances de base sur l'écologie des vers de terre. 28-04-2008.
11. Astrup A. The role of dietary fat in obesity. Semin. Vasc. Med., 2005 ; 5 :40-7.
12. Atallah S., 2007. Metabolic Disturbance in Diabetic Patients with and without Urinary Ketone Bodies. Thèse de doctorat en Biologie. Université de Constantine.9-11.
13. Atlas mondial de diabète, fédération internationale de diabète, 8ème édition In :

http://www.idf.org/diabetesatlas/5e/Update2017.

14. Atlas mondial de diabète, fédération internationale de diabète, 9ème édition In : http://www.idf.org/diabetesatlas/5e/Update2019.
15. Azmir J., Zaidul I.S.M., Rahman M.M., Sharif K.M., Mohamed A., Sahena F., Jahurul M.H.A., Ghafoor K., Norulaini N.A.N. & Omar A.K.M., 2013: Techniques for Extraction of Bioactive Compounds from Plant Materials. A Review.Journal of Food Engineering 117, 426-436
24. Fehri B, Aiache JM, Memmi A. Hypotension, hypoglycémie et hypouricémie enregistrées à la suite d'administration réitérée d'un extrait aqueux de feuilles d'Olea europaea L. Journal de la Pharmacie Belge. 1994 ;49(2): 101-8.
25. Ferdjellah A.,Ghemari R., 2013. Essai d'évaluation du dispositif de prise en charge des diabétiques de la ville de Bejaia ; cas de la clinique Beau Séjour. Mémoire de Master en sciences économiques. Faculté des Sciences Economiques, des Sciences Commerciales et des Sciences de Gestion. Université A-Mira de BEJAÏA. 13-17.
26. Féry F, Paquot N. Etiopathogénie et physiopathologie du diabète de type 2. Rev Med Liege. 2005;60(5-6):361-8.
27. Folta K M et GardinerS.G, 2009. Genomics. Genetics and economics of rosaceae. Ed: springer, vol :6. 617 p.
28. Frankel, S., Robinson, G.E. & Berenbaum, M.R. (1998). Antioxidant capacity correlated to characteristics of 14 unifloral honeys. Journal of Apicultural Research, 37, 27-31.
29. Ghedadba N, Bousselsela H, Hambaba L, Benbia S, Mouloud Y. 2014. Évaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne des feuilles et des sommités fleuries de Marrubium vulgare L. Phytothérapie 12(1):15-24.
30. Ghedadba N, Hambaba L, Ayachi A, Aberkane M, Bousselsela H, Oueld-Mokhtar S. 2015. Polyphénols totaux, activités antioxydante et antimicrobienne des extraits des feuilles de Marrubium deserti de Noé. Phytothérapie 13(2):118-129.
31. Ghestem A., Seguin E., Paris M., and Orecchioni A.M. (2001). Le préparateur en pharmacie dossier 2èmeEd TEC&DOC. Paris. pp275. (cited in Djemai Zoueglache S, 2008).
32. Gray, M., and Flatt, R. 1997. Nature's own pharmacy: the diabetes perspective. Proceedings of the *Nutrition Society*. 56: 507-517.
33. Grover, J.K., Yadav, S., Vats, V., 2002. Medicinal plants of India with anti-diabetic potential. J. Ethnopharmacol. 81, 81–100. doi:10.1016/S0378-8741(02)00059-4.
34. Guariguata L, Linnenkamp U, Beagley J, et al. Global estimates of the prevalence of hyperglycaemia in pregnancy. Diabetes Res Clin Pract. 2014;103:176-185.
35. Guendouz A., Hamza Zerigat I., 2018. Etude comparative des différents paramètres lipidiques chez

les diabétiques de type 1 et 2 et enquête ethnobotanique des plantes médicinales antidiabétiques dans l'ouest Algérien. Mémoire de Master en biologie. Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie. Université Abdelhamid Ibn BadisMostaganem.34p.

36. Guillausseau, P., Laloi-Michelin, M., 2003. Pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. La Revue de medecine interne 24, 730–737.
37. Guillausseau, P.J, Meas, T., Virally, M., Laloi-Michelin, M., Ambonville, C., Kevorkian, J.P. (2008). Insulinosécrétion et diabète de type 2, Médecine des maladies Métaboliques 1 : s21-s24.
38. Gunawardana SC. Benefits of healthy adipose tissue in the treatment of diabetes. World J Diabetes 2014;5(4): 420-430.
39. Hamza N.(2011). Effets préventif et curatif de trois plantes médicinales utilisées dans la Wilaya de Constantine pour le traitement du diabète de type 2 expérimental induit par le régime « high fat » chez la souris C57BL/6J. Thèse de doctorat en technologie alimentaire.UniversitéMentouri. Constantine ; 125-154 p.
40. Haleng J, Pincemail J, Defraigne J O, Charlier C, ChaPelle JP (2007).Le stress oxydant.Rev Med Liege.62 : 10 : 628-638.
41. Halimi A, 1997. les plantes médicinales. Compte rendu. 290 p.

Hammer K.2004, Ceffareli S., Perrino P et Laghetti G. Dynamics of rubusulmifoliusanoplothyrsussudre and other cultivated blackberries in italy. Generic ressources and grop evolution, vol: 51. 237-239 p.

42. Hansen LL, Ikeda Y, Olsen GS, Busch AK, Mosthaf L.Insulin signaling is inhibited by micromolar concentrations of H2O2. Evidence for a role of H2O2 in tumor necrosis factor alpha-mediated insulin resistance.
66. J. Biol. Chem., 1999, 274(35):25078-84.
67. Hdidou Y., 2015. LE SUIVI DE L'ENFANT DIABETIQUE (A propos de 92 cas). Faculté de Médecine et de Pharmacie. Université Sidi Mohammed Ben Abdellah. Thèse du Doctorat en Médecine. 34-36p.
68. Hennen G., 2001. La Glande Thyroïde. In : Hennen G. Endocrinologie, De Boeck Université, Paris. 229-276p.
69. HIRST M., 2013 - ATLAS du DIABETE de la FID 6e édition. Fédération Internationale du Diabète. P13-22-23-24-47.
70. Hotta M, Tashiro F, Ikegami H, Niwa H, Ogihara T, Yodoi J, Miyazaki J.Pancreatic beta cell-specific expression of thioredoxin, an antioxidative and antiapoptotic protein, prevents autoimmune and streptozotocin-induced diabetes.J. Exp. Med., 1998, 188(8):1445-51
71. Hur NW, Kim HC, Nam CM, et al. Smoking cessation and risk of type 2 diabetes mellitus: Korea medical insurance corporation study. Eur J Cardiovasc Prev Rehabil 2007;14(2):244-249.
72. Kadri, A., Zarai, Z., Békir, A., Gharsallah, N., Damak, M., & Gdoura, R. (2011). Chemical

composition and antioxidant activity of Marrubium vulgare L. essential oil from Tunisia. African journal of biotechnology, 10 (19), 3908-3914.

73. Kalemba, D., Kalemba, D., Kunicka, A., Kunicka, A., 2003. Antibacterial and antifungal properties of essential oils. Curr. Med. Chem. 10, 813–29.
74. Kahn B, Flier J. – Obesity and insulin resistance. J Clin Invest 2000; 106: 473-781.
75. Kahn CR. Insulin action, diabetogenes, and the cause of type II diabetes. Diabetes 1994;43:1066-1084.
76. Knowler WC, Barrett-Connor E, Fowler SE , et al. Reduction in the incidence of type 2 diabetes with lifestyle intervention or metformin, N Engl J Med, 2002, vol. 346 6 (pg. 393- 403).
77. Ko, G. T., & Cockram, C. S. (2005). Causes et effets : le tabac et le diabète. 50.
78. Kone D. 2009. Enquête ethnobotanique de six plantes médicinales maliennes -extraction identification d'alcaloïdes- caractérisation, quantification de polyphénols : étude de leur activité antioxydante. thèse docteur de l'université de Bamako.
79. Kralik PM, Xu B, Epstein PN.Catalase transfection decreases hydrogen peroxide toxicity in a pancreatic beta cell line.Endocr. Res., 1998, 24(1):79-87.
80. . Kubisch HM, Wang J, Luche R, Carlson E, Bray TM, Epstein CJ, Phillips JP. Transgenic copper/zinc superoxide dismutase modulates susceptibility to type I diabetes. Proc. Natl. Acad. Sci. USA., 1994, 91(21):9956-9.
81. Kubisch HM, Wang J, Bray TM, Phillips JP.Targeted overexpression of Cu/Zn superoxide dismutase protects pancreatic beta-cells against oxidative stress.Diabetes, 1997, 46(10):1563-6.
82. Lamdjadani A-Kh., Bouazza A., 2017. Étude épidémiologique sur les facteurs de risque associes au diabète de type 2. Mémoire de Master en Analyses Biologiques et Biochimiques. faculté des Sciences de la Nature et de la Vie. Université Abdelhamid Ibn Badis MOSTAGANEM. 26-39p.
83. Langenberg C, Sharp SJ, Franks PW, et al. Gene-Lifestyle Interaction and Type 2 Diabetes: The EPIC InterAct Case-Cohort Study. PLOS Med 2014;11(5):14p.
84. Lapillonne A. Retard de croissance intra-utérin et devenir à l'âge adulte. Bull Acad Natle Med 2011 ; 195 : 477-85.
85. Lenzen S, Drinkgern J, Tiedge M.Low antioxidant enzyme gene expression in pancreatic islets compared with various other mouse tissues.Free Radic. Biol. Med., 1996, 20(3):463-6.
86. Lewis, K., Ausubel, F.M., 2006. Prospects for plant-derived antibacterials. Nat. Biotechnol. 24, 1504–1507.
87. Li, W. L., Zheng, H. C., Bukuru, J. & De Kimpe, N. (2004). Natural medicines used in the traditional Chinese medical system for therapy of diabetes mellitus. Journal of Ethnopharmacology, 92(1), 1-21.
88. Lönnrot, M., Korpela, K., Knip, M., Ilonen, J., Simell, O., Korhonen, S., ... & Hyöty, H. (2000). Enterovirus infection as a risk factor for beta-cell autoimmunity in a prospectively observed birth

cohort: the Finnish Diabetes Prediction and Prevention St.

89. Lortz S, Tiedge M, Nachtwey T, Karlsen AE, Nerup J, Lenzen S.Protection of insulin-producing RINm5F cells against cytokine-mediated toxicity through overexpression of antioxidant enzymes.Diabetes, 2000, 49(7):1123-30.
90. Maunand, B (2002) Diabéto. l'infirmière en diabétologie. LAMARRE. France, 211
91. Marles, R., Farnsworth, N. (1995). Antidiabetic plants and their active constituents. Phytomedicine, 2(2), 137-189.
92. Marles RJ., Farnsworth NR., 1995.Antidiabetic plants and their active constituents. Phytomedicine; 2:137-89.Marrif H I., Ali B., Hassan K M. Some pharmacological studies on Artemisia herba alba (Asso).in rabbits and mce..kwnal of ethnopharmacology.1995,49,51 55.
93. Majhenic L., kerget M.S., Knez Z. (2007). Antioxidant and antimicrobial activity of guarana seed extracts. Food Chemistry, 104, 1258–1268.
94. Milal., Scalbert A and Expert D. (1996). Iron wth-holding by plant polyphénols and resistance to pathogens and rots. Phytochemestry 42: 1551-1555.
95. Mohd-Esa, N., Shin Hern, F., Ismail, A., & Lye Yee, C. (2010). Antioxidant activity in different parts of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) extracts and potential exploitation of the seeds. *Food Chemistry, 122,* 1055–1060.
96. Mukherjee, P. K., Maiti, K., Mukherjee, K., & Houghton, P. J. (2006). Leads from Indian medicinal plants with hypoglycemic potentials. Journal of Ethnopharmacology, 106(1), 1-28 Grankvist K, Marklund SL, Täljedal IB.
97. Mukherjee, P. K., Maiti, K., Mukherjee, K., & Houghton, P. J. (2006). Leads from Indian medicinal plants with hypoglycemic potentials. Journal of Ethnopharmacology, 106(1), 1-28.
98. Malek R., Belateche F., Laouamri S., Hamdi-cherif M (2001). Prévalence du diabète de type 2 et de l'intolérance du glucose dans la région de Sétif (Algérie). Diabètes Metab. (Paris). 27 : 164-71.
99. Malek R., 2008. Épidémiologie du diabète en Algérie : revue des données, analyse et perspectives. Médecine des maladies Métaboliques. V2. N (3): 298-302.
100. Martinerie C, Marchal PO, Antoine B, et al. NOV/CCN3 : une nouvelle adipokine impliquée dans l'insulino-resistance associée à l'obésité?. Ann Endocrinol 2014; 75(5- 6):280.
101. Monnier, L. (2017). Réduire de manière concomitante l'exposition chronique au glucose et les fluctuations glycémiques dans le diabète de type 2 : Est-ce possible ? *Médecine Des Maladies Métaboliques*, *11*(2), 115–124.
102. Mouraux T., Dorchy H., 2005. Le poids de l'obésité dans le (pré)diabète de type 2 chez les enfants et adolescents : quand et comment le rechercher ? Archives de Pédiatrie. V12. V(12) : 1779-1784p.
103. Monnier, L., Colette, C., 2010. Insulinothérapie dans le diabète de type 1 et de type 2. Monnier L, éditeur. Diabétologie. Issy-les-Moulineaux: Elsevier-Masson 119–34.
104. Nakayama M, Inoguchi T, Sonta T, Maeda Y, Sasaki S, Sawada F, Tsubouchi H, Sonoda N,

Kobayashi K, Sumimoto H, Nawata H.Increased expression of NAD(P)H oxidase in islets of animal models of Type 2 diabetes and its improvement by an AT1 receptor antagonist.Biochem. Biophys. Res. Commun., 2005, 332(4):927-33.

105. National Diabetes Data Group. Classification and diagnosis of diabe-tes mellitus and other categories of glucose intolerance. Diabetes,1979, 28, 1039-5.

106. Noémie T., 2017. DIABETE DE TYPE II : PLACE DE LA PHYTOTHERAPIE DANS LE TRAITEMENT ET LA PREVENTION DES COMPLICATIONS. Thèse pour le Diplôme d'État de Docteur en Pharmacie. Faculté de santé. Université d'angers. 12 p.

107. Nur'Alam Md., Bristi N. J. and Rafiq uzzaman Md., 2013. Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity. Saudi Pharmaceutical Journal. 21, 143–152.

108. Oliver, S. A. B,.Vittorio,O.C.,Cirilloe, G.,Cyrille, B.(2016).Enhancing the therapeutic effects of polyphenols with macromolecules. formal of the royal society of chemistry.

109. OMS(2016). Rapport mondial Sur le diabète. Organisation mondiale de la Santé, Genève (Suisse), 88p. ISBN 978 92 4 256525 6.

110. Paiva, P., Gomes, F., Napoleão, T., 2010. Antimicrobial activity of secondary metabolites and lectins from plants. Curr. Res. 396–406.

111. Park H.J. Et Cha H.C., 2003-Flavonoids from leaves and exocarps of the grape Kyoho.

Korean journal of biological society. 7 : 327-330.

112. Park, K., et al., Toenailselenium and incidence of type 2 diabetes in U.S. men and women. Diabetes Care, 2012. 35(7): p. 1544-51.

113. Patel M, Verma R & Srivastav P. (2012). Antioxidant Activity of Boerhavia diffusa Extract. IJPPR, 6 (3): 598-605.

114. Pinent M., Blay M., Blade M. C., Salvado M. J., Arola L., & Ardevol A. (2004) Grape seed-derived procyanidins have an antihypergl ycemic effect in streptozotocin-induced diabetic rats and insulinomimetic activity in insulin-sensitive cell lines. Endocrinology 145: 4985-4990.

115. Perlmuter L et Thomas J(2006). Diabétologie, Affections Métaboliques: Soins.

116. Rahmatullah, M., Rahman, T., Jahan, R., 2012. Anti-Malarial Plants Used in Folk Medicine in Bangladesh, in: Mahendra, R., Geoffrey, A.C., Martínez, J.L., Marinoff, M., Rastrell, L. (Eds.), Medicinal Plants Biodiversity and Drugs. Taylor & Francis Group, Boca Raton, p. 24.

117. Rao, S., Solis, L.E., & Raghunathan, T.S. (1999). A framework for international quality management research: Development and validation of a measurement instrument. Total Quality Management, 10(7), 1047–75.

118. Rayman, M.P., Selenium and humanhealth.Lancet, 2012. 379(9822): p. 1256-68.

119. Ríos, J. L., Francini, F., & Schinella, G. R. (2015). Natural products for the treatment

of type 2 diabetes mellitus. Planta Med, 81(12-13), 975-94.

120. Rigalleau, V., Lang, J., Gin, H. (2007).Étiologie et physiopathologie du diabète de type 2. Endocrinologie-Nutrition 10-366-D-10. Doi:10.1016/S1155-1941(07)46586-6.

121. Rodier M(2001). Définition et classification du diabète. Médecine Nucléaire - Imagerie fonctionnelle et métabolique -, 29 : 91-93.

122. Romli H (2016). Prise en charge et traitement Du diabète de type 2. Thèse de Doctorat en Pharmacie «Université Mohammed V Rabat », Maroc, 194 p.

123. Rudich A, Tirosh A, Potashnik R, Hemi R, Kanety H, Bashan N.Prolonged oxidative stress impairs insulin-induced GLUT4 translocation in 3T3-L1 adipocytes.*Diabetes*, 1998, 47(10):1562-9.

124. Sahnine N.,Yahiaoui Y., 2018. Analyse des moyens à mettre en œuvre pour lutter contrele diabète : Cas CHU l'hôpital bellou aTizi- Ouzou. Mémoire de Master en Science Economique. Faculté des sciences économiques, commerciales et des sciences de gestion. Université mouloud mammeri de tizi-ouzou. 13-18p.

125. Sharma, A., Shanker, C., Tyagi, L.K., Singh, M., Rao, C. V, 2008. Herbal Medicine for Market Potential in India: An Overview. Acad. J. Plant Sci. 1, 26–36.

126. Shulman G I. Cellular mechanisms of insulin resistance. J Clin Invest 2000;106:171-176.

127. Singh, A.K., Attrey, D.P., Deep, P., Dubey, S., Naved, T., Roy, B., 2014. Acute & Sub- Acute Toxicity Studies Of Pharmacologically Active Seabuckthorn Leaf Extract Plant material. Int. J. Pharm. Pharm. Sci. 6, 415–419.

128. Skim F., Kaayaa A., Jaouharib J.T., Lazrekb H.B., Janab U.M., El Amric H. (1999). Hypoglycaemic activity of Globularia alypum leaves in rats. Fitoterapia., 70:382-9.

129. Slama G., 2000. Prise en charge du diabète de type 2 non insulinodépendant. Montrouge, France. Edition John Libbey Euro text. 104p.

130. Sobhi Widad (2014) : Caractérisation de l'huile des graines de Nigella sativa et étude de son activité hypoglycémiante et son hépato-toxicité. Thèse de Doctorat, Faculté des sciences de la nature et de la vie , Université Ferhat Abbas Sétif 1

131. Stalikas CD (2007). Extraction, separation, and detection methods for phenolic acids and flavonoids. J Sep Sci. Vol 30, No 18: 3268 – 3295.

132. Stranges, S., et al., Effects of long-termseleniumsupplementation on the incidence of type 2 diabetes: arandomized trial. Ann Intern Med, 2007. 147(4): p. 217-23

133. Talamini G, Bassi C, Falconi M, et al. Alcohol and smoking as risk factors in chronic pancreatitis and pancreatic cancer. Dig Dis Sci 1999;44(7):1303-1311.

134. Teuscher E., Anton R., et Lobstein A., 2005 : Plantes aromatiques : épices, aromates, condiments et huiles essentielles. Ed. Tec. & Doc. Lavoisier, Paris. Pp :

300- 304.

135. Ticli B., 1997. L'herbier de santé. 1°édition. Paris. Edition VECCHISAO, 01 : 206.

136. Tiedge M, Lortz S, Munday R, Lenzen S.Protection against the co-operative toxicity of nitric oxide and oxygen free radicals by overexpression of antioxidant enzymes in bioengineered insulin-producing RINm5F cells.Diabetologia, 1999, 42(7):849-55.

137. Timón IM, Collantes CS, Galindo AS, Cañizo-Gómez FJ. Type 2 diabetes and cardiovascular disease: Have all risk factors the same strength?. World J Diabetes 2014;5(4):444-470.

138. Tsubouchi H, Inoguchi T, Inuo M, Kakimoto M, Sonta T, Sonoda N, Sasaki S, Kobayashi K, Sumimoto H, Nawata H.Sulfonylurea as well as elevated glucose levels stimulate reactive oxygen species production in the pancreatic beta-cell line, MIN6-a role of NAD(P)H oxidase in beta-cells,Biochem. Biophys. Res.Commun., 2005, 7:60Ŕ65.

139. Uchizono Y, Takeya R, Iwase M, Sasaki N, Oku M, Imoto H, Iida M, Sumimoto H. Expression of isoforms of NADPH oxidase components in rat pancreatic islets.Life Sci., 2006, 80(2):133-9.

140. Voet D, Voet JG.Biochimie, 2ème édition.Edition De Boeck, 2005.

141. Vuorela, S. (2005) Analysis, isolation, and bioactivities of rapeseed phenolics. Helsinki.

142. Wehrlen L., 1985. La Rubus ulmifolius (Rubus fruticosus L. agg.) en forêt, vol :37, n° : 4. 288- 304 p.

143. Wipfli H, Samet JM. Global economic and health benefits of tobacco control: part1. Clin Pharmacol Ther 2009;86:263-271.

144. Yeh HC, Duncan BB, Schmidt MIs, et al. Smoking, smoking cessation, and risk for type 2 diabetes mellitus. Ann Intern Med 2010;152(1):10-17