



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE SAAD DAHLAB BLIDA 1
DEPARTEMENT DE BIOTECHNOLOGIE



MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES
présenté pour l'obtention du diplôme de master 2

Option : Biotechnologie végétale

Sous l'intitulé :

**Evaluation des activités biologiques de l'extrait
aqueux de *Zygodhylum Album* in vitro**

Réalisé par :

BELARIBI Yacine

Devant le jury :

M ^{me}	Présidente	MOUMENE S
M ^{me}	Examinatrice	BOUCHENAK F
M ^{me}	Promotrice	AYADI R
M ^{me}	Co promotrice	AINOUZ L

Année universitaire : 2018/2019

Remerciements

Ma reconnaissance et mes vifs remerciements s'adressent ;

Au bon Dieu, le tout puissant de nous avoir donné le courage, la force et la volonté pour réaliser ce modeste travail.

A mon encadreur *M^{me}AYADI R.* Pour son attention, sa générosité scientifique.

Qu'elle trouve ici l'expression de toutes nos gratitude, et nos sincères remerciements pour son soutien permanent.

A mes dames, *M^{me}AYNOUZ L.* et *M^{me}BELKADI A.* de nous avoir encadré durant notre pratique, pour leur conseils, leur soutien.

Je tiens vivement à remercier les membres du jury :

M^{me} la présidente *MOUMENE S*, *M^{me}* l'examinatrice *BOUCHENAK F*

J'aimerais également remercier l'ingénieur de laboratoire "BIOCHIMIE MEDICALE", pour son aide tout au long de la réalisation de ce travail.

Mes remerciements s'adressent aussi à tous ceux qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire.

Dédicaces

Dédicace

*Je m'incline devant Dieu tout puissant qui m'a ouvert la porte du savoir
et m'a aidé la franchir.*

Je dédie ce modeste travail :

À la mémoire de mes grands parents

Mes chers parents, pour leur endurance et leurs sacrifices sans limites

*Mon frère Bedredine, Mes sœurs Nassima, Halima et Harima en
reconnaissance de leurs affections toujours constante*

À ma famille maternelle et paternel

À ma fiancée Feryel, et sa famille

À Mes amis

À Tous mes enseignants

À tous ceux qui m'ont aidé dans la réalisation de ce mémoire

Liste des figures

Figure 1 : Structures chimiques de quelques alcaloïdes isolés de *Peganum harmala* [40].

Figure 2 : Exemples des structures triterpènes isolés d'espèces de la famille *Zygophyllaceae* [40].

Figure 3 : La plante de *Zygophyllum album* (55).

Figure 4 : Structure de l'acide ascorbique (97).

Figure 5 : Structure de la vitamine E (98).

Figure 6: Structure de la β -carotène (99).

Figure 7 : Partie aérienne de *Zygophyllum album L*

Figure 8 : Population de levure *Saccharomyces cerevisiae* observée au microscope optique (A) et morphologie d'une cellule observée au microscope électronique à balayage (B) (106).

Figure 9 : préparation de l'extrait aqueux (la filtration).

Figure 10 : Antioxydants utilisés comme standards dans le test.

Figure 11 : Détermination de l'activité d'un antioxydant par le test DPPH^o (108).

Figure 12 : Préparation de la solution DPPH .

Figure 13 : Protocole de la préparation de la suspension de levure « *Saccharomyces cerevisiae* » (110).

Figure 14 : Schéma récapitulatif du protocole d'inhibition, par l'extrait, de l'absorption du glucose par la levure (110).

Figure 15 : Courbe d'étalonnage qui exprime le pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction des différentes concentrations de la Vitamine C.

Figure 16 : Courbe d'étalonnage qui exprime le pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction des différentes concentrations de bêta-carotène.

Figure 17 : Courbe d'étalonnage qui exprime le pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction des différentes concentrations de l'extrait aqueux de *Z. album*.

Figure 18 : Histogramme comparatif des IC50 exprimé en mg/ml.

Figure 19: Histogramme exprime %I d'inhibition de l'absorption du glucose par la levure sous l'effet d'extrait aqueux ZA (EZA) comparer avec deux médicaments standards de référence metformine(M) et Glimépiride(G) à une concentration de glucose de 5 mM.

LISTE DES FIGURES

Figure 20 : Histogramme exprime %I d'inhibition de l'absorption du glucose par la levure sous l'effet d'extrait aqueux ZA (EZA) comparer avec deux médicaments standards de référence metformine(M) et Glimépiride(G) à une concentration de glucose de 10 mM.

Figure 21 : Histogramme exprime %I d'inhibition de l'absorption du glucose par la levure sous l'effet d'extrait aqueux ZA (EZA) comparer avec deux médicaments standards de référence metformine(M) et Glimépiride(G) à une concentration de glucose de 25 mM.

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Quelques composés flavoniques isolés d'espèces de cette famille. [40]

Tableau 2 : Quelques structures de lignanes isolés de *Larrea tridentata* [40]

Tableau 3 : Plantes médicinales utilisées dans le traitement du diabète [84].

Tableau 4 : Appareillages utilisés au cours de l'expérimentation.

Tableau 5 : Verreries utilisées au cours de l'expérimentation.

Tableau 6 : Réactifs chimiques utilisé au cours de l'expérimentation.

Tableau 7 : Tableau exprime les trois IC50 (Vit C, Bc, EZA).

%AA	pourcentage de l'activité anti-oxydante
Abs	Absorbance
AOX	antioxydant
Bc	Bêtacarotène (β carotène)
DMSO	Diméthylsulfoxyde (C_2H_6OS)
DPPH	2,2-diphényl-1-picrylhydrazine
DTG	Diabète gestationnel
DTI	Diabète type I
DTII	Diabète type II
ED	Eau distillé
EZA	Extrait aqueux de zygophyllum album
G	Glucose ($C_6H_{12}O_6$)
GLUT	Glucose Transporter
Gly	Glimépiride
I%	Calcul du pourcentage d'inhibition
IC50	Concentration causant une inhibition de 50% d'une activité
Met	Metformine
OMS	Organisation mondiale de la santé
RA	Réactif d'antrone
RL	Radicaux libres
ROS	Réactive Oxygène Species
SGLT	Sodium-Glucose Linked Transporter
Vit c	Vitamine C (acide ascorbique)
Z.a	Zygophyllum album

GLOSSAIRE

Analgésie : est la diminution ou la suppression de la sensibilité à la douleur¹ dans un but thérapeutique (soulager la douleur). Elle consiste à interrompre la transmission du signal neuronal de douleur depuis la zone lésée, en souffrance, vers le cerveau. L'analgésie congénitale peut désigner plusieurs maladies génétiques ayant en commun une insensibilité à la douleur.

Anesthésie : est la suppression des sensations. Elle vise à permettre une procédure médicale qui autrement serait trop douloureuse. L'anesthésie peut viser un membre, une région ou l'organisme entier. L'anesthésie loco-régionale est aussi pratiquée dans les cas de douleurs chroniques.

Contention : dans le domaine médical est l'action d'entraver la mobilité d'un patient. Elle reprend un ensemble de dispositifs et de procédés destinés à immobiliser une partie ou la totalité du corps humain.

Endémisme : est un terme utilisé en biologie pour indiquer que la distribution d'un taxon est limitée à une zone géographique connue et qu'elle ne se trouve naturellement nulle part ailleurs dans le monde. Par conséquent, quand une espèce est endémique à une certaine région, cela signifie qu'il n'est possible de ne la trouver naturellement que là.

Étiologie : En médecine, l'étiologie (ou étiopathogénie) est l'étude des causes et des facteurs d'une maladie. Ce terme est aussi utilisé dans le domaine de la psychiatrie et de la psychologie pour l'étude des causes des maladies mentales. L'étiologie définit l'origine d'une maladie en fonction des manifestations sémiologiques.

Néphropathie diabétique : est une des complications les plus fréquentes et les plus redoutables du diabète sucré, qui fait craindre l'évolution vers une insuffisance rénale chronique. Elle concerne à la fois le diabète de type 1 et de type 2, mais l'évolution de la maladie est sensiblement différente dans ces deux cas : le diabète de type 1 fait redouter l'insuffisance rénale en premier lieu, alors que la néphropathie diabétique du type 2 a surtout un mauvais pronostic cardio-vasculaire.

Neuropathie : est une atteinte du système nerveux. C'est l'une des complications du diabète. Lorsque le taux de sucre dans le sang demeure trop élevé sur une longue période de temps, cela peut endommager les nerfs, surtout ceux des membres inférieurs (neuropathie périphérique). Certains organes peuvent également être affectés, tels que le cœur, les organes génitaux, l'estomac, les intestins et la vessie.

Paludisme : est une maladie potentiellement mortelle due à des parasites transmis à l'homme par des piqûres de moustiques femelles infectés.

Rétinopathie diabétique (atteinte des yeux : œil et rétine) : est une grave complication du diabète qui touche 50% des patients diabétiques de type 2. Les yeux sont particulièrement sensibles à l'atteinte des petits vaisseaux. En France, la rétinopathie diabétique est la première cause de cécité avant 65 ans.

Résumé

L'objectif de ce présent travail consiste à l'évaluation des deux activités biologiques de l'extrait aqueux de *Zygodium album*, *in vitro*.

Tous les tests sont effectués *in vitro* en maintenant la réglementation européenne des techniques alternatives à l'expérimentation animale (**trois R**).

La poudre de la plante séchée est utilisée pour préparer l'extrait aqueux. Ensuite, cet extrait dilué est utilisé afin de tester deux effets biologiques de la plante.

Le 1er consiste à évaluer l'activité antioxydante sur **DPPH** et le second est de tester l'activité antidiabétique.

L'absorbance des solutions est mesurée par spectrophotométrie.

La capacité antioxydante (**IC50**) est comparée à des molécules de référence Vitamine C et Bêta-carotène, et le **taux d'inhibition** du glucose est comparé avec des molécules standards le Metformine et Glimépiride.

Les résultats obtenus au cours de notre étude montrent que l'extrait aqueux de *Zygodium album* possède une faible activité antioxydante (**IC50** = 5,51 mg.ml⁻¹). Par contre il possède une forte activité antidiabétique.

Mots clés : Extrait aqueux de *Zygodium album*, **DPPH**, antioxydante, antidiabétique, **IC50**, taux d'inhibition.

Abstract

The purpose of this present work is to evaluate the two biological activities of the aqueous extract of *zygophyllum album*.

All the tests are performed in vitro by maintaining the regulation of alternative techniques to animal experimentation (3R).

The powder of the dried plant is used to prepare the aqueous extract. then, this diluted extract is used to test two biological effects of the plant. The first one is to evaluate the antioxidant activity on DPPH and the second one is to test the anti-diabetic activity. The absorbance of the solutions is measured by spectrophotometry.

The antioxidant capacity (IC₅₀) is compared to vitamin C and β-carotene molecules, and the glucose inhibition rates are compared with standard molecules that are metformin and glimepiride.

The results obtained during our study show that the aqueous extract of *zygophyllum album* possesses a weak antioxidant activity (IC₅₀ = 5.51 mg.ml⁻¹), on the other hand it possesses a strong antidiabetic activity.

Key words: Aqueous extract of *zygophyllum album*, DPPH, antioxidant, antidiabetic, IC₅₀, inhibition rate.

الملخص

الهدف من هذا العمل هو تقييم النشاطين البيولوجيين للمستخلص المائي *Zygodphyllum album*. يتم إجراء جميع الاختبارات في المختبر من خلال الحفاظ على التنظيم الأوروبي للتقنيات البديلة للاختبارات الحيوانية (3R).

يستخدم مسحوق النبات المجفف لتحضير المستخلص المائي ، ثم هذا المستخلص المخفف يستخدم لاختبار اثنتين من الآثار البيولوجية للنبات.

الأول هو تقييم نشاط مضادات الأكسدة على DPPH والثاني هو اختبار النشاط المضاد لمرض السكري، ويتم قياس امتصاص المحاليل الطيفية. تتم مقارنة قدرة مضادات الأكسدة (IC50) مع الجزيئات المرجعية فيتامين C وبيتا كاروتين ، ويتم مقارنة معدل تثبيط الجلوكوز مع الجزيئات القياسية Glimépiride وMetformine

أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها خلال دراستنا أن المستخلص المائي ل *Zygodphyllum album* له نشاط مضاد للأكسدة منخفض (IC50 = 5.51 mg.ml-1) من ناحية أخرى لديه نشاط مضاد للسكري قوي.

الكلمات المفتاحية : المستخلص المائي ل *Zygodphyllum album* ، DPPH ، مضادات الأكسدة ، مضادات لمرض السكري ، IC50 ، معدل تثبيط

Recherche bibliographique

1	GENERALITE SUR LA PLANTE	3
1.1	Famille des Zygophyllacées	3
1.2	Intérêts biologiques de la famille des Zygophyllaceae	3
1.3	Métabolites secondaires isolés de la famille des Zygophyllaceae	4
1.3.1	Alcaloïdes	4
1.3.2	Composés flavoniques	5
1.3.3	Lignanes	6
1.3.4	Triterpenoides	7
1.4	L'espèce Zygophyllum album	8
1.4.1	Classification botanique	8
1.4.2	Description de Zygophyllum album	9
1.4.3	Ecologie et répartition géographique	9
1.4.4	Usages traditionnels	10
2	Généralités sur le diabète	10
2.1	Introduction	10
2.2	Métabolisme glucidique	11
2.3	Diabète sucré	12
2.3.1	Classification	12
2.3.2	Apports de la phytothérapie dans le traitement du diabète	13
3	Stress oxydatif	14
3.1	Définition du stress oxydatif	14
3.2	Origine du stress oxydatif	15
3.3	Antioxydants d'origine alimentaire	15

3.3.1	Acide ascorbique : vitamine C	15
3.3.2	- Vitamine E	16
3.3.3	- β carotène	17
3.4	Apports de la phytothérapie dans le traitement du stress oxydatif	17
3.5	Sources de radicaux libres	18
3.5.1	Sources exogènes	18
3.5.2	Sources endogènes de radicaux libres	18
3.6	Diabète et stress oxydant	18
4	Les techniques alternatives à l'expérimentation animale	19

Matériel & méthodes

1	Matériel	20
1.1	Matériel biologique	20
1.1.1	Zygophyllum album	20
1.2	Matériels non biologiques	21
2	Méthodes	22
2.1	Préparation de l'extrait aqueux de ZA	22
2.1.1	Préparation de la poudre	22
2.1.2	Préparation de l'extrait aqueux de Zygophyllum album	23
2.2	Test de l'effet antioxydant de Z. album par la méthode de piégeage du radical libre DPPH	23
2.2.1	Principe	24
2.2.2	Mode opératoire	25
2.3	Test de l'effet antidiabétique de Z. album	26

2.3.1 Principe 26

2.3.2 Mode opératoire 27

Résultats & discussions

1 Activité anti-oxydante 29

2 Activité antidiabétique de Z. album 33

Conclusion & perspectives

Le diabète constitue l'un des problèmes majeurs de santé publique en Algérie, en particulier le diabète de type 2 et ce en raison de l'explosion de son incidence sur la population générale [1]. Sur une population estimée à 32 millions d'habitants, et selon la Fédération Algérienne des associations des diabétiques, le nombre de diabétiques a atteint le chiffre de 2 millions et selon la Société Algérienne de diabétologie, 90 % de la population des diabétiques présentent le diabète de type 2 et 10 % de type 1 [2].

Les plantes occupent une place de choix dans la vie humaine. Toutes les civilisations connues utilisaient des plantes sauvages ou cultivées pour la nutrition, la défense, l'habillement ou comme traitement. Ces utilisations ont varié dans le temps pour s'adapter aux besoins. Les plantes médicinales ont connu les mêmes changements. Ils sont parfois utilisés de manière traditionnelle. La flore algérienne est potentiellement riche, beaucoup d'espèces endémiques peuvent y être. Nous partageons avec les méditerranéens et les pays du Sahel un large éventail de composés et d'éléments phytochimiques d'un intérêt grandissant d'où la nécessité et l'importance de ce travail de recherche [3].

Au fil des siècles, une première distinction a pu être faite entre plantes comestibles et toxiques. Les connaissances empiriques accumulées ont permis aux différentes civilisations de prendre les plantes comme source essentielle de médicaments. Jusqu'au début du 20ème siècle, presque tous les médicaments étaient à base de plantes [4]. Quelles que soient les parties et les formes sous lesquelles elles sont utilisées, les plantes sont extrêmement riches en constituants complexes (métabolites secondaires) utilisés en phytothérapie [5].

De nos jours, et surtout dans les pays du tiers monde, la phytothérapie occupe encore une place importante. La flore de ces pays reste assurément riche et prometteuse, tant dans la perspective de découvrir de nouvelles espèces botaniques que de trouver de nouvelles molécules ayant une activité thérapeutique, pour la mise au point de nouveaux médicaments [4]. Plusieurs études indiquent que l'augmentation du stress oxydatif et la production excessive de produits de glycation avancée des protéines, conduisent au moins en partie à un dysfonctionnement qui contribue au développement des complications diabétiques [6].

Plusieurs problèmes nous ont poussé à chercher dans le monde végétal sur des solutions naturelles loins des médicaments, le premier problème est le fait que les médicaments visent à diminuer les symptômes de la pathologie et non pas à la traiter à fond c'est-à-dire elles ne corrigent pas le processus anormale qui a fait apparaître cette maladie, en plus prenons

l'exemple de la fonction rénale qui peut être altérée par de nombreux troubles en particulier le diabète, par l'exposition à de hauts niveaux de substances toxiques.

De ce fait, si on arrive à sélectionner des plantes dotées de propriétés thérapeutiques, en particulier, anti-diabétique et de développer des compléments à base de ces plantes, on pourra réduire nettement les posologies et les fréquences de prise des médicaments et par conséquent se débarrasser de certains effets secondaires causés par ces derniers.

L'objectif de notre présent travail vise à évaluer, *in vitro*, deux activités biologiques (antidiabétique et anti oxydante) des extraits aqueux de *Zygodium album*, et qui sera présenté comme suit :

Un premier chapitre qui comprend des généralités sur des produits naturels issues de plantes, le diabète et le stress oxydatif et la relation entre les deux.

Un deuxième chapitre expérimental portant sur l'étude *in vitro* des deux activités biologiques de l'extrait aqueux de *Zygodium album*.

Un troisième chapitre qui comporte les résultats obtenus et des discussions sur ces derniers.

Enfin, une conclusion et des perspectives sur notre thématique.

1 GENERALITE SUR LA PLANTE

1.1 Famille des *Zygophyllacées*

Les *Zygophyllaceae*, dans la classification de **Sheahan et Chase (1996, 2000)**, forment une famille d'environ 285 espèces subdivisées en cinq sous-familles et environ 27 genres. Ils sont constitués d'arbres, d'arbustes et d'herbes essentiellement confinés aux zones arides et semi-arides des régions tropicales et subtropicales [7].

Les *Zygophyllacées* forment plus de 3% de la flore de notre désert. ce groupe est le plus intéressant de toute la flore nord-africaine [8].

Généralement, ces plantes renferment 10 étamines, le plus souvent, à stipules unies, un ovaire de 4 à 5 carpelles, et possède un ou plusieurs ovules par loge. Ses fruits, sont en général, capsulés, loculicides, ou septicides, se dissociant en coques, parfois bacciformes, ou drupacés [9].

1.2 Intérêts biologiques de la famille des *Zygophyllaceae*

Beaucoup d'espèces de cette famille ont des propriétés thérapeutiques remarquables, et sont utilisés en médecine traditionnelle. Dans ce qui suit, nous allons citer quelques exemples d'espèces de très grande importance thérapeutique :

- *Balanite aegyptiaca* : c'est une plante riche en saponines [10,11] elle a plusieurs activités: Anti-inflammatoires, anti-oxydantes, anti-nociceptives [12], anti-fongiques [13], anti-septiques, anti-malaria, anti-syphiliques et anti-virales [14,15], traditionnellement, ses extraits aqueux sont utilisés dans le traitement de la jaunisse et le diabète [16].
- *Larrea divaricata* : c'est une plante populaire en médecine, elle est utilisée dans le traitement des tumeurs, des maladies inflammatoires, des rhumatismes et de la fièvre [17-18].
- *Larrea tridentata* : c'est une plante désertique [19], elle est largement utilisée dans la thérapeutique, ses extraits peuvent soigner l'acné et les psoriasis et en même temps ont

des effets cicatrisants, anti-fongiques et anti-viral [20-21], elle a aussi des activités analgésiques, anti-inflammatoires et anti-oxydantes [22-23].

- *Peganum harmala* : ses extraits sont utilisés dans le traitement, de diabète et l'hypertension artérielle [24].
- *Zygophyllum eichwaldii* : cette espèce a des propriétés nombreuses, anti-septiques, anti-eczéma, anti-diabétiques, anti-bactériennes et anti-fongiques [25].
- *Zygophyllum coccineum* : c'est une plante commune en médecine traditionnelle dans les pays méditerranéens, elle est utilisée contre le rhumatisme, la goutte et l'hypertension [26], et le diabète [27].
- *Zygophyllum gaetulum*: très connue avec ses propriétés anti-diabétiques [28], elle est également anti-spasmodique, anti-eczéma et un bon remède pour l'estomac [29].
- *Zygophyllum geslini* : cette espèce est utilisée contre le diabète [30], elle a également des activités cytotoxiques [31].
- *Zygophyllum album* : ses extraits aqueux sont utilisés dans le traitement des diarrhées [32] et du diabète [33]. Ils sont carminatifs, anti-septiques, et stimulants [34].

Le genre *Zygophyllum* est le plus répondu de la famille [35].

1.3 Métabolites secondaires isolés de la famille des *Zygophyllaceae*

1.3.1 Alcaloïdes

Le terme **alcaloïde** a été introduit pour la première fois par le pharmacien allemand **Karl Wilhem Meissner** [36]. Les **alcaloïdes** représentent un groupe très vaste de métabolites secondaires avec structure, distribution et activités biologiques diverses [37]. Ils sont extraits en majorité (15%-30%) à partir de plantes à fleurs [38], en effet, environ 10.000 alcaloïdes de structures différentes ont été isolés à partir de plusieurs plantes regroupées en ~300 familles [39] (Figure 1).

On peut également trouver 40 **alcaloïdes** dans la même plante par exemple : *Vinca major*. Concernant la famille des *Zygophyllaceae*, la production d'**alcaloïdes** est signalée chez l'espèce *Peganum harmala* [40].

<i>Fagonia arabica</i>	Isorhamnetine-3-O-glucoside Isorhamnetine-3-O-rutinoside Herbacetine-3-O-rutinoside Herbacetine-3,7-diglucoside Herbacetine-3-O-rutinoside-7-O-glucoside
<i>Fagonia molliscomplex</i>	Kaempferol-3-O-rutinoside Isorhamnetine-3-O-rutinoside
<i>Fagonia taekholmiana</i>	Isorhamnetine-3-O-glucoside Isorhamnetine-3-O-rutinoside Herbacetine-3-O-rutinoside Herbacetine-3,7-diglucoside Herbacetine-3-O-rutinoside-7-O-glucoside Apigenine Apigenine-7-O-glucoside Kaempferol-3-O- glucoside Kaempferol-3,7-di-O-rhamnoside Kaempferol-3-O-β-L-arabinopyranosyl-(1→4)-α-l-rhamnopyranoside-7-O-α-L- rhamnopyranoside Quercetine Quercetine-3-O-glucoside
<i>Fagonia tristis</i>	Kaempferol-3-O-rutinoside Isorhamnetine-3-O-rutinoside 8-methoxy herbacetine

1.3.3 Lignanes

Ces composés sont les dimères des unités de phenylpropane (C₆C₄) [35]. Ils sont isolés à partir de nombreuses plantes médicinales. Les travaux phytochimiques effectués sur la famille *Zygophyllaceae*, ont permis l'isolement de ces métabolites essentiellement de l'espèce *Larrea Tridentata* [42,43]. (Tableau 2)

Le tableau 2 : Quelques structures de lignanes isolés de *Larrea tridentata* [40].

Nom d'espèce	Nom de composés isolés
<i>Larrea tridentata</i>	<ul style="list-style-type: none"> • (7S, 8S, 7'S, 8'S)-3,3',4'-trihydroxy-4-methoxy-7,7'-epoxy-lignane. • Méso-(rel 7S, 8S, 7'R, 8'R)-3,4,3',4'-tetrahydroxy-7,7'-epoxy-lignane. • (E)-4,4'-dihydroxy-7,7'-dioxolign-8(8')-ène 3,4'-dihydroxy-3',4'-diméthoxy-6,7'-cyclo-lignane • 3'-déméthoxyisoguaiacine 4,4'-dihydroxy-3,3'-diméthoxy-6,7'-cyclo-lignane • 4,4'-dihydroxy-3,3'-diméthoxylignane • 3',4'-dihydroxy-3,4'-diméthoxylignane • 3,3'-dihydroxy-4,4'-diméthoxylignane

1.3.4 Triterpenoides

Les triterpènes (**Figure 2**), sont des composés dérivés de leur précurseur en C₃₀, le squalène, qui a été isolé initialement du foie de requin [44]. Ils sont largement distribués dans les deux règnes végétal et animal [45]. Ces métabolites sont isolés de nombreuses plantes appartenant à la famille *Zygophyllaceae* [46,47].

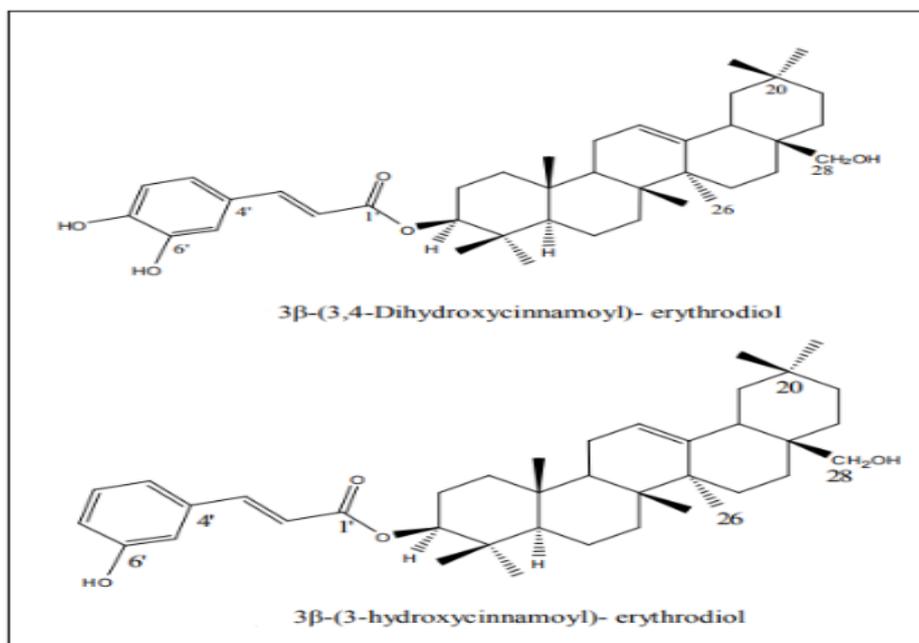


Figure 2 : Exemples des structures triterpènes isolés d'espèces de la famille *Zygophyllaceae* [40].

1.4 L'espèce *Zygophyllum album*

Le genre *Zygophyllum* est le plus grand de la famille avec environ 80 espèces et le seul genre de la sous-tribu *Zygophyllinae* qui existe dans l'Ancien Monde [48].

Zygophyllum album est l'un des plus grands fonds de plantes bénéfiques appartenant à la famille des *Zygophyllacées*, du genre *Zygophyllum* [49].

Ce sont des plantes très adaptées au milieu désertique par leur système de racines horizontales, qui parcourent de longues distances et absorbent la moindre goutte d'eau [50].

1.4.1 Classification botanique

La classification de *Zygophyllum album* la plus utilisée dans la systématique du genre *Zygophyllum* est celle donnée par Judd et al. [51] et que nous pouvons résumer comme suit :

- Règne : **Plantae**
- Phylum : **Angiospermes**
- Superdivision: **Spermatophyta** (seed plant)
- Division: **Magnoliophyta** (flowering plants)
- Classe : **Magnoliopsida** (Eudicotylédones)

- Sous-classe : **Rosidae II**
- Ordre : **Zygophyllales**
- Famille : **Zygophyllaceae**
- Genre : **Zygophyllum**
- Espèce : **Zygophyllum album**

1.4.2 Description de *Zygophyllum album*

Zygophyllum album c'est une plante vivace s'organisant en petit buisson très dense (**Figure 3**), pouvant dépasser les 50 cm de haut et 1 m de large, de couleur vert blanchâtre. Les tiges très ramifiées, les feuilles opposées, charnues, composées, à deux folioles. Les fleurs sont blanchâtres et les Fruits sont dilatés en lobe au sommet. Elles se rencontrent, en pieds isolés dans les zones sableuses, un peu salées, et en colonies sur de grandes surfaces, sur sols salés. Elles sont communes dans tout le Sahara septentrional (**52**). Elle possède un pédoncule fructifère bien plus court que le fruit. La partie libre des carpelles est aussi longue que la partie soudée (**53**).



Figure 3 : La plante de *Zygophyllum album* (**55**).

1.4.3 Ecologie et répartition géographique

Cette espèce est très commune sur les terrains salés et les pâturages désertiques du sud tunisien et elle est fréquente en Algérie. On la trouve, cependant, au Sahara central, dans la région de Djanet et au Sahara septentrional dans la région d'El Goléa [**56**].

1.4.4 Usages traditionnels

Cette plante possède plusieurs métabolites secondaires tels que les acides phénoliques, les flavonoïdes, les lignanes et les saponines.

La partie aérienne de cette espèce est utilisée en décoction, en poudre ou en pommade pour les traitements des diabètes, des indigestions et des dermatoses [57].

Des enquêtes locales montrent que *Z. album* est utilisée contre les courbatures et pour calmer la soif. Il est également utilisé pour le traitement des plaies, le traitement des caries dentaires et le lavage des vêtements et des cheveux. Les bourgeons sont utilisés en infusions pour les soins du visage [58]. En guise d'alternative, la recherche scientifique sur les plantes utilisées en médecine traditionnelle suscite de plus en plus d'intérêt, au-delà de l'identification de nouveaux agents phyto-médicinaux [59]. Certaines données phytochimiques sur *Z. album* ont été rapportées [60], bien que la composition chimique et les activités biologiques de *Z. album* n'aient pas été complètement élucidées.

Beaucoup d'espèces de ce genre ont des propriétés thérapeutiques remarquables, et sont utilisées en médecine traditionnelle. Nous allons citer un exemple d'espèces de très grande importance thérapeutique :

Z. album : ses extraits aqueux sont utilisés dans le traitement des diarrhées [61]. Et du diabète [62]. Ils sont carminatifs, antiseptiques, et stimulants [63]. Elle est également utilisée pour traiter les spasmes et des dermatites [64].

2 Généralités sur le diabète

2.1 Introduction

Le diabète sucré est une affection métabolique, caractérisée par une hyperglycémie chronique liée à une déficience, soit de la sécrétion de l'insuline, soit de l'action de l'insuline, soit des deux à la fois. Au cours de son évolution, le diabète peut engendrer de graves complications touchant le cœur, les vaisseaux, les yeux, les reins et les nerfs. Toutefois, un

bon contrôle de la maladie peut permettre de réduire considérablement les risques de complications [65].

En Algérie, il représente un problème de santé publique. Sa prévalence se situe entre 8 et 12 % selon différentes études épidémiologiques ; il y représente par ailleurs la quatrième cause de décès [66].

La médecine traditionnelle, basée sur l'utilisation des plantes médicinales pour le traitement de nombreuses maladies, dont le diabète sucré, est une pratique ancestrale qui continue à être utilisée. Au cours de ces dix dernières années sa popularité n'a fait qu'augmenter. Les informations ethnobotaniques recueillies dans plusieurs régions du monde estiment que plus de 1123 espèces végétales, soit plus de 725 genres appartenant à 183 familles, sont utilisées pour leurs propriétés hypoglycémiantes et anti hyperglycémiantes [67]. *Zygodium album* est parmi ces plantes dont l'extrait aqueux est utilisé dans le traitement des diarrhées [32] et du diabète [33].

2.2 Métabolisme glucidique

La concentration plasmatique du glucose est assurée par la production endogène de glucose. Cette concentration reste stable chez les sujets sains est égale à 5mmol/l. Tandis que chez les personnes diabétiques, cette moyenne varie d'une personne à une autre [69].

Physiologiquement, la glycémie ne varie que dans des limites étroites : 4 à 5 mmol /L à l'état basal. La régulation de la glycémie fait intervenir l'insuline et les hormones de contre régulation telles que le glucagon.

Les principales hormones, d'origine pancréatique sont au nombre de trois :

- L'insuline : synthétisée par les cellules β , qui est une hormone hypoglycémiante.
- Le glucagon : synthétisé par les cellules α , est une hormone hyperglycémiante.
- La somatostatine : synthétisée par les cellules Δ , qui est aussi une hormone hyperglycémiante.

L'augmentation du niveau de glucose plasmatique déclenche la sécrétion d'insuline par les cellules β des îlots de Langerhans [70]

La pénétration du glucose dans la cellule se fait par l'intermédiaire de deux récepteurs spécifiques qui sont des protéines transmembranaires : les co-transporteurs de glucose sodium (SGLT) et les transporteurs facilitateurs (GLUT 1-4), qui sont répartis en deux sous-groupes : Les GLUT 1-3 retrouvés au sein des différents organes dits insulino indépendants (principalement le foie, les reins, l'intestin, les cellules épithéliales et endothéliales et le cerveau). Le GLUT 4 qui est le transporteur stimulé par l'insuline, retrouvé au sein des tissus insulindépendants, c'est à dire le muscle squelettique, le cœur et le tissu adipeux.

En présence d'insuline le GLUT 4, qui est stocké dans les vésicules, est redistribué par translocation vers les membranes cellulaires permettant la captation du glucose.

Suite à l'action de l'insuline, la glycémie peut descendre à la normale, c'est alors que le glucagon, synthétisé par les cellules α , stimule au niveau hépatique, la glycogénolyse et surtout la néoglucogenèse, apte à résorber pendant plusieurs heures toute tendance hypoglycémique [71].

2.3 Diabète sucré

L'OMS le définit par une glycémie supérieure à 1,26 g/L (7mmol/L) après un jeûne de 8 heures vérifié par deux prises de sang consécutives, ou supérieur à 2g/L quel que soit l'heure du prélèvement en présence de symptômes clinique (polyurie, polydipsie et amaigrissement) [72].

C'est une pathologie du métabolisme du glucose provoquée par un dysfonctionnement des cellules β des îlots de Langerhans, sécrétrices de l'insuline, ou une mauvaise assimilation de cette dernière par les tissus périphériques (l'insulinorésistance) [73]

2.3.1 Classification

Selon l'étiologie et la physiologie, quatre grands groupes de diabète sont distingués selon la dernière révision de la classification du diabète [74] : Diabète de type I (DTI), Diabète de type II (DTII), Diabète gestationnel (DTG) et Autres types spécifiques de diabète.

2.3.1.1 Type 1

Le diabète de type I, également appelé diabète insulindépendant ou autre fois, diabète Juvénile, est un état d'hyperglycémie chronique, dû à une affection du pancréas endocrine dont les îlots de Langerhans ne secrète plus d'insuline (insulinopénie) [75] . C'est une forme

de diabète sucré qui apparaît de manière brutale chez l'enfant et l'adolescent, mais peut également survenir chez le jeune adulte (<40ans) et il concerne 10% des diabétiques.

On distingue deux sous-types dans la classification de l'American Diabètes Association [76]:

- Le diabète de type I (auto-immun) au cours duquel la destruction des cellules β par un processus auto-immun est authentifiée par la présence d'anticorps anti- cellules d'îlots.
- Le diabète de type (I idiopathique) caractérisé par l'absence d'auto-anticorps [76].

2.3.1.2 Type 2

Le diabète de type II, autrefois dit non insulino-dépendant ou diabète d'âge mûr. Il survient généralement chez les sujets d'âge mûr (plus de 40 ans). C'est la forme la plus répandue (90% des cas) dans toutes les régions de globe. L'hyperglycémie, dans le diabète de type II, est due à une réduction du captage du glucose et à une production glucosée hépatique excessive, liées à une diminution de l'insulinosécrétion [77].

L'insulinorésistance ou anomalie de l'action de l'insuline en périphérie, est la deuxième anomalie observée. Elle se traduit au niveau hépatique par une augmentation de la production de glucose et au niveau musculaire, par une diminution de l'utilisation du glucose [91-92].

Le diabète type II a un caractère familial et est souvent associé à un excès de poids (obésité), à l'hypertension artérielle et à l'hypertriglycéridémie [78].

2.3.2 Apports de la phytothérapie dans le traitement du diabète

L'expression « médecine traditionnelle » se rapporte aux pratiques, méthodes, savoirs et croyances en matière de santé qui impliquent l'usage à des fins médicales de plantes, pour soigner, diagnostiquer et prévenir les maladies ou préserver la santé [79].

Actuellement, selon les estimations de l'OMS, plus de 80 % de la population mondiale, surtout dans les pays sous-développés, ont recours aux traitements traditionnels pour satisfaire leurs besoins en matière de santé et de soins primaires [80]. Il est aujourd'hui largement reconnu que le monde végétal constitue la source majeure de médicaments, grâce à la richesse des produits dits du métabolisme secondaire.

Les plantes sont une source inépuisable de substances biochimiques : tanins, glucosides, et qui procurent des propriétés curatives appréciables et qu'aucune chimie

synthétique et combinatoire ne peut nous offrir. L'approche ethno -pharmacologique, qui vise à l'évaluation scientifique de l'ensemble des pratiques traditionnelles relatives à la médication par les plantes et les substances d'origine naturelle et la mise en évidence de leurs propriétés curatives, constitue la principale voie de découverte de nouvelles molécules candidates à servir de médicaments [81, 82].

Les informations ethnobotaniques recueillies dans plusieurs régions du monde estiment que plus de 1 200 espèces végétales, soit plus de 725 genres appartenant à 183 familles, sont utilisées pour leurs propriétés hypoglycémiantes et anti hyperglycémiantes [83, 84]. (Tableau 3)

Tableau 3: Plantes médicinales utilisées dans le traitement du diabète[84].

Nom scientifique	Nom commun	Partie utilisée	Forme administrées	Nombre de citation
<i>Allium cepa L</i>	Oignon	Bulbe	Jus	12
<i>Allium sativum L</i>	Ail	Bulbe Cru	cuit	16
<i>Coriandrum sativum L</i>	Coriandre	Graine	Poudre, infusion	40

3 Stress oxydatif

3.1 Définition du stress oxydatif

La recherche de ces deux dernières décennies a montré que de nombreuses pathologies humaines sont causées ou favorisées par le stress oxydant [85]. Lorsque l'un des systèmes protectifs de l'organisme contre la toxicité des radicaux libres (RL) montre un échec, l'action des radicaux libres devient incontrôlable, ce qui conduit à des dommages au niveau des molécules, des cellules, des organes et potentiellement à la mort de l'organisme [86].

La conséquence des effets nocifs des RL et des métabolites réactifs est dite stress oxydatif. Ce terme est défini initialement comme étant « Un déséquilibre profond de la balance entre les pro oxydants et les antioxydants en faveur des premiers » [87,88]. Cette définition ne signale aucun effet délétère d'un tel changement sur la fonction des tissus et n'indique pas l'origine de ce déséquilibre s'il est dû à une augmentation de la production des oxydants ou à une diminution de la capacité réductrice des tissus [89,90]. D'autres chercheurs ont dit que le stress oxydant désigne un état caractérisé par une augmentation de la génération des ROS (Reactive Oxygen Species) en ajoutant que ce terme est synonyme du dommage [91].

Selon les points de vue actuels, le stress oxydant peut être défini comme étant « un déséquilibre entre la production et l'élimination des métabolites réactifs de l'oxygène et du nitrogène en faveur de leur production conduisant à des dommages potentiels [92] et à des dégâts cellulaires irréversibles [92].

3.2 Origine du stress oxydatif

Les RL sont produits par divers mécanismes physiologiques car ils sont utiles pour l'organisme à doses raisonnables. Cette production physiologique est parfaitement maîtrisée par des systèmes de défense. Dans les circonstances normales, on dit que la balance antioxydants / pro oxydants est en équilibre. Si tel n'est pas le cas, que ce soit par déficit en antioxydants ou par suite d'une surproduction énorme de RL, un état de « stress oxydant » est signalé [93].

3.3 Antioxydants d'origine alimentaire

3.3.1 Acide ascorbique : vitamine C

La vitamine C est un antioxydant puissant (**Figure 4**). Elle participe dans les réactions avec la vitamine E et l'enzyme glutathion peroxydase pour neutraliser les radicaux libres. La vitamine C agit principalement en piégeant directement les ROS (majoritairement l'O₂·- et le ONOO·-). Elle est présente dans les légumes, les agrumes, et elle assure un rôle important dans la régénération de la vitamine E [97].

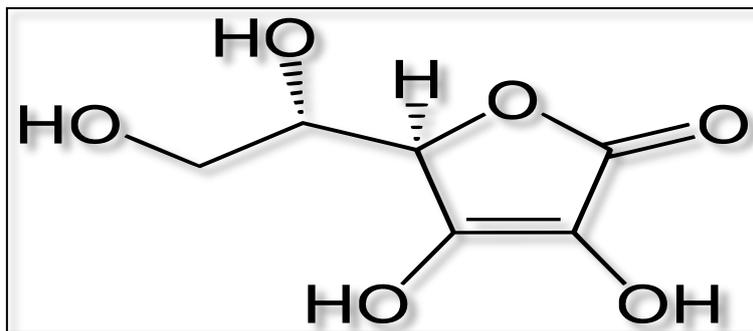


Figure 4 : Structure de l'acide ascorbique [97].

3.3.2 - Vitamine E

La vitamine E (Figure 5) prévient la peroxydation des lipides membranaires *in vivo*, en captant les radicaux peroxydes. Elle est présente dans les huiles végétales ainsi que dans les légumes à feuilles vertes. Elle joue un rôle préventif dans le développement des cancers et retarde le vieillissement [98].

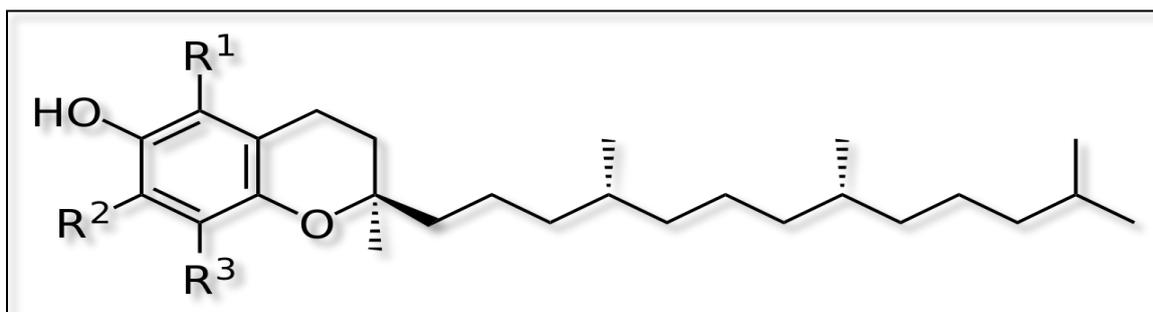


Figure 5: Structure de la vitamine E [98].

3.3.3 - β carotène

β -carotène (**Figure 6**) qui ,outre l'activité pro-vitaminique A ,possède la capacité de capter l'oxygène singulet. La recommandation officielle parle d'un apport quotidien de 60 mg de vitamine C et 10 mg de vitamine E, mais Il n'en existe pas pour le β -carotène. Toutefois ces quantités suffisent juste pour prévenir les phénomènes de carences. C'est la raison pour laquelle les spécialistes recommandent en général un apport quotidien nettement plus élevé : 150 à 300 mg de Vitamine C, 50 à 150 mg de vitamine E et 2 à 6 mg de **β -carotène**. Il est présent dans les légumes verts, salade, carottes, abricot, melon, épinards et papaye [98].

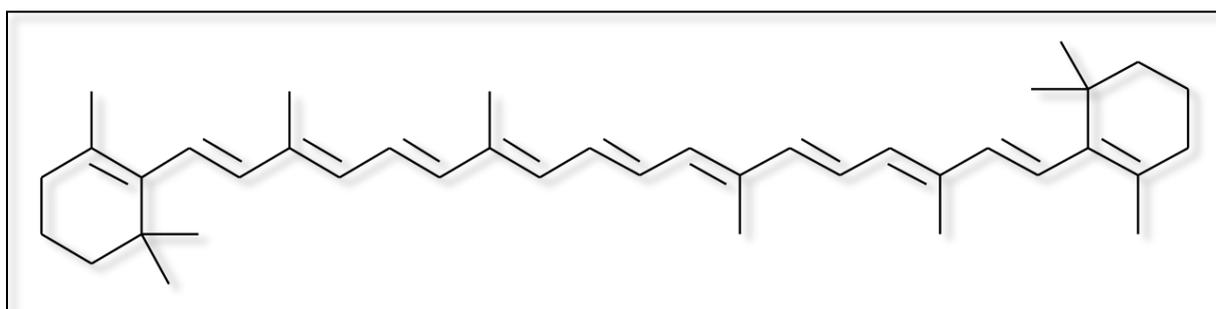


Figure 6: Structure de la β -carotène [99].

3.4 Apports de la phytothérapie dans le traitement du stress oxydatif

Il existe une grande quantité de substances vitaminiques (A, B, C, E), minérales (Zinc, Cuivre, Sélénium) et biochimiques (glutathion, taurine, acides phénols) qui ont également un pouvoir antioxydant bien connu.

Ces substances se retrouvent dans les plantes ; le fait de les connaître, nous permet d'affirmer que la phytothérapie a bien sa place dans la lutte contre le vieillissement provoqué par le stress oxydatif.

En association, les substances antioxydantes présentent des effets synergiques efficaces pour lutter contre le stress oxydant et ses effets délétères.

Afin de contrer l'action oxydante des radicaux libres, notre organisme possède une armée d'antioxydants de nature protéique, enzymatiques et d'agents oxydables.

Ceux-ci agissent, non pas comme de petits soldats, mais comme des éboueurs qui nettoient notre corps des radicaux indésirables [100].

3.5 Sources de radicaux libres

3.5.1 Sources exogènes d'exposition aux radicaux libres Parmi ces sources nous citons le rayonnement électromagnétique (radioactivité, radiations ionisantes, lumière ultraviolette : UVA et UVB), les métaux toxiques, les fumées de combustion (de cigarette, de bois, de matériaux de construction), oxyde de carbone.

Auxquels s'ajoutent certains produits chimiques comme les antiseptiques, les médicaments (par exemple phénacétine et paracétamol), les pesticides, les solvants, l'alcool [101].

3.5.2 Sources endogènes de radicaux libres

Les radicaux libres peuvent se former dans notre corps, dans le cadre de certains phénomènes biologiques. [102].

Les cellules immunitaires (globules blancs, macrophages) ont besoin de radicaux libres pour détruire certains organismes tels que les microbes et virus. Ils sont donc bien bactéricides, virucides et luttent aussi contre les parasites. [102].

Malheureusement, ces moyens de défense se retournent parfois contre notre corps, en attaquant directement les tissus et provoquent des inflammations chroniques. [102].

Chacune de nos cellules utilise quotidiennement mille milliards de molécules d'oxygène pour se procurer de l'énergie, mais une petite partie (5 %) échappe à la combustion pour former des radicaux libres.

Donc, les phénomènes oxydatifs, utiles et nécessaires pour l'homéostasie et la survie de notre organisme, provoquent invariablement des radicaux libres qui occasionnent la sclérose et le vieillissement de cet organisme. Il semblerait donc que la plus grande source de production de radicaux libres et donc de vieillissement soit la source endogène, donc le processus vital lui-même [102].

3.6 Diabète et stress oxydant

Plusieurs études indiquent que l'augmentation du stress oxydatif et la production excessive de produits de glycation avancée des protéines, conduisent ,au moins en partie, à un

dysfonctionnement qui contribue au développement des complications diabétiques .Il a été montré que les patients diabétiques présentent un stress oxydant important et des systèmes de défense antioxydante altérés, qui semblent contribuer à l'initiation et à la progression des complications chroniques associées au diabète [103].

Les complications chroniques associées au diabète sont le plus souvent vasculaires. Elles sont catégorisées en deux sortes : macrovasculaires et microvasculaires. Les maladies l'athérosclérose, les maladies cérébrovasculaires représentent des exemples des complications macrovasculaires, alors que les complications microvasculaires regroupent la néphropathie, la rétinopathie, donc la plus part des organes sont susceptibles d'être touchés par les conséquences délétères du diabète et du stress oxydant que ce soit le foie, le pancréas, les reins, les rétines, le cœur et les artères [104].

4 Les techniques alternatives à l'expérimentation animale

Les 3R (Remplacement, Réduction, Raffinement soit amélioration en anglais) constituent sûrement l'un des principes d'éthiques les plus connus et les plus utilisés à ce jour. Présenté en 1959 par le zoologiste William Russell et le microbiologiste Rex Burch , ils recommandent aux chercheurs de tenter, dans la mesure du possible, de remplacer ou le cas échéant de réduire le nombre d'animaux utilisés lors des expérimentations. Et d'améliorer leur bien-être. Dans un article paru le 9 août 2017 dans la revue *Pharmacology Research & Perspectives*, des scientifiques australiens se sont aidés de la littérature scientifique pour passer en revue les techniques adeptes des 3R et donc susceptibles de fournir de sérieuses alternatives à l'expérimentation animale [105].

La substitution ou remplacement est limitée par la difficulté de tirer les mêmes conclusions à partir d'un modèle imaginé et entretenu par les chercheurs ou à partir d'un être vivant autonome. Un rapport de la Commission européenne explique par exemple les difficultés rencontrées pour remplacer les méthodes in vivo par des méthodes in vitro pour l'étude de la toxicité des produits chimiques dans l'environnement. Les méthodes substitutives se développent dans le domaine du contrôle de la qualité des produits

biologiques, un domaine qui utilise un grand nombre d'animaux. Elles sont aussi très présentes dans l'étude de la toxicité des produits sur la peau ou sur l'œil.

La réduction du nombre d'animaux utilisés en recherche animale est une démarche naturelle pour des raisons éthiques mais aussi économiques.

L'amélioration ou raffinement est essentielle. En effet, une fois le nombre d'animaux réduit au minimum, c'est de chacun des animaux utilisés qu'il faut se préoccuper.

Diminuer l'inconfort, le stress et la douleur sont au cœur de l'amélioration. Les méthodes d'amélioration concernent aussi les conditions expérimentales : habitude aux manipulations et à la contention, analgésie et anesthésie si nécessaire [105].

Table des matières

1	GENERALITE SUR LA PLANTE	3
1.1	Famille des <i>Zygophyllacées</i>	3
1.2	Intérêts biologiques de la famille des <i>Zygophyllaceae</i>	3
1.3	Métabolites secondaires isolés de la famille des <i>Zygophyllaceae</i>	4
1.3.1	Alcaloïdes	4
1.3.2	Composés flavoniques.....	5
1.3.3	Lignanes	6
1.3.4	Triterpenoides.....	7
1.4	L'espèce <i>Zygophyllum album</i>	8
1.4.1	Classification botanique	8
1.4.2	Description de <i>Zygophyllum album</i>	9
1.4.3	Ecologie et répartition géographique	9
1.4.4	Usages traditionnels	10
2	Généralités sur le diabète	10
2.1	Introduction	10
2.2	Métabolisme glucidique	11
2.3	Diabète sucré	12
2.3.1	Classification.....	12
2.3.2	Apports de la phytothérapie dans le traitement du diabète	13
3	Stress oxydatif.....	14
3.1	Définition du stress oxydatif.....	14
3.2	Origine du stress oxydatif.....	15
3.3	Antioxydants d'origine alimentaire	15
3.3.1	Acide ascorbique : vitamine C	15
3.3.2	- Vitamine E	16
3.3.3	- β carotène	17
3.4	Apports de la phytothérapie dans le traitement du stress oxydatif	17
3.5	Sources de radicaux libres	18
3.5.1	Sources exogènes d'exposition aux radicaux libres Parmi ces sources nous citons le rayonnement électromagnétique (radioactivité, radiations ionisantes, lumière ultraviolette : UVA et UVB), les métaux toxiques, les fumées de combustion (de cigarette, de bois, de matériaux de construction), oxyde de carbone.....	18
3.5.2	Sources endogènes de radicaux libres	18

3.6	Diabète et stress oxydant	18
4	Les techniques alternatives à l'expérimentation animale	19

Notre étude a été réalisée au sein du laboratoire de Biochimie médicale de l'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire (ENSV) d'Alger, pendant une durée de 6 mois (Décembre 2018-Mai 2019).

L'objectif principal de cette étude est d'évaluer, *in vitro*, l'effet anti-diabétique et antioxydant de l'extrait aqueux de *Zygophyllum album*.

Pour atteindre ce but nous avons effectué un premier test qui consiste à mesurer le pouvoir réducteur de l'extrait aqueux de *Zygophyllum album* sur le DPPH. Le second test consiste à évaluer l'effet de ce même extrait sur l'absorption du glucose par la levure *Saccharomyces cerevisiae*.

L'ensemble des tests sont réalisés *in vitro* en respectant la réglementation Européenne des techniques alternatives à l'expérimentation animale.

1 Matériel

1.1 Matériel biologique

1.1.1 *Zygophyllum album*

L'étude a été réalisée sur le broyat (poudre) de la partie aérienne de *Zygophyllum album*.

(Figure 7)

La récolte de la plante a été faite dans le sud algérien, plus précisément dans la région de Ain Salah wilaya de Tamanrasset durant le mois de Décembre 2018.

L'identification de l'espèce a été réalisée par le professeur M.S.BRADEA enseignante au niveau de la faculté SNV de BLIDA 1.



Figure 7 : Partie aérienne de *Zygophyllum album* L

1.1.1.1 *Saccharomyces cerevisiae*

Morphologie et métabolisme de la levure :

La levure *Saccharomyces cerevisiae* est reconnue par sa forme ovoïde à arrondie (phase stationnaire). Sa taille peut varier de 1 à 10 μm en fonction de la composition nutritive de son milieu. La **figure 8** représente la morphologie de *Saccharomyces cerevisiae* sous microscope. Celle-ci est capable de suivre deux voies métaboliques : aérobie et anaérobie. Cela lui permet de vivre dans des environnements divers. Pour la voie aérobie, la levure se sert de la respiration aérobie pour métaboliser les glucides en dioxyde de carbone (CO_2) et en eau. Pour la voie anaérobie, elle fermente les glucides et produit de l'éthanol et du CO_2 [106].

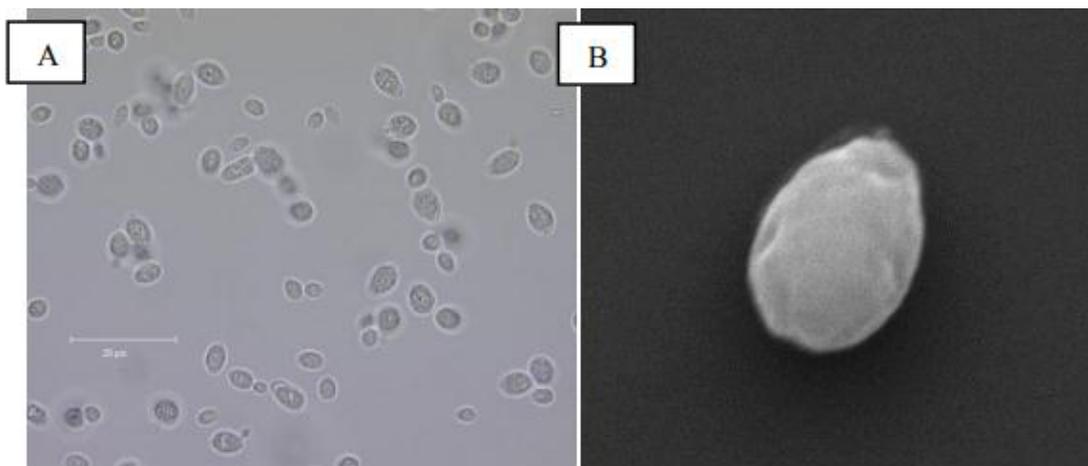


Figure 8 : Population de levure *Saccharomyces cerevisiae*, observée au microscope optique x 400 (A) et morphologie d'une cellule observée au microscope électronique à balayage (B) [106].

1.2 Matériels non biologiques

Tableau 4: Appareillages utilisés au cours de l'expérimentation

Appareillage
<ul style="list-style-type: none"> • Bain marie • Etuve universel de 5 à 220 °c (MEMMERT) • Spectrophotomètres uv-visible (WPA) • Agitateur magnétique • Vortex (velp) • Centrifugeuse • Rotavator • Balance (KERN 770) • Micropipette • Chronomètre

Tableau 5 : Verrerie utilisé au cours de l'expérimentation

Verrerie
<ul style="list-style-type: none"> • Bécher • Pince • Tubes à hémolyse • Portoir • Cuve pour spectrophotomètre • Spatule • Fiole • Eprouvette

Tableau 6 : Réactifs chimiques utilisé au cour de l'expérimentation

Réactifs chimiques
<ul style="list-style-type: none"> • Méthanol (SIGMA) • DPPH-H (2,2-diphényl-1-picrylhydrazine) (SIGMA) • Réactif d'antrone à 0,2% (SIGMA) • Acide sulfurique à 94%(SIGMA) • Glucose (C₆H₁₂O₆) • Diméthylsulfoxyde (DMSO) (C₂H₆OS) (SIGMA) • Vit c (acide ascorbique) • Eau physiologique • Bêta carotène

2 Méthodes

2.1 Préparation de l'extrait aqueux de ZA

2.1.1 Préparation de la poudre

La préparation de la poudre de *Z.album* se fait en trois étapes, le Séchage, broyage et tamisage. Le séchage est réalisé dans un endroit aéré et à l'abri du soleil, pendant six semaines. Le broyage, qui vise à obtenir une poudre fine, elle est réalisée à l'aide d'un broyeur à lame, avec un système de refroidissement, puis le tamisage de la poudre à l'aide d'un chinois en plastique pour avoir une granulation homogène. Enfin la poudre obtenue est conservée dans des bocaux en verre et inerte, puis les mettre dans un lieu sec et à l'obscurité jusqu'au moment d'utilisation.

2.1.2 Préparation de l'extrait aqueux de *Zygophyllum album*

On introduit 50g de poudre végétale à laquelle on ajoute 500 ml d'eau distillée, et on laisse macérer pendant 48 heures. Après on procède à une filtration du macérat à l'aide d'un tamis et papier filtre, pour récupérer la fraction liquide qui est notre extrait aqueux de *Zygophyllum album* (Figure 9).



Figure 9 : Préparation de l'extrait aqueux (la filtration).

L'extrait aqueux est conservé à une température de 4°C, à l'obscurité jusqu'au moment de l'utilisation.

2.2 Test de l'effet antioxydant de *Z. album* par la méthode de piégeage du radical libre DPPH

Pour évaluer l'activité antioxydante *in vitro* des extraits aqueux de *Z. album*, nous avons utilisé la méthode du piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle).

Le pouvoir antioxydant des échantillons testés a été estimé par une comparaison avec des antioxydants (Beta carotène, VIT C) (Figure10).



Figure 10 : Antioxydants utilisés comme standards dans le test.

2.2.1 Principe

La méthode du **DPPH** est réalisée sur l'extrait aqueux, la réduction d'une solution alcoolique de l'espèce radicalaire (**DPPH**) en présence d'anti-radicalaire donneur d'hydrogéné (AH) qui aboutit à la formation d'une forme non radicalaire, On peut résumer cette réaction par l'équation suivante :



Cette réduction peut être suivie, par spectrophotométrie UV-visible, à une longueur d'onde de 517 nm, en mesurant la diminution de l'absorbance, provoquée par la présence de l'extrait aqueux. Le DPPH est initialement violet, se décolore en jaune lorsque l'électron célibataire s'apparie (**Figure 11**).

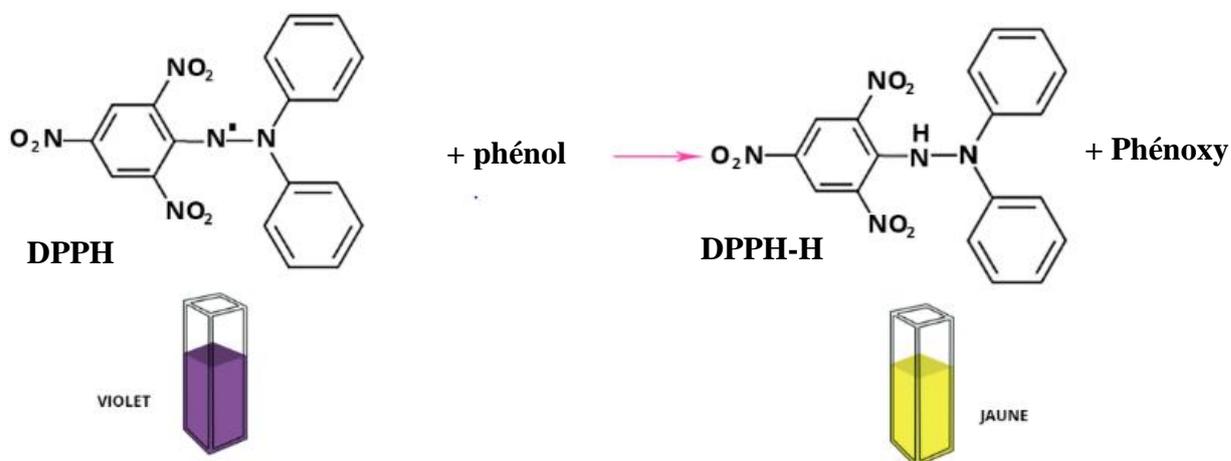


Figure 11 : Détermination de l'activité d'un antioxydant par le test **DPPH°** [108].

Selon **Sanchez M. et al en1998**, cette décoloration est représentative de la capacité des extraits à piéger ces radicaux libres, indépendamment de toutes activités enzymatiques.

2.2.2 Mode opératoire

Préparation des solutions mères des différentes substances étudiées (EZA, Vitamine C et Beta Carotene);

- Préparation de la solution **DPPH** :

0,008g → **100ml de méthanol**



Figure 12 : Préparation de la solution **DPPH**

- Préparation de la solution BC :

20mg → **100ml de méthanol**

- Préparation de solution de Vitamine C :

20mg → **100ml de méthanol**

- Préparation de la solution mère EZA :

1g (EZA) → **100ml d'eau distillée**

Les différentes dilutions des substances à tester effectuées pour la réalisation de ce test sont représentées dans l'Annexe 06. (Tableaux des dilutions)

- Dans un tube sec on met 500 ul de chaque extrait et on rajoute 1ml de DPPH
- Les tubes sont mis à l'obscurité et soumis à une température ambiante pendant 30 min
- La lecture est effectuée par la mesure de l'absorbance à 517 nm par spectrophotomètre, en utilisant des cuves en quartz de 2 ml

- Pour chaque dilution, on prépare un blanc : 1ml méthanol (pour le calibrage de spectrophotomètre)
- Control : 500 ul méthanol/1ml de DPPH

Les tests réalisés sur l'acide ascorbique et le bêta-carotène dont l'absorbance a été mesuré dans les mêmes conditions que les échantillons et pour chaque concentration, sont répétées 2 fois.

2.2.2.1 Expression des résultats

2.2.2.1.1 Calcule du pourcentage d'inhibition (I%) :

Les résultats sont exprimés en tant qu'activité anti-oxydante ou le taux d'inhibition des radicaux libres en pourcentages (I%) en utilisant la formule suivante :

$$\%I = 100 - [(Abs \text{ test} - Abs \text{ blanc}) * 100 / Abs \text{ control}]$$

Soit :

%I; Taux d'inhibition.

Abs control : Absorbance à la longueur d'onde de 517 nm de la solution DPPH.

Abs blanc; Absorbance à la longueur d'onde de 517 nm de la solution méthanol

Abs test : Absorbance à 517 nm de l'échantillon/standard.

2.2.2.1.2 Calcul de la concentration inhibitrice de 50% (IC50)

IC 50 est la concentration de l'échantillon testé ou standards qui inhibe 50% des radicaux libres ,

$$Y=50 \quad Y=aX +b$$

$$\text{Alors,} \quad X=(50-b) /a$$

$$\text{Donc,} \quad X=IC 50$$

2.3 Test de l'effet antidiabétique de *Z. album* :

L'expérience est consacrée à l'étude de l'effet anti-diabetique de l'extrait aqueux de *Z. album* sur l'absorption du glucose par la levure suivant la méthode calorimétrique a l'antrone.

2.3.1 Principe :

Différentes concentrations de plante totales (25, 50, 100, 500 µg/ml) sont mises en contact avec la levure et le glucose, utilisé à différentes concentrations (5mM, 10mM, 25mM). Ce test

permettra de tester le pouvoir inhibiteur des extraits aqueux par l'absorption du glucose par la levure (110).

2.3.2 Mode opératoire

2.3.2.1 Préparation de la suspension de levure

La suspension de levure est préparée à 10% selon le protocole présenté dans la figure suivante (figure 14) :

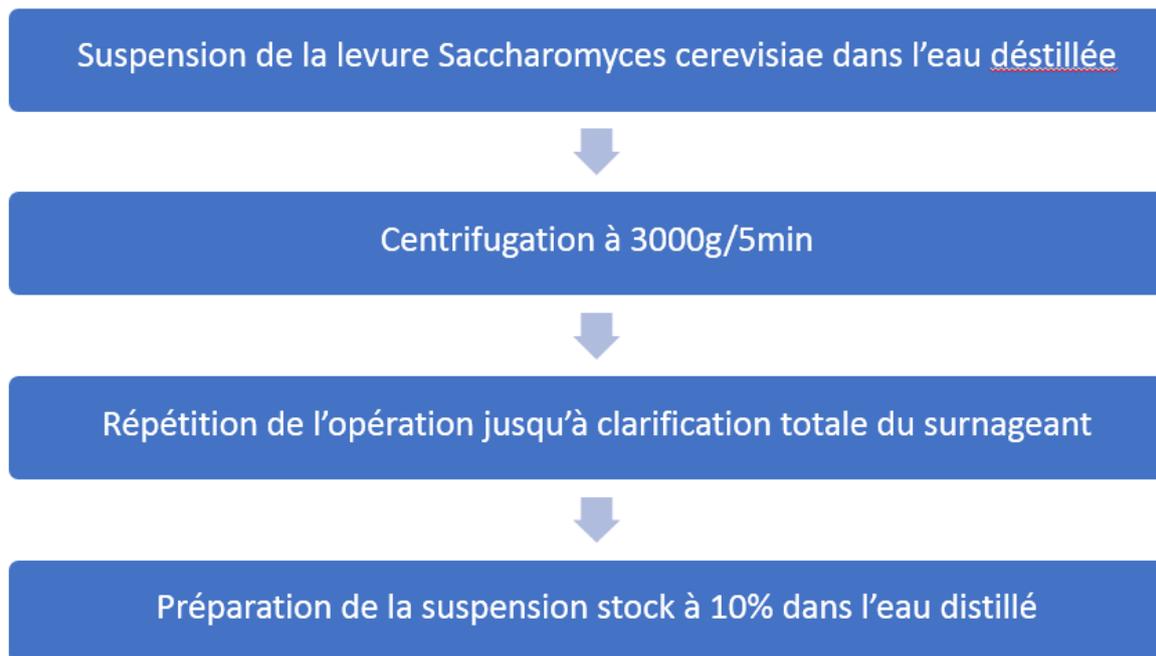


Figure 13 : Protocole de la preparation de la suspension de levure « *Saccharomyces cerevisiae* » (110).

2.3.2.2 Préparation des concentrations d'extrait aqueux dans les solutions glucosées

Les concentrations d'extrait aqueux (25, 50, 100, 500 µg/ml) diluées dans des solutions glucosées (5, 10 et 25 mM) à partir de la solution mère d'extrait (Annexe 05) .

2.3.2.3 Test du glucose

Différentes concentrations d'extrait sont préparées dans des solutions glucosées (5, 10, 25 mM). L'ajout de 100µl de suspension de levure permettra d'amorcer la réaction grâce à une pré incubation de 1ml de ces solutions à 37C° pendant 10min. Le mélange est ensuite agité, incubé à 37C° pendant 60mn puis centrifugé à 2500g durant 5 minutes (110).

2.3.2.4 Dosage du glucose

Un volume de 50 μl de chaque surnageant est additionné de 500 μl d'eau distillée et 1ml de réactif d'anthrone, préparé dans l'acide sulfurique. Ce mélange est incubé par la suite pendant 10 mn dans de l'eau bouillante (100°C). L'absorbance est lue à 620nm après refroidissement du mélange (111) (**Figure 15**).

Solution d'anthrone : solution à 0,2 % dans de l'acide sulfurique concentré à 94%

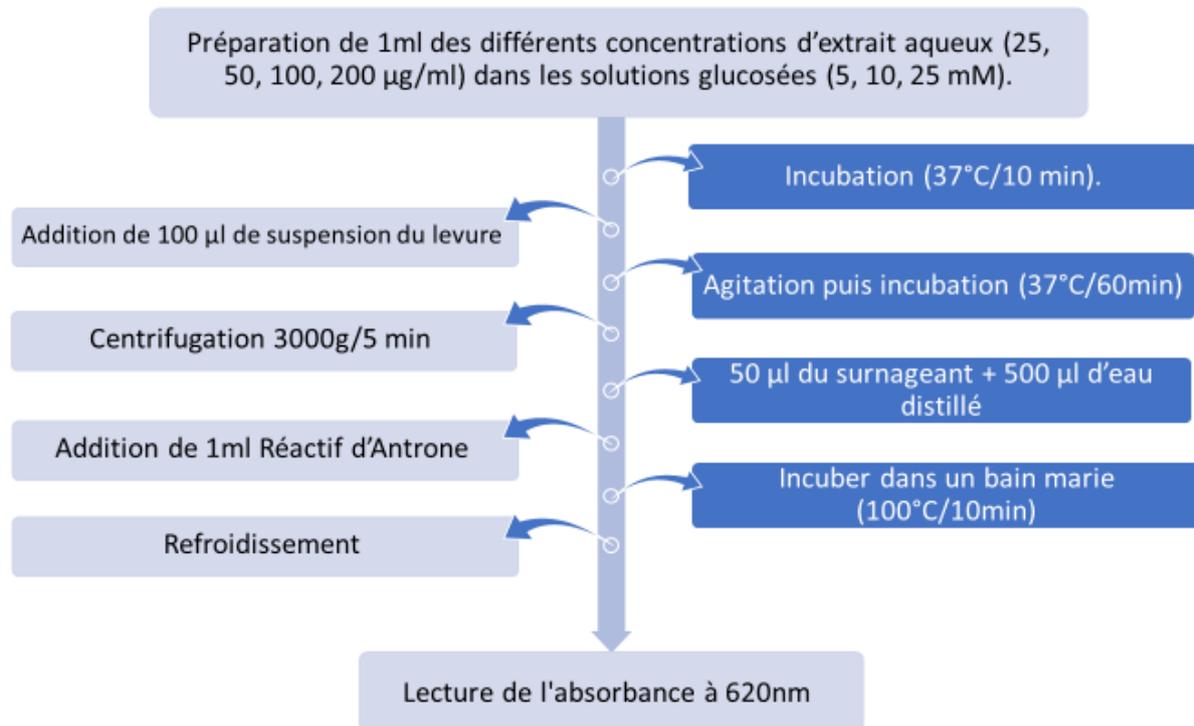


Figure 14 : Schéma récapitulatif du protocole d'inhibition, par l'extrait, de l'absorption du glucose par la levure (110).

Une courbe d'étalonnage avec du glucose (0, 10, 20, 30, 40, 50, 60 $\mu\text{g}/\text{ml}$) est préparée dans les mêmes conditions expérimentales (**Annexe 07**).

2.3.2.5 Expression des résultats

Le metformine et glimépiride sont utilisées comme standard à différentes concentrations (2, 4, 6, 8, 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$). Le pourcentage d'inhibition de l'absorption du glucose est calculé selon la formule suivante :

$$\% \text{ d'inhibition} = \left[\frac{A_s - A_c}{A_s} \right] \times 100$$

Où

- (Ac) Abs control : l'absorbance de la réaction de contrôle (contenant tous les réactifs sauf l'échantillon à tester).
- (As) Abs échantillon : l'absorbance de l'échantillon à tester.

Toutes les expériences ont été effectuées en double.

Matériel & méthodes

1	Matériel	20
1.1	Matériel biologique.....	20
1.1.1	<i>Zygodium album</i>	20
1.2	Matériels non biologiques	21
2	Méthodes	22
2.1	Préparation de l'extrait aqueux de ZA.....	22
2.1.1	Préparation de la poudre.....	22
2.1.2	Préparation de l'extrait aqueux de <i>Zygodium album</i>	23
2.2	Test de l'effet antioxydant de <i>Z. album</i> par la méthode de piégeage du radical libre DPPH ₂₃	
2.2.1	Principe.....	24
2.2.2	Mode opératoire	25
2.3	Test de l'effet antidiabétique de <i>Z. album</i> :	26
2.3.1	Principe :	26
2.3.2	Mode opératoire	27

1 Activité anti-oxydante

La présente étude est consacrée à la recherche d'un éventuel effet antioxydant de l'extrait aqueux d'EZA.

Les résultats obtenus en pourcentage d'activité anti-oxydante sur le DPPH sont exprimés en fonction de différentes concentrations de l'extrait aqueux par rapport à la Vit C et au Bc (Figure 16, 17, 18).

1.1. Vitamine C

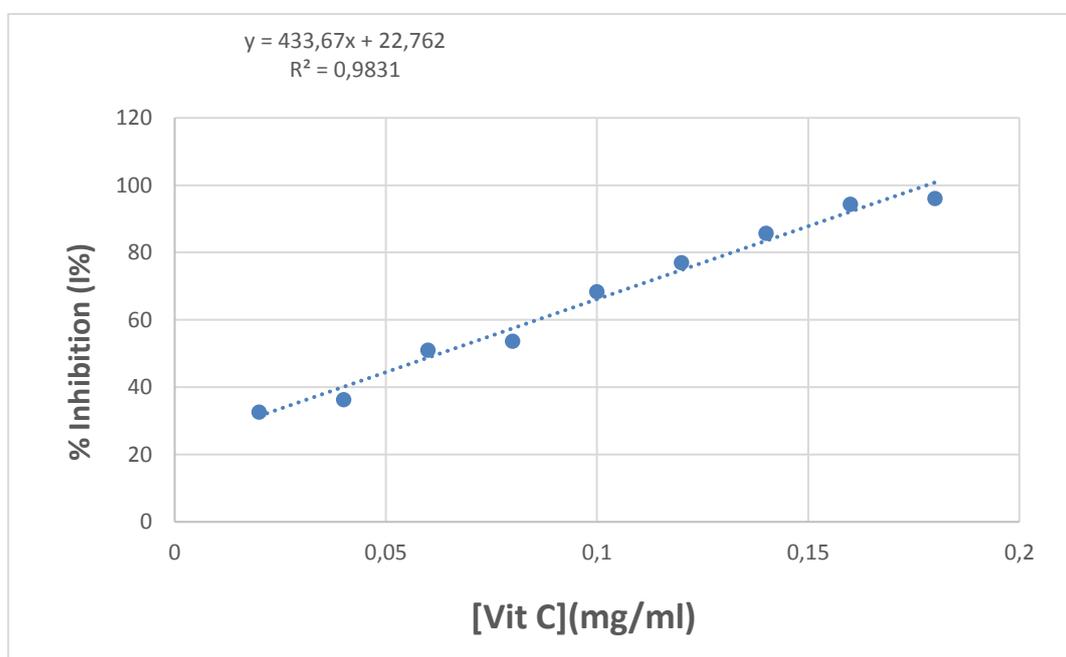


Figure 16 : Courbe d'étalonnage qui exprime le pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction des différentes concentrations de la Vitamine C.

a. Calcule d'IC 50 du Vit C

À partir de la droite de régression nous avons calculer d'IC 50 de la Vit C (**fig. 16**). Nous avons obtenu IC 50 de la Vit C = 0,062 mg/ml de Vit C.

1.2. Bétacarotène

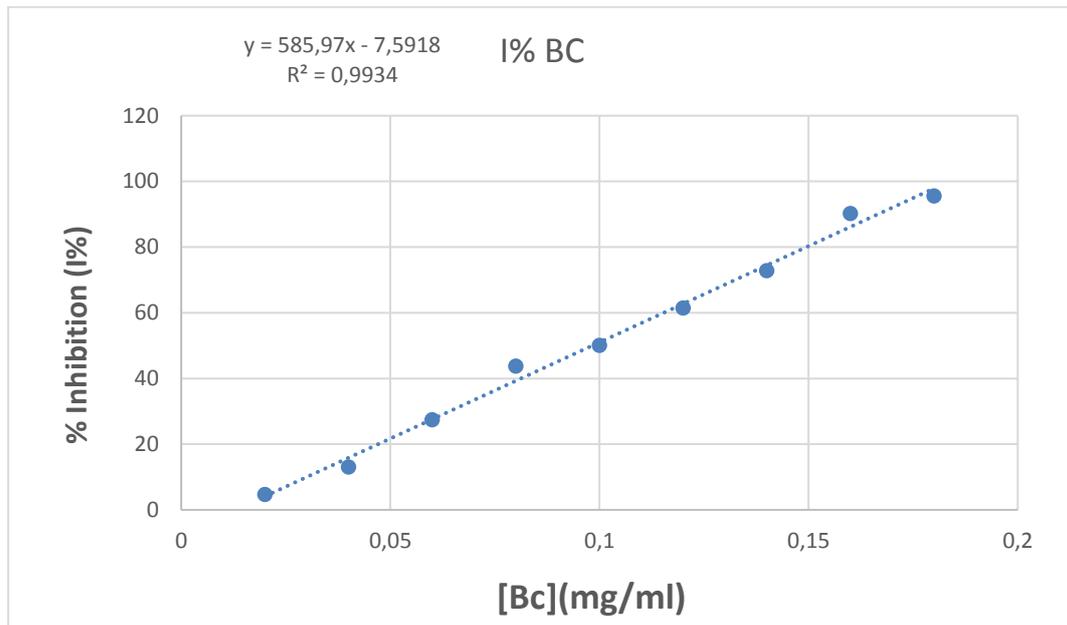


Figure 17 : Courbe d'étalonnage qui exprime le pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction des différentes concentrations de bêta-carotène.

b. Calcul de l'IC 50 du Bc

À partir de la droite de régression nous avons calculé l'IC 50 du BC (**fig. 17**). Nous avons obtenu

IC 50 de BC = 0,09 mg/ml de Bc

1.3.Extrait aqueux de *Z. album*

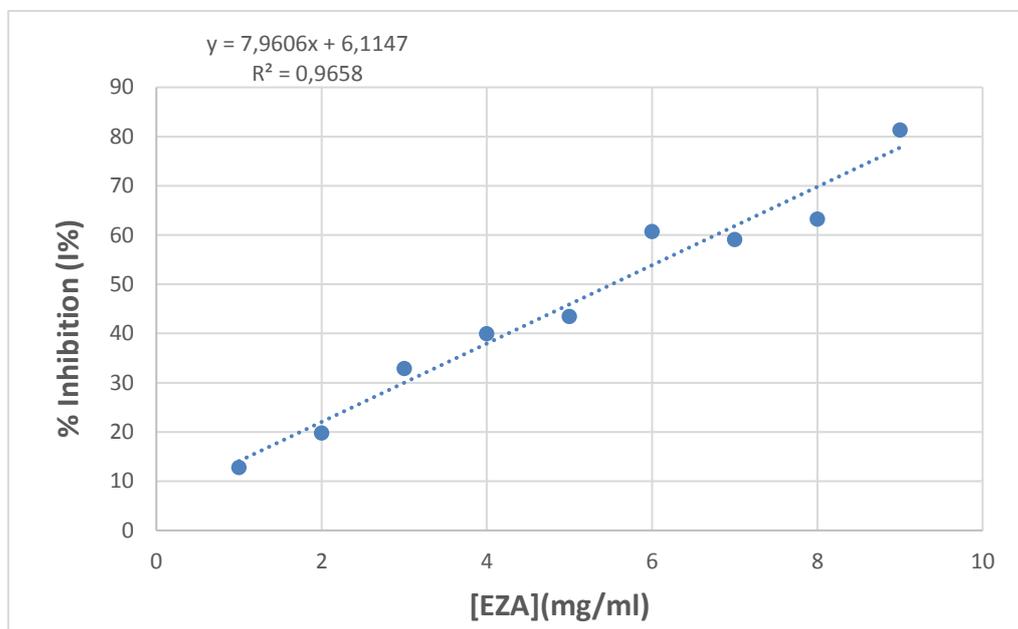


Figure 18 : Courbe d'étalonnage qui exprime le pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction des différentes concentrations de l'extrait aqueux de *Z. album*.

c. Calcule d'IC 50 du l'EZA

À partir de la droite de régression nous avons calculé d'IC 50 du l'EZA (**fig. 18**). Nous avons obtenu IC 50 de EZA = 5,51 mg/ml de l'EZA.

Nous constatons que l'extrait aqueux de *Z. album* montre une faible activité anti-oxydante même à des concentrations plus élevées par exemple à une concentration de 9 mg/ml l'EZA possède un pourcentage d'inhibition de 81,30%, par rapport aux celles du Vit C et Bc pour une concentration de 0,12 mg/ml possèdent un pourcentage d'inhibition de 96,04% pour la Vit C et 95,52% pour Bc.

La Vitamine C montre une forte activité antioxydante. Afin de comparer l'efficacité de l'extrait aqueux de *Z. album*, nous avons déterminé la concentration IC50 qui réduit 50% du DPPH.

Les IC50 sont calculées graphiquement par les régressions linéaires des droites tracées : les pourcentages d'activité antioxydante en fonction des différentes concentrations et les résultats obtenus sont résumés dans le tableau suivant (**tableau 6**) :

	IC 50 exprimée (mg/ml)
Bc	0,09
Vit C	0,062
EZA	5,511

Tableau 6 : Tableau exprime les trois IC50 (Bc, Vit C, EZA)

Il a été rapporté dans l'étude de **Sanchez et al en 1998** que plus IC50 est petites, plus l'antioxydant a une activité plus importante (**112**).

Les résultats de notre étude révèlent que les pourcentages de l'activité antioxydante sont proportionnels aux concentrations suivantes Vit C, BC et EZA

De plus, ces résultats montrent que tous les extraits examinés ont des IC50 différents pour piéger le radicale DPPH (**Figure 19**).

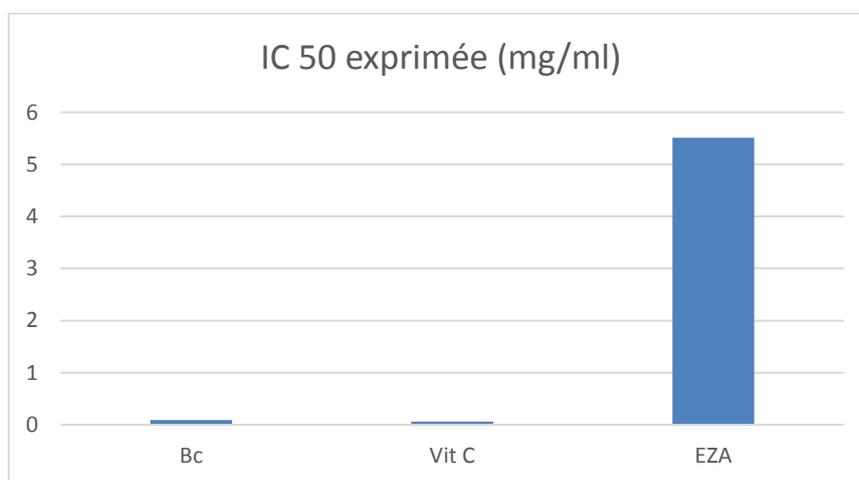


Figure 19 : Histogramme des IC50 exprimé en mg/ml.

En comparant les résultats obtenus avec les utilisations décrites ci-dessus, on voit que les trois Produits (EZA, VitC et Bc) présentant les résultats les moins bons sont tout de même utilisées pour leurs propriétés antioxydantes.

Pour la Vit C et BC ;

Malgré les faibles valeurs d'IC50 remarquées pour la Vit C (**0,062 mg/ml**) et pour le BC (**0,09 mg/ml**), en observent une forte activité anti-oxydante de ces derniers.

Pour l'extrait aqueux de Z. Album ;

En observent La valeur la plus élevé d'IC50 pour EZA (**5,511 mg/ml**) mais l'activité antioxydante la plus faible, suggèrent une probable mauvaise miscibilité.

Dans l'étude de **Marouane et al en 2014**, il a été rapporté que malgré le pouvoir antioxydant de l'EZA est le plus faible à celui des anti-oxydants synthétiques, il reste très avantageuse par sa capacité de continuer à piégé les radicaux libres, ce potentiel antioxydant conféré à l'EZA un grand intérêt dans la prévention contre le vieillissement et le diabète et pour les maladies cardiovasculaire (**113**).

De plus, dans une autre étude de **Bozin et al en 2008**, il a été rapporté que L'activité antiradicalaire exprime la capacité de réduction des radicaux libres. Le radical DPPH est l'un des substrats les plus utilisés pour l'évaluation rapide et directe de l'activité antioxydante en raison de sa stabilité en forme radicalaire libre et la simplicité de l'analyse (**114**).

En **2008**, **Durackova Z. et al** en indiquent au cours leurs études que l'augmentation du stress oxydatif et la production excessive de produits de glycation avancée des protéines, conduisent au moins en partie à un dysfonctionnement endothéliale qui contribue au développement des complications diabétiques. Il a été montré que les patients diabétiques présentent un stress oxydant important et des systèmes de défense antioxydante altérés, qui semblent contribuer à l'initiation et à la progression des complications chroniques associées au diabète (**3**).

2 Activité antidiabétique de Z. album

Ce test a été conçu pour étudier l'évaluation de l'extrait aqueux de Z. album afin de valider son utilisation traditionnelle.

L'étude a été réalisé sur une culture de levure, avec différentes concentrations de glucose.

Différentes doses d'extrait aqueux de Z. album ont été testées pour évaluer son pouvoir inhibiteur sur l'absorption du glucose par la suspension de levure.

D'après une étude faite par **Wenger et al en 2004** la sélection de la levure a été établie pour son caractère distinctif du système de transport du sucre. D'autres études ont montré que le transport du glucose à travers la membrane cellulaire de la levure, se fait par diffusion facilitée, Par conséquent le transport du glucose se produit uniquement si la concentration intracellulaire en ce sucre est réduite (**115**).

Les figures 20, 21 et 22 illustrent le pourcentage d'inhibition de l'absorption du glucose par la levure à différentes concentrations de glucose, à savoir 5 mM, 10 mM et 25 mM, respectivement.

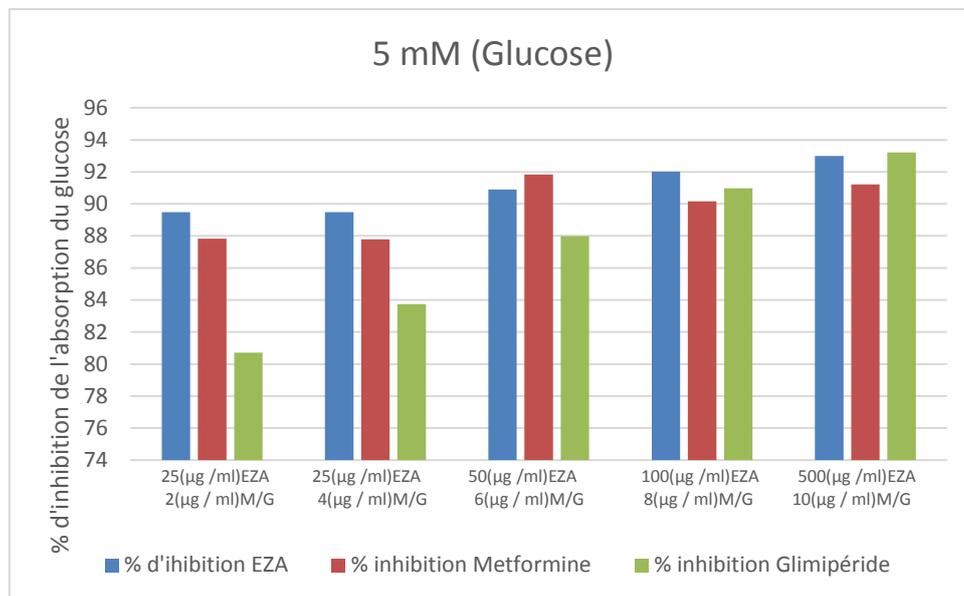


Figure 20 : Histogramme exprime %I d'inhibition de l'absorption du glucose par la levure sous l'effet d'extrait aqueux ZA (EZA) comparer avec deux médicaments standards de référence metformine(M) et Glimpéride(G) à une concentration de glucose de 5 mM.

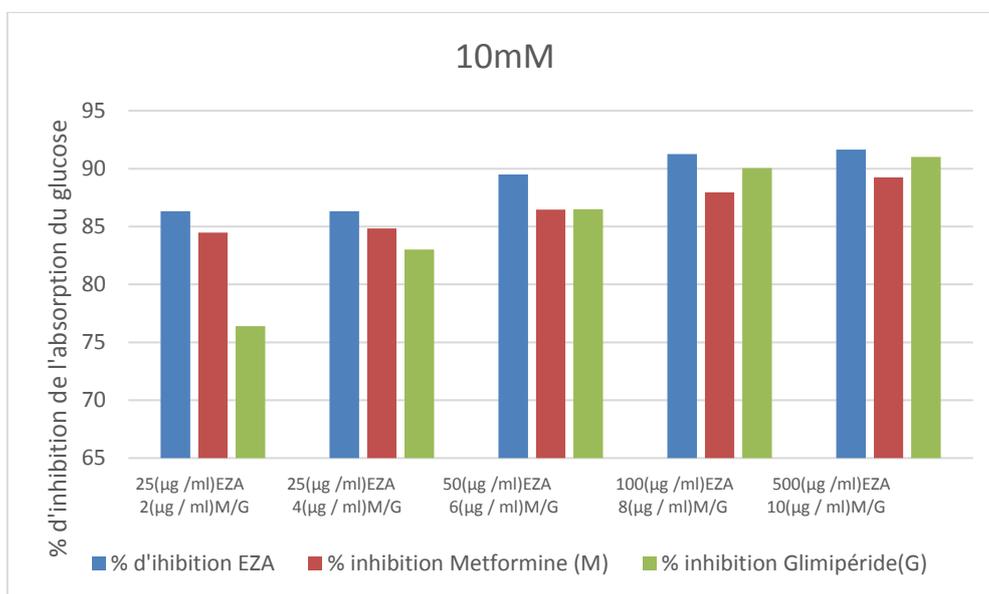


Figure 21 : Histogramme exprime %I d'inhibition de l'absorption du glucose par la levure sous l'effet d'extrait aqueux ZA (EZA) comparer avec deux médicaments standards de référence metformine(M) et Glimpéride(G) à une concentration de glucose de 10 mM.

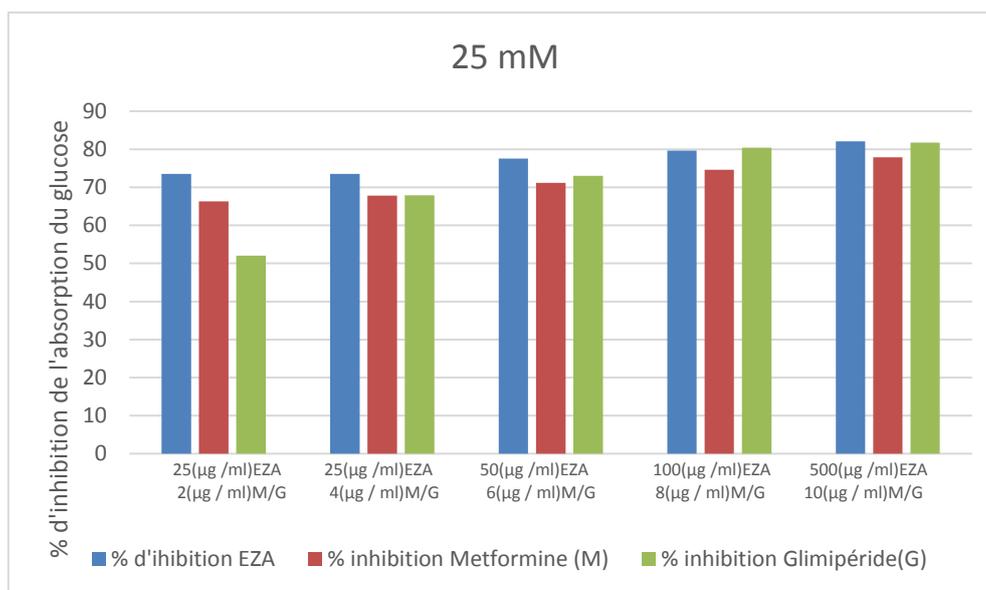


Figure 22 : Histogramme exprime %I d'inhibition de l'absorption du glucose par la levure sous l'effet d'extrait aqueux ZA (EZA) comparé avec deux médicaments standards de référence metformine(M) et Glimépiride(G) à une concentration de glucose de 25 mM.

Les résultats obtenus montrent que l'absorption du glucose par les cellules de levure, dans les différentes préparations de solutions glucosées 5, 10, 25 mM qui ont été montrés dans les **figures 20, 21 et 22** respectivement, augmente de façon proportionnelle avec l'augmentation de concentration l'EZA. En effet, nous constatons qu'à la faible concentration de l'extrait aqueux de ZA (25 µg/ml) le pourcentage d'inhibition (% I) tu donnes les % de l'absorption du glucose par les cellules de levure est plus élevé que le % I de l'absorption du glucose en présence de Metformine et Glimépiride à la concentration de 2 µg/ml tu donnes les %. Donc l'extrait aqueux de ZA a une forte activité antidiabétique par rapport aux celles du Met et Gli .

Nos résultats de notre étude sur des essais in vitro ont révélé que l'EZA possède une activité inhibitrice remarquable et cela à des différentes concentrations glucosées et même à des concentrations très basses.

Selon **Mustapha A et al en 2007** et **Hussein R et al en 2011**, l'EZA a un effet hypoglycémiant puissant qui peut être associée à une teneur élevée en composés phytochimiques, tels que les flavonoïdes, le kimpférol croisé, l'isorhaménine et l'isocersteine, le bêta-sitostérol, les triterpènes, les tanins. En plus des alcaloïdes ou des glycosides se trouvent dans Z. l'album [116, 117].

Dans ce contexte, les études de **Cazaroli L et al en 2008** et **Sireesha Y et al en 2011** rapporte que la suggestion de l'effet inhibiteur de certains flavonoïdes sur l'absorption du glucose est due à l'inhibition compétitive du transporteur de glucose-1 dépendant du sodium [118, 119].

Table des matières

1	Activité anti-oxydante.....	29
2	Activité antidiabétique de <i>Z. album</i>	33

Plusieurs espèces de la famille des **zygophyllaceae** possèdent des propriétés thérapeutiques remarquables, et sont utilisées en médecine traditionnelle.

Parmi ces plantes, **zygophyllum album** qui est utilisé dans le traitement de diabète. D'après nos résultats obtenus de l'évaluation des deux activités antioxydante et antidiabétique de l'extrait aqueux de **Z. album** in vitro qui ont révélé :

L'extrait de Z. album possède une faible activité antioxydante même à des concentrations élevées.

Par contre **L'extrait de Z. album** possède une forte activité antidiabétique même à des concentrations très basses, cet effet hypoglycémiant de cet extrait peut être associé à une teneur élevée en métabolites secondaires tel que les alcaloïdes et flavonoïdes.

Ces tests ont été effectués par des techniques alternatives **3R** (in vitro) qui remplacent l'expérimentation animale (in vivo).

En perspective, on propose :

- D'explorer les propriétés thérapeutiques de chacun des métabolites secondaires de **Z. album**.
- S'intéresser à étudier profondément l'activité anti diabétique de **Z. album**.
- Découvrir le résultat d'une combinaison entre l'extrait du ZA qui possède une faible activité anti oxydante avec un autre extrait végétale reconnu pour son effet anti oxydant a fin de renforcer cette activité.

LISTE DES REFERENCES

1. Kourta D. (2006). Le diabète ausculté lors d'un congrès maghrébin, menace sur toutes les tranches d'âge. El watan, quotidien national d'information, p. 7.
2. Hadjiat A. (2006). Diabète : le jeûne, facteur aggravant. Liberté, quotidien national d'information, p. 8.
3. Pereira R., Da Gama B., Teixeira V. L., Yoneshigue-valentin Y., Braz. J. (2003), 63, (4), 667-672.
4. Benkinoir R., Thèse de Doctorat. Constantine 2007.
5. König G., Wright A., Franeblau S., Planta Medica (2000), 66, 337-342.
6. Durackova Z., Djrolo F., Hougbe H., Avode G., Attoulou V., Addra B., Kodjoh N.Avimadj M., (2008). Oxidants, Antioxidants and Oxidative stress. Mitochondrial.
7. Sheahan M. C., Chase M. W. (1996) A phylogenetic analysis of Zygophyllaceae based on morphological, anatomical and rbcL DNA sequence data. Bot. J. Linn. Soc. 122: 279–300.
8. Ozenda P. Flore du Sahara. 2ème Édition (Ed du Centre National de la Recherche scientifique). Paris. 1977. 318-320.
9. Quezel, P., Santa, S., 1963. Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome I, C.N.R.S.Paris.
10. Liu H., Nakanishi, K., 1982. The structures of balanitins, potent molluscicides isolated from *Balanites aegyptiaca*. Tetrahedron 38, 513–519.
11. Pettit G., Doubek, D., Herald L., Numata A., Takahasi, C., Fujiki, R., Miyamoto, J., 1991. Isolation and structure of cytostatic saponins from the African medicinal plant *Balanites aegyptiaca*. Journal of Natural Products 54, 1491–1502.
12. Speroni E., Cervellati R., Innocenti G., Costa S., Guerra M., Dall'Acqua S., Govoni, P., 2005. Anti-inflammatory, anti-nociceptive and antioxidant activities of *Balanites aegyptiaca* (L.) Delile. Journal of Ethnopharmacology 98, 117–125.

LISTE DES REFERENCES

13. Bishnu P., Zeev, W., Leah, T., 2007. In vitro study of the antifungal activity of saponin-rich extracts against prevalent phytopathogenic fungi. *Industrial Crops and Products* 26, 109–115.
14. Duke, J.A., 1983. *Medicinal Plants in the Bible*. Trado-Medic Books, New York, Chapter 28. 26.
15. Kokwano, J., 1976. *Medicinal plants of East Africa*. East Africa Literature Bureau. Dar el Salaam, Kampala, Nairobi, Chapter 34.
16. Kamel, M.S., 1991. Studies on *Balanites aegyptiaca* fruits, an antidiabetic Egyptian folk medicine. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 39, 1229–1233.
17. Anesini, C., Genaro, A., Cremaschi, G., Sterin, B. L., Cazaux, C., Borda, E., 1996. Immunomodulatory activity of *Larrea divaricate* Cav. *Fitoterapia* 67, 329–33.
18. Anesini, C., Genaro, A., Cremaschi, G., Sterin, B. L., Cazaux, C., Borda, E., 1996. Immunomodulatory activity of *Larrea divaricate* Cav. Participation in arachidonate metabolism. *Comp Biochem Physiol C*. 122, 245–52.
19. Van, Auken, O.W., 2000. Shrub invasions of North American semiarid grasslands. *Annual Review of Ecology and Systematics* 31, 197–215.
20. Whitford, W.G., Nielson, R., De Soyza, A., 2001. Establishment and effects of creosote bush, *Larrea tridentata*, on a Chihuahuan Desert watershed. *Journal of Arid Environments* 47, 1–10.
21. Three new herbal hepatotoxic syndromes. *Journal of Toxicology and Clinical Toxicology* 37, 715–719.
22. Kay, M., 1996. *Healing with Plants in the American and Mexican West*. University of Arizona Press, Tucson, pp. 178–181.
23. Abou-Gazar, H., Bedir, E., Takamatsu, S., Ferreira, D., Khan, I.A., 2004. Antioxidant lignans from *Larrea tridentata*. *Phytochemistry* 65, 2499–2505.

LISTE DES REFERENCES

24. Tahraoui, A., El-Hilaly, J., Israili, Z.H., Lyoussi, B. ,2007. Ethnopharmacological survey of plants used in the traditional treatment of hypertension and diabetes in south-eastern Morocco (Errachidia province). *Journal of Ethnopharmacology* 110, 105–117.
25. Sasmakov, S.A., Putieva, M. Zh., Saatov, Z., Kachala, V.V., Shashkov, A.S., 2001. Triterpene glycosides of *Zygophyllum eichwaldii* C.A.M. *Chemistry of Natural Compounds* 37, 91–92.
26. Saber, A.H., El-Moghazy Shoaib, A.M., 1960. *Zygophyllum coccineum*. V. Chemistry of leaf and stem. *Journal of Pharmaceutical Science of the U.A.R.* 1, 1–6.
27. Eskander, E.F., Won Jun, H., 1995. Hypoglycemic and hyperinsulinic effects of some Egyptian herbs used for the treatment of diabetes mellitus (type II) in rats. *Egyptian Journal of Pharmaceutical Sciences* 36, 331–342.
28. Jaouhari, J.T., Lazrek, H.B., Jana, M., 2000. The hypoglycemic activity of *Zygophyllum gaetulum* extracts in alloxan-induced hyperglycemic rats. *Journal of Ethnopharmacology* 69, 17–20.
29. Bellakadhar, J., Claisse, R., Fleurotin, J., Younos, C., 1981. Repertory of standard herbaldrugs in the Moroccanpharmacopoea. *Journal of Ethnopharmacology* 35, 123–143.
30. Maiza, K., Hammiche, V., Brac de la Perrière, R.A., 1993. Traditional saharian pharmacopoeia. In: Schilcher, H., Phillipson, J.D., Loew, D. (Eds.), *ISHS Acta Horticulturae* 332: WOCMAP I—Medicinal and Aromatic Plants Conference. Maastricht, Netherlands (CR-rom).
31. Meng, X.L., Riordan, N.H., Casciari, J.J., Zhu, Y., Zhong, J., Gonzlez, M.J., Miranda-Massari, J.R., Riordan, H.D., 2002. Effects of a high molecular mass *Convolvulus arvensis* extract on tumorgrowth and angiogenesis. *PR Health Science Journal* 21, 323–328.

LISTE DES REFERENCES

32. Atta, A.H., Mouneir, S.M., 2004. Antidiarrhoeal activity of some Egyptian medicinal plant extracts. *Journal of Ethnopharmacology* 92, 303-309.
33. Smati, D., Hammiche, V., Nehari, H., Alamir, B., Merad, R., 1993. *Zygophyllum geslinicoss.*: chemical investigation of hypoglycemic activity. In: Schilcher, H., Phillipson, J.D., Loew, D. (Eds.), *ISHS Acta Horticulturae* 28 332: WOCMAP I— Medicinal and Aromatic Plants Conference. Maastricht, Netherlands (CD-rom).
34. Smati, D., Longeon, A., Guyot, M., 2004. 3 β -(3,4-Dihydroxycinnamoyl)-erythrodiol, a cytotoxic constituent of *Zygophyllum geslinic* collected in the Algerian Sahara. *Journal of Ethnopharmacology* 95, 405-407.
35. Hussein SR., Marzouk M., Ibrahim L., Kawashty S, Saleh N., 2011. Flavonoids of *Zygophyllum album* L.f. and *Zygophyllum simplex* L. (*Zygophyllaceae*), *Biochemical Systematics and Ecology* 39; 778 –780.
36. Ibrahim, L. F., Kawashty, S.A., El-Hagrassy, A. M. , Nassar, M. I., and Mabry T.J., 2008. A new kaempferol triglycoside from *Fagonia taekholmiana*: cytotoxic activity of its extracts. *Carbohydrate Research* 343, 155-158.
37. Milcent, R., Chau, F., 2003. *Chimie organique hétérocyclique : Structure fondamentales, chimie et biochimie des principaux composés naturels*, EDP sciences.
38. Kapoor, L.D., 1995. *Opium Poppy: Botany, Chemistry & Pharmacology*, Food Product Press, New York.
39. Raffauf, R.E., 1996. *Plant alkaloids*, Food Product Press, New York.
40. Pengelly, A., 2004. *The constituents of Medicinal Plants : An introduction to the chemistry and therapeutics of herbal medicine*. CABI publishing.
41. Berrougi, H., Martin-Cordero, C., Khalil, A., Hmamouchi, M., Ettaib, A., Marhuenda, E., Dolores, H.M., 2006. Vasorelaxant effects of harmine and harmaline

LISTE DES REFERENCES

- extrated from Peganum Harmala L.seed's isolated rat aorta. Pharmacological Research 54,150-157.
42. Abou-Gazar, H., Bedir, E., Takamatsu, S., Ferreira, D., Khan, I.A., 2004. Antioxidant lignans from *Larrea tridentata*. *Phytochemistry* 65, 2499–2505.
43. Raffaeilli, B.A., Hoikkala, A.B., Wahala,K. ,2002. *Chromatography* B777,29-43.
44. Lambert, J.D., Sang, S., Dougherty, A., Caldwell, C.G., Meyers, R.O., Dorr, R.T., Timmermann, B.N., 2005.Cytotoxic lignans from *larrea tridentata*. *Phytochemistry*66,811-815.
45. Bruneton J., 1995. *Pharmacognosy Phytochemistry Medicinal Plants*, Lavoisier Pubs,Paris.
46. Pengelly,A., 2004.*The constituents of Medicinal Plants : An introduction to the chemistry and therapeutics of herbal medecine*.CABI publishing.
47. Smati, D., Longeon, A., Guyot, M., 2004. 3 β -(3,4-Dihydroxycinnamoyl) -erythrodiol, a cytotoxic constituent of *Zygophyllum geslini* collected in the Algerian Sahara. *Journal of Ethnopharmacology* 95, 405-407.
48. Xue, Z.H., Lu, Z.Z., Konno, C., Soejarto,D.D. ,Cordell,G.A. ,Fong,H.H.S.,Hodgson,W., 1988. 3 β -(3,4-Dihydroxycinnamoyl) -erythrodiol and 3 β -(4-Dihydroxycinnamoyl) - erythrodiol from *Larrea tridentata*. *Phytochemistry*27,233-235.
49. Sheahan, M.C., Cutler, D.F., 1993. *Bot. J. Linn. Soc.* 113, 227.
50. Pereira H.M, Navarro L.M, Martins I. S, Scholes R.J. *Curr. Opin. Environ. Sustain.*, 2012, 4, 139.
51. Smati D., 2009. Contribution à l'étude de *Zygophyllum* utilisés en médecine traditionnelle algérienne. Thèse en vue de l'obtention du doctorat en science médicale.

LISTE DES REFERENCES

52. Judd WJ, Cambell CJ, Kellogy EA, Stevens P., 2002. Botanique systématique : une perspective phylogénétique, paris : De Boeck, 467 p.
53. CHEHMA Abdelmadjid., 2006. Catalogue des plantes spontanées du Sahara septentrional algérien. Ain M'lila : Dar El Houda, p.137. CHEHMA Abdelmadjid., 2006. Catalogue des plantes spontanées du Sahara septentrional algérien. Ain M'lila : Dar El Houda, p.137.
54. Ozenda P., 1977. Flore du Sahara, 2ème édition, édition du centre national de recherche scientifique, p 309.
55. OZENDA.P ,1985 : Flore du Sahara, 2ème éd CNRS, (France), 441pp.
56. K. Maiza,V. Hammiche, R.A. Brac-de-la-Perriere, Traditionalsaharianpharmacopoeia, ISHS Acta Hort. 332 (1993) 37–42. Traditionnelle algérienne. Thèse en vue de l'obtention du doctorat en science médicale.
57. CHEHMA Abdelmadjid., 2006. Catalogue des plantes spontanées du Sahara septentrional algérien. Ain M'lila : Dar El Houda, p.121.
58. Grim F, Bounaga N. 1996. Flavonicpolymorphism and chemosystematics of the genus *Zygophyllum* studied in the Algerian Sahara. Acta Pharm 46 : 187–194.
59. Tigrine-Kordjani N., B.Y. Meklati and ChematF., 2010. Analysis by gaschromatography– mass spectrometry of the essential oil of *Zygophyllum album* L., an aromatic and medicinal plant growing in Algeria, The International Journal of Aromatherapy, 16, 187– 191.
60. Hussein, S.R., Marzouk, M.M., Ibrahim, L.F., Kawashty, S.A. & Saleh, N.A.M., 2011. Flavonoids of *Zygophyllum album* L.f. and *Zygophyllum simplex* L. (*Zygophyllaceae*). Biochemical Systematics and Ecology, 39, 778-780.
61. CHEHMA Abdelmadjid., 2006. Catalogue des plantes spontanées du Sahara septentrional algérien. Ain M'lila : Dar El Houda, p.137.

LISTE DES REFERENCES

62. Maiza, K., Hammiche, V., Brac de la Perrière, R.A., 1993. Traditional saharian pharmacopoeia. In : Schilcher, H., Phillipson, J.D., Loew, D. (Eds.), ISHS Acta Horticulturae 332 : WOCMAP I-Medicinal and Aromatic Plants Conference. Maastricht, Netherlands (CR-rom).
63. Meng, X.L., Riordan, N.H., Casciari, J.J., Zhu, Y., Zhong, J., Gonzlez, M.J., Miranda-Massari, J.R., Riordan, H.D., 2002. Effects of a high molecular mass *Convolvulus arvensis* extract on tumorgrowth and angiogenesis. PR Health Science Journal 21, 323–328.
64. Maiza K., V. Hammiche, R.A. Brac-de-la-Perriere, Traditional saharian pharmacopoeia, ISHS Acta Hort. 332 (1993) 37–42.
65. Fagot-Campagna, A. (2010). Prévalence et incidence du diabète, et mortalité liée au diabète en France – Synthèse épidémiologique. Institut de veille sanitaire : 1-11.
66. Chami, M., Zemmour, L., Midoun, N. et Belhadj, M. (2015). Diabète sucré du sujet âgé : la première enquête algérienne. Épidémiologie, coûts et organisation des soins, (9) : 210-215.
67. Bailey, C.J. et Day, C. (1989). Traditional plants medicines as treatment for diabetes. Diabetes Care ; 12 : 553-564.
68. Ozenda P. (1977). Flore du Sahara. 2ème édition (Ed du Centre National de la Recherche scientifique). Paris. 318-320.
69. Drucker, DJ. (2007). The role of gut hormones in glucose homeostasis. Journal of Clinical Investigation, 117 : 24-32.
70. Guillausseau P.J. (1997): « Classification and diagnostic criteria of diabetes: propositions of ADA and WHO. » Diabetes Metab. 23(5) :454-5
71. Calop J., Limat S., Frnandez C. (2008) : pharmacie clinique et thérapeutique. 3ème Ed. Masson, Elsevier Masson, Paris. pp.417-427.

LISTE DES REFERENCES

72. Grimaldi A., dir. (2009) « Traité de Diabétologie. » 2ème édition. Médecine-Sciences.
73. Wens J., Patricia S., Frank N., Luc F., Paul V.C., Hilde B., Paul V.R. (2005) :
Recommandations de bonne pratique.diabete sucre de type 2.Societe scientifique de
médecine générale. Validé par le CEBAM sous le numéro 2005/02.
74. Halimi S, Debaty I, Villaret L. et Muller M. (2008) : Mise au point les nouveaux
traitements du diabète de type 2 : quelle place pour les incrétines et le rimonabant par
rapport aux précédents ? Revue de Médecine Interne ; 29 : p 1–15.
75. Yki-Jarvinen H. (2002) : Combination therapy with insulin and oral agents : optimizing
glycemic control in patients with type 2 diabetes mellitus. Diabetes Metab Res
Rev;(Suppl. 3) : p 77–81.
76. WHO (2002) Fact Sheet No. 271, World Health Organisation, Geneva.
77. Farnsworth NR, Akerele O, Bingel AS, et al. (1985) Medicinal plants in therapy. Bull
World Health Organ 63 : 965-81.
78. Marles RJ, Farnsworth NR (1995) Antidiabetic plants and their active constituents.
Phytomedicine 2 : 13-189.
79. Barouki R. (2006). Stress oxydant et vieillissement. Medecine/sciences n°3, vol.22,
266-72.
80. Kehrer J.P. (1993). Free radcals as mediators of tissue injury and disease. Critical review
in toxicology, 23 (1) : 21-48.
81. Durackova Z., Djrolo F., Hougbe H., Avode G., Attoulou V., Addra B., Kodjoh N.,
Avimadj M., (2008). Oxidants, Antioxidants and Oxidative stress. Mitochondrial
medicine. Gvozdjakova A (ed). P :19-43.
82. Abuja P.M and Albertini R. (2001). Methods for monitoring oxidative stress, lipid
peroxidation and oxidation resistance of lipoproteins. Clinica Chimica Acta 306 (1-17).

LISTE DES REFERENCES

83. Halliwell B. (2009). The wanderings of a free radical. *Free radical biology & Medicine* 46 :531-542.
84. Favier A. (2003). Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique* : 108-115.
85. Halliwell B, Gutteridge JMC. *Free radicals in biology and medicine*. 3rd ed. Oxford : Oxford University Press; 1999.
86. Halliwell B, Gutteridge JMC. The antioxidants of human extracellular fluids. *Arch Biochem Biophys* 1990; 280:1–8.
87. Biesalski HK, Böhles H, Esterbauer H, Fürst P, Gey F, Hundsdörfer G, et al. Antioxidant vitamins in prevention. Consensus statement. *Clin Nutr* 1997; 16:151–5.
88. Alonso de Vega JM, Diaz J, Serrano E, Carbonell LF. Plasma redox status relates to the severity in critically ill patients. *Crit Care Med* 2000;28: 1812–4.
89. Ceriello A, Quagliaro L, Piconi L, Assaloni R, Da Ros R, Maier A, Esposito K, Giugliano D. Effect of postprandial hypertriglyceridemia and hyperglycemia on circulating adhesion molecules and oxidative stress generation and the possible role of simvastatin treatment. *Diabetes*. 2004; 53:701–710.
90. Esposito K, Nappo F, Marfella R, Giugliano G, Giugliano F, Ciotola M, Quagliaro L, Ceriello A, Giugliano D. Inflammatory cytokine concentrations are acutely increased by hyperglycemia in humans: role of oxidative stress. *Circulation*. 2002; 106:2067–2072.
91. Leverve X. Hyperglycemia and oxidative stress : complex relationships with attractive prospects. *Intensive Care Med* 2003 ; 29 :511–4.
92. Berger MM Oligoéléments : quoi de neuf ? *Swiss Med Forum* 2003 ;31 : 720–6.

LISTE DES REFERENCES

93. DIALLO A., 2005. Etude de la phytochimie et des activités biologiques de *syzygium guineense* WILLD(MYRTACEAE). Thèse de doctorat en pharmacie. Université de Bamako :13-14.
94. CHEICK TRAORE M., 2006. Etude de la phytochimie et des activités biologiques de quelques plantes utilisées dans le traitement traditionnel de la dysménorrhée aux malis. Thèse de doctorat en pharmacie. Université de Bamako : 72p.
95. BOSSOKPI I P L., 2002. Etude des activités biologiques de *Fagara zanthoxyloides* Lam (Rutaceae). Thèse de doctorat en pharmacie. Université de Bamako : 9p.
96. Beaudoux J.L and Dominique B.R. (2005). Radicaux libres et stress oxydant. Aspects biologiques et pathologiques. Edition médicales. Internationales p : 550.
97. Jenkins A.J., Hill M.A. and Rowley K.G. (2007). Diabetes and Oxidant Stress. Atherosclerosis and Oxidant Stress. A New Perspective. Holtzman J.L (ed). p123-160.
98. Durackova Z., Djrolo F., Hougbe H., Avode G., Attoulou V., Addra B., Kodjoh N.Avimadj M., (2008). Oxidants, Antioxydants and Oxidative stress. Mitochondrial medicine.Gvozdjakova A (ed). P :19-43.
99. Beaudoux J.L and Dominique B.R. (2005). Radicaux libres et stress oxydant. Aspects biologiques et pathologiques. Edition médicales. Internationales p : 550.
100. Jang, M., Cai, L., Udeani, G. O., Slowing, K. V., Thomas, C. F., Beecher, C. W., « Cancer chemopreventive activity of resveratrol, a natural product derived from grapes », Science, vol. 275, 1997, p. 218-220.
101. Zafra-Stone S, Yasmin T, Bagchi M, Chatterjee A, Vinson JA, Bagchi D., 2007 Jun Berry anthocyanins as novel antioxidants in human health and disease prevention. Mol Nutr Food Res. ;51(6) :675-83.

LISTE DES REFERENCES

102. Krikorian R, Shidler MD, Nash TA, Kalt W, Vinqvist-Tymchuk MR, Shukitt-Hale B, Joseph JA. Blueberry supplementation improves memory in older adults. *J Agric Food Chem.* 2010 Apr 14 ;58.
103. Chen Q., Vazquez E.J., Moghaddas S., Hoppel C.L., Lesnefsky E.J. (2003). Production of reactive oxygen species by mitochondria: central role of complex III. *J. Biol. Chem* 278, 36027-31.
104. Jenkins A.J., Hill M.A. and Rowley K.G. (2007). Diabetes and Oxidant Stress. *Atherosclerosis and Oxidant Stress. A New Perspective.* Holtzman J.L (ed). p123-160.
105. Rajkumar C., Paul S., Rjamarman E., (2017) , Ethics of animal research in human disease remediation, its institutional teaching; and alternatives to animal experimentation, Published online 2017 Aug 9. doi: 10.1002/prp2.332.
106. Michael Breitenbach, J. D. B., Stanley Brul, Ian W. Dawes, J. Richard Dickinson, Piet de Groot, Gino Heeren, Klaas Hellingwerf (2004). "The Metabolism and Molecular Physiology of *Saccharomyces cerevisiae*." CRC Press Second edition (Edited by J. Richard Dickinson and Michael Schweizer).
107. Molyneux, P. (2004) The Use of Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 26, 211-219.
108. Mansouri, A., Embarek, G., Kokkalou, E., Kefalas, P., Phenolic profile and antioxidant activity of the Algerian ripe date palm fruit (*Phoenix dactylifera*). *Food Chemist.* 89 (2005) 411-420.
109. Sanchez M., C., Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *Inter. J. Food Sci. and Technol.* 8 (2002) 121-137.

LISTE DES REFERENCES

110. Nair, S., Kavrekar, V. et Mishra, A. (2013). Evaluation of In Vitro Antidiabetic Activity of Selected Plant Extracts. *Inter. International Journal of Pharmaceutical Science Invention*, 2 : 2319 – 6718.
111. Kubrak, O.I., Rovenko, B.M., Husak, V.V., Storey, J.M., Storey, K.B. et Lushchak, V.I. (2012). Nickel induces hyperglycemia and glycogenolysis and affects the antioxidant system in liver and white muscle of gold fish *Carassius auratus* L. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 80: 231-237.
112. Sánchez-Díaz A, et al. (1998) The Cdk inhibitors p25^{rum1} and p40^{SIC1} are functional homologues that play similar roles in the regulation of the cell cycle in fission and budding yeast. *J Cell Sci* 111 (Pt 6):843-51.
113. Merouane A., Noui A., Medjahed H., Nedjari K., Benhadj A., Saadi A., (2014) Activité antioxydante des composées phénoliques d’huiles d’olive extraites par la méthodes traditionnelle. 4 :1918.
114. Bozin B., Mimica- dukic N., samojlik I., Goran A., Igic R; 2008. phenolics as antioxydants in garlic (*Allium sativum* L.,Alliaceae) .*Food Chemistry*,; 111:925-9.
115. Wagner H. et Bladt S. (2004). *Plant drug analysis-A thin layer chromatography atlas*, 2nd Ed., New Delhi: Thompson Press Ltd.
116. Hussein R.S., Marzouk M., Ibrahim F.L., Kawashty S.A., Saleh N.A. (2011) Flavonoids of *Zygophyllum album* L.f. and *Zygophyllum simplex* L. (*Zygophyllaceae*). *Biochem Syst Ecol* 39 :778–780.
117. Moustapha A.M., Khoudair A.I., Hammouda F.M., Huseiny H.A., (2007) Phytochemical and toxicological studies of *Zygophyllum album* L.f. *J Pharmacol Toxicol* 2:220–237.

LISTE DES REFERENCES

118. Cazarolli L.H., Zanatta L., Alberton E.H., Figueiredo M.S., Folador P., Damazio R.G., (2008): Flavonoids cellular and molecular mechanism of action in glucose homeostasis. *Mini-Rev Med Chem* 8 :1032–1038.
119. Sireesha Y., Kasetti R.B., Nabi S.A., Swapna S., Apparao C., (2011) Antihyperglycemic and hypolipidemic activities of *Setaria italica* seeds in STZ diabetic rats. *Pathophysiology* 18 :159–164.

Annexe

1. Préparation de la suspension de levure

- 10g (levure de boulangerie) dans 100ml (eau distillé)
- 1^{er} centrifugation (3000g dans 5 min)
- 2eme centrifugation de surnageant (3000g/5min)
- 3eme centrifugation de surnageant après 24h (3000/5min)
- Préparation des solutions stock

2. Préparation réactif d'antrone à 0,2%

0,2g (RA) → 100ml (2ml (ED)+98ml (AS à 95%))

3. Préparation la concentration d'extrait

1g(extrait) → 100ml  5ml DMSO (but ; pour la solubilisation d'extrait)
95ml eau distillé

4. Préparation des concentrations glucosées

1 mole (M) de glucose contient de 180g dans 1litre, donc 1mM du glucose contient $180 \cdot 10^{-3}$ g dans 1 litre. (1M (mole) de glucose=180 g/l)

1mM= (10^{-3}) M, alors ;

1mM = $180 \cdot 10^{-3}$ g/l, ($180 \cdot (10^{-3})$ g dans 1litre d'eau distillé)

5mM = $900 \cdot 10^{-3}$ g/l

10mM = $1800 \cdot 10^{-3}$ g/l

25mM = $4500 \cdot 10^{-3}$ g/l

5. Préparation les différentes concentrations d'extrait dans les solutions glucosées

Annexe

Solution mère ; 1g(extrait) →100ml, la préparation des dilutions à partir de la solution mère d'extrait aqueux est comme suivant :

Concentration (extrait)	Extrait	Glucose
25 ug /ml	250 ul	Suivi par 100 ml du glucose (5, 10, et 25mM)
50 ug /ml	500 ul	
100 ug /ml	1 ml	
500ug /ml	5 ml	

Exemple de la préparation de la concentration (25ug/ml)

1g(extrait) →100ml

1000mg →100ml

1000000ug →100ml
c2 x



25ug →1ml

c1 2500ug→100ml
v1

$$X = \frac{2500 \cdot 100}{1000000} = \frac{25}{100} = 0.25 \text{ml}$$

250ul(extrait) →100ml (solution glucosé)

6. Les différentes dilutions des substances à tester

Tableau de la gamme de dilution de EZA :

Concentration EZA (mg/ml)	EZA (μl)	Méthanol (μl)
1	50	450
2	100	400
3	150	350
4	200	300
5	250	250
6	300	200
7	350	150
8	400	100
9	450	50

Tableau de la gamme de dilution de Vit C :

Annexe

Concentration Vit C (mg/ml)	Vit C (μ l)	Méthanol (μ l)
0,02	50	450
0,04	100	400
0,06	150	350
0,08	200	300
0,1	250	250
0,12	300	200
0,14	350	150
0,16	400	100
0,18	450	50

Tableau de la gamme de dilution de Bc :

Concentration Bc (mg/ml)	Bc (μ l)	Méthanol (μ l)
0,02	50	450
0,04	100	400
0,06	150	350
0,08	200	300
0,1	250	250
0,12	300	200
0,14	350	150
0,16	400	100
0,18	450	50

Annexe

7. courbe d'étalonnage glucose

a. Absorbion du glucose

*1ml (differentes concentrations glucoses) (10ug/ml), (20ug/ml), (30ug/ml), (40ug/ml), (50ug/ml), (60ug/ml). en duplicate

→Addition 100ul d'eau distillé

→Préincubation de ces solutions à 37°C /10min

→agitation du mélange par un agitateur

→incubation à 37°C/1h

→centrifugé à 2500g/5min

b. Dosage de glucose

*50ul de surnageant

→addition de 500ul d'eau distillé

→addition de 1ml de réactif d'antrone à 0,2%

→ agitation du mélange par un agitateur

→incubation dans l'eau bouillante (100°C) /10min

→lecture par un spectrophotomètre

c. Courbe d'étalonnage

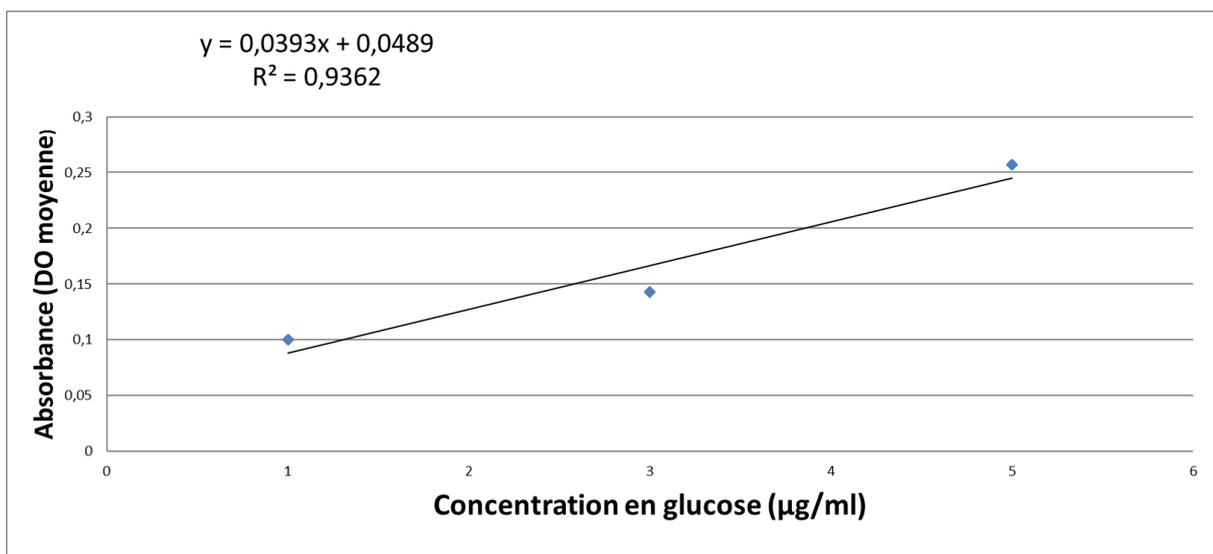


Figure 23: courbe d'étalonnage du glucose.