

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université SAAD DAHLAB de BLIDA -1-



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie Département de Biologie

Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du Diplôme de Master

Option : Biochimie

Sous le thème

**L'étude de l'effet hypoglycémiant de l'extrait aqueux des
calices de la plante *Hibiscus sabdariffa* L.**

Soutenu le : 15 Septembre 2022

Présenté par :

M^{lle} GAMAR IBTISSEME

et M^{lle} TAKLIT CHAHINAZ

Devant le jury :

Mme IL MAHDI L.	MAA	USDB1	Précédente
Mme AMOKRANE A.	MAA	USDB1	Examinatrice
Mme HAMZI W.	MCA	USDB1	promotrice

Promotion 2021-2022

Remerciement



« Nous commençons tout d'abord par rendre grâce à ALLAH, le tout puissant de nous avoir illuminé et ouvert les portes de savoir et nous avoir donné la volonté et le courage d'élaborer ce travail. »

*Nous adressons notre reconnaissance et nos remerciements à notre promotrice **Mme HAMZI WAHIBA**, maitre de conférence classe A à la faculté de S.N.V BLIDA 1, d'avoir acceptée de nous guider dans ce travail, en fournissant un soutien et des conseils pertinents qui nous a beaucoup aidés dans la recherche de stage et pour toute sa confiance tout au long de ce mémoire.*

*Nous exprimons nos sincères considérations et remerciements à l'ensemble des membres du jury : **Mme IL MAHDI L** qui nous a fait l'honneur de présider ce jury, **Mme AMOKRANE A.** pour avoir accepté d'examiner ce mémoire.*

*Nous tenions à remercier vivement notre Co- promotrice, **Mme BOUTABA T**, responsable de laboratoire DEMILAB, sans oublier nos sincères remerciements à, **Mme ARKAM** et **Mme ZATRA** d'avoir acceptées de consacrer du temps à nous aide et de nous conférer vos connaissances et vos conseils.*

*Nous chaleureux remerciement vont à **Mr ABDERAHMANE** responsable des laboratoires de la faculté qui nous aidé.*

Nous remercions également toute l'équipe du laboratoire PFE et station de vétérinaire pour leur accueil, leur esprit d'équipe et de nous encourager jusqu'à ce jour-là.

Nous tenions enfin à remercier tous ceux qui ont contribué d'une façon ou d'une autre à la réalisation de ce travail, sans oublier tous nos enseignants de la faculté SNV Blida 1.

Dédicace

Dans un premier temps et avant tout je remercie DIEU le tout puissant de m'avoir aidé et donné la santé d'entamer et de terminer ce mémoire.

« Le plus grand secret du bonheur c'est d'être bien avec soi »

B.Fontenelle

*A ma très chère Maman **ADNANI AOUICHA** et mon papa **ABDELHAK**, quoi que je fasse ou que je dise je ne saurai point vous remercier comme il se doit. Votre présence à mes cotés est le secret de ma réussite, Votre affection, votre soutien et votre patience est ce qui m'a rendu qui je suis aujourd'hui et qui m'ont acceptés comme je suis. Merci d'être plus que des parents, vous êtes la lumière qui éclaire mes nuits sombres. Sans oublier vos prières pour moi.*

*A mon grand-frère qui as su m'accompagner dans cette épreuve, comme il l'a fait à chaque étape de ma vie. C'est un peu fou à dire, mais, après toutes ces années, je réalise vraiment ce que signifie avoir un frère je ne te remercierai jamais assez **ANIS**, sans oublier ma belle-sœur **BENDJOUDI KHADIDJA** pour son soutien et encouragements.*

*A ma seule et petite sœur **Feriel**, Ma petite sœurette adorée Je serais toujours à tes côtés, Mon cœur est ta demeure, Tu y es présente à toute heure.*

*A **Amir**, le petit dernier, mon ange ne change surtout pas je t'aime comme tu es, n'oublie jamais que je serai toujours fier de toi.*

A mon partenaire de vie, j'espère que ce n'est que le début d'un cheminement du bonheur.

*A Ma binôme et mon amie **IBTISSEM**, la vie t'a mise dans mon chemin pour une raison et aujourd'hui on est la preuve, j'ai trouvée en toi une grande et une petite sœur, Tu fais désormais partie de ma vie tu ne seras jamais du passé puisque je te ferais toujours vivre au présent.*

*J'adresse aussi mes dédicaces à ma tante **SOUAD** avec qui j'ai passé des moments agréables et qui est toujours à mes côtés, Mes cousines **TITA, CHAHINEZ, SIHEM, ASSIA** et la petite **JAJA**.*

*A tous les membres de la famille **TAKLIT** ainsi que de la famille **ADNANI** pour leurs mots d'encouragement et leur gentillesse.*

A tous mes enseignantes de la faculté SNV Blida 1 et mes collègues de l'option biochimie sans exception.

Chahinaz

Dédicace

*Dans un premier temps et avant tout je remercie **DIEU** le tout puissant de m'avoir aidé et donné la santé d'entamer et de terminer ce mémoire.*

« Nous pouvons rencontrer de nombreuses défaites, mais nous ne devons pas être vaincus »

Maya Angélu

*A ma très chère **maman BENHAGOUGA YAMINA** qui n'a jamais baisser les bras et qui m'a donnée tout son amour et sa bienveillance, celle qui m'a appris qu'on peut toujours changer vers son meilleur.*

*A mes chères sœurs **THAMILA et MERIEM**, ceux que je ne changerai pour rien au monde, merci infiniment de faire partie de ma vie*

*A mon petit-papa, mon oncle **KADOUR** pour son soutien, pour sa gentillesse et son avoir vivre, merci d'avoir été là quand beaucoup ont été absents.*

*A mon binôme, ma sœur de cœur **CHAHINAZ**, à qui je dois mes souvenirs les plus précieux, qui a assisté à mes larmes de tristesse et de joie, des moments de folie et des anecdotes à raconter pour toute une vie.*

*Je remercie profondément ma chère cousine **AMIRA HADJI** la fille la plus mignonne d'être à mes côtés dans les bons et les mauvais moments de ma vie.*

*J'adresse aussi mes dédicaces à **LIZA et tata Lamia** avec qui j'ai passé des moments agréables et qui sont toujours à mes côtés.*

*Un forte pense pour ma petite cousine **NADA**, ma chère nièce **AMELIA** et mon petit neveu **IMRAN**.*

A tous mes collègues de l'option biochimie sans exception.

A toutes les personnes qui m'ont donné l'aide de proche ou de loin.

IBTISSEME

Résumé

Sommaire

INTRODUCTION	1
CHAPITRE I: RAPPEL BIBLIOGRAPHIQUE	3
I.1. Diabète :	3
I.1.1. Définition :	3
I.1.2. Critères diagnostiques du diabète sucré :	3
I.1.3. Classification :	4
I.1.4. Complication du diabète :	5
I.1.5. Traitement du diabète sucré :	7
I.2. Plante <i>Hibiscus sabdariffa</i> L. :	11
I.2.1. Présentation d' <i>hibiscus sabdariffa</i> L. :	11
I.2.2. Répartition géographique :	11
I.2.3. Systématiques :	11
I.2.4. Description botanique :	13
I.2.5. Domaines d'utilisation d' <i>Hibiscus sabdariffa</i> L. :	14
I.2.5.2. Utilisation médicinale	16
I.2.6. Composition phytochimiques :	16
I.2.7. Constituants bioactifs :	19
CHAPITRE II: MATÉRIEL ET MÉTHODES	20
II.1. Matériel :	20
II.1.1. Matériel non biologique :	20
II.1.2. Matériel biologique :	20
II.1.2.2. Modèle animale	21
II.2. Méthodes	22

II.2.1. Préparation de l'extrait aqueux par macération :.....	22
II.2.2. Préparation de l'extrait de Glibenclamide :.....	22
II.2.3. Activité antidiabétique in vivo :.....	22
II.2.4. Sacrifice et prélèvement sanguin :.....	25
II.2.5. Etude des coupes histologiques :.....	27
II.3. Considérations éthiques :.....	30
II.4. Analyse statistique :.....	30
CHAPITRE III: RESULTATS ET DISCUSSION.....	32
III.1. Résultats de l'évolution pondérale :.....	32
III.2. Résultats du taux de la glycémie :.....	33
III.2.1. Dosage de la glycémie après sacrifice :.....	34
III.2.2. Les poids relatifs des poids des différents organes :.....	36
CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....	39
REFERENCE.....	42
ANNEXES.....	50

La liste des figures :

Figure 1 : Hibiscus sabdariffa, (A) calice, tige et feuille ; (B) fleur.	13
Figure 2 : Calices d'Hibiscus sabdariffa et les sachets de thé Hibiscus sabdariffa.	15
Figure 3 : Infusion de thé <i>Hibiscus sabdariffa</i> .L.	15
Figure 4 : partie calice de l' <i>Hibiscus sabdariffa</i> L.	17
Figure 5 : graines de l' <i>Hibiscus sabdariffa</i> L.	18
Figure 6 : Plante d' <i>Hibiscus sabdariffa</i> L.	18
Figure 7 : calice d' <i>Hibiscus sabdariffa</i> L (photo originale).....	21
Figure 8 : Préparation de l'extrait aqueux d'Hibiscus sabdariffa L (photo originale).	22
Figure 9 : Détermination de poids corporel (photo original).	23
Figure 10 : Mesure de taux de la glycémie (photo originale).	24
Figure 11 : Administration de l'extrait par gavage (photo originale).	25
Figure 12 : Dissection et prélèvement des organes (photo originale).	27
Figure 13 : Protocole expérimentale de l'étude.	31
Figure 14 : Evolution des moyennes des poids des 4 lots.	33
Figure 15 : Evaluations des taux de glycémie a jeun des 4 lots de souris.	34
Figure 16 : Évolutions des concentrations du glucose dans le sang.	35
Figure 17 : Évolutions des Poids relatifs de certains organes des différents lots des souris males.	36

La liste des tableaux :

Tableau I : Critères diagnostiques du diabète selon l'ADA (2020).....	3
Tableau II : Caractéristiques du diabète type 1 et type 2.	5
Tableau III : Classification de l'espèce <i>Hibiscus sabdariffa</i> L.	12
Tableau IV : propriétés médicinales des extraits d' <i>Hibiscus sabdariffa</i> L. (Cisse et al., 2009).	16
Tableau V:composants nutritionnels des différentes partie de la plant <i>Hibiscus sabdariffa</i> L. (Endrias, 2006).....	19

La liste des abréviations :

ADA : Association Américaine du Diabète.

DT1 : Diabète de type 1.

DT2 : Diabète de type 2.

HBA1C : Heminoglobine glyquée.

HDL : Hight density lipoprotein.

HGPO : Hyperglycémie provoqué par voie orale.

H.S : Hibiscus Sabdariffa.

LDL : Low Density Lipoprotein.

MIN : Minute.

TDT : Témoin diabétique non traité.

TDTG : Témoin diabétique traité par glibenclamide.

TDTP : Témoin diabétique traité par la plante.

TG : taux de glycémie.

TS : témoin saint.

OMS : Organisation mondiale de la santé.

Résumé

L'objectif de ce travail est d'évaluer l'effet anti-hyperglycémiant de l'extrait de la plante d'hibiscus sabdariffa, chez des souris rendus diabétiques par un régime alimentaire à indice glycémique élevé. cinquante souris males de race albinos qui pèse 20 ± 5 g, ont fait l'objet de notre étude et deviser en quatre groupes : un groupe témoin sains soumis à un régime alimentaire standard, le 2eme groupe témoin diabétique non traité, le 3eme groupe diabétique traité par un hypoglycémiant (Glibenclamide a une dose de 2,91mg/ml 2 fois par jour pendant 40j), et un groupe diabétique traitée par l'extrait aqueux de la plante étudié a une dose de (20 mg/10 g 2fois par jour pendant 40j).

Nos résultats obtenus dans la présente étude, montrent clairement que le régime hyperglycémique induit chez l'animal un diabète caractérisé par une augmentation du taux de glycémie et une perte de poids.

L'administration orale de l'extrait de cette plante provoque une récupération du poids corporel qui varie entre ± 5 g, une diminution de la concentration en glucose sanguin d'une variation de ± 120 mg / dl, on remarque aussi un changement de poids du foie qui a augmenté par $\pm 1,5$ g par contre il y a pas un changement significatif dans le poids des reins, chez les souris diabétiques traités par la plante par rapport au souris diabétique témoins. En conclusion, l'extrait d'Hibiscus sabdariffa a un effet bénéfique dans le traitement du diabète.

Les mots clés : Le diabète de type 2, hyperglycémie, anti-hyperglycémiant, hibiscus sabdariffa

Summary

The objective of this work is to evaluate the anti-hyperglycemic effect of the extract of the hibiscus sabdariffa plant, in mice made diabetic by a high glycemic index diet. 50 male mice of albinos race weighing 25 ± 0.5 g were divided into four groups, a healthy control group subjected to a standard diet, the 2nd control group diabetic untreated, the 3rd group diabetic treated with hypoglycemic (Glibenclamide at a dose of 2.91mg/ml twice a day for 40 days), and a diabetic group treated with the aqueous extract of the plant study *Hibiscus sabdariffa L.* at a dose of (20mg/10g) twice a day for 40 days.

Our results obtained in the present study clearly show that hyperglycemic diet induces in the animal a diabetes characterized by an increase of the glycemia rate and a weight loss. The oral administration of the extract of this plant caused a recovery of the body weight which varied between ± 5 g, a decrease of the blood glucose concentration of a variation of (± 1.20) mg / dl, there was also a change of the liver weight which increased by ± 1.5 g, on the other hand there was not a significant change in the kidney weight, in the diabetic mice treated with the plant in comparison with the diabetic mice controls. In conclusion, the extract of Hibiscus sabdariffa has a beneficial effect in the treatment of diabetes.

Key words: Type 2 diabetes, high blood sugar, anti-hyperglycemic, hibiscus sabdariffa, hyperglycemic diet.

الملخص

قمنا في هذه التجربة بتقسيم 50 فائر على أربع مجموعات: المجموعة 1 (12 فأر): غير معالجة وخاضع لنظام غذائي غني بالسكريات. المجموعة 2 (13 فأر): غير معالجة وخاضعة لنظام غذائي غني بالسكريات. المجموعة 3 (13 فأر): معالجة بدواء بعد خضوعها لنظام غذائي غني بالسكريات المجموعة 4 (12 فأر): معالجة بمستخلص نبات الكركدية بعد خضوعها لنظام غذائي غني بالسكريات. تظهر النتائج التي تم الحصول عليها في هذه الدراسة بوضوح أن النظام الغذائي الغني بالسكريات سبب داء السكري للحيوانات والذي يتميز بزيادة نسب السكر في الدم وصاحبه انخفاض في الوزن. يسبب تناول مستخلص نبات الكركدية عن طريق الفم استرجاع الوزن المفقود الذي يتراوح بين $5 \pm$ ، انخفاض نسبة السكر في الدم التي تتراوح بين $1,20 \pm$ غرام، ونلاحظ أيضا تغير في وزن الكبد الذي ازداد بمقدار $1,5 \pm$ جرام في الفئران التي عولجت بالنبات مقارنة بالفئران المريضة بداء السكر. في الختام، فإن خالصة الكركديه لها تأثير مفيد في علاج داء السكري وذلك بخفض نسب السكر في الدم

الكلمات المفتاحية: نبات الكركدية، نظام غذائي غني بالسكريات، الفئران البيضاء، داء

السكري.

Introduction

Introduction

Le diabète sucré, est considéré depuis quelques années comme un des fléaux du troisième millénaire, partout dans le monde, dans les pays développés comme dans les pays en voie de développement.(Belhadj et al., 2019) ; il est défini par une hyperglycémie chronique qui est liée soit à un trouble de la sécrétion de l'insuline, soit à un trouble de l'action de l'insuline, soit les deux.(Tenenbaum et al., 2018).

Le diabète connaît une expansion très significative, Le nombre de personnes atteintes de diabète ne cesse de croître de façon très alarmante. On comptait 366 million de diabétiques en 2010 et 552 million sont attendus en 2030.(Whiting et al., 2011).

En Algérie, comme dans de nombreux pays en développement, connaît une transition épidémiologique concernant le diabète, ce qui représente une situation inquiétante avec des conséquences socio-économiques importantes car il s'agit de la deuxième maladie chronique après hypertension(Ferdi et al., 2016). En effet, le nombre de diabétiques en Algérie est passé de 1 million de personnes à plus de 2,5 millions de personnes en moins de 20 ans avec une prévalence estimée à 12,2% par l'enquête TAHINA (projet de recherche sur la transition épidémiologique et son impact sur la santé dans les pays d'Afrique du Nord),(Mansouri & Reggabi, 2021).

Selon (OMS) L'organisation mondiale de la santé , près de 80% de la population mondiale utilise les préparations traditionnelles à base de plantes en tant que soins de santé primaires(Pierre Betu KASANGANA, 2018).et la phytothérapie antidiabétique connaît à ce jour un essor considérable du fait de la découverte d'un nombre important d'extraits des plantes antidiabétiques.

En Algérie également, les traitements à base de plantes étaient bien développés mais le recours à la médecine conventionnelle est à l'origine d'un délaissement de ces pratiques ancestrales qui risquent de tomber dans l'oubli; (Rebbas et al., 2012).

Aujourd'hui, les plantes sont de plus en plus utilisées par l'industrie pharmaceutique. Il est difficile maintenant d'imaginer le monde sans la quinine (dérivée du genre Cinchona), qui est employée contre la malaria, sans la digoxine (du genre Digitalis), qui soigne le cœur, ou encore l'éphédrine (du genre Ephedra), que l'on retrouve dans de nombreuses prescriptions ;contre les

rhumes. Ces trois plantes ainsi que beaucoup d'autres sont largement utilisées par la médecine classique.(**Boumediene, 2017**) ; et plus de 800 plantes ont été identifiées et étudiées comme traitement potentiel du diabète de type II(**Boumediene, 2017**).

L'objectif de ce travail est de déterminer l'effets hypoglycémique de l'extrait aqueux des calices d'hibiscus sabdariffa L. sur des souris (albinos) rendu diabétiques par un régime alimentaire a indice glycémique élevé. De plus du Dosage qualitatif et quantitatif de l'extrait aqueux de la plante testée.

De fait, plusieurs phytothérapeutes à travers le monde s'intéressent à la recherche des nouvelles substances d'origine végétale pouvant avoir ce secret. C'est pourquoi nous nous sommes intéressés à entreprendre ce travail qui est subdivisé en en trois parties, la première partie, un rappel bibliographique dans laquelle nous apportons des généralités sur *Hibiscus sabdariffa L.* et le diabète. La deuxième partie expérimentale comporte le protocole suivi durant l'expérimentation, et la troisième partie finie par une interprétation et une discussion des résultats obtenus suivi par une conclusion et des perspectives.

Chapitre I

Synthèse bibliographique

Chapitre I: Rappel bibliographique

I.1. Diabète :

I.1.1. Définition :

Le diabète sucré est un groupe de conditions métaboliques chroniques, toutes caractérisées par des taux élevés de de la glycémie résultant de l'incapacité de l'organisme à produire de l'insuline ou la résistance à l'action de l'insuline, ou les deux. L'insuline qui est une hormone produite par le pancréas, revêt un caractère essentiel dans la régulation de la glycémie, puisque c'est la seule hormone ayant une action hypoglycémiant. Une carence ou un défaut d'insuline entraîne une hyperglycémie chronique qui est la cause principale de la survenue des complications dégénératives de la maladie diabétique mais celles-ci sont néanmoins susceptibles d'être évitées ou tout au moins retardées par un traitement adéquat (**Orban & Ichai, 2011**).

I.1.2. Critères diagnostiques du diabète sucré :

Tableau I : Critères diagnostiques du diabète selon l'ADA (2020).

Glycémie	Normal	Diabète
à jeun (GAJ)	$80\text{mg} \leq 126$	$\geq 126 \text{ mg/dl (7,0 mmol/L)}$
Deux heures après une épreuve d'HGPO	$100 \geq \text{mg} \leq 140$	$\geq 200 \text{ mg/dl (11,1 mmol/L)}$
Deux heures après une épreuve d'HbA1C	6%	$\geq 6,5\%$ (dosage par HPLC)

HbA1c : Hémoglobine glyquée, HGPO : Hyperglycémie Provoquée par voie Orale.

*En absence des symptômes, deux mesures sont nécessaires pour poser le diagnostic du diabète.

I.1.3. Classification :

I.1.3.1. Diabète de type 1 (DT1) :

Autrefois appelé diabète juvénile ou diabète insulino-dépendant, il représente entre 5 à 10% des cas du diabète et c'est la forme la plus répandue dans la population d'âge pédiatrique (**Beyan et al., 2006**). L'insulino-dépendance dans ce cas est due à une destruction des cellules β pancréatiques. On distingue le diabète auto-immun et le diabète idiopathique, ce dernier est présent chez une faible proportion de patients atteints du diabète de type 1 (**Association, 2020**).

Le processus de destruction auto-immune se déroule sur des mois voire de nombreuses années avant l'apparition de l'hyperglycémie. Cette dernière ne se manifeste que lorsqu'il ne reste plus qu'environ 10-20% de cellules β fonctionnelle (**Des et al., 2020**).

I.1.3.2. Diabète de type 2 :

le DT2 est la forme du diabète la plus fréquente, représentant à elle seule, environ 90% de l'ensemble des diabètes (**Des et al., 2020**).

L'étiologie de la maladie est complexe, impliquant à la fois, des facteurs génétiques et environnementaux et associe une insulino-résistance dominante avec insulino-pénie relative, ou une diminution prédominante de l'insulinosécrétion associée ou non à une insulino-résistance (**Cerasi & Ktorza, 2007**).

I.1.3.3. Différence entre diabète de type 1 et de type 2 :

Plusieurs caractéristiques nous permettent de distinguer le diabète de type 1 de celui de type 2 :

Tableau II : Caractéristiques du diabète type 1 et type 2.

Type de diabète	D.I.D (Type1)	D.N.I.D (Type 2)
Fréquence	15%	85%
Age de début	< 20 ans	> 35 ans
Facteur héréditaire	Faible	Fort
Obésité	Non	Oui
Signes auto-immuns	Oui	Non
Insulino-sécrétion	Nulle	Carence relative
Insulino-résistance	Non	Oui

I.1.3.4. Diabète gestationnel :

Le diabète gestationnel se définit comme une intolérance au glucose, de gravité variable, dont l'apparition ou la première reconnaissance a lieu pendant les grossesses entre 24 et 28 semaines d'aménorrhées. C'est une complication d'environ 4% des grossesses. Pour 90% des femmes, il disparaît après la naissance mais reste un facteur de risque de diabète de type 2 ultérieure (Sophie, 2019).

En général, la glycémie revient à la normale après l'accouchement, mais il s'avère être une menace tant pour la mère que pour l'enfant de développer un diabète de type 2 au cours de leurs vies.

I.1.4. Complication du diabète :

Le diabète prédispose les patients à des infections opportunistes, des pathologies vasculaires et neurales. Basé sur sa physiopathologie, les complications du diabète sucré peuvent être aiguës ou chroniques (Casqueiro et al., 2012)

Il existe trois complications métaboliques aiguës principales, l'acidocétose, le coma hyperosmolaire et l'acidose lactique. Elles sont le plus souvent, la conséquence d'erreurs thérapeutiques ou d'un défaut de surveillance (**Orban & Ichai, 2011**).

I.1.4.1. Acidocétose diabétique :

L'acidocétose est une aggravation du diabète, associée à une déficience en insuline absolue ou relative (**Kitabchi et al., 2008**). Elle touche surtout les diabétiques de type 1 mais aussi certains diabétiques de type 2, peut apparaître en cas d'omission d'insuline, de stress physiologique (infection, chirurgie, infarctus du myocarde...) (**Yang et al., 2012**). Une acidocétose sévère peut entraîner une léthargie et une dépression du système nerveux central aboutissant éventuellement à un coma (**Kitabchi et al., 2008**).

I.1.4.2. Coma hyperosmolaire :

Le coma hyperosmolaire est une forme de coma qui affecte essentiellement les diabétiques de type 2 d'un âge avancé. Il se caractérise surtout par une hyperglycémie, une polyurie, une insuffisance rénale et une forte déshydratation. Ces symptômes s'installent en plusieurs jours et conduisent à un collapsus, à des infections pulmonaires et à des convulsions. La première mesure consiste à traiter la baisse de volume sanguin (hypovolémie) en injectant un sérum salé isotonique (**org, 2014**).

I.1.4.3. Rétinopathie diabétique :

La rétinopathie est une complication fréquente qui touche plus de 50% des diabétiques après 15 ans d'évolution du diabète (**Fowler, 2008 ; Tripathi & Srivastava, 2006**). Cette pathologie est responsable, à terme, de cécité en l'absence d'un traitement adapté (**Bunce & Wormald, 2006 ; Stratton et al., 2001**). Plusieurs facteurs favorisent la survenue d'une rétinopathie diabétique et accélèrent sa progression : l'ancienneté du diabète, le niveau de glycémie, un diabète instable, l'hypertension artérielle, le tabagisme, etc (**Emanuele et al., 2005**); (**Harding et al., 2003**).

I.1.4.4. Neuropathie diabétique :

La neuropathie diabétique est la complication la plus fréquente du diabète sucré, affectant jusqu'à 50% des patients atteints de diabète de type 1 et de type 2. La neuropathie périphérique diabétique implique la présence de symptômes ou de signes de dysfonctionnement du nerf

périphérique chez les personnes atteintes de diabète après que d'autres causes possibles ont été exclues (Zeng et al., 2017) (Keller et al., 2003).

I.1.5. Traitement du diabète sucré :

L'hyperglycémie observée dans le diabète sucré est le résultat d'un décalage entre la quantité d'insuline nécessaire pour réguler les processus métaboliques et la quantité d'insuline sécrétée par les cellules β . Le traitement par l'insuline est le pilier des patients atteints de diabète sucré de type 1, tandis que les modifications du régime alimentaire et du mode de vie sont à la base du traitement et de la prise en charge du diabète sucré de type 2 à ses débuts.

L'insuline est également importante dans le diabète sucré de type 2 lorsque la glycémie ne peut être contrôlée par l'alimentation, la perte de poids, l'exercice et les médicaments oraux (Tripathi & Srivastava, 2006).

I.1.5.1. Traitements non médicamenteux :

Le traitement du diabète de type 2 repose d'abord sur des modifications du style de vie (régime, perte de poids et exercice physique) et sur la prise en charge des facteurs de risque cardiovasculaire associés. Selon les recommandations de l'HAS, (2006) la diététique est la première étape de la prise en charge du diabète de type 2. Une alimentation équilibrée est conseillée, avec une augmentation des apports en glucides lents et une diminution des apports en graisses saturées (Orban & Ichai, 2011).

L'exercice régulier est bénéfique dans le diabète de type 2 ; il améliore le contrôle glycémique grâce à une augmentation de la sensibilité à l'insuline. De plus, la pratique de l'exercice physique associé à des conseils diététiques retarde la progression de l'état prédiabétique vers le diabète. Lorsque les mesures précédentes n'apportent pas un contrôle suffisant de la glycémie, l'introduction d'un hypoglycémiant oral s'avère nécessaire (Ducobu, 2003). Encore, l'insulinothérapie occupe une place importante dans l'arsenal thérapeutique du diabète de type 1 et du diabète de type 2 (Creusot et al., 2016).

I.1.5.2. Traitements médicamenteux :

I.1.2.5.1 Sulfamides :

Les sulfamides appartiennent chimiquement à la famille des sulfonylurées, Ils stimulent la sécrétion d'insuline sans influencer sa synthèse. (SCHEEN, 2014 ; Tripathi & Srivastava,

2006).

Les sulfamides se lient à un récepteur spécifique présent sur la membrane des cellules bêta-pancréatiques, appelé SUR "sulfonylurea receptor". La liaison des sulfamides à leurs récepteurs spécifiques entraîne la fermeture des canaux potassiques ATP dépendant de la cellule bêta-pancréatique source d'une dépolarisation membranaire et de l'ouverture secondaire des canaux calciques. L'afflux de calcium dans le cytoplasme des cellules bêta-pancréatiques induit l'exocytose des vésicules contenant l'insuline d'une façon similaire à celle observée après stimulation par le glucose (**Gribble & Reimann, 2003**).

I.1.2.5.2 Biguanides :

Les biguanides représentent une des principales classes des antidiabétiques oraux. La seule molécule de cette classe médicamenteuse actuellement disponible est la metformine. Son utilisation est privilégiée dans les situations d'insulinorésistance, notamment chez les sujets obèses ou en surpoids.

Le mécanisme d'action des biguanides est tout à fait complémentaire de celui des sulfamides hypoglycémisants qui pour leur part améliorent la sécrétion d'insuline. D'autre part, les biguanides peuvent être prescrits en association avec un traitement par insuline, l'objectif étant alors d'améliorer la sensibilité à l'insuline injectée chez les patients insulinorésistants et de diminuer ainsi les doses d'insuline nécessaires (**Inzucchi et al., 1998**).

Le mode d'action précis de la metformine reste assez mal connu mais on sait que son action est double en réduisant d'une part l'insulinorésistance et d'autre part en diminuant la production hépatique de glucose (**Miller et al., 2013**). En présence d'insuline, la metformine diminue la néoglucogénèse et la glycogénolyse au niveau hépatique. Ainsi, l'insuline a une meilleure efficacité et permet, avec des taux circulants plus bas, de diminuer la glycémie (**Hundal et al., 2000**).

I.1.2.5.3 Glinides ou métaglinides :

Les glinides sont des antidiabétiques oraux apparentés aux sulfamides hypoglycémisants. Ils agissent en stimulant la sécrétion d'insuline par les cellules β -pancréatiques avec le même mécanisme d'action que les sulfamides hypoglycémisants (**Takahashi et al., 2007**). Bien que les structures et les mécanismes chimiques diffèrent entre ces agents, l'effet sur la libération

d'insuline en phase précoce est similaire, avec une augmentation rapide des concentrations d'insuline après administration et une demi-vie courte. (**Black et al., 2007**).

I.1.2.5.4 Thiazolidinédiones ou glitazones :

Les thiazolidinédiones ou glitazones sont des médicaments hypoglycémisants oraux relativement récents qui ont été retirés du marché en 2011. La première de ces molécules, la troglitazone, fut commercialisée aux États-Unis en 1997 avant d'être interdite plus tard en raison de son hépatotoxicité (**Pillon et al., 2014**).

I.1.2.5.5 Inhibiteurs des alphas glucosidases intestinales :

Les inhibiteurs des α -glucosidases agissent, comme leur nom l'indique, en inhibant de manière compétitive les α -glucosidases intestinales. Elle vient en complément des autres antidiabétiques oraux pour le traitement du diabète de type 2, mal contrôlé, ou lors de la contre-indication aux autres traitements (**Van de Laar, 2008**).

I.1.5.3. Traitement naturel :

Malgré la présence de médicaments antidiabétiques connus sur le marché pharmaceutique, les remèdes à base de plantes médicinales sont utilisés avec succès pour traiter cette maladie (**Kooti et al., 2016**). De nombreux traitements traditionnels contre le diabète sont utilisés dans le monde entier. Les médicaments à base de plantes et les formulations à base de plantes sont souvent considérés comme moins toxiques et ont moins d'effets secondaires (**Annapurna et al., 2001**), et pendant des millénaires, les plantes médicinales ont été une source précieuse d'agents thérapeutiques, et beaucoup de médicaments d'aujourd'hui sont des produits naturels à base des plantes ou de leurs dérivés (**Atanasov et al., 2015**).

À l'heure actuelle, plus de 400 traitements traditionnels contre le diabète ont été signalés, dont seulement un petit nombre a reçu une évaluation scientifique et médicale pour évaluer leur efficacité (**Gunjan et al., 2011**).

I.1.3.5.6 Modes d'actions des plantes antidiabétiques :

Une très grande variété de mécanismes est impliquée dans l'abaissement du taux de glucose dans le sang. Ceci est dû à la grande variété de classes chimiques des constituants hypoglycémisants provenant des plantes. Certains de ces composés se révèlent véritablement hypoglycémisants et pourraient avoir un potentiel thérapeutique (**Jarald et al., 2008**).

L'activité antidiabétique des plantes peut dépendre de plusieurs mécanismes (**Jarald et al., 2008** ; **Abou Khalil et al., 2016; Singh, 2011**).

- ✓ Stimulation de la sécrétion d'insuline à partir des cellules β ou/et inhibition du processus de dégradation de l'insuline ;
- ✓ Apport de quelques éléments nécessaires comme le Calcium, le Zinc, le

Magnésium, le Manganèse et le Cuivre pour les cellules β ;

- ✓ Régénération ou/et réparation des cellules pancréatiques β lésées ;
- ✓ Effet protecteur de la destruction des cellules β ;
- ✓ Augmentation du nombre de cellules β dans les îlots de Langerhans ;
- ✓ Inhibition de la réabsorption rénale du glucose ;
- ✓ Prévention du stress oxydatif, qui peut être impliqué dans le dysfonctionnement des cellules β .

I.2. Plante *Hibiscus sabdariffa* L. :

I.2.1. Présentation d'*hibiscus sabdariffa* L. :

Connu sous le nom de roselle dans les régions anglophones, elle est aussi appelée Bissap en Sénégal, Jamaïque au Mexique, Espagne, et Congo ; oseille de Guinée en France, Wonjo dans le Gambie, Zobo au Nigeria, Karkade en , Afrique du nord, Arabie Saoudite et Egypte.(**Ramírez-Rodrigues et al., 2012**).

Riches en acides organiques et en anthocyanes, les calices conférant aux extraits aqueux des activités antioxydants et des fonctionnalités colorantes. qui sont utilisées dans la confection de produits agro-alimentaire, pour la médecine et la cosmétique(**Mourtzinou et al., 2008**). (**Tsai et al., 2002**). Une décoction des calices est employée pour faire des boissons froides et chaudes dans plusieurs pays tropicaux et subtropicaux. Acide mais sans alcool, d'une couleur rouge proche de celle du vin, le jus d'hibiscus est une boisson naturelle tonifiante. En Amérique tropicale et en Afrique subsaharienne, le bissap (*Hibiscus*) est servi en famille à tout moment. Certaines variétés de cette plante sont employées en tant que plantes ornementales.(**HIEN, 2012**).

I.2.2. Répartition géographique :

L'hibiscus sabdariffa L., à la fleur attrayante, est largement cultivé, Dans de nombreux pays en développement. Avec Plus de 300 espèces repartis en zone tropicales et subtropicales. Son origine est encore incertaine. certains l'attribue aux pays des indes.(Da-Costa-Rocha et al., 2014)ou elle est encore couramment cultivée. Alors que Murdock à prouvé son existence bien avant le **IVe millénaire av. J.-C** en Afrique.(**Murdock, 1959**) ; notamment en soudan où il aurait été domestiqué il y a environ 6000 ans. (**Riaz & Chopra, 2018**).

I.2.3. Systématiques :

Le genre *Hibiscus* renferme environ 200 à 300 espèces principalement dans les régions tropicales et subtropicales parmi lesquelles on distingue :

- ✓ Une espèce sauvage (*Hibiscus asper* L.) ;
- ✓ Une espèce ornementale (*Hibiscus rosa sinensis* L.) ;
- ✓ Une espèce à fibre (*Hibiscus cannabinus* L.) ;

- ✓ Et une espèce cultivée pour son feuillage et/ou ses fruits tel *H. sabdariffa* L. sur laquelle porte notre étude.

Selon la classification phylogénétique APG III, la classification de l'espèce *Hibiscus sabdariffa* L. est présentée dans le tableau :

Tableau III : Classification de l'espèce *Hibiscus sabdariffa* L.

Règne	Archéplastides
Clade	Angiospermes
Clade	Dicotylédones vraies
Clade	Noyau des Dicotylédones vraies
Clade	Rosidées
Clade	Malvidées
Ordre	Malvales
Famille	Malvacées
Sous-famille	Malvoïdées
Genre	<i>Hibiscus</i>
Espèce	<i>sabdariffa</i>

I.2.4. Description botanique :

Appartenant à la famille des malvacées ; c'est une plante annuelle, herbacée ou vivace ou d'un sous arbuste ligneux, qui peut atteindre les 2,5 m de hauteur. Dotée d'une racine pivotante profondément pénétrante, et d'une tige lisse ou presque lisse, cylindrique, la plupart du temps vert foncé à rouge.

Les feuilles sont alternes, longues de 7,5 à 12,5 cm, vertes avec des veinures rougeâtres et des pétioles longs ou courts. Les feuilles des jeunes plantules et les feuilles supérieures des plantes plus âgées sont simples ; les feuilles inférieures sont des feuilles composées de 3 à 5 ou même 7-folioles avec des bords Dentés (acutilobés). Les fleurs, portées individuellement sur l'axe des feuilles, mesurent jusqu'à 12,5 cm de largeur, jaunes ou chamois avec un œil rose ou marron. et deviennent roses en se fanant à la fin de la journée. (Shruthi et al., 2016).

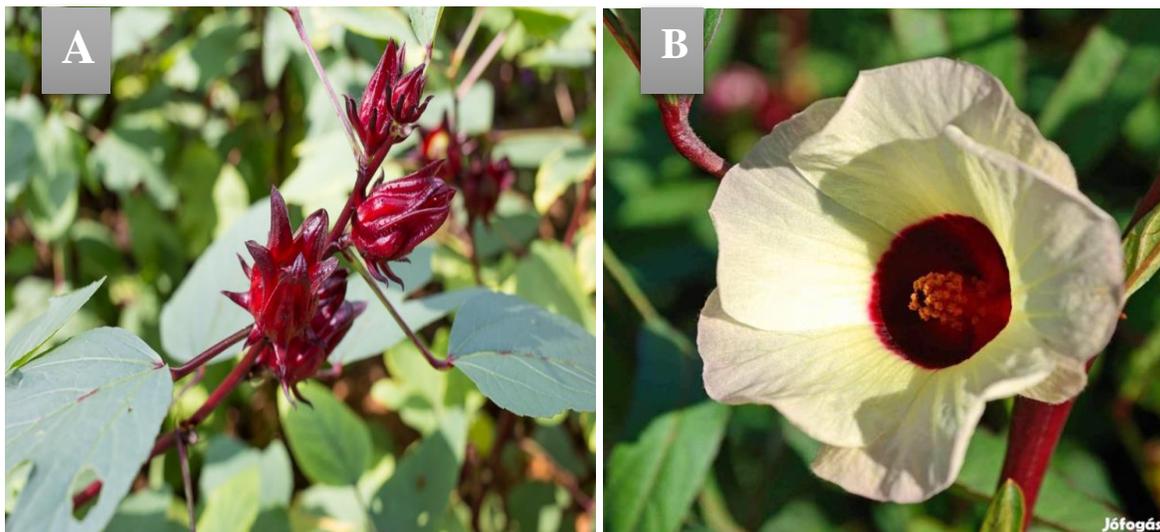


Figure 1 : *Hibiscus sabdariffa*, (A) calice, tige et feuille ; (B) fleur.

I.2.5. Domaines d'utilisation d'*Hibiscus sabdariffa* L. :

L'*Hibiscus sabdariffa* L. est une plante qui présente plusieurs domaines d'utilisation soit dans l'industrie agroalimentaire, l'alimentation humaine et dans le domaine médical grâce à ses propriétés thérapeutiques. Dont, toutes les parties de la plante sont exploités les calices, les feuilles et les graines.

I.2.5.1. Utilisation alimentaire :

Les calices, du fait de leur concentration élevée en acides, pectines, vitamines C et surtout en anthocyanes, constituent la partie de la plante la plus utilisée. Ils interviennent dans la production de boissons en Afrique et en Asie.(**Houda & Ghania, 2016**). Cette boisson est connue selon le pays sous plusieurs appellations (Bissap au Sénégal, Da bilenni au Mali, Thé de Karkadé au soudan et - Boisson des pharaons en Egypte).

L'*Hibiscus sabdariffa* L. est aussi utilisés comme tisane, confitures, gelées et déserts, Les extraits de calices sous forme de concentré ou de poudre séchée sont utilisés comme colorant naturel dans les industries alimentaires(**Mounigan & Badrie, 2007**).

Au Soudan et au Nigéria, les graines d'H sabdariffa sont utilisées pour élaborer un produit de remplacement de la viande appelé viande d'oseille, le « furundu », Différents produits similaires sont trouvés dans d'autres régions comme le « dawadawa » au Nigéria et au Ghana. (**Yagoub et al., 2004**).

La composition des feuilles d'*Hibiscus sabdariffa* L. est également propice à leur utilisation dans l'alimentation humaine. Au Mali, elles sont bouillies pour fabriquer des sauces accompagnantes différentes platesà base de tubercules(**Denton et al., 2004**).



Figure 2 : Calices d'*Hibiscus sabdariffa* et les sachets de thé *Hibiscus sabdariffa*.



Figure 3 : Infusion de thé *Hibiscus sabdariffa*.L.

I.2.5.2. Utilisation médicinale :

L'espèce *Hibiscus sabdariffa* L. aurait de nombreuses propriétés thérapeutiques. Elle est utilisée dans la plupart des médecines traditionnelles, elle est connue comme un antiseptique, antimicrobienne et antifongique. (Cisse et al., 2009), beaucoup d'autres propriétés médicinales ont été attribuées aux différentes parties de la plante D'H. sabdariffa parmi elles :

Tableau IV : propriétés médicinales des extraits d'*Hibiscus sabdariffa* L.

(Cisse et al., 2009).

Propriétés médicinales de l'extrait d'*Hibiscus sabdariffa* L.

Pouvoir fortifiant et purificateur du sang

Inhibition de la formation de caillots dans les reins

Hypotenseur chez l'Homme

Antispasmodique

Lutte contre les maladies cardiovasculaires et hépatiques

Activité anti-athérosclérotique

Réduction de l'hépatotoxicité induit par le paracétamol chez les souris

Effet protecteur contre la fibrose du foie chez le rat

I.2.6. Composition phytochimiques :

I.2.6.1. Composition nutritionnelle des différentes parties De la plante d'*Hibiscus sabdariffa* L. :

Les valeurs des compositions nutritionnelles de l'*Hibiscus sabdariffa* L. peuvent changer légèrement d'un pays a un autre selon leurs variétés, facteurs environnementaux, facteurs génétique, écologique et conditions de plantation et de récolte.

I.2.1.6.7 Les calices :

La partie la plus importante et la plus exploitée et comestible dans la plante d'*Hibiscus sabdariffa* L. sont les calices. riches en vitamine C (il est rapporté que chaque 100 g de calices frais contiennent 2.85 µg vitamine D, 0.04 mg vitamine B1 et 0.6 mg vitamine B2)(Cisse et al., 2009).

Les sucres présents dans les calices d'*Hibiscus Sabdariffa L.* sont fructose, saccharose et glucose qui représente 40 % des sucres totaux. Comme elle est connue comme une source importante de pectines, carotènes et fibres. (Cisse et al., 2009).

Les calices d'*Hibiscus Sabdariffa L.* constituent une bonne source d'éléments essentiels (Ca, Cu, Fe, K, Mn, Zn). Cependant, leur teneur dépend de nombreux facteurs parmi lesquels on peut citer les conditions géo-climatiques environnantes, les activités humaines à proximité du champ et les pratiques culturales utilisées. (Cisse et al., 2009).



Figure 4 : partie calice de l'*Hibiscus sabdariffa L.*

I.2.1.6.8 Les graines :

Les graines d'*Hibiscus Sabdariffa L.* également contiennent des concentrations importantes en sucre (40%) ; protéines (26 %) et de lipides (20 %). L'acide glutamique (22 %), la glycine (18 %) et l'acide aspartique (11 %) sont les acides aminés majoritaires dans les graines. Et une richesse en huile comparable à celle de la tomate avec une teneur de 20%. (Endrias, 2006).



Figure 5 : graines de l'*Hibiscus sabdariffa* L.

I.2.1.6.9 Les feuilles :

En Afrique occidentale, les feuilles d'*Hibiscus sabdariffa* L. sont consommées comme des légumes en soupe ou en salade, Grâce à leurs qualités et à leur valeur nutritive riche en fer, calcium, magnésium, et notamment un taux exceptionnelle en zinc.(**Endrias, 2006**).



Figure 6 : Plante d'*Hibiscus sabdariffa* L.

Tableau V: composants nutritionnels des différentes parties de la plante *Hibiscus sabdariffa* L. (Endrias, 2006)

Acides aminés	Feuilles (mg/g)	Calices (%)	Graines (%)	Minéraux	Feuilles µg/g	Acides Gras	Graines (%)
Aspartate	31,8	16,3	2,5	Ca	12,4	Myristique	0,34
Glutamate	26,6	7,2	5,21	Cr	≤0,5	Palmitique	14,56
Serine	11,9	3,5	1,13	Cu	13,5	Stéarique	0,47
Glycine	11,7	3,8	5,21	Fe	1191	Elaidique	38,79
Histidine	6,4	1,5	0,78	K	19,7	Oléique	22,1
Arginine	17,5	3,6	2,33	Mg	7865	Linoléique	5,04
Thréonine	9,5	3,0	0,84	Mn	114	Linoléique	3,46
Alanine	8,5	3,7	1,01	Mo	15,3	Arachidonique	8,61

I.2.7. Constituants bioactifs :

La chimie d'*Hibiscus sabdariffa* L. représente une valeur très élevée en anthocyanes et l'acide 3,4-dihydroxybenzoïque. Chaque partie de la plante représente une composition chimique diverse comme les calices séchés qui sont riches en flavonoïdes et la gossypétine qui est un composé organique de la famille des flavanols, l'hibiscétine et la sabdarétine également la présence de petites quantités de delphinidine, chrysanthénine (cyanidine 3-monoglucoside) et myrtilline (delphinidine 3-monoglucoside) (Shruthi et al., 2016)

De grandes quantités d'acides organiques, à savoir l'acide citrique, l'acide tartrique et l'acide malique. La teneur de ces acides augmente pendant la croissance mais diminue quand ils atteignent la maturité ou mûrit (Shruthi et al., 2016) .

Concernant l'extrait de calice d'*Hibiscus sabdariffa* L. qui présente une pigmentation rouge très riche d'anthocyanes et des propriétés antioxydantes. Une bonne source des antioxydants

liposolubles tel que le tocophérol est présent dans les graines **d'*Hibiscus sabdariffa* L.** La plante riche en minéraux en particulier le potassium et le magnésium, les Vitamines (ascorbiques, niacine et pyridoxine) (**Shruthi et al., 2016**)

Dans les sessions qui suivent, une revue de littérature sera consacrée sur l'étude phytochimique de ces composés isolés de l'***Hibiscus sabdariffa* L.** Une attention spéciale va être portée sur leur particularité phytochimique, leur classification et leur biosynthèse. Leurs potentiels biologiques notamment antidiabétiques se vont également être mis en exergue.

Chapitre II

Matériel et méthodes

Chapitre II: Matériel et méthodes

La partie pratique de notre étude s'est étalée sur une période de quatre mois allant du 03 mars jusqu'au 21 Juin 2022, notre étude a porté sur l'évaluation de l'effet hypoglycémiant de l'extrait aqueux d'*hibiscus sabdariffa L.* expérimenter sur des souris albinos obtenus au niveau de l'Institut pasteur Alger rendu diabétique.

L'expérimentation a été réaliser au niveau de la station expérimentale et le laboratoire de PFE de biologie de la Faculté des Sciences de la Nature et de la vie université de Blida 1, les analyses sanguines ont été réalisé au niveau du laboratoire du Dr Boutabaa-Yakin Ain Benian Alger.

II.1. Matériel :

II.1.1. Matériel non biologique :

Appareillages ; accessoires de palliasse et instruments biochimiques de laboratoire, réactifs et solutions (Annexe)

II.1.2. Matériel biologique :

II.1.2.1. Matériel végétal :

Le matériel végétal utilisé sont les calies d'*Hibiscus sabdariffa L.* fourni grâce à un phytothérapeute du marché d'épices de Maghnia Tlemcen (Algérie) en provenance d'Égypte.



Figure 7 : calice d'*Hibiscus sabdariffa* L (photo originale)

II.1.2.2. Modèle animale :

Les souris albinos utilisées sont des mâles en bonne santé entre 2 et 3 mois, pesants 20 ± 5 g. Les animaux ont été logés dans des cages en polypropylène tapissées de copeaux et nourries par « aliment pour Lapins » (contenant 17% des protéines), la farine de froment, le son de blé, la viande hachée et le lait en poudre (office national de l'alimentation du bétail), avec un accès à l'eau ont volaté « ad libitum » (10 ± 2 souris par cage). Maintenus dans des conditions standard. Les animaux du laboratoire ont été suivis pendant toute la durée de l'expérience.

II.2. Méthodes

II.2.1. Préparation de l'extrait aqueux par macération :

10g du matériel végétal a été mélangé à 100 ml d'eau distillée, et laissé macérer pendant 48h dans un endroit obscur à température ambiante de $20 \pm 2^\circ\text{C}$. Après 48H de macération filtrer, récupérer le filtrat, et conserver dans des bocaux stériles et recouverts de papier aluminium.



Figure 8 : Préparation de l'extrait aqueux d'Hibiscus sabdariffa L (photo originale).

II.2.2. Préparation de l'extrait de Glibenclamide :

Les comprimés de glibenclamide dosés à 5 mg ont été broyés dans un mortier à l'aide d'un pilon, la poudre obtenue a été introduite dans un tube à essai contenant de l'eau distillée.

II.2.3. Activité antidiabétique in vivo :

II.2.3.1. Répartition des souris :

On a divisé les souris en quatre groupes et gardés dans des mêmes conditions:

Lot 1 (12 souris) : recevant un régime alimentaire standard.

Lot 2 (13 souris) : recevant un régime alimentaire hyperglycémiant.

Lot 3 (13 souris) : recevant un régime alimentaire hyperglycémiant.

Lot 4 (12 souris) : recevant un régime alimentaire hyperglycémiant.

II.2.3.2. Induction du diabète expérimental :

Pour induire l'hyperglycémie, 30 souris ont été soumises pendant 6 semaines à un régime hyperglucidique allant du premier avril jusqu'au 16 mai 2022. (Régime à aliments forts en indice glycémique : boissons sucrées, gâteaux...etc.). Le lot témoin n'a subi aucun changement dans son alimentation.

II.2.3.3. Mesure du poids corporel :

Afin de déterminer l'influence de notre extrait sur le poids corporel et la croissance des souris, nous avons suivi l'évolution du poids corporel des souris témoins et traitées, périodiquement tout au long de l'expérimentation ; à des heures fixes. Le poids corporel est mesuré à l'aide d'une balance en grammes (g).



Figure 9 : Détermination de poids corporel (photo original).

II.2.3.4. Mesure de la glycémie :

La glycémie a été déterminée à l'aide d'un glucomètre et des bandelettes réactives de la marque (DINAGO CHECK). Les animaux ayant présenté une glycémie franche ont été retenue et inclus dans l'étude.

Un glucomètre (DINAGO CHECK sens) a permis l'obtention du taux de glucose à partir d'une goutte de sang veineux prélever après lésion de l'extrémité caudale. Après chaque opération établie La queue doit être désinfectée à l'aide de coton imbibé de Bétadine.



Figure 10 : Mesure de taux de la glycémie (photo originale).

II.2.3.5. Évaluation des effets hypoglycémiantes d'*Hibiscus Sabdariffa L.* :

Après l'installation du diabète chez les souris, ces derniers sont répartis en différents groupes : Groupes des témoins saines (lot1) ; Groupes des diabétiques non traités (lot2) ; Groupes des diabétiques traités par glibenclamide, traitement de référence (lot3) à une dose de 2 mg/ 10 g PC ; groupes des diabétiques traitées par l'extrait aqueux de l'*Hibiscus sabdariffa L.* (lot4) a une dose 2 mg/10 g.

II.2.3.6. Administration de la glibenclamide :

Durant la période de manipulation, le 3^{eme} lot est traité deux fois par jour, par voie orale, d'une dose de 2 mg /10 g PC.

II.2.3.7. Administration de l'extrait :

Durant la période de manipulation, le 4^{eme} lot est traité deux fois par jour, par voie orale, d'une dose de 2 mg /10 g PC.



Figure 11 : Administration de l'extrait par gavage (photo originale).

II.2.4. Sacrifice et prélèvement sanguin :

- ✓ Les souris sont sacrifiées après 16h de jeune, le sang a été prélevé par ponction retro-orbitale.
- ✓ Placer l'animal sur son côté tête dirigée vers le bas, fixer la tête avec le l'index en dessus et le pouce en dessous de l'œil, de manier à ce que le globe oculaire sort le plus possible de l'orbite.
- ✓ Insérer doucement le bout de la pipette pasteur à paroi fine d'un angle de 45 degrés, faire tourner la pipette entre les doigts en appliquant une légère pression vers le bas puis relâcher doucement une fois le sang pénètre dans la pipette.

- ✓ Couvrez l'extrémité ouverte de la pipette avec le bout du doigt avant de la retirer du sinus orbital pour éviter que le sang de se répandre hors du tube.
- ✓ Il est également possible de sectionner la tête d'un coup de ciseaux pour récupérer une quantité suffisante de sang.
- ✓ Le sang prélevé est récupéré dans des tubes héparines pour le bilan glucidique et lipidique.
- ✓ Centrifugation à 3000 tours/minutes pendant 15min ; le sérum est utilisé pour le dosage de la glycémie.

II.2.4.1. La dissection :

- ✓ Placer l'animal dans la cuvette à dissection, face dorsale appliquée directement au fond de la cuvette.
- ✓ Épingler les quatre membres : placer les épingles en biais, têtes vers l'extérieur.
- ✓ Pincer la peau au-dessus des organes génitaux externes et inciser une boutonnière avec les ciseaux fins.
- ✓ Glisser dans la boutonnière la sonde cannelée de manière à soulever uniquement la peau.
- ✓ Inciser la peau, avec les ciseaux fins, dans le plan de symétrie, en suivant la sonde cannelée; arrêter l'incision à la base de la cage thoracique.
- ✓ Inciser la peau des pattes antérieures et postérieures en vous guidant avec la sonde cannelée.
- ✓ Épingler les volets de peau.
- ✓ Inciser la couche de muscles abdominaux (fine et translucide) qui recouvre les viscères.
- ✓ Épingler les volets de peau et de muscles.
- ✓ Dérouler et basculer l'intestin sur un côté de l'animal.
- ✓ Identifier les différentes parties de l'appareil digestif.
- ✓ Prélever les reins (Droit et gauche) ; le foie et la rate.
- ✓ Pesé chaque organe séparément après le prélèvement.
- ✓ Les organes sont conservés dans du formol a (10%).



Figure 12 : Dissection et prélèvement des organes (photo originale).

II.2.4.2. Détermination de la glycémie après sacrifice :

Le glucose est phosphorylé par l'action de l'hexokinase (HK) en présence d'adénosine triphosphate (ATP) et d'ions Mg^{2+} pour produire du glucose 6- phosphate et de l'adénosine diphosphate (ADP). Le glucose-6-phosphate déshydrogénase (G6P-DH) oxyde le glucose-6-déshydrogénase (G6P-DH) oxyde le glucose-6-phosphate de façon spécifique pour produire du gluconate-6-phosphate. Le NAD^{+} est simultanément réduit en NADH. L'augmentation de l'absorbance à 340 nm est proportionnelle à la concentration en glucose de l'échantillon (Salehi-Farsani et al., 2014).



HK, Mg^{2+}



II.2.5. Etude des coupes histologiques :

Cet examen a été réalisé par l'exploration de la technique histologique qui assure la description des détails des modifications internes du foie, la réalisation de ces coupes a été effectuée suivant le protocole optimisé pour le barbeau par (Alquier et Lefas, 1974). Les étapes sont comme suit :

II.2.5.1. La Fixation :

Elle a pour but d'immobiliser les structures des échantillons en respectant dans la mesure du possible la morphologie des structures. Après dissection, le foie a été fixé dans le formol à 10% qui a été préparé du 10 ml du formol commercial à 35% et 90 ml d'eau distillé.

II.2.5.2. La déshydratation :

Après fixation, les organes sont rincés par le tampon PBS et sont coupés à l'aide d'un scalpel après ils sont placés dans des cassettes numérotées en raison d'un échantillon par cassette.

Ensuite les organes subissent une déshydratation en plaçant les cassettes dans des bains d'éthanol de concentration croissante

- ✓ Alcool 70° (un bain de 30min),.
- ✓ Alcool 80° (un bain de 30min),.
- ✓ Alcool 90° (un bain de 30min),.
- ✓ Alcool 100° (un bain de 30 min).

II.2.5.3. La désalcoolisation :

La désalcoolisation est effectuée dans différents bains de toluène

- ✓ Toluène + éthanol (v/v) (un bain de 30min),.
- ✓ Toluène pur (2 bains de 30min),.
- ✓ Toluène pur (un bain de 1 heure),.
- ✓ Toluène+paraffine (v/v) (30min),.
- ✓ Paraffine (1 bain 12 heures),.

II.2.5.4. Inclusion :

La paraffine est coulée à chaud, dans des moules métalliques associés à des cassettes en plastique. L'explant est rapidement plongé avec une pince préalablement chauffée, tout en l'orientant dans le sens de la coupe désirée. La polymérisation de la paraffine à température ambiante permet l'obtention de blocs prêts à être coupés.

II.2.5.5. La confection et l'étalement des coupes :

Avant de passer à la confection des coupes, les blocs démoulés sont taillés à l'aide d'un scalpel jusqu'à l'apparition des organes inclus. La réalisation des coupes est faite à l'aide d'un microtome, de type Leica RM 2025, en réglant l'épaisseur à 5µm.

Les rubans obtenus sont étalés dans un bain marie (37°C) puis récupérés par les lames dont l'étalement se fait avec de l'eau gélatineuse filtrée (5%) puis étalés soigneusement. Ils sont ensuite traités à l'étuve pour faire dissoudre la paraffine.

II.2.5.6. Les déparaffinages et l'hydratation :

Les lames doivent donc être déparaffinées avant leur coloration dans 2 bains de toluène pendant 10 min chacun, puis dans 2 bains d'éthanol pendant une minute pour chaque bain.

L'hydratation se fait on plongeant les lames dans différents bains d'alcool d'ordre décroissant, alcool à 90° puis à 50° pendant 1 à 5 minutes, puis on rince avec l'eau courante pendant une minute.

II.2.5.7. La coloration :

Elle a pour but de différencier les constituants tissulaires. La coloration utilisée est celle de la coloration hématoxyline, éosine. Où Hématoxyline colore les structures nucléaires en bleu et l'éosine colore le cytoplasme en rouge et le collagène en rose.

Dans ce cas, les lames sont trempées successivement dans les bains suivants :

- ✓ Coloration à l'hématoxyline pendant deux minutes.,
- ✓ Rincer à l'eau courante pendant deux minutes.,
- ✓ Coloration a l'éosine pendant 10 secondes.,
- ✓ Rincer à l'eau courante pendant 2secondes.

II.2.5.8. La déshydratation :

Après coloration, il est nécessaire de faire une déshydratation pour éliminer l'eau présente dans les coupes. Les coupes sont trempées dans différents bains d'alcool éthylique de titre croissant :

- ✓ Alcool à 70° pendant 5 à 10 minutes.,
- ✓ Alcool à 90° pendant 5 à 10 minutes.,
- ✓ Alcool éthylique absolu pendant 15 minutes.,
- ✓ Suivie de deux bains de toluène de 15 minutes chacun.

II.2.5.9. Le montage des lames :

Le montage a été réalisé entre lame et lamelle à l'aide de baume de canada.

II.2.5.10. L'Observation microscopique (non réaliser) :

Les lames ainsi préparées sont prêtes pour l'observation au microscope optique (x10 Puis x40).

II.3. Considérations éthiques :

L'approbation éthique du protocole d'étude a été accordée par Université Ssad dahleb blida 1. la norme exigences pour la conduite d'expériences sur l'ensemble des animaux, y compris la pratique du bien-être animal et élevage, ont été strictement respectés tout au long de l'étude conformément aux procédures d'utilisation normalisées du laboratoire établi par le Comité international de protection et d'utilisation des animaux Institut de recherche en biotechnologie.

II.4. Analyse statistique :

Le test t, également appelé test de Student ou distribution t, est un test statistique populaire servant à mesurer les différences entre les moyennes de deux groupes ou d'un groupe par rapport à une valeur standard.

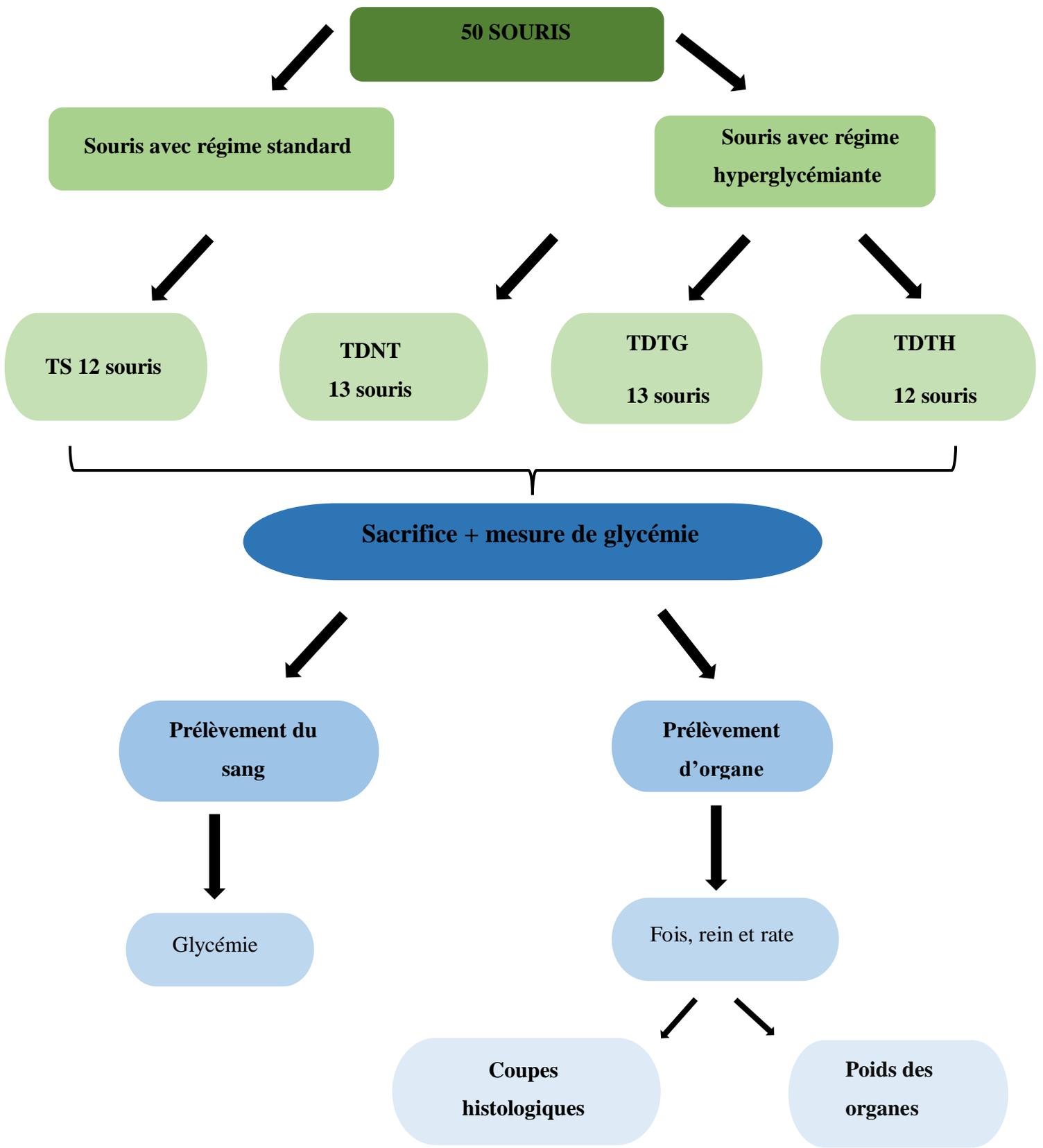


Figure 13 : Protocol expérimentale de l'étude.

Chapitre III

Résultats et discussion

Chapitre III: Résultats et discussion

III.1. Résultats de l'évolution pondérale :

La variation du poids des souris constitue un paramètre très important et suivi tout au long de notre étude.

La (figure 14) représente les variations de la moyenne des poids corporel, les résultats sont exprimés en gramme :

Nous avons remarqué que les poids corporels des souris du lot sain(TS) augmentent d'une façon normale, et cela depuis le 1^{er} jour (12 avril), jusqu'au dernier jour c'est-à-dire le 19 juin et cela est dû à une croissance normale des animaux. On peut remarquer qu'au jour **J1**, qu'il n'y a pas de différence significative du poids corporel entre les quatre lots des souris. On peut aussi remarquer qu'après le suivi du régime hyper glycémiq, une augmentation importante de $\pm 2,5$ g du poids corporel chez les groupes diabétiques traités en comparaison au groupe témoin TS, et à partir du J1 (12 avril) du suivi du régime hyperglycémiant, on peut remarquer que le lot diabétique non trait a eu une perte de poids corporel d'une valeur de 5g par rapport au lot saint TS, et cela tout au long de notre expérimentation. . Pour le lot diabétique traité par le médicament de référence, on peut remarquer qu'il y a une diminution du poids corporel des souris, similaire aux poids des souris du lot diabétique non trait. ; Cette perte de poids des lots pendant les 4 premières semaines de l'expérience est due au catabolisme, plus particulièrement des lipides par lipolyse des tissus adipeux suite à l'insulino-déficience. Ces résultats concordent avec les travaux d'est confirmé par **De-Oliveira et al., 2008**. Et cela peut être dû à l'effet de l'extrait aqueux des calices d'Hibiscus sabdariffa. Une reprise de poids peut-être expliquer selon Adefolalu *et al.*, 2020 que l'extrait de plante Hibiscus sabdariffa avait un contrôle de la fonte musculaire et de la perte de protéines(**Adefolalu et al., 2020**).

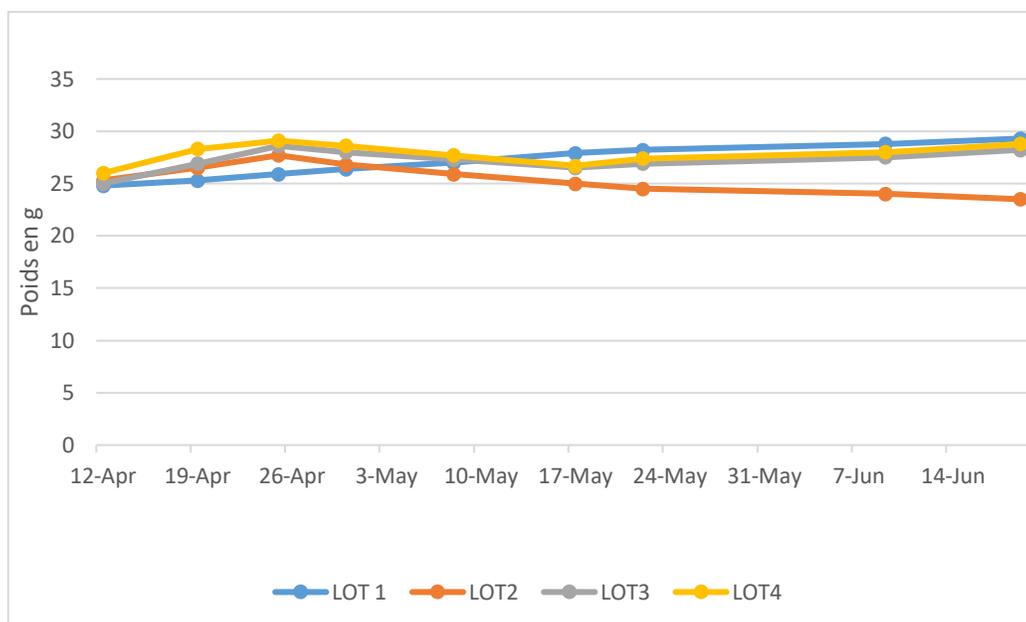


Figure 14 : Evolution des moyennes des poids des 4 lots.

Chaque valeur représente la moyenne. LOT 1 : souris nourries au régime standard, LOT2 : souris nourries au régime hyperglycémiant, LOT3 : souris nourries au régime hyperglycémiant traité par glibenclamide, LOT4 : souris nourries au régime hyperglycémiant traité par l'extrait d'hibiscus sabdariffa.

III.2. Résultats du taux de la glycémie :

Les résultats des taux de la glycémie sont représentés dans la figure 15:

On peut constater que dans le lot témoin les valeurs de la glycémie à jeun font partie dans l'intervalle des normes entre 96 mg/ dl et 130 mg / dl, s'agissant du lot diabétique non traites (Lot 2), On peut remarquer une augmentation du taux de la glycémie à partir du 25 avril jusqu'au 19 juin d'une valeur ± 140 mg/ dl en comparaison avec le lot témoin traite due à l'effet du régime suivi. Pour le lot traité par la glibenclamide au début de l'expérimentation on a eu des valeurs allant jusqu'à 270 mg / dl et après 1 mois de traitements on peut remarquer une diminution du taux de la glycémie à jeun d'une valeur de 180mg /dl, ainsi que le lot traité par l'extrait de plante *hibiscus sabdariffa L.* Au début de l'expérimentation le taux de la glycémie était à 220 mg/dl a jeune et après 1 mois de traitement on a remarqué une diminution de 147 mg/dl, On a peut remarquer que une diminution importante de glucose sanguin dans les groupes des souris traité par l'extrait des calices de la plante *Hibiscus sabdariffa L.* par rapport au souris non traité et cela

concorde avec les travaux de *Mashi et al., 2018* qui explique que cette diminution due à la présence d'un ou de plusieurs composés phyto-chimiques contenus dans l'extrait d'*Hibiscus sabdariffa L.* capables soit d'augmenter la sécrétion d'insuline, soit de régénérer les cellules bêta pancréatiques productrices d'insuline ; il a été rapporté aussi que les flavonoïdes et les phénols comme possédant des activités antioxydantes qui pourraient être responsables des propriétés antidiabétiques de l'extrait via la modulation de l'insuline. (*Mashi et al., 2018*), (*Farzaei et al., 2018*).

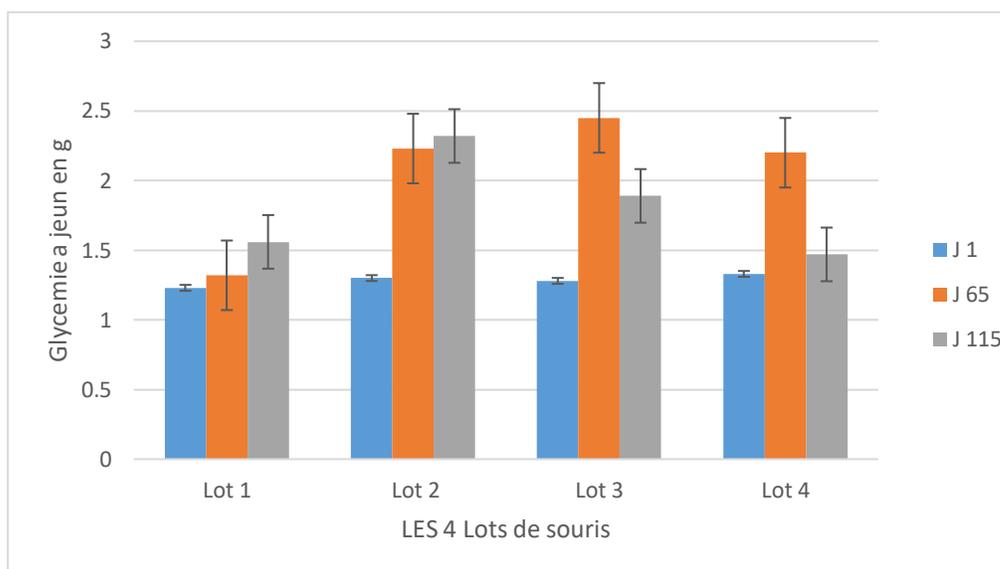


Figure 15 : Evaluations des taux de glycémie a jeun des 4 lots de souris.

III.2.1. Dosage de la glycémie après sacrifice :

La figure 16 représente les résultats obtenus des concentrations de glucose dans le sang après sacrifice :

Nos résultat montre que le taux du glucose d'après la figure on remarque que le lot non traité avait une teneur en glucose plus élevée que le lot 1 cette valeur est de 138 mg/dl, s'agissant de lot traité par l'extrait aqueux des calices de H.S se rapproche de celui du lot témoin saine (Lot1) (150 mg/dl et 137 mg/dl).

Selon les travaux de Lina et al ,2017 ils ont obtenu une diminution des taux de la glycémie de (132 mg / dl) ; en comparaison aux souris traitées par la glibenclamide et le témoin sain (**Lina et al., 2017**).

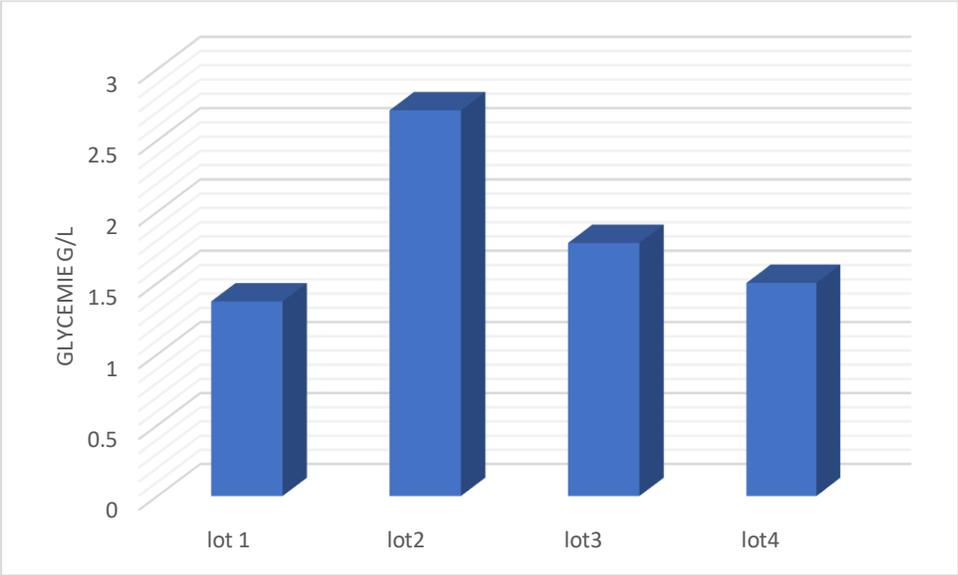


Figure 16 : Évolutions des concentrations du glucose dans le sang.

III.2.2. Les poids relatifs des poids des différents organes :

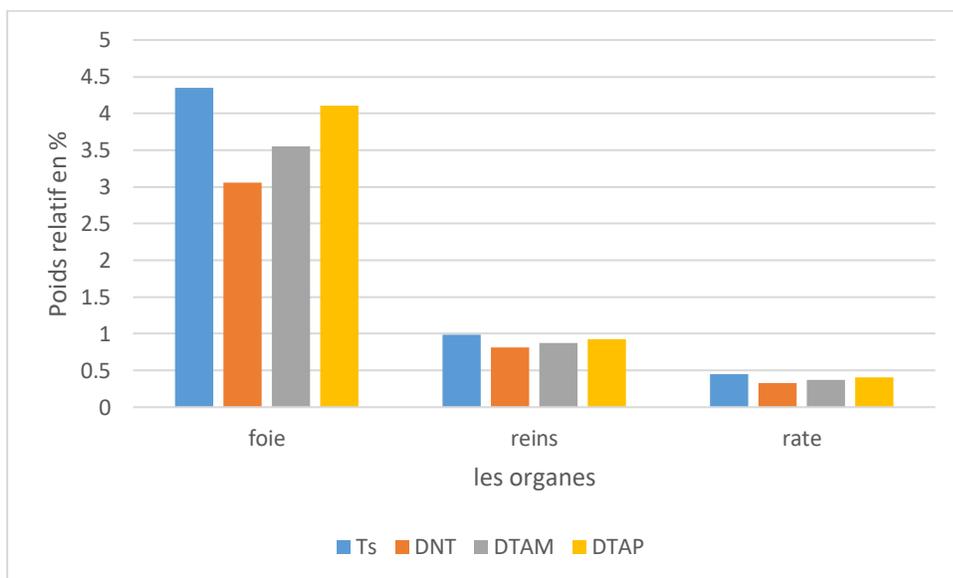


Figure 17 : Évolutions des Poids relatifs de certains organes des différents lots des souris males.

➤ Le Foie :

Les résultats ont montré que le lot traité par la plante et celle de la glibenclamide ; leur poids est normal et similaire avec le lot témoin, et cela est dû à la récupération du poids chez les lots diabétiques traités.

Le groupe témoin diabétique non traités représente les poids les plus faibles ; cause possible de l'effet diabétique (les souris ne subissent aucun traitement) ce qui concorde avec les résultats de (Liu et al., 2008).

➤ La rate :

Les lots traités par le médicament et la plante montrent des poids similaires à celles du lot témoin mais qui restent inférieurs. Le lot témoin diabétique non traité représente les poids les plus faibles dus possiblement au diabète suivi d'une immunodépression ce qui concorde avec les résultats de (Liu et al., 2008)

➤ **Les reins :**

On remarque que les poids relatifs des reins du lot traitées (traitée par la glibenclamide et l'extrait de plante) est proche du lot TS, alors que le Lot TNT représente toujours la moindre valeur du poids à cause de la toxicité et l'absence de traitement ce qui concorde avec les résultats de **(Liu et al., 2008)**.

Les résultats du calcul de test statistique :

Les tableaux ci-dessous représentent les résultats de test de Student réaliser, on peut remarquer d'après les résultats obtenus

H0 : la différence entre les deux moyennes est égale à zéro

Ha : la différence entre les deux moyennes n'est pas égale à zéro

Etude entre Lot1*Lot2 :

Comme la valeur de p calculée est inférieure que le niveau de signification $\alpha=0,05$, il faut refuser l'hypothèse nulle **H0**, et accepter l'hypothèse alternative **Ha**.

Tableau : teste t pour deux échantillons indépendants

Différence	1,600
t (valeur observe)	2,286
t (valeur critique)	2,120
DF	16
Valeur P	0,036
alpha	0,05

Etude entre Lot1*Lot3 :

Comme la valeur de p calculée est supérieur que le niveau de signification $\alpha=0,05$, il faut accepter l'hypothèse nulle **H0**.

Tableau : teste t pour deux échantillons indépendants.

Différence	-0,144
t (valeur observe)	-0,227
t (valeur critique)	2.120
DF	16
Valeur p	0,824
alpha	0.05

Etude entre Lot1*Lot4 :

Comme la valeur de p calculée est supérieur que le niveau de signification $\alpha=0,05$, il faut accepter l'hypothèse nulle **H0**.

Tableau : teste t pour deux échantillons indépendants.

Difference	-0,778
t (valeur observe)	-1,241
t (valeur critique)	2.120
DF	16
Valeur p	0,232
Alpha	0.05

Etude entre Lot2*Lot3 :

Comme la valeur de p calculée est inférieur que le niveau de signification $\alpha=0,05$, il faut refuser l'hypothèse nulle **H0**, et accepter l'hypothèse alternative **Ha**.

Tableau : teste t pour deux échantillons indépendants.

Difference	-1,744
t (valeur observe)	-2,995
t (valeur critique)	2.120
DF	16
Valeur p	0,009
alpha	0.05

Etude entre Lot2*Lot4 :

Comme la valeur de p calculée est inferieur que le niveau de signification $\alpha=0,05$, il faut refuser l'hypothèse nulle **H0**, et accepter l'hypothèse **Ha**.

Tableau : teste t pour deux échantillons indépendants

Difference	-2,378
t (valeur observe)	-4,167
t (valeur critique)	2.120
DF	16
Valeur p	0,001
alpha	0.05

Etude entre Lot3*Lot4 :

Comme la valeur de p calculée est supérieur que le niveau de signification $\alpha=0,05$, il ne faut pas refuser l'hypothèse nulle H_0 , et accepter l'hypothèse H_a .

Tableau : teste t pour deux échantillons indépendants.

Difference	-0,633
t (valeur observe)	-1,287
t (valeur critique)	2.120
DF	16
Valeur p	0,216
alpha	0.05

Après les résultats obtenue et après les calculs du teste statistique en peut conclure que les valeurs sont non significative, donc n' y a pas déférence significative entre les lots étudi.

Conclusion et perspectives :

Conclusion et perspectives

Les molécules issues des plantes dites naturelles sont considérées comme une source très importante de médicaments au terme du travail réalisé concernant l'activité antidiabétique de l'extrait des calices d'*Hibiscus sabdariffa* L., pour faire une bonne connaissance locale de cette plante médicinale une enquête a été réalisée.

IL ressort clairement de ce travail qu'après l'exposition des souris a un régime hyperglucidique et par conséquent l'induction du diabète, associe à des hyperglycémies qui dure dans le temps, une diminution du poids corporel, et le poids du foie, rajoutant a cella d'autres complications cardiovasculaire, des neuropathies et des néphropathies...etc.

L'ensemble de ces résultats prouve que le traitement avec l'extrait de la plante *Hibiscus sabdariffa* L. a pour effet un gain du poids corporel et une diminution de la prise alimentaire, cela est dû au pouvoir bénéfique de notre plante contre hyperglycémie, et ces complications.

Les résultats concernant la comparaison entre l'effet de l'extrait aqueux de *Hibiscus sabdariffa* L. et l'effet de la glibenclamide sur les concentrations plasmatiques du glucose ne présente aucune variation significative, ce qui indique une éventuelle similarité de l'effet des molécules bioactives d'extraits à celle de l'effet de notre médicament de référence.

En perspective il serait utile d'identifier, du point de vue scientifique, les molécules ou le groupe de molécules responsables des effets étudiés en utilisant des techniques chromatographiques, spectrales et spectrophotométriques quoi que, du point de vue économique et pratique. Il serait aussi intéressant de compléter la valorisation de cette plante (*Hibiscus sabdariffa* L.) par l'étude phytochimique sur toutes les parties de l'*Hibiscus sabdariffa* L.

A la lueur de ce travail, on peut considérer ces résultats comme un point de départ pour d'autres travaux de recherche sur les effets bénéfiques de *Hibiscus sabdariffa* L., Sachant que cette plante se caractérise par un réservoir assez important de métabolites secondaires avec des caractéristiques Thérapeutiques et pharmacologiques particulières, qui pourrait contribuer à

développer de nouvelles stratégies thérapeutiques non médicamenteuses pour les patients souffrent de diabète.

Référence:

Référence

- Abou Khalil, N. S., Abou-Elhamd, A. S., Wasfy, S. I. A., El Mileegy, I. M. H., Hamed, M. Y., & Ageely, H. M. (2016). Antidiabetic and antioxidant impacts of desert date (*Balanites aegyptiaca*) and parsley (*Petroselinum sativum*) aqueous extracts: lessons from experimental rats. *Journal of diabetes research*, 2016.
- Adefolalu, F. S., Salawa, J. S., Gara, T. Y., & Abubakar, A. N. (2020). Hypoglycemic and Hypolipidemic Effect of Methanol Extract of Hibiscus Sabdariffa Seed in Alloxan Induced Diabetic Albino Rats. *Nigerian Journal of Basic and Applied Sciences*, 27(2), 151-156. <https://doi.org/10.4314/njbas.v27i2.20>
- Annapurna, A., Mahalakshmi, D. K., & Krishna, K. M. (2001). *Antidiabetic activity of a poly herbal preparation (tincture of panchparna) in normal and diabetic rats.*
- Association, A. D. (2020). 2. Classification and diagnosis of diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes—2020. In *Diabetes care* (Vol. 43, Numéro Supplement_1). Am Diabetes Assoc.
- Atanasov, A. G., Waltenberger, B., Pferschy-Wenzig, E.-M., Linder, T., Wawrosch, C., Uhrin, P., Temml, V., Wang, L., Schwaiger, S., & Heiss, E. H. (2015). Discovery and resupply of pharmacologically active plant-derived natural products: A review. *Biotechnology advances*, 33(8), 1582-1614.
- Belhadj, M., Lhassani, H., & Khochtali, I. (2019). Prise en charge du diabète de type 2 dans les pays du Maghreb : état des lieux. *Médecine des Maladies Métaboliques*, 13, eS4-eS7. [https://doi.org/10.1016/S1957-2557\(19\)30198-1](https://doi.org/10.1016/S1957-2557(19)30198-1)
- Beyan, H., Ola, T., David, R., & Leslie, G. (2006). Progression of Autoimmune Diabetes: Slowly Progressive Insulin-Dependent Diabetes Mellitus or Latent Autoimmune Diabetes of Adult. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1079(1), 81-89.
- Black, C., Donnelly, P., McIntyre, L., Royle, P., Shepherd, J. J., & Thomas, S. (2007). Meglitinide analogues for type 2 diabetes mellitus. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 2.

- Boumediene, S. (2017). Visions du diable? Les conflits autour du pouvoir des plantes «hallucinogènes» en Nouvelle-Espagne à l'époque moderne. *Cahiers d'anthropologie sociale*, 1, 41-57.
- Bunce, C., & Wormald, R. (2006). Leading causes of certification for blindness and partial sight in England & Wales. *BMC public health*, 6(1), 1-7.
- Casqueiro, J., Casqueiro, J., & Alves, C. (2012). Infections in patients with diabetes mellitus: A review of pathogenesis. *Indian journal of endocrinology and metabolism*, 16(Suppl1), S27.
- Cerasi, E., & Ktorza, A. (2007). Anatomical and functional plasticity of pancreatic beta-cells and type 2 diabetes. *Medecine Sciences: M/S*, 23(10), 885-894.
- Cisse, M., Dornier, M., Sakho, M., Ndiaye, A., Reynes, M., & Sock, O. (2009). Le bissap (*Hibiscus sabdariffa* L.): Composition et principales utilisations. *Fruits*, 64(3), 179-193. <https://doi.org/10.1051/fruits/2009013>
- Creusot, R. J., Battaglia, M., Roncarolo, M.-G., & Fathman, C. G. (2016). Concise review: cell-based therapies and other non-traditional approaches for type 1 diabetes. *Stem Cells*, 34(4), 809-819.
- Da-Costa-Rocha, I., Bonnlaender, B., Sievers, H., Pischel, I., & Heinrich, M. (2014). *Hibiscus sabdariffa* L. - A phytochemical and pharmacological review. In *Food Chemistry* (Vol. 165, p. 424-443). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.05.002>
- Denton, O. A., Schippers, R. R., & Oyen, L. P. A. (2004). Plant resources of tropical Africa, 2: Vegetables. *Fondation PROTA, Wageningen, Pays-Bas/CTA, Wageningen Pays-Bas*, 522-526.
- Des, F., Biologiques, S., & Doctorat, T. D. E. (2020). *Aspects Génétique et Immunologique du Diabète Type MODY (Maturity Onset Diabetes of the Young)*. université des sciences de la technologie (HOUARI BOUMADIENE°.
- Ducobu, J. (2003). Oral antidiabetic drugs in 2003. *Revue Medicale de Bruxelles*, 24(4), A361-8.
- Emanuele, N., Sacks, J., Klein, R., Reda, D., Anderson, R., Duckworth, W., Abaira, C., & Group, V. A. D. T. (2005). Ethnicity, race, and baseline retinopathy correlates in the

- veterans affairs diabetes trial. *Diabetes care*, 28(8), 1954-1958.
- Endrias, A. (2006). Bio-raffinage de plantes aromatiques et médicinales appliqué à l' *Hibiscus sabdariffa* L. et à l' *Artemisia annua* A mes Parents. *Thèse*, 181P.
- Ferdi, N. E. H., Abla, K., & Chenchouni, H. (2016). Effect of socioeconomic factors and family history on the incidence of diabetes in an adult diabetic population from Algeria. *Iranian Journal of Public Health*, 45(12), 1636-1644.
- Fowler, M. J. (2008). Microvascular and macrovascular complications of diabetes. *Clinical diabetes*, 26(2), 77-82.
- Gribble, F. M., & Reimann, F. (2003). Sulphonylurea action revisited: the post-cloning era. *Diabetologia*, 46(7), 875-891.
- Gunjan, M., Ravindran, M., & Jana, G. K. (2011). A review on some potential traditional phytomedicine with antidiabetic properties. *International Journal of Phytomedicine*, 3(4), 448.
- Harding, S., Greenwood, R., Aldington, S., Gibson, J., Owens, D., Taylor, R., Kohner, E., Scanlon, P., Leese, G., & Party, D. R. G. and D. M. W. (2003). Grading and disease management in national screening for diabetic retinopathy in England and Wales. *Diabetic medicine*, 20(12), 965-971.
- HIEN, A. N. (2012). *le THEME: ETUDE COMPAREE DE DEUX SYSTEMES DE CULTURE (pLUVIAL ET IRRIGUE) DE LA ROSELLE (Hibiscus sabdariffa L.) DANS LA PROVINCE DU IOBA : EVALUATION DU POTENTIEL DE PRODUCTION EN CALICES. UNIVERSITE POLYTECHNIQUE DE BOBO-DIOULASSO INSTITUT DU DEVEWPPEMENT RURAL.*
- Houda, B., & Ghania, C. (2016). *Etude phytochimique et évaluations des activités anti-oxydantes et anti- bactériennes des espèces : Hibiscus sabdariffa L. et Lepidium sativum L.*
- Hundal, R. S., Krssak, M., Dufour, S., Laurent, D., Lebon, V., Chandramouli, V., Inzucchi, S. E., Schumann, W. C., Petersen, K. F., & Landau, B. R. (2000). Mechanism by which metformin reduces glucose production in type 2 diabetes. *Diabetes*, 49(12), 2063-2069.

- Inzucchi, S. E., Maggs, D. G., Spollett, G. R., Page, S. L., Rife, F. S., Walton, V., & Shulman, G. I. (1998). Efficacy and metabolic effects of metformin and troglitazone in type II diabetes mellitus. *New England Journal of Medicine*, *338*(13), 867-873.
- Jarald, E., Joshi, S. B., & Jain, D. (2008). *Diabetes and herbal medicines*.
- Kitabchi, A. E., Umpierrez, G. E., Fisher, J. N., Murphy, M. B., & Stentz, F. B. (2008). Thirty years of personal experience in hyperglycemic crises: diabetic ketoacidosis and hyperglycemic hyperosmolar state. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, *93*(5), 1541-1552.
- Kooti, W., Farokhipour, M., Asadzadeh, Z., Ashtary-Larky, D., & Asadi-Samani, M. (2016). The role of medicinal plants in the treatment of diabetes: a systematic review. *Electronic physician*, *8*(1), 1832.
- Lina, H., Mohamed, S., Bashandy, S., Fatma, A., Kawther, M., & Shahat, A. (2017). Hypoglycemic and antioxidant effects of *Hibiscus rosa-sinensis* L. leaves extract on liver and kidney damage in streptozotocin induced diabetic rats. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, *11*, 161-169. <https://doi.org/10.5897/AJPP2017.4764>
- Liu, Z., Li, J., Zeng, Z., Liu, M., & Wang, M. (2008). The antidiabetic effects of cysteinyl metformin, a newly synthesized agent, in alloxan- and streptozocin-induced diabetic rats. *Chemico-Biological Interactions*, *173*(1), 68-75. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.cbi.2007.11.012>
- Mansouri, E. H., & Reggabi, M. (2021). Association between type 2 diabetes and exposure to chlorinated persistent organic pollutants in Algeria: A case-control study. *Chemosphere*, *264*, 128596. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.128596>
- Mashi, J. A., Atiku, M. K., Shehu, D., Idris, R. I., Sa`id, A. M., Dangambo, M. A., Babagana, K., Ya`u, M., & Babandi, A. (2018). Comparative Study of Different Solvents Extract of *Persea americana* Leaf on Alloxan Induced Hyperglycemic Rats. *Asian Journal of Biological Sciences*, *12*(1), 67-72. <https://doi.org/10.3923/ajbs.2019.67.72>
- Mounigan, P., & Badrie, N. (2007). Physicochemical and sensory quality of wines from red sorrel/rosette (*Hibiscus sabdariffa* L.) calyces: effects of pretreatments of pectolase and

- temperature/time. *International journal of food science & technology*, 42(4), 469-475.
- Mourtzinos, I., Makris, D. P., Yannakopoulou, K., Kalogeropoulos, N., Michali, I., & Karathanos, V. T. (2008). Thermal stability of anthocyanin extract of *Hibiscus sabdariffa* L. in the presence of β -cyclodextrin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(21), 10303-10310.
- Murdock, G. P. (1959). *Africa its peoples and their culture history*.
- Orban, J.-C., & Ichai, C. (2011). Complications métaboliques aiguës du diabète. In *Désordres métaboliques et réanimation* (p. 347-360). Springer.
- org, S. 2015 <http://www.srlf.org>. (2014). Infections virales et fongiques. *Réanimation*, 24(Suppl 1), 10-13.
- Pierre Betu KASANGANA. (2018). *Recherche des molécules bioactives antidiabétiques dans les extraits d'écorses de racines de Myrianthus arboreus Recherche des molécules bioactives antidiabétiques dans les extraits d'écorses de racines de Myrianthus arboreus*. UNIVERSITE LAVAL.
- Pillon, F., Tan, K., Jouty, P., & Frullani, Y. (2014). Le traitement médicamenteux du diabète de type 2. *Actualités pharmaceutiques*, 53(541), 23-28.
- Ramírez-Rodrigues, M. M., Plaza, M. L., Azeredo, A., Balaban, M. O., & Marshall, M. R. (2012). Phytochemical, sensory attributes and aroma stability of dense phase carbon dioxide processed *Hibiscus sabdariffa* beverage during storage. *Food Chemistry*, 134(3), 1425-1431.
- Rebbas, K., Bounar, R., Gharzouli, R., Ramdani, M., Djellouli, Y., & Alatou, D. (2012). Plantes d'intérêt médicinal et écologique dans la région d'Ouanougha (M'Sila, Algérie). *Phytotherapie*, 10(2), 131-142. <https://doi.org/10.1007/s10298-012-0701-6>
- Riaz, G., & Chopra, R. (2018). A review on phytochemistry and therapeutic uses of *Hibiscus sabdariffa* L. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 102(March), 575-586. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.03.023>
- Salehi-Farsani, A., Soltani, M., Kamali, A., & Shamsaie, M. (2014). Effect of immune motivator Macrogard and *Spirulina platensis* on some growth, carcass and biochemical indices of

- stellate sturgeon *Acipenser stellatus*. *Aquaculture, Aquarium, Conservation & Legislation*, 7(3), 137-147.
- SCHEEN, A. (2014). Comment je traite... Le choix entre un sulfamide hypoglycémiant et une gliptine pour traiter le diabète de type 2. *Revue Médicale de Liège*, 69(9), 476-484.
- Shruthi, V. H., Ramachandra, C. T., Nidoni, U., Hiregoudar, S., Naik, N., & Kurubar, A. R. (2016). Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) as a source of natural colour: a review. *Plant Archives*, 16(2), 515-522.
- Singh, L. W. (2011). Traditional medicinal plants of Manipur as anti-diabetics. *Journal of medicinal plants research*, 5(5), 677-687.
- Sophie, P. A. (2019). *Etude des pratiques des médecins généralistes de l'Est de l'île de La Réunion sur le dépistage et le suivi du diabète gestationnel*.
- Stratton, I. M., Kohner, E. M., Aldington, S. J., Turner, R. C., Holman, R. R., Manley, S. E., & Matthews, D. R. (2001). UKPDS 50: risk factors for incidence and progression of retinopathy in Type II diabetes over 6 years from diagnosis. *Diabetologia*, 44(2), 156-163.
- Tenenbaum, M., Bonnefond, A., Froguel, P., & Abderrahmani, A. (2018). Physiopathologie du diabète. *Revue Francophone des Laboratoires*, 2018(502), 26-32.
[https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S1773-035X\(18\)30145-X](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S1773-035X(18)30145-X)
- Tripathi, B. K., & Srivastava, A. K. (2006). Diabetes mellitus: complications and therapeutics. *Med Sci Monit*, 12(7), 130-147.
- Tsai, P.-J., McIntosh, J., Pearce, P., Camden, B., & Jordan, B. R. (2002). Anthocyanin and antioxidant capacity in Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) extract. *Food research international*, 35(4), 351-356.
- Van de Laar, F. A. (2008). Alpha-glucosidase inhibitors in the early treatment of type 2 diabetes. *Vascular health and risk management*, 4(6), 1189.
- Whiting, D. R., Guariguata, L., Weil, C., & Shaw, J. (2011). IDF Diabetes Atlas: Global estimates of the prevalence of diabetes for 2011 and 2030. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 94(3), 311-321. <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2011.10.029>

- Yagoub, A. E.-G. A., Mohamed, B. E., Ahmed, A. H. R., & El Tinay, A. H. (2004). Study on Furundu, a traditional Sudanese fermented Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) seed: effect on in vitro protein digestibility, chemical composition, and functional properties of the total proteins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(20), 6143-6150.
- Yang, C., Li, H., Wang, Z., Zhang, W., Zhou, K., Meng, J., Zhao, Y., Pan, J., Lv, X., & Liang, H. (2012). Glycated albumin is a potential diagnostic tool for diabetes mellitus. *Clinical medicine*, 12(6), 568.
- Zeng, L., Alongkronrusmee, D., & van Rijn, R. M. (2017). An integrated perspective on diabetic, alcoholic, and drug-induced neuropathy, etiology, and treatment in the US. *Journal of pain research*, 10, 219.

Annexes

Annexes



Lot 1 : témoin saine.



Lot 2 : témoin diabétique.



Lot 3 : témoin diabétique traité par glibenclamide.



Lot 4 : témoin diabétique traité par l'extrait de la plante.

Figure1 : Élevage des rats au niveau de box.



Figure 2 : administration de l'extrait de plante par gavage.



Figure 3: administration de médicament par gavage.



Figure 4 : prélèvement sanguin.

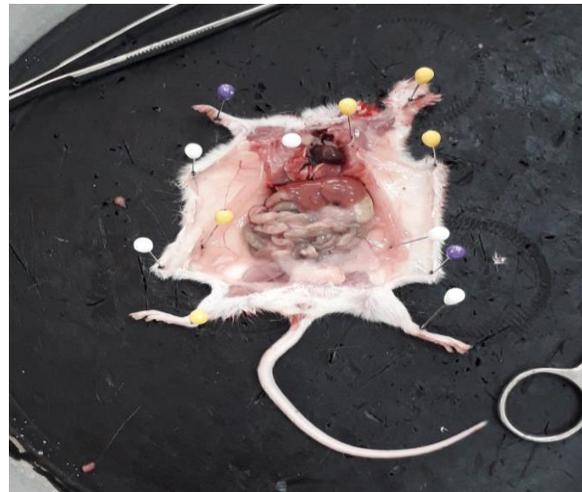


Figure 5 : la détection des souris.



Figure 6: la pèse des organes.



Figure 7: bocco d'organes conservés dans du phénol .



Figure 8 : la plante hibiscus sabdariffa.



Figure9 : hypoglycémiant Glibenclamide.



Figure 10 : agalucolatre de la marque DIANGO-CHECK



figure 11 :Les bandelette de la marque DIANGO-CHECK



Figure12 : la cuvette de la dissection.



Figure13 : la trousse de dissection.



Figure 14 : la micropipette.



Figure 15 : la centrifugeuse.



Figure 18: les tubes de prélèvement
hépariné.



Figure19 : les tubes eppendorf ;



Figure 20 : les embouts .



Figure 21 : les pipettes pasteur.



Figure 22 : filtration de l'extrait de la plante.



Figure 23 : les bouteilles d'eau des souris.

Tableau 1:la moyenne des taux de la glycémie en gramme.

	lot1	Lot 2	Lot 3	Lot 4
J 1	1,23	1,3	1,28	1,33
J 65	1,32	2,23	2,45	2,2
J 115	1,56	2,32	1,89	1,47

Tableau 2: la moyenne de poids des souris en gramme.

	LOT 1	LOT 2	LOT3	LOT 4
J1	25,1	26,4	25,9	26
J 65	27	29	31,4	34
J 115	28	30	29,6	28,3