

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Blida 1

Faculté des Sciences de la Nature et la Vie

Département de Biologie des Populations et Organismes

Mémoire de Fin d'Etudes en vue de l'obtention du Diplôme de
Master en Science de la Nature et de la Vie
Option : Phytothérapie et Santé

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Blida 1
Faculté des Sciences de la Nature et la Vie
Département de Biologie des Populations et Organismes
Mémoire de Fin d'Etudes en vue de l'obtention du Diplôme de
Master en Science de la Nature et de la Vie
Option : Phytothérapie et Santé

THEME

Etude phytochimique et évaluation de l'activité
antidiabétique et anti-inflammatoire de *Juglans*
regia L.

Présenté par
Kebal Leila
Bouamama Asma

Date de soutenance
Lundi 27/06/2016 à 11h00

Devant le jury composé de :

| | | | |
|--------------------|-----|--------------------|---------------|
| Mme Bensaleh L. | MAA | Université Blida 1 | Présidente |
| Mme Ben Mansour N. | MAA | Université Blida 1 | Examinatrice |
| Mr. Rouibi A. | MCA | Université Blida 1 | Promoteur |
| Mme Iles I. | MCB | E.N.S.V El Harrach | Co-Promotrice |
| Mme Baadoud I. | MAT | C.R.D El Harrach | Co-promotrice |

Promotion: 2015-2016

THEME

Etude phytochimique et évaluation de l'activité
antidiabétique et anti-inflammatoire de *Juglans*
regia L.

Présenté par
Kebal Leila
Bouamama Asma

Date de Soutenance
Lundi 27/06/2016 à 11h00

Devant le jury composé de :

| | | | |
|--------------------|-----|--------------------|---------------|
| Mme Bensaleh L. | MAA | Université Blida 1 | Présidente |
| Mme Ben Mansour N. | MAA | Université Blida 1 | Examinatrice |
| Mr. Rouibi A. | MCA | Université Blida 1 | Promoteur |
| Mme Iles I. | MCB | E.N.S.V El Harrach | Co-Promotrice |
| Mme Baadoud I. | MAT | C.R.D El Harrach | Co-promotrice |

Dédicaces

Je dédie ce mémoire à :

Mes parents:

Ma mère Messaouda, qui a œuvré pour ma réussite, de par son amour, son soutien, tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils, pour toute son assistance et sa présence dans ma vie, reçois à travers ce travail aussi modeste soit-il, l'expression de mes sentiments et de mon éternelle gratitude.

Mon père Miloud, qui peut être fier et trouver ici le résultat de longues années de sacrifices et de privation pour m'aider à avancer dans la vie. Puisse Dieu faire en sorte que ce travail porte son fruit ; merci pour les valeurs nobles, l'éducation et le soutien permanent venu de toi.

Mes chères sœurs, Samiha, Faiza, Hamida.

Mon frère, Mustapha.

Mon petit chère et adorable neveu Mouiz.

Ma binôme Asma, qui ma donner la force et l'encouragement pour terminer ce travail.

A mes chères amies Sarah henni, Sabrina, Yasmine, Aicha, Kira, Hadjira, Zhour.

Et à tous les membres de notre promo.

Leila

Dédicaces

Je dédie ce mémoire à

Mes parents:

Ma mère Zahia, qui a œuvré pour ma réussite, de par son amour, son soutien, tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils, pour toute son assistance et sa présence dans ma vie, reçois à travers ce travail aussi modeste soit-il, l'expression de mes sentiments et de mon éternelle gratitude.

Mon père Ahmed, qui peut être fier et trouver ici le résultat de longues années de sacrifices et de privation pour m'aider à avancer dans la vie. Puisse Dieu faire en sorte que ce travail porte son fruit ; merci pour les valeurs nobles, l'éducation et le soutien permanent venu de toi.

Mes sœurs : Lamia, Rahma, Ahleme.

Mon mari, qui ne cesse d'être pour moi un exemple de persévérance, de courage, de générosité, et toute sa famille.

Mon oncle Nourdine, ma tante Fatima, et ses enfants, Sabrin, Mohamed, Malek, Akram.

Mes cousins, Wahid, Nacer, Azedine.

Ma binôme Leila, qui ma donner la force et l'encouragement pour terminer ce travail.

A mes chères amies, Safia, Amina, Yasmine, Aicha, Kira, Hadjira.

Et à tous les membres de notre promo.

Asma

Remerciements

Nous remercions avant tout ALLAH- le tout puissant- de nous avoir guidées durant toute notre formation.

Merci à nos proches notamment nos parents, merci pour votre soutien moral et votre amour...

Nous remercions Madame Bensaleh de nous avoir honoré de présider notre jury de soutenance.

Nous remercions Madame Ben mansour., qui a bien voulu examiner ce manuscrit et pour sa présence parmi les jurys.

Nous exprimons d'abord nos profonds remerciements et notre vive connaissance à Mr Rouibi, enseignant à la faculté de science de nature et de la vie, Université de Blida 1 pour avoir encadré et dirigé ce travail avec une grande rigueur scientifique, sa disponibilité, ses conseils et la confiance qu'il nous a accordé pour réaliser ce travail.

Nous tenons à remercier Mme Iles Imène, de nous avoir accueillis au sein de son laboratoire au niveau de l'école nationale supérieure des sciences vétérinaires pour effectuer une bonne partie de ce travail. Nous la remercions vivement pour sa collaboration. Nous tenons à remercier l'ensemble du personnel de l'école, pour leur convivialité pour leurs disponibilités.

Nous tenons à remercier Mme Azine, Mme Oucenna ainsi que l'ensemble du personnel du Laboratoire de pharmaco-toxicologie de centre de recherche et de développement, pour leur convivialité, et disponibilité.

Nous tenons à remercier Mme Ben Assoula, Mme Halli ainsi que l'ensemble du personnel du laboratoire de substances naturelles de centre de recherche et de développement, pour leur convivialité, et disponibilité.

Nous tenons particulièrement à exprimer notre gratitude à Mme Benassel, Mme Takarli, Mr Boukhatem, Mr Guedioura, Mr Laaribi Doukara , et les remercions pour nous 'avoir aidé énormément.

Nous tenons à remercier, Mme Boulbina, Mme Ainouz, Mr Zaouani, Mr Kadour, Mr et Mme Zouambi , Mme Chabhaa, Mr Dahmen.

Nos remerciements iront également à nos très chères amies, Sihem Bahlouli, Sarah Dzaanouni, Khadidja Bal.

TABLE DES MATIERES

Résumé

Abstract

Liste de Tableaux

Liste de Figures

Liste des Abréviations

Introduction 1

Chapitre 1 : Données Bibliographique

| | |
|--|----|
| 1.1. Le diabète | 3 |
| 1.1.1. Généralité | 3 |
| 1.1.2. Critères de diagnostic | 3 |
| 1.1.3. Classification | 3 |
| 1.1.4. Traitement | 4 |
| 1.1.5. Phytothérapie et Diabète | 4 |
| 1.1.6. Les Plantes médicinales à activité antidiabétique | 6 |
| 1.2. L'inflammation | 6 |
| 1.3. Le noyer commun : <i>Juglans regia</i> L. | 8 |
| 1.3.1. Historique | 10 |
| 1.3.2. Etymologie | 10 |
| 1.3.3. Noms communs | 11 |
| 1.3.4. Habitat et exigence | 11 |
| 1.3.5. Description botanique | 11 |
| 1.3.6. Systématique et botanique | 12 |
| 1.3.7. Composition chimique | 16 |
| 1.3.8. Utilisation traditionnelle | 19 |

Chapitre 2 : Matériel et Méthodes

| | |
|--|----|
| 2.1. Matériel biologique | 22 |
| 2.1.1. Matériel végétal | 22 |
| 2.1.2. Matériel animal | 23 |
| 2.2. Matériel non biologique | 23 |
| 2.3. Etude phytochimique | 23 |
| 2.3.1. préparation de l'extrait aqueux | 23 |

| | |
|---|----|
| 2.3.2. Révélation des composés chimiques | 24 |
| 2.4. Evaluation des activités biologiques | 25 |
| 2.4.1. Activité anti hyper glycémiant | 25 |
| 2.4.2. Activité antidiabétique | 27 |
| 2.4.3. Etude anatomopathologique | 30 |
| 2.4.4. Activité anti- inflammatoire | 33 |
| 2.5. Etude statistique | 34 |

Chapitre 3 : Résultats et Discussion

| | |
|---|----|
| 3.1. Résultats de l'étude phytochimique | 35 |
| 3.3. Résultats de l'activité anti-hyperglycémiant | 36 |
| 3.4. Résultats de l'activité antidiabétique | 38 |
| 3.4.1. Evaluation du poids corporel | 38 |
| 3.4.2. Evaluation de taux de glycémie | 39 |
| 3.4.3. Evaluation de taux de triglycérides | 41 |
| 3.4. Résultats de l'étude anatomopathologique | 44 |
| 3.5. Résultats de l'activité anti - inflammatoire | 47 |

| | |
|-------------------|----|
| Conclusion | 50 |
|-------------------|----|

| | |
|------------------------------------|----|
| Références Bibliographiques | 52 |
|------------------------------------|----|

| | |
|----------------|--|
| Annexes | |
|----------------|--|

LISTE DES TABLEAUX

| Titre | Page |
|---|------|
| Tableau 2.1. Répartition des rats en lots. | 27 |
| Tableau 3.1. Résultats de screening phytochimique. | 35 |
| Tableau 3.2. Valeurs moyennes de glycémie (g/l) et pourcentages de diminution chez les rats de différents lots. | 36 |
| Tableau 3.3. Evolution du poids corporel (g) des rats diabétiques traités et témoin durant les deux semaines de l'étude. | 38 |
| Tableau 3.4. Évolution de la glycémie (g/l) des rats durant les semaines de l'étude. | 39 |
| Tableau 3.5. Variation de concentration sérique de triglycérides chez les rats témoins et traités. | 42 |
| Tableau 3.6. Test anti-inflammatoire pour les trois lots testé (témoin, référence, extrait aqueux). | 47 |

LISTE DES FIGURES

| Titre | Page |
|--|------|
| Figure 1.1. Feuilles de <i>juglans regia</i> L. (Originale, 2016). | 13 |
| Figure 1.2. Fruit de <i>juglans regia</i> L. (Original, 2015). | 16 |
| Figure 1.3. Structure chimique de la juglone et de l'hydrojuglone α et β | 17 |
| Figure 1.4. Structure chimique de naphtoquinone, Flavonoïde | 17 |
| Figure 1.5. Structure chimique des tanins ellagiques et des kaempférols, de l'acide gallique et l'acide ascorbique | 18 |
| Figure 1.6. Structure chimique de juglanslactone(1), isoscopoletin (2), osthol (3), psoralene (4), et ayapanin connus (5) | 18 |
| Figure 2.1. Etapes de préparation de l'extrait aqueux « infusé » (Originale, 2016). | |
| Figure 2.2. Identification de quelques composés chimiques (Originale, 2016). | |
| Figure 2.3. Gavage des rats à l'aide d'une seringue en plastique équipée d'une sonde Œsophagique (original, 2016). | |
| Figure 2.4. Prélèvement sanguin à partir de l'extrémité distal de la queue (Originale, 2016). | |
| Figure 2.5. Injection intra péritonéale de la solution d'alloxane a 150mg/kg aux rats (originale ; 2016). | |
| Figure 2.6. Répartition des rats en lots (Originale, 2016). | |
| Figure 2.7. Pesée des rats (Originale, 2016). | |
| Figure 2.8. Prélèvement sanguin par ponction dans le sinus rétro orbital au niveau de l'œil des rats (Originale, 2016). | |
| Figure 2.9. . Centrifugation du sang et séparation de sérum prélevé des rats (originale ; 2016). | |

| | |
|---|----|
| Figure 2.10. Dosage de différents paramètres sanguins (Originale, 2016). | |
| Figure 2.11. Etapes de déroulement de l'activité anti- inflammatoire (Originale, 2016). | |
| Figure 3.1. Evolution de la glycémie chez les rats en hyperglycémie temporaire. | 36 |
| Figure 3.2. Evolution du poids (g) des rats diabétiques traités et témoin durant les deux semaines de l'étude. | 38 |
| Figure 3.3. Evolution de la glycémie (g/l) des rats durant les semaines de l'étude. | 40 |
| Figure 3.4. Variation de concentration sérique de triglycérides chez les rats témoins et traités. | 42 |
| Figure 3.5. Tissu pancréatique du rat normal non traité | 44 |
| Figure 3.6. Tissu pancréatique du rat témoin. | 45 |
| Figure 3.7. Tissu pancréatique du rat de référence (glucophage®). | 45 |
| Figure 3.8. Ilots de langerhans des rats traités par l'extrait aqueux. | 46 |
| Figure 3.9. Pourcentage d'œdème et de réduction d'œdème pour les trois lots de souris. | 48 |

LISTE DES ABREVIATIONS

-
- | | |
|---|-------------------------------------|
| - ADA : American Diabètes Association. | - ® : Marque enregistrée |
| - ADO : Antidiabétiques Oraux. | - ANOVA : Analyse des Variances |
| - Al : Collaborateur. | - G : Gramme. |
| - AINS : Anti-inflammatoire Non Stéroïdien. | - G/L : Gramme par Litre. |
| - AIS : Anti-inflammatoire Stéroïdien. | - H2SO4 : Acide Sulfurique. |
| - CMND : Comité Médical National de Diabétologie. | - INRIS : Institut Nationale de |
| - CRD : Centre de Recherche et de Développement. | l'environnement industriel et des |
| - DID : Diabète Insulino-Dépendant. | risques. |
| - DNID : Diabète Non Insulino-Dépendant. | - Kg : Kilogramme. |
| - Dtd1 : Diabétiques traité par la dose 1 de la plante. | - Mg : Magnésium. |
| - Dtd2 : Diabétiques traité par la dose 2 de la plante. | - Nacl : chlorure de sodium. |
| - ENSV : Ecole Nationale Supérieur Vétérinaire. | - NaOH : acétate de sodium. |
| - Fecl3 : Trichlorure de Fer anhydrique. | - OMS : Organisation Mondiale de la |
| - FID : Fédération Internationale de Diabète. | Santé. |
| - P.C : Poids Corporel. | - ONAB : Office National d'Aliment |
| | du Bétail. |
| | - SAD : Société Algérienne de |
| | Diabétologie. |
-

The walnut, *Juglans regia*.L is a plant belonging to the family of Juglandaceae presents a nutritional and therapeutic value. This work devoted to research of the active compounds and evaluation of antidiabetic and anti-inflammatory of the aqueous extract of the leaves of this species highlights the following results:

The identification of the antidiabetic activity in female Wistar albino, made intraperitoneal injection diabetes in a dose of alloxan (150 mg / kg bw) was conducted by the daily administration of an aqueous extract of leaves of the plant with two different doses, by the Glucophage and physiological saline; treatment began 72 hours after injection of alloxan and confirmation of hyperglycemia in animals.

This study was preceded by a glucose tolerance oral (OGTT) to prove the hypoglycemic power plant.

The results obtained by measuring fasting glucose levels after treatment of 16 days, have shown that rats treated with doses (D1) and (D2) of the aqueous extract exert an antidiabetic effect similar to that of Glucophage.

Meanwhile, it has been noticed generally that the plant causes improved body weight and the lipid profile in diabetic rats.

The phytochemical study of plant extract showed the presence of certain active ingredients such as flavonoids, tannins, which are responsible for the antidiabetic effect.

The brewed leaves of the plant has anti-inflammatory activity (percentage reduction of edema compared with the reference group treated by déclofenac) on albino mice, in whom inflammation caused by carrageenan.

Histological sections of the pancreas summers have made a slight improvement β Langerhans cells in rats treated with the aqueous extract of the plant.

Keywords: *Juglans regia*, alloxan, Carrageenan, Antidiabetic, anti-inflammatory.

Résumé :

Le noyer commun, *Juglans regia*.L est une plante appartenant à la famille des juglandacées, présente un intérêt nutritionnel et thérapeutique. Le présent travail consacré à la recherche des composés actifs et l'évaluation des propriétés antidiabétiques et anti-inflammatoires de l'extrait aqueux des feuilles de cette espèce souligne les résultats suivants :

La mise en évidence de l'activité antidiabétique chez des rats femelles Wistar albinos, rendus diabétiques par injection intra péritonéale d'une dose d'alloxane (**150 mg/kg p.c.**) a été réalisée par l'administration quotidienne d'un extrait aqueux des feuilles de la plante, aux deux doses différentes, par le Glucophage et par l'eau physiologique ; le traitement a commencé **72** heures après injection de l'alloxane et confirmation de l'hyperglycémie chez les animaux.

Cette étude a été précédée par une hyperglycémie provoquée par voie orale (**HPGO**) afin de prouver le pouvoir hypoglycémiant de la plante.

Les résultats obtenus par mesure de la glycémie à jeun après traitement de 16 jours, ont montrées que les rats traités par les doses (D1) et (D2) de l'extrait aqueux exercent un effet antidiabétique similaire à celui de Glucophage.

Parallèlement, il a été remarqué d'une façon générale que la plante provoque une amélioration des poids corporels et du bilan lipidique chez les rats diabétiques.

L'étude phytochimique de l'extrait de plante a révélé la présence de certains Principes actifs tels que les flavonoïdes, tanins, qui sont à l'origine de l'effet antidiabétique.

L'infusé des feuilles de la plante présente une activité anti-inflammatoire (pourcentage de réduction de l'œdème comparable avec le lot de référence traité par le déclofenac) sur des souris albinos, chez lesquels on a provoqué une inflammation par carragénine.

Des coupes histologiques au niveau du pancréas ont été réalisées montrent une légère amélioration des cellules β Langerhans chez les rats traités par l'extrait aqueux de la plante.

Mots clés : *juglans regia*, Alloxane, Carragénine, Antidiabétique, Anti-inflammatoire.

الملخص:

الجوز هو نبات ينتمي الى عائلة يحتوي على قيمة غذائية و علاجية

هذا العمل خصص للبحث على المركبات النشطة و البحث على الخصائص المضادة للسكري و للالتهاب من المستخلص

المائي لاوراق هذا النوع من النبات حيث تطرقنا الى ما يلي :

تسليط الضوء على النشاط المضاد للسكري و ذلك بحقن جرعة من الالوكسان داخل صفاق الغشاء المصلي اين تم استهلاك

المستخلص المائي لاوراق النبتة بشكل يومي في جرعتين اضافة الى استهلاك الغلوفاج و الماء الفيزيولوجي بالنسبة

للجرذان الشاهدة ، العلاج بدا 72 ساعة بعد حقن الالوكسان و بعد التأكد من ارتفاع نسبة السكر في الدم لدى الحيوانات

هذه الدراسة سبقت بارتفاع في نسبة السكر في الدم و الذي تم عن طريق الفم لاثبات قدرة النبتة على خفض نسبة السكر في

الدم

النتائج التي تم الحصول عليها عن طريق قياس مستويات نسبة السكر في الدم على الريق بعد العلاج 16 يوما، أظهرت أن

الفئران التي عرضت لجرعات من المستخلص المائي تمارس تأثير المضادة لمرض السكر مماثلة لتلك التي جلوكوفيج

في الوقت نفسه، لوحظ بشكل عام أن النبتة تسبب تحسين وزن الجسم والدهون في الجرذان المصابة بداء السكري

التحليل الكيميائي للنبات اظهر وجود بعض المكونات النشطة مثل الفلافونويد التي هي المسؤولة عن الخاصية المضادة

لمرض السكر

مغلي اوراق النبتة لديه نشاط مضاد للالتهاب حيث كانت نسبة تخفيض الالتهاب مماثلة للمرجع لدى الفئران التي طبق عليها

الالتهاب بواسطة الكراجينين.

مقاطع نسيجية على مستوى البنطرياس اثبتت تحسن طفيف لماليا جزر لانجرهانس لدى جرذان المعالجة بالمستخلص

المائي للنبتة.

كلمات البحث: جوز شائع، ألوكان، الكاراجينان، المضادة لمرض السكري، المضادة للالتهابات

Chapitre 1 : Données Bibliographique

Introduction:

Le diabète sucré est devenu un problème majeur de santé publique à l'échelle Mondiale. Il touche environ 194 millions de personnes à l'heure actuelle dont 90% sont des diabétiques de type 2 (OMS, 2004).

Le diabète est une maladie chronique grave qui apparaît lorsque le pancréas ne produit pas suffisamment d'insuline ou lorsque l'organisme n'utilise pas correctement l'insuline qu'il produit (OMS, 2016).

L'échec des traitements pharmaceutiques conventionnels surtout dans le cas des maladies chroniques comme le diabète sucré, la forte incidence des effets indésirables des Médicaments de synthèse qui leur sont associés et l'insuffisance des infrastructures Sanitaires dans les pays en voie de développement, font qu'une large tranche de la population mondiale dépend essentiellement de la médecine naturelle complémentaire ou Parallèle pour se soigner et où la tradition de médecine par les plantes est bien ancrée dans Les mœurs (Eddouks et al., 2007).

De nombreuses plantes sont considérées traditionnellement comme antidiabétiques certaines sont à l'origine de la mise au point de médicaments comme le biguanide de metformine grâce au *Galliga officinalis* (Hertel, 2003).

En effet face à l'insatisfaction constatée des remèdes modernes les pistes phytothérapeutiques traditionnelles semblent renforcer un potentiel intéressant dont le processus de mise en valeur de la plante au phytomédicament à travers des procédés scientifiques adéquats pourrait offrir une alternative crédible en faveur des communautés (Koane et al., 2016).

En Algérie, la phytothérapie constitue une partie intégrante de la culture locale. Dans la région de Tlemcen, et d'après l'enquête ethnobotanique réalisée par Benmehdi (2000), plus de 80 espèces des plantes sont utilisées en médecine populaire pour le traitement du diabète sucré ou ses symptômes dont *juglans regia* L. (noyer) est l'une de ces plantes (Benmehdi, 2000).

Chapitre 1 : Données Bibliographique

Juglans regia L. est une plante médicinale appartenant à la famille des juglandacées, qui est connue aussi pour ces propriétés anti-inflammatoires (**Bruneton, 1999**).

Notre travail a pour but de déterminer la composition chimique et évaluation de l'activité antidiabétique, anti-inflammatoire des feuilles du noyer (*juglans regia* L.).

Il s'articule autour de :

- screening photochimique pour rechercher différents principes actifs contenus dans l'extrait aqueux des feuilles de *juglans regia* L. tels que: Flavonoïdes, tanins, saponosides.
- évaluation de l'activité anti-inflammatoire, anti-hyperglycémiant, antidiabétique (pouvoir hypoglycémiant et diminuant le taux de triglycérides) de l'extrait aqueux. De même une étude des coupes histologiques au niveau du pancréas des rats diabétiques a été réalisée.

Chapitre 1 : Données Bibliographique

1.1. Le diabète :

1.1.1. Généralité :

Selon l'OMS le diabète est une maladie chronique, métabolique caractérisée par une élévation persistante de la glycémie résultant d'un défaut de sécrétion d'insuline dont le pancréas ne le produit pas suffisamment ou d'une anomalie de son action ou des deux à la fois. Des troubles du métabolisme protidique et surtout lipidique y sont souvent associés à long ou à court terme dont les complications sont les risques cardiovasculaires (2 à 4 fois supérieurs à la normale) et neurologiques s'accompagnent de dommages à de nombreux organes comme les nerfs, les artères, les yeux, les reins (**Cefalu, 2006**).

1.1.2. Critères de diagnostic :

Les critères de diagnostic de diabète sont :

- Présence de symptômes (polyurie, polydipsie, amaigrissement).
- Glycémie sur plasma veineux à jeun = 1,26 g/l (7 mmol/l).
- Glycémie sur plasma veineux = 2 g/l (11 mmol/l).
- Glycémie (sur plasma veineux) deux heures après ingestion de 75g de glucose (test d'hyperglycémie provoquée par voie orale (HPGO)) = 2g/l (11 mmol/l) (**Grimaldi, 2005**).

1.1.3. Classification :

- **Diabète de type 1 ou diabète insulino-dépendant (DID), juvénile, maigre, cétosique :**

Observé le plus souvent chez le sujet jeune. Il est caractérisé par une carence absolue en insuline, due à une destruction auto-immune de la cellule bêta pancréatique. (**Silbernagl et lang, 2000; Young, 2011**).

Selon la classification établie par l'association Américaine de diabète (ADA), il existe deux sous-types :

– le diabète de type 1 auto-immune, le plus fréquent, incluant le type 1 lent ou LADA (**Young, 2011**). Une maladie auto-immune, déclenchée par une infection virale. Les îlots sont infiltrés par des lymphocytes T et des macrophages (insulite) ce qui conduit en quelques années à un état d'insulinopénie absolue. Dans ce type de diabète plusieurs auto anticorps ont été mis en évidence (**Silbernagl et lang, 2000; Grimaldi, 2005**).

Chapitre 1 : Données Bibliographique

– le diabète de type 1 idiopathique (caractérisé par l'absence d'auto-anticorps). Il s'agit d'un cadre nosologique mal défini, incluant les diabètes céto-siques du sujet noir originaire d'Afrique subsaharienne et les diabètes suraigus japonais (**Young, 2011**).

- **Diabète type2 ou non-insulinodépendant (DNID) :**

Il résulte de l'incapacité de l'organisme à réagir correctement à l'action de l'insuline. L'insuline est soit basse ou soit élevée (insulinorésistance prédominante ou insulinopénie prédominante) (**Calop et al., 2008**).

C'est-à-dire ; il existe une production d'insuline mais en quantité insuffisante, rendant inadéquat la réponse compensatoire de l'hormone à des élévations du taux de glucose, et aboutissant ainsi à une hyperglycémie rapide. A cette anomalie de l'insulino-sécrétion, est associée une insulino-résistance des tissus périphériques dont la capacité à utiliser le glucose est amoindrie. En effet, des taux élevés de glucose circulant sont toxiques (glucotoxicité) et entraînant à la fois, une diminution de la fonction sécrétrice des cellules β et augmentation de la résistance à l'insuline. L'expression du phénotype DNID résulte d'une combinaison d'une prédisposition génétique et des facteurs environnementaux. L'environnement peut conduire à des situations métaboliques que l'organisme ne peut plus contrôler. Une alimentation riche en graisses animales et en sucre, pauvre en fibre, peut conduire à l'obésité favorisant l'apparition du DNID. Le diabète de type II est le plus souvent asymptomatique (**Borel et al., 1999**).

1.1.4. Traitement du diabète :

1.1.4.1. Traitement du diabète type1 :

- **Traitement palliatif :**

L'insulinothérapie:

Les objectifs ne se limitent pas seulement à la correction des hyperglycémies ou la prévention des décompensations céto-acidosiques mais ils doivent surtout viser la prévention et la réduction de la progression des complications.

L'insuline est une hormone endocrinienne sécrétée par les cellules du pancréas (les cellules β des îlots de Langerhans), elle est formée de deux chaînes polypeptidiques : la chaîne A (21 acides aminés) et la chaîne B (30 acides aminés), réunies par deux ponts dissulfures (**Perlemuter et al., 2000**).

Chapitre 1 : Données Bibliographique

Il existe plusieurs types d'insuline synthétique d'origines différentes (porcine, bovine, humaine) et de durées d'action différentes dont le but est de suppléer la carence de son production dans l'organisme de sujet diabétique (**Pacaud, 1995**).

Diverses voies d'administration sont utilisables selon les types d'insulines et les buts recherchés, la voie sous cutanée profonde est la plus utilisée ; seules les insulines rapides peuvent être données par voie intraveineuse (**Pacaud, 1995**).

La diététique :

L'alimentation doit apporter une ration calorique normale pour l'âge, répartie comme suit : 55% de glucides, 15% de protides et 30% de lipides. La consommation des produits « pour diabétiques » à base d'édulcorants de synthèse (aspartam) ou de fructose doit être limitée car ils contiennent des sucres cachés. (**ASD, CMND, 2003**).

- **Traitement curatif : greffe du pancréas :**

Le diabète de type 1 découle d'une destruction auto-immune des cellules bêta, directement responsable de l'hyperglycémie. À l'heure actuelle, de nombreux laboratoires se tournent vers des stratégies visant soit à remplacer les cellules bêta endommagées soit à améliorer la fonction des cellules bêta résiduelles (**Idelman et Verdeti, 2000**).

1.1.4.2. Traitement du diabète type2 :

Ce dernier nécessite chez la majorité des patients et surtout pendant les premiers stades, une prise en charge médicamenteuse et cela par l'intervention des antidiabétiques oraux qui sont classés selon leur mode d'action en trois catégories :

- Les sulfamides hypoglycémiant stimulent la sécrétion d'insuline par les cellules β du pancréas en les sensibilisant à l'action du glucose (**Dey et al., 2002**).
- Les biguanides classés en deuxième lieu n'agissent pas sur la sécrétion insulinique, ce sont des potentialisateurs d'effets de l'insuline, ils améliorent la sensibilité cellulaire à l'insuline sans en augmenter la concentration dans le sang. Plus précisément ils augmentent la mobilisation des protéines qui permettent l'entrée du glucose dans les cellules (**Pacaud, 1995;Thulé, 2012**).
- Les inhibiteurs des alpha-glucosidases constituent la troisième classe des antidiabétiques oraux. Ils atténuent la glycémie postprandiale par leur action directe

Chapitre 1 : Données Bibliographique

comme agent inhibiteur des alpha-glucosidases intestinales en ralentissant la digestion des polysaccharides (**Hermans, 1998**).

1.1.5. Phytothérapie et diabète :

Malgré le développement spectaculaire de la médecine moderne, les plantes médicinales trouvent encore leurs indications thérapeutiques dans le traitement d'une multitude d'affections et de maladies dans les différentes sociétés et cultures (**Eisenberg et al., 1993; De Smet, 2002**).

L'échec des traitements pharmaceutiques conventionnels surtout dans le cas des Maladies chroniques comme le diabète sucré, la forte incidence des effets indésirables des Médicaments de synthèse qui leur sont associés et l'insuffisance des infrastructures Sanitaires dans les pays en voie de développement, font qu'une large tranche de la Population mondiale dépend essentiellement de la médecine naturelle complémentaire ou Parallèle pour se soigner et où la tradition de médecine par les plantes est bien ancrée dans les mœurs (**Eddouks et al., 2007**).

Dans les pays développés le traitement du diabète est relativement bien assuré par les moyens thérapeutiques modernes, le retour à la phytothérapie demeure comme médecine alternative seule ou en complément, pour diminuer la dose de médicaments synthétiques, mais aussi par ce que certaines plantes semblent en même temps capables de lutter contre les complications du diabète (sclérose des vaisseaux sanguins, dépôt athéromateux, artérites, hypertension et infections) (**Dey et al., 2002**).

1.1.6. Les plantes médicinales à activité antidiabétique :

Plusieurs enquêtes ethno pharmacologiques ont été menées à travers le monde pour recenser les plantes antidiabétiques utilisées dans les différentes pharmacopées traditionnelles (**Ivorra et al., 1989; Jouad et al., 2001; Grover et al., 2002**). Les informations ethnobotaniques recueillies dans plusieurs régions du monde estiment que plus de 1200 espèces végétales, soit plus de 725 genres appartenant à 183 familles sont utilisées pour leurs propriétés hypoglycémiantes et anti-hyperglycémiantes (**Bailey et Day, 1989 ; Maries et Farnsworth, 1995**).

Les investigations ethno pharmacologiques sont actuellement centrées sur la Validation expérimentale des propriétés curatives, traditionnellement attribuées à ces remèdes. Dans 81% des cas, les indications traditionnelles des plantes antidiabétiques ont été expérimentalement

Chapitre 1 : Données Bibliographique

confirmées (**Maries et Farnsworth, 1995**). Certaines de ces plantes, dont l'activité pharmacologique a été confirmée sur des modèles d'animaux, ont également fait l'objet de plusieurs études cliniques (**Ernst, 1997**). Pour plusieurs plantes, les molécules bioactives responsables de l'activité pharmacologique ont été identifiées et isolées et les mécanismes cellulaires et moléculaires impliqués dans les effets thérapeutiques ont été partiellement ou complètement élucidés afin de conduire à la découverte de nouveaux médicaments pour le traitement pharmacologique du diabète sucré.

L'exemple classique est celui de *Galega officinalis*, une plante largement utilisée dans le traitement du diabète en Europe. Les premières investigations ont révélé la présence de Guanidines en forte concentration dans cette plante (**Oubré et al., 1997**). Plus tard, les propriétés hypoglycémiantes des guanidines ont été mises en évidence, ce qui a conduit à la découverte de la metformine, agent antidiabétique oral visant à diminuer l'insulinorésistance (**Dey et al., 2002**).

Ainsi, les plantes sont une source inépuisable de substances chimiques: tanins, Glycosides, flavonoïdes, saponosides etc..., et qui auraient des propriétés curatives appréciables et qu'aucune chimie synthétique et combinatoire ne peut nous offrir (**Fabricant et Farnsworth, 2001**).

En Algérie, la phytothérapie constitue une partie intégrante de la culture locale. Dans la région de Tlemcen, les informations ethnobotaniques recueillies par Benmehdi en 2000 confirment l'importante dépendance de la population locale vis-à-vis des plantes médicinales pour traiter le diabète. Plus de 80 espèces de plantes médicinales ont été répertoriées dans cette région et sont utilisées seules ou en combinaison avec les médicaments de synthèses (**Benmehdi, 2000**).

Des enquêtes ethnobotaniques récentes effectuées dans le but de répertorier les plantes médicinales antidiabétiques dans l'Ouest Algérien (**Allali et al., 2008**) et l'Est Algérien (**Hamza, 2011**), soulignent l'importance qu'occupe ce patrimoine végétal dans la pharmacopée traditionnelle et surtout dans le traitement du diabète.

Chapitre 1 : Données Bibliographique

1.2. L'inflammation :

L'inflammation est une réaction de défense de l'organisme à diverses agressions qui peuvent être d'origine physique, chimique, biologique (réponse immunitaire) ou infectieuse. Elle se caractérise par de la chaleur, de la rougeur, de la douleur et de la tuméfaction (**Chaouche Mazouni, 2011**).

La fonction principale de la réaction inflammatoire est d'éliminer l'agent agresseur et de permettre la répartition des tissus (**Weill et Batteaux, 2003**).

Le mécanisme inflammatoire fait intervenir un grand nombre de substances présentes dans le sang notamment de nombreuses hormones comme les prostaglandines, l'histamine et les cytokines qui participent à l'inflammation (**Weill et Batteaux, 2003**).

La réponse inflammatoire se déroule en quatre étapes : la reconnaissance des signaux de danger, le recrutement de cellules sur le site d'infection, l'élimination du pathogène et la résolution de l'inflammation conduisant à un retour à l'homéostasie et à la cicatrisation du tissu lésé (**Barton, 2008**).

Le traitement actuel de l'inflammation fait appel aux anti-inflammatoires stéroïdiens (glucocorticoïdes) et non stéroïdiens comme l'aspirine. Ces molécules bien qu'étant efficaces présentent le plus souvent des effets indésirables qui peuvent gêner leur utilisation au long cours (**Gaziano et al., 2006**).

Les anti-inflammatoires stéroïdiens en particulier les glucocorticoïdes présentent beaucoup d'effets secondaires parmi lesquels :

- Des effets métaboliques à la suite de traitements prolongés : modification du métabolisme calcique avec tendance à l'ostéoporose, phénomène d'hypercortisme œdème.
- Une sensibilité aux infections : l'action dépressive sur le système lymphoïde entraîne une diminution des réactions de défense immunitaire et favorise le développement des infections bactériennes, virales, et fongiques (**Lompo, 1998**).

Les dérivées salicylées comme l'aspirine utilisée à dose prolongée peuvent provoquer de saignements gastriques, de l'acidocétose et chez le diabétique. L'indométacine qui est utilisée dans les affections rhumatismales, polyarthrite rhumatoïdes, spondylarthrites ankylosantes, les inflammations des articulations, la goutte, est cependant contre indiqué chez les ulcéreux, les colitiques, les allergiques, les femmes enceintes et les enfants (**Lompo, 1998**).

Chapitre 1 : Données Bibliographique

Dans les pays en voie de développement, les plantes possédant une activité anti-inflammatoire pourraient constituer une alternative dans la thérapeutique anti-inflammatoire du fait de leur meilleure accessibilité et de leur moindre toxicité en général, comparativement aux anti-inflammatoires classiques (**Khalil et al., 2006**).

Cette activité est due à la présence des molécules bioactives tels que les poly phénols et les flavonoïdes (**Aggaruval et sung, 2009**).

En outre, un effet anti-inflammatoire peut également être généré grâce à certains monoterpènes cycliques qui peuvent activer certaines glandes endocrines comme les glandes surrénales, en particulier celles à l'origine de la production des glucocorticoïdes comme le cortisol, la cortisone et la corticostérone à effets anti inflammatoires (**Salles, 2012**).

Chapitre 1 : Données Bibliographique

1.3. Le noyer commun : *juglans regia* L.

1.3.1. Historique:

Juglans regia ou le noyer commun est un arbre majestueux (**Debuigne et Couplan, 2006**) qui appartient à la famille des juglandacées.

Les récits de l'antiquité grecque et romaine évoquent la culture de noix, dont l'arbre a été importé de Grèce par les romains qui lui fait ensuite traverser les Alpes (**Bartels, 1998**).

Les, noix servaient chez les Romains aux cérémonies nuptiales; sans doute, dit Pline, à cause de la ressemblance de la double enveloppe de la noix, comparée à celle du fœtus. Cette comparaison, justifiée par les connaissances embryologiques de l'époque, n'était pas la vraie cause de l'emploi de ces fruits ; on les répandait devant les époux en signe de bonheur et d'abondance ; on connaît à ce sujet les vers du poète (**Pouget, 1875**).

D'après les historiens, les Berbères cultivaient des forêts entières de noyers dans les régions montagneuses pour obtenir le Souak (écorce), ils n'hésitaient hélas, pas à écorcher les jeunes noyers (**Delille, 2007**).

Selon la théorie des signatures, il est incontestable qu'une noix fait penser à une tête, sa partie dure représentant le crâne, sa cuticule les méninges et la partie blanche les circonvolutions cérébrales dont le noyer était employé pour les affections de la tête, en 1842 Pazine utilise les feuilles pour les maladies scrofuleuses (**Sallé, 1991**).

En médecine traditionnelle turque *juglans regia* L. a été utilisée dans le traitement des perturbations hormonales, et le dysfonctionnement des glandes tel que la thyroïde (**Duke, 2004**).

En Chine les noix ont été servies contre l'asthme, les maux de dos, des jambes et la constipation (**Brenness, 2005**).

En Inde le noyer était considéré comme un symbole de longivité (**Brenness, 2005**).

En Corée, au Japon depuis les temps les plus anciens, l'enveloppe verte (Brou), les feuilles, la tige, et l'écorce du genre *juglans* (juglandaceae) ont été largement utilisés en médecine populaire pour le traitement du cancer et les dermatoses (**Liu et al., 2008**).

Depuis fort longtemps, et encore maintenant, on met en garde contre l'ombre maléfique du noyer, cela pour des raisons plus ou moins fantaisistes, mais en particulier l'odeur qu'il exhale

Chapitre 1 : Données Bibliographique

serait capable de plonger dans un lourd sommeil les personnes se reposant sous son ombrage, tout au plus admettons que la densité de son feuillage nuit aux cultures avoisinantes **(Bretaudeau et Faures, 1990)**.

1.3.2. Etymologie :

L'étymologie de son nom d'origine latin serait une altération de *Jons Glans* ou gland de Jupiter **(Bretaudeau et Faures, 1990)**.

Selon **Sallé (1991)**, c'est un arbre consacré à Jupiter d'où son nom latin, *juglans regia* il symbolisait au moyen âge l'union de mariage. Les grecs l'ont appelé *Caryon Basilicon* parce qu'il fait la tête pesante et lourde. De plus, on le nomme *Basilique royale* et *persique* en français parce que les premiers rois l'ont apporté des premiers de perse.

Pour les Romains la noix régale, c'est le mets des Dieux car dans l'âge d'or mythique, printemps de la cueillette, les hommes se nourrissaient de glands et les déités de noix **(Breton, 1884)**.

1.3.3 Noms communs :

- En français : noyer royal, ganquier, callotier et eclonnier **(Arnal et al., 2009)**. arbre au sommeil, gland de Jupiter, gland divin **(Delille, 2007)**.
- En arabe : el jouza, djouz, souik ou souak **(Delille, 2007)**.
- En berbère : Tadjoudjte **(Djerroumi et Nacef, 2009)**
- En chinois : Ho-tao **(Bougné, 1875)**.
- En grec : *Caryon basilicon* **(Breton, 1884)**.
- En anglais: Common Walnut, Persian Walnut, Walnut.
- En espagnol : Anouer, Nogal común, Noguer.
- En datch : Echte Walnuß, Nußbaum, Walnußbaum **(Peltier, 2005)**.

1.3.4. Habitat et exigences :

L'arbre exige beaucoup de place pour déployer sa large ramure, on ne le trouve pas en forêt mais plutôt le long des routes, en bordure de champs et dans les cours des fermes, de certaines régions **(Dupérat et Polèse, 2008)**.

Chapitre 1 : Données Bibliographique

- **Exigences édaphiques :**

Le noyer commun se développe sur les terrains bien alimentés en eau c'est-à-dire de préférence sur les parties concaves ou le sol est plus profond (**Becquey, 1997**).

Il pousse dans tous les sols, bien que redoutant l'argile ou les terrains compacts, ainsi que l'eau stagnante ; par contre il s'accommode fort bien en calcaire, les sols d'alluvions, silico-argileux, argilo-calcaires, les plateaux calcaires, les sols siliceux, pierreux ou caillouteux lui sont également favorables (**Breton et Fauré, 1979**).

- **Exigence climatique :**

Pour atteindre un développement optimal le noyer commun aime l'air et la lumière (**Breton et Fauré, 1979**)

Il est assis exigeant en chaleur pendant la saison de végétation ; Il réussit mieux dans les secteurs à climat de type continentale (chaud en été et froid en hiver) (**Becquey, 1997**).

En raison des gelées printanières, son altitude ne dépasse pas les 600 à 700m en culture (**Breton et Fauré, 1979**).

Les gelées de printemps détruisent les jeunes pousses et les inflorescences ; elles sont d'autant plus fréquentes et dommageables que le climat est plus doux et qu'il entraîne de ce fait un départ précoce de la végétation (**Becquey, 1997**).

Une pluviométrie suffisante (700 à 800 mm) est indispensable a sa végétation (**Breton et Fauré, 1979**).

Juglans regia est devenu un arbre spontané qui peut se régénérer tout seul il fait l'objet d'une véritable culture pour la production de noix, mais aussi du bois (**Dupérat et Polèse, 2008**).

1.3.5. Description botanique :

C'est un arbre dicotylédone grand et haut, atteignant parfois une grande hauteur 25m, mais dont la taille moyenne ne dépasse guère 8 à 10 mètres (**Bouquet, 1875; Breton, 1884; Dellile, 2007**).

Cet arbre aime à pousser dans les régions tempérées et est, de ce fait, assez répandu chez nous. (**Djerroumi et Nacef, 2009**). Il était autrefois très cultivé par les berbères au Maghreb, aussi bien dans les plaines que dans les montagnes (**Dellile, 2007**).

Chapitre 1 : Données Bibliographique

Cet arbre vit aisément 100 ans avec des exemplaires atteignant parfois 400 à 500 ans, ce qui est plus exceptionnel (**Bretaudeau et Fauré, 1979**).

- **Les Feuilles :**

Apparaissent très tard au printemps, d'abord brun rougeâtre à l'éclosion des bourgeons, elles sont alternes, grandes de 20 à 40 cm et composées de 4 à 8 paires de folioles ovales, plus une terminale non dentées, verte clair mat sur la face supérieure, vert plus pale sur la face inférieure. Elles ont un long pétiole dont la base est très renflée (**Dupérat et Polese, 2008**).

La foliole terminale se continue avec le pétiole commun, tandis que les latérales, presque sessiles, alternent entre elles et sont, comme la première, sauf cependant les deux inférieures plus petites, ont environ 6-10 centimètres de long sur 5 de large ; elles sont ovales, entières et légèrement sinuées sur les bords. Chaque foliole porte une forte nervure médiane d'où se détachent, en alternant entre elles, des nervures secondaires en forme d'arc à concavité tournée vers le bord de la feuille. Ces nervures, secondaires à leur tour, se divisent en un grand nombre de veinules qui forment, dans l'intervalle de deux nervures, un réseau très-marqué.

Les jeunes feuilles sont tendres et présentent de petites touffes de poils implantés à l'aisselle des nervures secondaires. Les feuilles les plus âgées, au contraire, sont coriaces et glabres; elles dégagent une odeur particulière aromatique, qui devient plus forte quand on les froisse (juglandine) (**Bretaudeau et Fauré, 1979**).

Leur saveur est acre et amère ; elles laissent parfois suinter un liquide visqueux (**Bougnnet, 1875**).

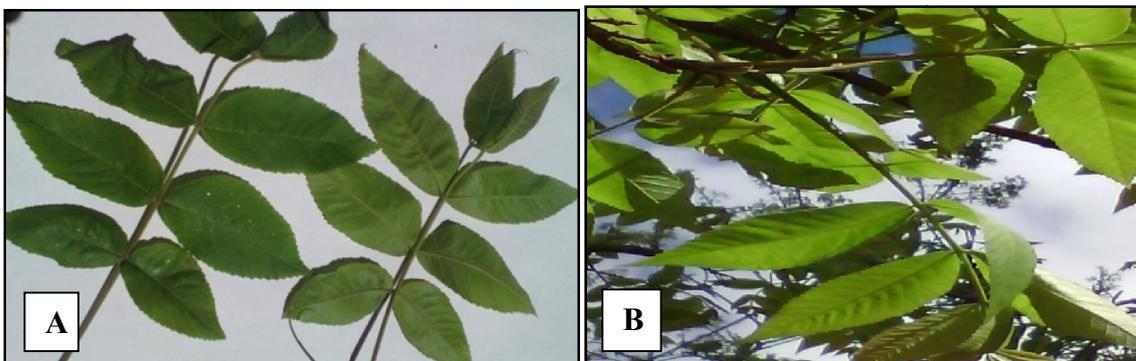


Figure 1.1. Feuilles de *Juglans regia* L. (Original, 2016).

A : Face supérieure, **B :** Face inférieure.

Chapitre 1 : Données Bibliographique

- **Les Rameaux :**

Sont gras, anguleux, brun luisant, et portent de larges cicatrices foliaires triangulaires situées sous le bourgeon (**Dupérat et Polese, 2008**). Selon **Bretaudeau et Fauré (1979)**, l'intérieur des rameaux est constitué de moelle cloisonnée.

- **Les Bourgeons :**

Les bourgeons sont globuleux et brun-noir; ils sont glabres et enveloppés de 2 écailles. (**Becquey, 1997; Dupérat et Polese, 2008**).

- **Le système racinaire :**

Système racinaire pivotant avec un chevelu abondant et ramifié, recouvert de mycorhizes (**Bretaudeau et Fauré, 1979**). Il est pivotant dès la première année, le pivot atteint 50 à 80cm puis il continue à se renforcer et peut descendre jusqu'à 3 et même 5 m si le sol le permet ; Généralement il disparaît progressivement quand l'arbre vieillit. Très tôt les racines latérales ont tendance à coloniser les couches superficielles du sol (**Becquey, 1997**).

- **Tronc :**

Tronc puissant, atteignant 4 à 5 m de hauteur pour 6 à 8 m de circonférence et plus. Branches à port érigé durant les 30 ou 40 premières années, prenant un aspect pleureur dans les années qui suivent et étalent en cime arrondie (**Bougné, 1875; Bretaudeau et Fauré, 1979**).

- **L'écorce :**

L'écorce qui recouvre le tronc est épaisse, grisâtre, sillonnée de crevasses profondes, tandis que celle des jeunes rameaux est lisse et d'un gris blanchâtre, parfois teinté de roux (**Bougné, 1875**). Elle se fissure en large comme chez beaucoup d'espèce d'arbres, en revanche, sa couleur argentée, très claire, est plus caractéristique. (**Dupérat et Polese, 2008**).

- **Les Fleurs :**

Les fleurs appelées également chatons, la floraison a lieu avant l'appariation de feuilles (**Dupérat et Polese, 2008**). Les Fleurs sont : verdâtres, unisexuées, monoïques ; l'inflorescence est indéfinie (**Bougné, 1875**).

Chapitre 1 : Données Bibliographique

➤ Fleurs males :

Disposées en chatons axillaires cylindriques, très-allongés (7-10 centimètres) (**Bougnnet, 1875**). Elles apparaissent en automne sur le bois de 1 an, juste en dessous des pousses de l'année qui ne se développeront qu'au printemps suivant (**Breitaudeau et Fauré, 1979**).

Elles constituent de : Périclype simple à six lobes membraneux et inégaux ; étamines 14-36, insérées sur le réceptacle ; filets très-courts, libres et pétaloïdes ; anthères biloculaires, couvrant en long, et acuminées par le connectif (**Bougnnet, 1875**).

➤ Fleurs femelles :

En épi, axillaires, presque sessiles, situées à l'extrémité des rameaux. Ovaire uniovulé, quadricellulaire à la base, supérieurement uni-biloculaire. Styles: deux très-courts; stigmates : deux très-grands frangés. Ovule dressé (**Bougnnet, 1875**).

Les fleurs femelles sont solitaires ou groupées par 2 à 3 avec épanouissement au printemps en même temps que les fleurs males (**Breitaudeau et Fauré, 1979**).

• Les Fruits :

Fruit est la noix, enveloppé par l'involucre et le calice soudés, très-accrus, charnus-fibreux, se rompant et se détachant irrégulièrement à la maturité, en laissant à nu la noix. Ce fruit, qui est globuleux et vert d'abord, puis noir à la maturité, devient alors déliquescent ; la noix qui s'en échappe est ovoïde, ridée sillonnée, à sillons anastomosés, à deux valves ligneuses, ne s'ouvrant que par la germination et ne renfermant qu'une graine. Graine 4-lobée, cérébriforme, à test mince, exalbuminée. Embryon renversé; cotylédons charnus, huileux, bilobés, sinués mamelonnés. Radicule très-courte, opposée au hile (**Bougnnet, 1875**).

Son odeur est aromatique, et sa saveur est amère et astringente (**Dellile, 2007**).

L'enveloppe verte qui renferme l'amande de noix est appelée « brou » (**Djerroumi et Nacef, 2009**).

L'amande très riche en huile savoureuse et comestible fraîche ou sèche (**Dupérat et Polese, 2008**).



Figure 1.2. Fruit de *Juglans regia* L. (Original, 2015).

1.3.6. Systématique et botanique

Selon **Mark et al (2009)**, le noyer blanc ou noyer commun appartient :

Embranchement : Phanérogames

S/embranchement : Angiospermes

Classe : Dicotylédones

S/classe : Apitales

Ordre : Fagales

Famille : Juglandacées

Genre : Juglans

Espèce : *Juglans regia* L.

1.3.7. Compositions chimiques :

Les principaux constituants sont les tanins (en grande quantité), protides, glucides, huile essentielle et huile grasse, naphthoquinones (juglone...), acides, minéraux (zinc, cuivre...), vitamines A, B1, B2, B5, P... (**Baba Aissa, 2011**).

Juglone (5-hydroxy-1, 4-naphthoquinone) est connu comme étant le composé le plus caractéristique des espèces de *Juglans* (**Pereira et al., 2007**).

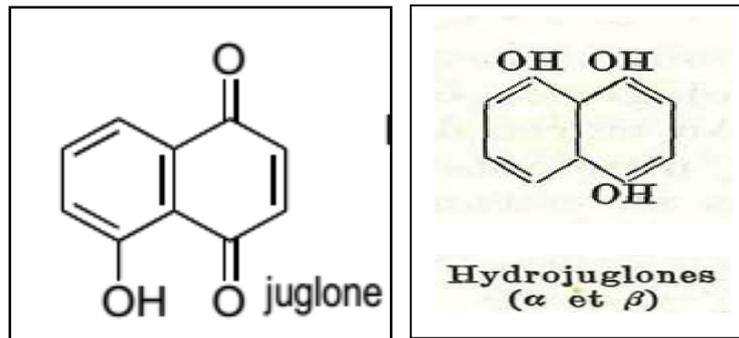


Figure 1.3. Structure chimique de la juglone et de l'hydrojuglone α et β (Standelmann et Mirimanoff, 1949).

La plante est riche en flavonoïdes qui sont principalement présentent dans les feuilles et les parties externes de la plante; les flavonoïdes les plus fréquent sont: les myricétines, les quercétines, Kaempféfols et l'apigénines (Qureshi et al., 2014).

Dans des feuilles de noyer, des naphthoquinones et les flavonoïdes sont considérés en tant que composés phénoliques importants (Pereira et al., 2007).

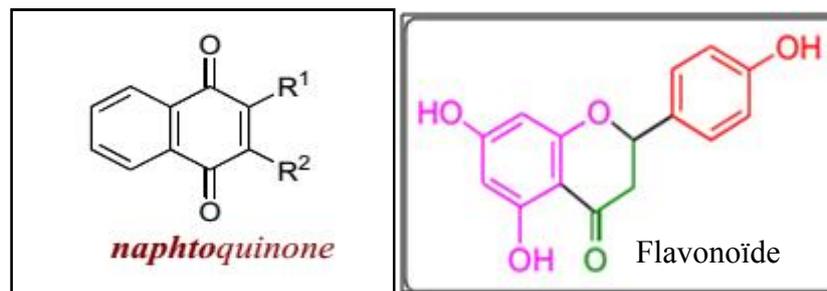


Figure 1.4. Structure chimique de naphthoquinone, Flavonoïde (Vercautera, 2011).

Les feuilles fraîches du *Juglans regia* contiennent des quantités significatives de juglone (jusqu'à 0.5 g/100g poids secs) (Thakur, 2011).

Elles contiennent des tanins (ellagitanins) pour 10% de la juglone et de l'hydrojuglone, des flavonoïdes (Quercétine, hyperoside pour 0.2% quercitrine); des acides gallique, caféique et néochlorogénique, une huile essentielle (0.01% à 0.03%) et de l'acide ascorbique (0.85 à 1%) (Arnal et al., 2009).

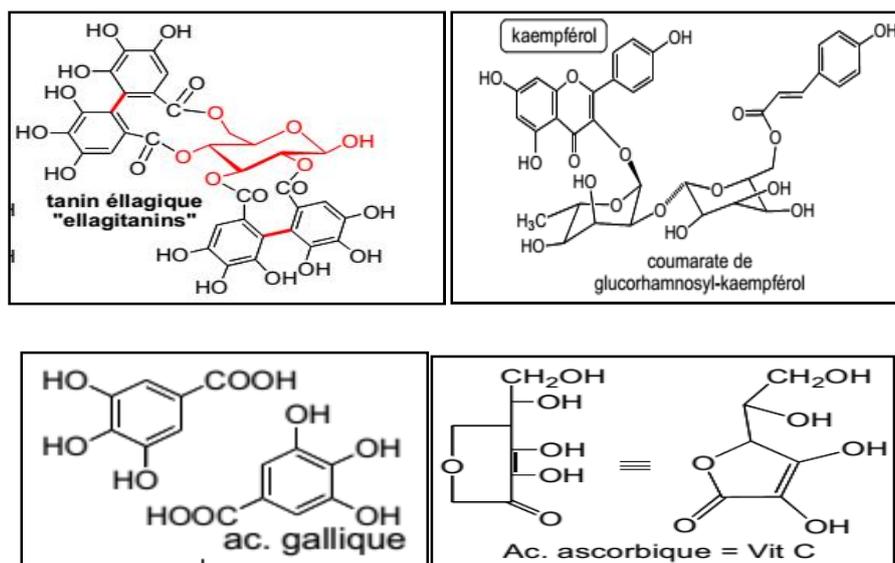


Figure 1.5. Structure chimique des tanins ellagiques et des kaempférols, de l'acide gallique et l'acide ascorbique (Vercautera, 2011)

Une nouvelle coumarine « juglanslactone » (1) et quatre autres composés isoscooletin (2), osthol (3), psoralene (4), ayapanin connus (5) ont été isolé à partir des jeunes brindilles de *juglans regia* (Hao et al., 2015).

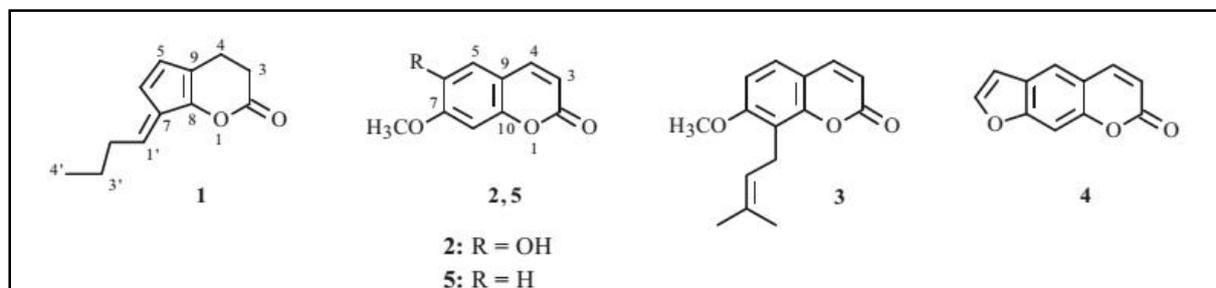


Figure 1.6. Structure chimique de juglanslactone(1), isoscooletin (2), osthol (3), psoralene (4), et ayapanin connus (5) (Hao et al., 2015).

L'écorce et les pièces florales de plante de noyer contiennent le juglone de composés aromatique (C₁₀H₆O₃) (1, 4 - la quinone de naphtha, 5 hydroxy - 8Cl) (Thakur, 2011).

Le péricarpe contient des tanins en faible proportion, de juglone, d'hydrojuglones α et β , d'acides organiques comme l'acide citrique et l'acide malique ; il est très riche en acide ascorbique « vitamine C » dont sa teneur est de 1 à 1.5 g dans 100 g de matière fraîche

Chapitre 1 : Données Bibliographique

L'hydrojuglones α et β s'oxydent facilement en juglone qui est à son tour oxyde l'acide ascorbique. (Standelmann et Mirimanoff, 1949).

1.3.8. Utilisation traditionnelle :

- **Usage Interne:**

En usage interne, le Noyer est utilisé pour traiter le rachitisme, les adénopathies, la scrofules, l'asthénie, les maladies osseuses, la tuberculose, les bronchites chroniques, le diabète, l'anémie, la goutte, les rhumatismes, les diarrhées et le ténia (Morigane, 2004). Il aurait aussi quelque efficacité contre la plupart des maladies lymphatiques, telles que la morve, les engorgements glandulaires (Tabourin, 1853).

Très nutritive, vermifuge, utile en cas de diabète, de tuberculose, de calculs urinaires (Dellile, 2007).

- *Les feuilles :*

La feuille de noyer a des propriétés tonifiantes, astringentes, détersives, sudorifiques et diurétiques et hypoglycémiantes (Dellile, 2007).

La tisane de feuilles de noyer est un moyen efficace contre les troubles de la digestion, la constipation, le manque d'appétit et est dépurative. Elle a aussi un excellent effet contre le diabète et la jaunisse, le rachitiques et la nécrose osseuse (Trében, 1985).

La feuille de noyer est traditionnellement utilisée pour traiter la diarrhée et les déséquilibres de la flore intestinale. Elle est aussi prescrite pour améliorer la circulation veineuse et lymphatique (Arnal et al., 2009).

L'infusion de ses feuilles était consommée comme remède gastro-intestinal en médecine populaire (Wolfgang, 2007).

Grace à leur action astringente, les feuilles de noyer ont des effets anti-diarrhéiques. La juglone et l'huile essentielle qu'elles contiennent confèrent à la plante une activité antifongique. (Arnal et al., 2009).

Chapitre 1 : Données Bibliographique

➤ *Les noix :*

Les noix vertes cueillies vers la mi-juin , permettent de préparer une liqueur qui est souveraine pour nettoyer l'estomac, le foie, purifier le sang et qui écarte les dérangements d'estomac et la paresse intestinale. De plus, c'est un excellent fluidifiant du sang (**Trében, 1985**).

Cette plante a également sa place dans la pharmacopée sa peau vertes possèdent des propriétés antiseptique, digestives, et anti-inflammatoire. Elles sont également censées faire baisser la pression artérielle et la glycémie (**Kothe, 2007**).

• **Usage Externe:**

En usage externe on utilise le Noyer pour soigner les pertes blanches, les angines, les plaies atones, les abcès froids, les scrofules, les eczémas suintants, la blennorrhagie et le charbon (**Morigane, 2004**), les affections invétérées de la peau, etc (**Tabourin, 1853**).

Son tannin serait assez abondant, il a été recommandé l'usage dans le tannage des cuirs (**Pougnnet, 1875**).

➤ *Les feuilles :*

Un bain à la décoction de feuilles de noyer est très actif contre les maladies scrofuleuses et, de même que contre les suppurations des ongles de mains et de pieds. La décoction de feuilles de noyer vertes apporte une rapide récession des croutes de lait, de la gale si on lotionne les endroits atteints (**Trében, 1985**).

Par leurs propriétés toniques, elles transforment rapidement les plaies blafardes et atones, tendant à la chronicité, en plaies de bonne nature, et rendent ainsi leur guérison plus facile) (**Pougnnet, 1875**).

Les lavages, Éventuellement les bains avec cet additif sont actifs contre l'acné, les éruptions purulentes, l'hyper transpiration des pieds et les pertes blanches. Pour l'haleine fétide, les gingivites, les maux de gorge et du larynx, il faut faire des rinçages ou des gargarismes. Une forte décoction, ajoutée à l'eau d'un bain, guérit les engelures. Les fortes chutes de cheveux sont enrayées en massant vigoureusement le cuir chevelu avec cette décoction. Les poux, dont on note une recrudescence, sont Éliminés par ce moyen. (**Trében, 1985**). Des feuilles fraîches chassent les insectes indésirables

Chapitre 1 : Données Bibliographique

En usage externe, elle est recommandée dans le traitement des problèmes de peau comme l'acné, l'eczéma, les infections et ulcères cutanés ainsi pour régler une sédation trop important (**Arnal et al., 2009**).

En usage externe, la feuille renforce la kératine des cellules de l'épiderme. (**Arnal et al., 2009**).

Ses feuilles contiennent en effet des tanins : on lui faisait des cataplasmes, des lavements et des rinçages pour soigner les impuretés cutanées, l'eczéma, la transpiration des pieds et les blessures (**Wolfgang, 2007**).

➤ **Les noix :**

Selon **Wolfgang (2007)**, ses coques vertes renferment en outre un colorant brunir les cheveux.

En Chine, l'écorce, les branches et l'exocarpe du fruit vert non mûr de cette plante médicinale ont été employés pour traiter le cancer gastrique, de foie et de poumon un long temps (**Wolfgang, 2007**).

Chapitre 2 : Matériel et Méthodes

Notre étude s'est étalée sur une période de 4 mois passant respectivement par :

- Etude phytochimique réalisée au niveau de laboratoire de substances naturelle du Centre de Recherche et de Développement du groupe SAIDAL (CRD) d'El Harrach-Alger.
- Une évaluation de l'activité anti-inflammatoire et anti-hyperglycémiant effectuées au niveau du laboratoire de Pharmaco-Toxicologie du Centre de Recherche et Développement du groupe SAIDAL (CRD) d'El Harrach Alger.
- Une évaluation de l'activité antidiabétique effectuée au niveau du laboratoire de physiologie animale de l'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire (ENSV) d'el Harrach Alger.
- Un dosage de différents paramètres biochimiques réalisé au niveau de laboratoire de Biochimie Médicale de l'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire (ENSV) d'el Harrach Alger.
- Etude histopathologique effectuée sur les pancréas des rats au niveau du laboratoire d'Anatomo-Pathologie de l'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire (ENSV) d'el Harrach Alger.

2.1. Matériel biologique :

2.1.1. Matériel végétal :

Les feuilles de noyer « *Juglans regia.L* » ont été utilisées dans cette étude. Elles ont été récoltées au niveau d'un champ d'agriculture à Mouzaia (Blida), d'un sol silico-argileux bien alimenté en eau au mois de Novembre 2015. L'authentification de la plante a été effectuée au niveau de département d'agronomie d'Université Saâd Dahlab (Blida1), ainsi qu'au niveau de département de Biotechnologie végétale de l'Institut Nationale d'Agronomie (INA) d'El Harrach Alger. Le matériel végétal est nettoyé (débarrassé des débris) puis étalé sur du carton étendu par terre ensuite laissé sécher à l'ombre, à l'abri de la poussière et dans un endroit bien aéré. Le matériel végétal est disposé par fines couches et remué de temps à autre. Le temps de séchage était de 20 à 25 jours.

Après les avoir séché les feuilles sont broyées à l'aide d'un broyeur maison de marque « Moulinex », une poudre plus ou moins fine est obtenue.

La poudre obtenue est conservée dans un bocal hermétiquement fermé à l'abri de la lumière et de l'humidité.

Chapitre 2 : Matériel et Méthodes

2.1.2. Matériel animal :

- Pour l'évaluation de l'activité anti-hyperglycémiant nous avons choisi 15 rats femelles de souche Wistar albinos pesant entre 150 à 185g elles sont élevées au niveau de l'animalerie de centre de recherche et de développement (C.R.D) de SAIDAL.

Les rats et les souris sont maintenus à une température ambiante (20à 25°C) photopériode de 10 heures avec taux d'humidité de 50%, elles ont libre accès à l'eau et à la nourriture qui est un aliment de type granulés à base de maïs très énergétique provenant de l'O.N.A.B

- L'étude de l'activité anti-diabétique à été réalisée sur 24 rats femelles de souche Wistar albinos pesant entre 160 à 180g. Ces animaux ont été ramenés de l'Institut Pasteur (Centre d'élevage, Kouba, Alger), une fois arrivés au laboratoire de physiologie de l'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire (ENSV-El Harach Alger-), les rats ont été placés aléatoirement dans des cages en plastique ayant un couvercle en acier inoxydable, une épaisse couche de sciure de bois est déposée au fond des cages, renouvelée chaque jour.

Les animaux ont libre accès à l'eau et à la nourriture qui se compose de croquettes fournies par l'Office National des Animaux du Bétail (ONAB) de Bouzaréat, Alger.

Avant leur utilisation, les rats subissent une période d'acclimatation d'une semaine dans des conditions constantes et bien contrôlées de température (22 ± 2) °C et du rythme nyctéméral de 12h/12h). Les différentes expériences ont toujours lieu le matin.

- Pour l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire nous avons choisi 18 souris femelles de souche Wistar albinos pesant entre 20 à 25g elles sont élevées au niveau de l'animalerie de centre de recherche et de développement (C.R.D) de SAIDAL.

2.2. Matériel non biologique :

La liste du matériel non biologique est située en Annexe I.

2.3. Etude phytochimique :

2.3.1. Préparation de l'extrait aqueux :

20g de poudre sont laissés infusé pendant 15min dans 200ml d'eau distillée bouillante, l'infusé à été filtré et le volume est complété avec de l'eau distillée jusqu'à 200ml (**Bruneton, 1999**). (Voir Figure 2.1. ANNEXE II).

Chapitre 2 : Matériel et Méthodes

2.3.2. Révélation des composés chimiques:

Le but de ces analyses est de connaître la composition chimique des feuilles de la plante. Ces tests sont simples et rapides, réalisées avec l'utilisation des réactifs de caractérisation classique (Voir Figure 2.2. ANNEXE II).

-Révélation des anthocyanes :

Nous avons rajouté quelques gouttes d'HCl (acide chlorhydrique) à 5 ml d'infusé. La réaction a donnée une coloration rouge en présence d'Anthocyanes.

-Révélation des leuco-anthocyanes :

2 g de poudre végétale ont été introduit dans un Erlen Mayer contenant 20 ml d'un mélange de propanol/Acide chlorhydrique (1/1).le mélange est placé dans un bain marie contenant de l'eau bouillante pendant quelques minutes.une coloration rouge se développe en présence des leuco anthocyanes.

- Révélation des tanins :

A 5ml d'infusé on a rajouté quelques gouttes d'une solution de $FeCl_3$ à 2%. La réaction donne une coloration bleu-noire en présence des tanins.

-Tanins catéchétiques :

15 ml d'infusé sont additionnés à 7 ml de réactif de Stiansny, la réaction donne une coloration rouge en présence des tanins catéchétiques.

-Tanins galliques :

A 5 ml d'infusé on a rajouté 2 g d'acétate de sodium et quelques gouttes de $FeCl_3$, la réaction donne une coloration bleu foncé en présence des tanins galliques.

- Révélation des quinones libres:

2 g de poudre végétale humectés par 2 ml d'acide chlorhydrique 1N, sont mis en contact pendant 3 heures dans 20ml de chloroforme, après filtration, le filtrat est agité avec 5 ml d'ammoniaque (1/2) formation d'une coloration rouge en présence des quinones libres.

Chapitre 2 : Matériel et Méthodes

- Révélation des Saponosides :

On a introduit dans une fiole 5ml d'Hcl à 0.1N, et dans une autre 5ml de NaOH à 0.1N, puis on a rajouté dans chacune d'elle 2 à 3 gouttes d'infusé. La formation des mousses indique la présence des saponosides.

- Révélation des Alcaloïdes :

A 15 ml de l'infusé on a ajouté 5 ml du Hcl (1 N) et quelques gouttes du réactif de Dragendorff, puis chauffer au bain marie pendant quelques minutes.

La formation d'un précipité rouge orangé indique la présence des alcaloïdes

- Révélation des flavonoïdes :

A 5ml d'infusé on a additionné 5ml d'Hcl, un copeau de Mg et 1ml d'alcool iso amylique la réaction donne une coloration rouge orangé en présence des flavonoïdes.

- Révélation des coumarines :

On a fait bouillir à reflux 2g de poudre dans 20ml d'éthanol pendant 15min puis on filtre

A 5 ml de filtrat on a rajouté 10 gouttes de la solution alcoolique de KOH à 10% et quelques gouttes d'Hcl à 10%. La formation d'un trouble indique la présence des coumarines.

- Révélation des glucosides :

A 2g de poudre végétale on a rajouté quelques gouttes de H_2SO_4 .

La formation d'une couleur rouge brique ensuite violette indique la présence des glucosides.

- Révélation de l'amidon :

A 2g de poudre végétale on a rajouté quelques gouttes d'iode. La formation d'une coloration bleue violette indique la présence d'amidon.

2.4. Evaluation des activités biologiques :

2.4.1. Activité anti hyperglycémiant :

L'étude de l'activité anti hyperglycémiant est inspirée à partir des travaux de (Silva et al., 2002; N'Diaye et al., 2008) qui ont été fait sur des rats.

Chapitre 2 : Matériel et Méthodes

- **Préparation de l'extrait de la plante :**

Un infusé de 10% de feuilles de *Juglans regia* (10 g de poudre végétale dans 100ml d'eau distillée)

- **Préparation de surcharge de glucose :**

L'épreuve de l'hyperglycémie est réalisée par l'administration (par voie orale) de solution aqueuse de D⁺ glucose monohydrate pure (C₆H₁₂O₆H₂O) à 50% (50 g /100ml), à raison de 4 g de glucose/kg de poids d'animal.

- **Répartition des rats en lots :**

15 rats ont été repartis en trois lots de cinq rats après un jeun non hydrique de 16 heures.

Lot 01 : (lot témoin négatif) les rats ont reçu par voie orale uniquement 10ml/kg de poids corporel de l'eau physiologique, administré (90min) avant l'épreuve d'hyperglycémie (par voie orale).

Lot02 : (lot de référence) les rats de ce lot ont reçu 0.3mg/kg de Glibenclamide (Diabenil[®]) administré (90min) avant l'épreuve d'hyperglycémie provoquée par voie orale, afin de faire coïncider le moment d'activité maximale hyperglycémiant de la surcharge en glucose avec celui de l'activité maximum hypoglycémiant de Glibenclamide.

Lot03 : les rats de ce lot ont reçu l'extrait aqueux des feuilles de *juglans regia*L. à 10% à raison de 0.631 g/kg.

Le gavage des rats, est réalisé à l'aide d'une seringue en plastique équipée d'une sonde œsophagique (sonde gastrique) (voir Figure 2.3. ANNEXE II).

- **Déterminations de la glycémie :**

La détermination de la glycémie est faite à l'aide du glycomètre « **accu check** ». La goutte de sang ponctionnée est déposée sur la zone active d'une bandelette. La lecture de la glycémie se fait automatiquement après 10 secondes, les résultats sont exprimés en g/l.

Le prélèvement de sang se fait par ponction au niveau de la queue du rat, avant le gavage pour déterminer la glycémie de chaque rat, à T₀ puis à 30 min, 60 min, 90 min, 120 min, après le gavage de la surcharge de glucose (Voir figure 2.4. ANNEXE II).

Le pourcentage de diminution de la glycémie est calculé de la manière suivante :

$$\text{Pourcentage de diminution de la glycémie} = \frac{\text{glycémie témoin} - \text{glycémie test}}{\text{glycémie témoin}} \times 100.$$

Chapitre 2 : Matériel et Méthodes

- ❖ La répartition des lots de rats ainsi que la dose de traitement administrée par lot est représentée dans le tableau suivant :

Tableau 2.1. Répartition des rats en lots.

| N ^o lot | Nature de produit (Traitement) | Dose | Voie d'administration | Poids moyen (g) |
|--------------------|---|------------|--------------------------|--------------------|
| 01 | Eau physiologique | 10ml/kg | Voie orale (gavage) | 160.56± 3.26 |
| 02 | Glibenclamide (Diabencil [®]) | 0.3mg/kg | | 172.32 ± 11.42 |
| 03 | L'infusé de la poudre des feuilles de <i>Juglans regia.L</i> à 10% | 0.631g /kg | | 158.28 ± 9.47 |

2.4.2. Activité antidiabétique :

- **Induction du diabète sucré:**

Le diabète sucré est induit chez des rats maintenus à jeun pendant une nuit par une injection intra péritonéale unique d'une solution d'alloxane à raison de 150 mg/Kg. A cette dose l'alloxane déclenche un diabète par nécrose sélective des cellules bêta du pancréas donnant ainsi une déficience insulinique chronique (**Diatewa et al., 2004; Dhanabal et al., 2007**). Vue son instabilité en solution à la température ambiante (**Lenzen, 2008**) l'alloxane est administré immédiatement sous forme d'une solution physiologique (NaCl 0.9%) (Voir Figure 2.5.).

L'alloxane est capable d'induire une hypoglycémie fatale résultant d'une sécrétion pancréatique massive de l'insuline. Après son administration et pour prévenir son effet fatal, les rats reçoivent une solution glucosée à 5 % pendant 24 heures.

Après trois jours (72 heures), l'installation du diabète sucré est confirmée par l'analyse de la glycémie à jeun.

Chapitre 2 : Matériel et Méthodes

- **Répartition des rats par lots :**

24 rats ont été marqués par des traits au niveau de la queue, puis répartis en quatre lots homogènes de six rats chacun de manière à ce que les rats du même lot soient de poids rapproché : (Voir Figure 2.6.).

Lot témoin : rats gavés avec 2 ml de l'eau physiologique à 0.9%.

Lot référence : Rats gavés avec 2 ml de metformine à la dose de 850 mg /kg correspondant à 1 comprimé de Glucophage qui a été dilué dans de l'eau physiologique à 85 ml.

Lot E1 : Rats gavés avec 2 ml d'extrait brut à 15% correspondant à 0.870g de poudre par kg de poids corporel qui a été repris dans de l'eau physiologique.

Lot E2 : Rats gavés avec 2 ml d'extrait brut à 20% correspondant à 1.153g de poudre par kg de poids corporel qui a été repris dans de l'eau physiologique.

Les préparations (l'extrait végétal, Glibenclamide et l'eau physiologique) ont été administrées oralement à l'aide d'une sonde de gavage aux rats des six lots une seule fois par jour pendant 15 jours.

L'évolution des différents paramètres sériques a été contrôlée de manière hebdomadaire, quant au poids il se faisait quotidiennement.

- **Suivi du poids corporel des rats :**

Le poids corporel et la croissance des rats sont suivis, de façon régulière et quotidienne (Voir figure 2.7. ANNEXE II) Le poids est mesuré à l'aide d'une balance Scaltec SBA 52 en gramme (g) et le taux de croissance des rats par rapport du premier jour est exprimé en pourcentage et calculé selon la formule suivante :

$$\text{Taux de croissance (\%)} = \frac{(P_j - P_{j0}) \times 100}{P_{j0}} \quad P_{j0} : \text{poids du 1}^{\text{er}} \text{ jour.}$$

- **Prélèvement sanguin :**

Le prélèvement sanguin se fait sur l'animal légèrement anesthésié par voie respiratoire (en utilisant de l'éther) par ponction dans le sinus rétro orbital au niveau de l'œil à l'aide d'un capillaire (voir Figure 2.8.).

Le sang est récupéré dans des tubes contenant un anticoagulant (Héparine à 0.1 %) et centrifugé à 3000 tours/mn pendant 10mn à l'aide d'une centrifugeuse type SIGMA (voir Figure 2.9.).

Chapitre 2 : Matériel et Méthodes

Après la centrifugation du sang, le sérum obtenu est conservé dans des tubes eppendorf à une température de -4°C en vue de l'analyse des différents paramètres biochimiques [glycémie, triglycémie].

Ces prélèvements sont effectués, sur des rats à jeun (18 heures), une journée avant le début de l'expérimentation T0, (72 heures après l'injection de l'alloxane T alloxane) puis après chaque semaine de traitement (J7, J14) correspondent respectivement à la 1ère, 2ème semaine du traitement. (Voir Figure 2.8 et 2.9.).

- **Dosage des paramètres biochimiques du sang :**

Le dosage des paramètres biochimiques a été réalisé au niveau du laboratoire de biochimie médicale de l'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire ESNV d'El Harrach, Alger selon les fiches techniques spécifiques à chaque paramètre et à l'aide d'un spectrophotomètre de type WPA LIGHT WAVES. (Voir figure 2.10. ANNEXE II).

Dosage du glucose :

Le glucose est phosphorylé par l'hexokinase (HK) en présence d'ATP et d'ion de magnésium, produisant ainsi du glucose-6-phosphate (G-6-P) et de l'ADP. La glucose-6-phosphate deshydrogénase (G-6-PDH) oxyde en particulier le G-6-P en 6-phosphogluconate avec réduction simultanée du NAD en NADH.



Une micromole de NADH est produite pour chaque micromole de glucose consommée.

L'absorbance due au NADH (et donc, à la concentration du glucose) est déterminée grâce à une spectrophotométrie uv /visible (340 et 383 nm).

Dosage des triglycérides.

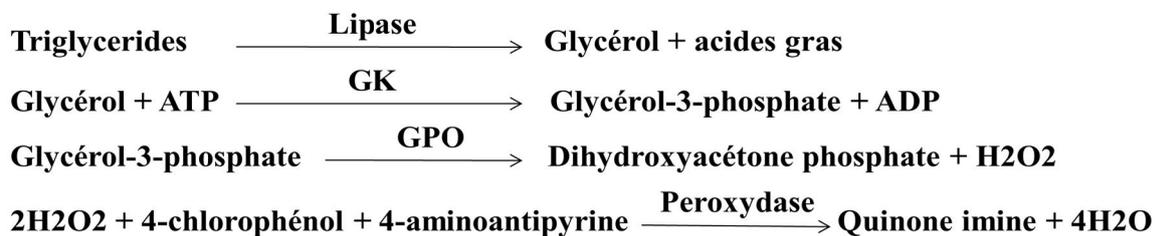
Le dosage des triglycérides a été effectué suivant une méthode colorimétrique enzymatique des triglycérides appelée méthode TGL.

La méthode repose sur le dosage enzymatique du Glycérol libre après action de la lipase. Les triglycérides sont hydrolysés enzymatiquement par la lipase afin de libérer les acides gras et le glycérol. Le Glycérol est phosphorylé par l'ATP et le Glycérol kinase (GK) pour produire du Glycérol-3-phosphate et de l'adénosine diphosphate (ADP). Le

Glycérol-3-phosphate est oxydé en Dihydroxyacétone phosphate (DAP) par le Glycérol

Chapitre 2 : Matériel et Méthodes

Phosphate Oxydase (GPO) en produisant du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂). Lors d'une réaction colorée catalysée par la peroxydase, le H₂O₂ réagit avec le 4-aminoantipyrine (4-AAP) et le 4-chlorophénol (4-CP) pour produire un colorant rouge.



L'intensité de la coloration de la quinone imine mesurée à 500 nm est directement proportionnelle à la quantité des triglycérides dans l'échantillon du sérum.

2.4.3. Etude anatomopathologique :

Des coupes anatomopathologiques ont été réalisées selon la technique de **Houlot (1984)**, sur les pancréas des rats prélevés après le sacrifice qui a été effectué par une asphyxie respiratoire par l'éther de pétrole. Les coupes sont réalisées avec un microtome (Leica) permettant d'obtenir des sections de 3 à 5 µm d'épaisseur. L'observation a été réalisée aux grossissements x5, x10 et x40. Des photos ont été prises pour qualifier la forme des îlots de Langerhans entre les différents lots et voir l'influence de l'extrait de la plante sur la régénération des tissus pancréatiques.

- **Etapes de la technique de coloration « Trichrome de Masson »**

➤ **Fixation :**

- La fixation a pour but la conservation des structures et le durcissement des pièces. Elle a été faite immédiatement après le prélèvement, par immersion du matériel dans le liquide de BOUIN.

➤ **Déshydratation et Eclaircissement :**

- La déshydratation a pour but de faire sortir l'eau contenue dans les tissus pour les préparer à l'inclusion. On a réalisé plusieurs bains contenant par ordre :

| Réactifs | Temps |
|-------------|--------|
| Ethanol 60% | 45 min |
| Ethanol 70% | 45min |
| Ethanol 90% | 45min |

Chapitre 2 : Matériel et Méthodes

| | |
|--------------|-------|
| Ethanol 95% | 45min |
| Toluène 100% | 1h |
| Toluène 100% | 1 h |
| Paraffine | 12 h |

- L'inclusion dans la paraffine nécessite au préalable la déshydratation des pièces histologiques (bains successifs d'éthanol de degrés croissants, jusqu'à l'absolu).
- L'élimination complète des traces d'éthanol et l'imprégnation par le xylène.
- L'élimination de xylène et le remplacement par la paraffine. Les pièces sont placées successivement dans un bain, d'une durée de deux heures à une température de 50°C.

➤ L'inclusion :

- L'inclusion a pour but de permettre la réalisation de coupes histologiques fines et régulières.
- Le milieu d'inclusion le plus utilisé est la paraffine. Le paraplast (Leica Microsystems) est une paraffine synthétique qui imprègne bien les pièces.
- Régler la température du bain de paraffine en fonction de ce point de fusion (45-70°C).
- L'inclusion se fera dans des moules permettant les confections de blocs qui se montent sur le microtome.

➤ Réalisation des coupes au microtome :

- Les coupes du bloc de paraffine sont réalisées avec un microtome (Leica RM 212SRTS) permettant d'obtenir des sections de 3 à 5 µm d'épaisseur.
- Les rubans obtenus sont étalés sur les lames et mises à sécher 1h à 60°C.

➤ Coloration :

Les différentes étapes de la coloration de Trichrome de Masson sont:

- Déparaffinage (Toluène).
- Hydratation(Ethanol).
- Coloration.
- Déshydratation (Ethanol).
- Eclaircissement (Toluène).

La coloration utilisée comprend les bains suivants :

Chapitre 2 : Matériel et Méthodes

| | Durée (minute) |
|-----------------------|----------------------------|
| Toluène | 5 |
| Toluène | 7 |
| Alcool (éthanol 100%) | 1 agitation |
| Alcool (éthanol 90%) | 1 agitation |
| Alcool (éthanol 70%) | 1 agitation |
| Eau distillé | 3 |
| Hématine | 45 secondes |
| Eau courante | 3 |
| Ponceau | 3 |
| Eau acidifiée | 3 |
| Orange G-Acide | 3 |
| phosphomolybdique | |
| Eau acidifiée | 3 |
| Bleu d'aniline | 40 secondes |
| Eau courante | 10 secondes |
| Alcool (éthanol 70%) | 30 Sec agitations |
| Alcool (éthanol 90%) | 30 Sec |
| Alcool (éthanol 100%) | agitations 2 agitations |
| Toluène | 5 |
| Toluène | 5 |

- Les coupes étant colorées, il faut les protéger contre la dégradation chimique des colorants qui s'oxydent facilement à l'air libre. Cette protection est assurée par une lamelle de verre qu'on colle sur la coupe à l'aide d'une substance appropriée (Eukitt) au colorant utilisé.
- L'observation et l'interprétation ont été réalisées à l'aide d'un microscope optique (MO) à différents grossissement ($G \times 5$, $G \times 10$, et $G \times 40$).
- La prise des photos est réalisée par un appareil photo numérique.

Chapitre 2 : Matériel et Méthodes

2.4.4. Activité anti-inflammatoire :

La mise en évidence de l'effet anti inflammatoire a été réalisée selon la méthode de **Levy, (1969)**. L'injection de la carragénine sous l'aponévrose plantaire de la patte de souris provoque une réaction inflammatoire qui peut être réduite par un produit anti inflammatoire. Pour comparer la réaction de l'œdème plantaire, l'effet anti-inflammatoire de l'extrait aqueux des feuilles de la plante a été comparé avec celui d'un médicament de référence, le Déclofenac.

Mode opératoire:

- **Préparation des souris à l'inflammation :**

Après une mise à jeun pendant 18 heures nous avons constitué trois lots de six (6) souris chacun.

Lot témoin (T) : Composé de six (6) souris ou chaque souris reçoit par gavage gastrique un volume de 0.5ml d'eau distillée.

Lot de référence (R) : Composé de six (6) souris ou chaque souris reçoit par gavage gastrique un volume de 0.5ml de Déclofenac à la dose de 500 mg/kg.

Lot d'essai (E) :

Composé de six (6) souris ou chaque souris reçoit par gavage gastrique un volume de 0.5ml de l'extrait aqueux des feuilles de *juglans regia* à la dose de 675mg/kg.

Une demi-heure après l'administration de traitement, nous avons injecté 0.025ml de carragénine à 1% dans l'eau physiologique aux différents lots de souris.

Après quatre heures de l'injection de carragénine ; nous avons sacrifié toutes les souris à l'aide de chloroforme (voir Figure 2.11. ANNEXE II).les pattes postérieures ont été coupées a hauteur de l'articulation par une lame de Bistouri puis pesées sur une balance analytique.

- **Taux de réduction d'œdème en % :**

Selon **Levey, (1969)**. Cité par **Berkan et al. (1991)**, le calcul du pourcentage de l'augmentation ou de l'œdème se fait selon la formule suivante :

$$\% \text{ œdème} = \frac{\text{moyenne des poids de la patte gauche} - \text{moyenne des poids de la patte droite}}{\text{moyenne des poids de la patte droite}} \times 100.$$

- **Pourcentage de réduction de l'œdème en % :**

Le pourcentage de réduction de l'œdème chez les souris traitées par rapport aux témoins se fait par la formule suivante :

Chapitre 2 : Matériel et Méthodes

$$\% \text{ œdème} = \frac{\% \text{ de l'œdème témoin} - \% \text{ de l'œdème essai}}{\% \text{ œdème témoin}} \times 100.$$

2.5. Etude statistique des données :

Les résultats statistiques obtenus sont exprimés en moyenne \pm écart type. L'étude statistique a été réalisée à l'aide du logiciel Statistica (version 8.0, Stat Soft Inc., 2007). La signification statistique a été déterminée au moyen du test d'analyse de variance à sens unique (ANOVA) suivi par le test *post-hoc* de Tukey pour comparaison par paires.

La valeur trouvée peut affirmer que les populations sont différentes avec un risque d'erreur p tel que :

- $p > 0,05$ = la différence n'est pas significative.
- $0,05 > p > 0,01$ = la différence est significative.
- $0,05 > p > 0,001$ = la différence est hautement significative.
- $p < 0,001$ = la différence est très hautement significative.

Chapitre 3 : Résultats et Discussion

3.1. Résultats de l'étude phytochimique :

Les résultats de l'analyse phytochimique sont représentés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 3.1. Résultats de screening phytochimique.

| Métabolites secondaires | Résultats des réactions | Observation |
|-------------------------|-------------------------|----------------------------|
| Anthocyanes | - | Coloration bleu |
| Leuco anthocyanes | - | Pas de coloration rouge |
| Tanins | +++ | Coloration bleu noir |
| Tanins catéchétiques | +++ | Coloration rouge |
| Tanins galliques | +++ | Coloration bleu foncée |
| Alcaloïdes | ++ | Précipité rouge |
| Flavonoïdes | +++ | Coloration rouge orangé |
| Saponosides | ++ | Précipité blanc |
| Quinones libres | ++ | Coloration rouge |
| Coumarines | ++ | Formation d'un trouble |
| Amidon | - | Pas de coloration violette |
| Glucosides | - | Pas de coloration rouge |

Le signe « + » traduit la présence du groupe de composés chimiques en quantité supérieur au seuil de détection, le signe «-» design une réaction négative.

Les tests phytochimiques réalisés sur l'infusé de la plante a révélé la présence de plusieurs familles des composés chimiques.

Les tanins existent a des fortes teneurs parmi ces derniers on note les tanins catéchitiques et galliques (réaction très positive)

Nous soulignons la richesse de la plante en flavonoïdes, cependant les alcaloïdes, les Saponosides, les quinones libres et des coumarines existent à des teneurs moyennes.

Alors que les leu-anthocyanes, les anthocyanes, l'amidon et les glucosides ne sont pas présentent (réaction négative) dans notre échantillon.

Nos résultats en matière de richesse en tanins et en flavonoïdes sont concordent avec celles de **Chrazanowski et al. (2011)**, réalisées sur les feuilles de la même espèce. Cependant les travaux de (**Qureshi et al., 2014; Hao et al., 2015**) soulignent la présence des coumarines à des fortes teneures dans les échantillons de feuilles de la même espèce.

Chapitre 3 : Résultats et Discussion

Les flavonoïdes, les coumarines et les tanins sont des composés phénoliques. Ces métabolites secondaires sont très intéressants de point de vue botanique et pharmaceutique (**Zheng et al., 2001**). Ils sont doués d'un pouvoir antioxydant, antimicrobien et représentent une bonne alternative aux antibiotiques et aux conservant chimiques (**Ernandez et al., 1996**)

Les flavonoïdes ont également des propriétés cliniques intéressantes telles que Anti-inflammatoires, antiallergiques, antivirales, anti-diabétique, antibactériennes et anti tumorales (**Middleton, 1998; Prasenjit et al., 2009**).

3.2. Résultats de l'activité anti hyperglycémiant :

Les résultats de l'épreuve de l'hyperglycémie provoquée par voie orale sont rassemblés dans le tableau et la figure ci-dessous.

Tableau 3.2. Valeurs moyennes de glycémie (g/l) et pourcentages de diminution chez les rats de différents lots.

| | T-90min | T0 | T30min | | T60 min | | T90 min | | T120 min | |
|-----------|----------------|----------------|----------------|--------|----------------|--------|----------------|---------|----------------|--------|
| | Glycémie (g/l) | Glycémie (g/l) | Glycémie (g/l) | % de d | Glycémie (g/l) | % de d | Glycémie (g/l) | % de dé | Glycémie (g/l) | % de d |
| Témoin | 0.79±0.02 | 0.73±0.03 | 1.49±0.07 | / | 1.30±0.07 | / | 1.36±0.10 | / | 1.19±0.14 | / |
| Référence | 0.75±0.09 | 0.73±0.33 | 1.44±0.14 | 3.35 | 1.26±0.19 | 3.07 | 1.06±0.15 | 22.05 | 0.77±0.07 | 35.29 |
| D | 0.66±0.08 | 0.63±0.16 | 1.50±0.32 | -0.67 | 1.48±0.14 | -13.8 | 1.08±0.10 | 20.58 | 0.90±0.10 | 24.36 |

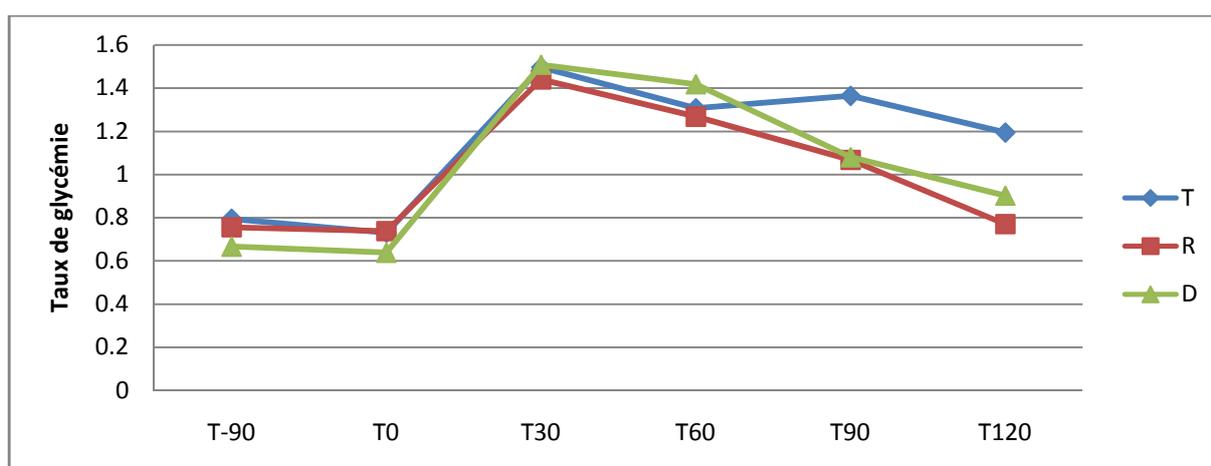


Figure 3.1. Evolution de la glycémie chez les rats en hyperglycémie temporaire.

Chapitre 3 : Résultats et Discussion

Lot témoin :

L'administration de 4g de glucose entraîne en 30 min une augmentation importante de la glycémie jusqu'à 1.49 g/l, ensuite la glycémie diminue progressivement dès la 60^{ème} min pour atteindre un taux de 1.19 g/l à la 120^{ème} min.

Lot de référence:

L'administration de glibenclamide a révélé une diminution considérable de la glycémie qui atteint le taux normale de 1.06 g/l à la 90^{ème}, cette diminution se poursuit au cour du temps pour atteindre un taux de 0.77g/l à la 120^{ème} min avec un pourcentage de diminution très important de 35.29% par rapport au lot témoin.

L'effet hypoglycémiant de glibenclamide® se manifeste en stimulant principalement la sécrétion de l'insuline (Ying et al ., 2008).

Lot traité par l'extrait de la plante :

Après une charge en glucose, la glycémie atteint un seuil maximal dans 30 à 60 min de 1.50g/l .une diminution significative de la glycémie ($P < 0.01$) a été constaté à partir de la 90^{ème} min, pour atteindre la limite 0.90 g/l après 120 min.

La diminution de taux de la glycémie enregistré chez les individus de ce lot peut être expliquée soit par une stimulation de la sécrétion de l'insuline, soit par une favorisation de l'utilisation périphérique de glucose, soit par une stimulation de la lipogenèse

Le traitement préalable des rats par le glibenclamide® induit une sécrétion précoce et prolongé d'insuline ce qui prévient l'hyperglycémie et induit une hypoglycémie chez ces rats (effet secondaire de glibenclamide®) (Pacaud, 1995).

La dose de l'extrait aqueux des feuilles a une activité anti hyperglycémiante semblable a celle de la glibenclamide® néanmoins cette activité ne s'est manifestée qu'un après 120 min.

Il se peut que cette action soit indépendante du pancréas (action extra pancréatique périphérique) comme elle peut être attribuée à l'amélioration ou la stimulation de la sécrétion d'insuline mais qu'il est tardive (apparition du pic plus ou moins remarquable) et non prolongé (pas d'hypoglycémie).

Des études avaient rapporté auparavant un effet hypoglycémiant de composés de type flavonoïde sur différents modèles d'étude du diabète, montrant par exemple un effet hypoglycémiant significatif d'un flavonol dérivé de fleurs d'*Hibiscus vitifolius* L. sur un test de tolérance au glucose (Ragunathan et Sulochana, 1994).

La présence de l'effet anti-hyperglycémiant est due peut être à la présence à la fois de composés de types flavonoïde et alcaloïde qui agissant probablement de façon synergique.

(Guata Yoro et al., 2008).

Chapitre 3 : Résultats et Discussion

3.3. Résultats de l'activité antidiabétique :

3.3.1. Evaluation du poids corporel:

La variation du poids des rats constitue un paramètre très important. Le suivi régulier des animaux nous a amené à obtenir les valeurs relatives notées au tableau et figure ci-dessous.

Tableau 3. 3. Evolution du poids corporel (g) des rats diabétiques traités et témoin durant les deux semaines de l'étude.

| | T0 | Alloxane | | 1 ^{er} semaine | | 2 ^{eme} semaine | |
|----|-------------|-------------|--------|-------------------------|--------|--------------------------|--------|
| | Poids (g) | Poids (g) | TC% | Poids (g) | TC % | Poids (g) | TC % |
| T | 169.88±2.20 | 153.82±4.74 | -9.45 | 151.74±8.24 | -10.67 | 147.74±7.08 | -13.02 |
| R | 174.81±1.98 | 159.60±4.05 | -8.70 | 153.98±12.39 | -11.91 | 161.51±15.94 | -7.60 |
| D1 | 168.7±2.20 | 149.19±6.69 | -11.56 | 138.62±9.00 | -17.83 | 145.56±5.55 | -13.71 |
| D2 | 173.31±6.41 | 158.43±7.23 | -8.58 | 153.36±5.78 | -11.51 | 161.23±7.77 | -6.97 |

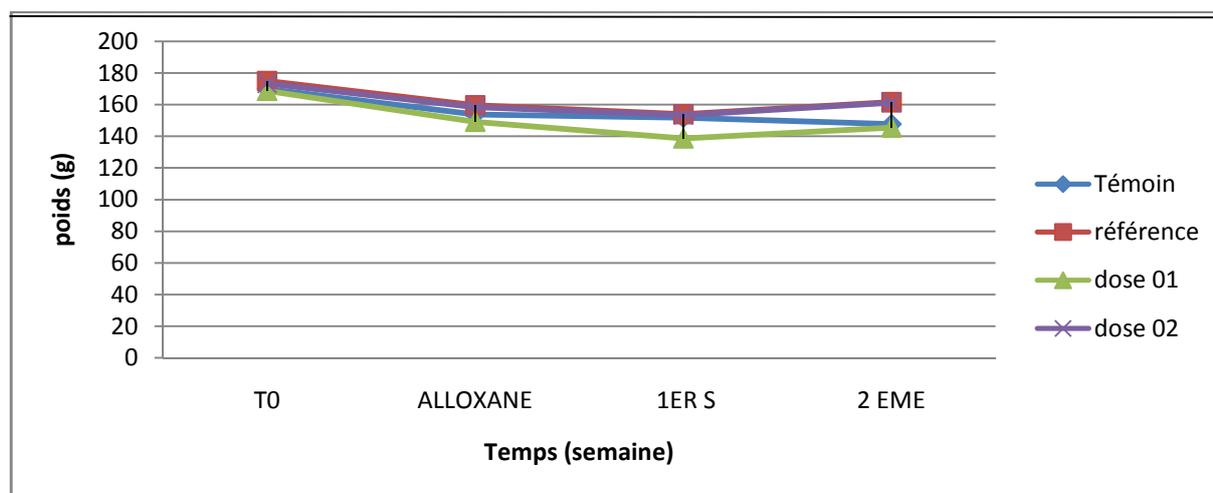


Figure 3.2. Evolution du poids (g) des rats diabétiques traités et témoin durant les deux semaines de l'étude.

Après 72 heures de l'injection de l'alloxane nos résultats montrent une perte de poids corporel chez les quatre groupes des rats diabétiques (témoins et traités) dont aucune différence significative a été signalée ($p > 0,05$), cette perte est sévère et durable chez les rats diabétiques témoins ou on note une diminution de l'ordre 9.45% de PC après induction du diabète, 10.67% à la première semaine, 13.02% à la deuxième semaine de l'expérience. Par ailleurs cette perte est suivie d'une ré-augmentation dès la deuxième semaine de

Chapitre 3 : Résultats et Discussion

traitement chez les rats traités par le glucophage et les rats traités par les deux doses de l'extrait de la plante d'où il n'existe pas une différence significative ($p > 0,05$) entre ces derniers.

La diminution de poids corporels dont le diabète sucré est généralement attribuer à la stimulation de la gluconéogenèse. En effet l'accélération de catabolisme des protéines et des graisses, entraînent une perte caractéristique de poids corporel après à une augmentation de l'atrophie musculaire et de la perte de protéines tissulaires (Daisy et al., 2012).

Nos résultats sont en accord avec ceux obtenus par Auroba et al. (2010), qui souligne la perte de poids corporel chez les rats rendu diabétique par l'alloxane.

L'administration orale de l'extrait aqueux des feuilles aux deux doses et du glucophage® à rétablie un gain de poids. L'extrait de la plante n'a présenté aucun trouble dans la croissance avec une l'augmentation continuer du poids corporel dans le temps.

Sa capacité à maintenir constant le poids des rats pourrait être due qu'à son activité antidiabétique (régulation de la glycémie) qui conduit à une bonne croissance des rats. Cette même corrélation à été établie par Vetrichelvan et al. (2002) pour expliqué le maintien de la croissance normale des rats diabétiques traités par l'extrait aqueux de *Aera lanata* .

D'autre plantes connues par leur activité antidiabétiques telles que *ficus bengalensis* et *trigonelle foenum greacum* induisent également un gain du poids corporel (Sheeja et al., 1995; solomon et al., 1999).

3.3.2. Evaluation de taux de glycémie :

Les variations du taux de glycémie aux différents groupes des rats durant les semaines de l'étude sont données dans le tableau et la figure ci-dessous.

Tableau 3.4. Évolution de la glycémie (g/l) des rats durant les semaines de l'étude.

| | T0 | Alloxane | 1 ^{er} semaine | | 2 ^{eme} semaine | |
|----|----------------|----------------|-------------------------|--------|--------------------------|--------|
| | Glycémie (g/l) | Glycémie (g/l) | Glycémie (g/l) | % de d | Glycémie (g/l) | % de d |
| T | 1.0588±0.16 | 2.1194±0.46 | 1.3318±0.33 | / | 1.3462±0.16 | / |
| R | 1.044±0.14 | 1.610± 0.32 | 1.1075±0.24 | 17 | 0.8223±0.19 | 39 |
| D1 | 0.8933±0.08 | 2.6428 ± 0.97 | 1.5495±0.15 | -16 | 0.8765±0.18 | 35 |
| D2 | 1.0206±0.18 | 2.4865 ±1.35 | 1.192 ±0.21 | 10.5 | 0.8603 ± 0.14 | 36 |

Chapitre 3 : Résultats et Discussion

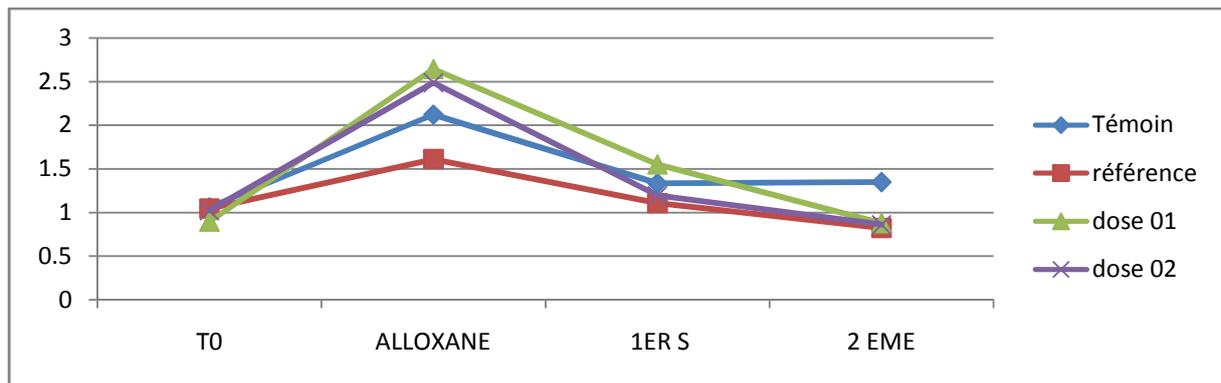


Figure 3.3. Evolution de la glycémie (g/l) des rats durant les semaines de l'étude.

À T0 aucune différence significative dans le taux de la glycémie n'a été observée chez les rats de différentes lots ($p > 0,05$).

Après 72 heures de l'injection de l'alloxane, les résultats ont montré une augmentation significative de la glycémie passant de 1.0588 ± 0.16 à 2.119 ± 0.46 de 1.044 ± 0.14 à 1.610 ± 0.32 , de 0.8933 ± 0.08 à 2.6428 ± 0.97 , de 1.0206 ± 0.18 à 2.4865 ± 1.35 chez les rats diabétiques témoins, les rats de référence (traités par le glucophage®) et les rats traité par l'extrait aqueux à la dose 1 et 2 respectivement.

A la première semaine une diminution de taux de glycémie a été constatée chez tous les lots, la diminution de la glycémie montre des différences significatives ($p < 0.05$) entre le lot traité par la dose (D1) et celui du lot de référence, cependant aucune différence significative n'a été constaté entre le lot traité par l'extrait de la plante à la dose (D2) et celui du lot de référence.

A partir de la 2^{eme} semaine on constate une différence Très Hautement Significative ($p < 0.001$) entre les lots traité avec la dose (D1) et la dose (D2) et celui de Référence en les comparant avec le Témoin.

Les doses D1 et D2 engendrent une baisse non significative ($p > 0.05$) de la glycémie de 35% et 36% respectivement et comparativement avec celui constaté chez le lot de référence 39% ; L'administration de l'alloxane monohydrate, à la dose de 150 mg/kg entraine une destruction sélective des cellules β des ilots de langerhans ce qui conduit à une hyperglycémie permanente (Etuk, 2010).

Pour induire un diabète alloxanique, la dose d'alloxane doit être comprise entre 35 et 250 mg/kg (Mbodj, 2003 ; Etuk, 2010 ; Bouhouche, 2014).

Chapitre 3 : Résultats et Discussion

L'alloxane est un analogue du glucose qui s'accumule préférentiellement dans les cellules β pancréatiques par l'intermédiaire du transporteur GLUT2, son action diabétogène est due à sa capacité de détruire les cellules β pancréatiques (**Pinheiro et al., 2011**).

Selon **Lenzen, (2008)** le mécanisme d'action d'alloxane passe par une phase hypoglycémique qui se produit typiquement 4-8 heures après son injection et dure plusieurs heures. Elle peut être grave, et peut même être mortelle en l'absence de l'administration du glucose.

La phase hypoglycémique est suivie par une phase d'hyperglycémie diabétique permanente (de 12 à 72 heures après injection de l'alloxane). Caractérisée au niveau cellulaire par une dégranulation complète et la perte de l'intégrité des cellules β .

L'hyperglycémie révélée chez nos animaux a été également rapporté par **Karthik et al. (2014)** et **Kumar et al. (2014)**, qui précisent que l'alloxane provoque une réduction massive de la libération d'insuline par la destruction des cellules β des îlots de Langerhans, induisant ainsi l'hyperglycémie.

L'activité hypoglycémisante des feuilles de la plante a déjà prouvée dans des études précédentes (**Fathiazad et al., 2006**). Une étude récente effectuée par **Teimori et al. (2010)**, sur l'extrait méthanolique des feuilles de la même plante sur des rats rendus diabétiques a montré la capacité de réduire le taux de la glycémie sanguin dont le pourcentage de diminution atteint 27% à la 2^{ème} semaine de l'expérience.

L'effet hypoglycémique de l'extrait aqueux de feuille de *Juglans regia* L est probablement dû aux flavonoïdes, tels que la quercétine et le kaempferol (**Abdelmoaty et al., 2010**).

Ces derniers exercent un effet sur les cellules pancréatiques (synthèse, stimulation, régénération de cellules) ou l'augmentation de l'effet protecteur contre l'enzyme d'insulinase. Ces composés peuvent agir soit sur:

L'augmentation d'utilisation périphérique de glucose

l'augmentation de la synthèse du glycogène hépatique et la diminution du glycogénolyse, l'inhibition de l'absorption intestinale de glucose et la réduction d'index glycémique des hydrates de carbone (**Bnouham et al., 2000**).

3.3.3. Evaluation de taux de triglycéridémie :

Les résultats de la triglycéridémie sont représentés dans le tableau et la figure ci-dessous pour les détails voir Annexe

Chapitre 3 : Résultats et Discussion

Tableau 3.5. Variation de concentration sérique de triglycérides chez les rats témoins et traités.

| | Alloxane | 1 ^{er} semaine | | 2 ^{eme} semaine | |
|----|---------------------|-------------------------|--------|--------------------------|--------|
| | Triglycérides (g/l) | Triglycérides (g/l) | % de d | Triglycérides (g/l) | % de d |
| T | 0.9938±0.48 | 1.0358±0.39 | / | 1.1366±0.94 | / |
| R | 1.193±1.13 | 1.115±0.69 | -7 | 0.944 ±0.58 | 17 |
| D1 | 1.2355±1.12 | 0.8405±0.50 | 19 | 0.904±0.41 | 20 |
| D2 | 1.686 ±1.07 | 1.478 ±0.61 | -42 | 0.906 ± 0.49 | 21 |

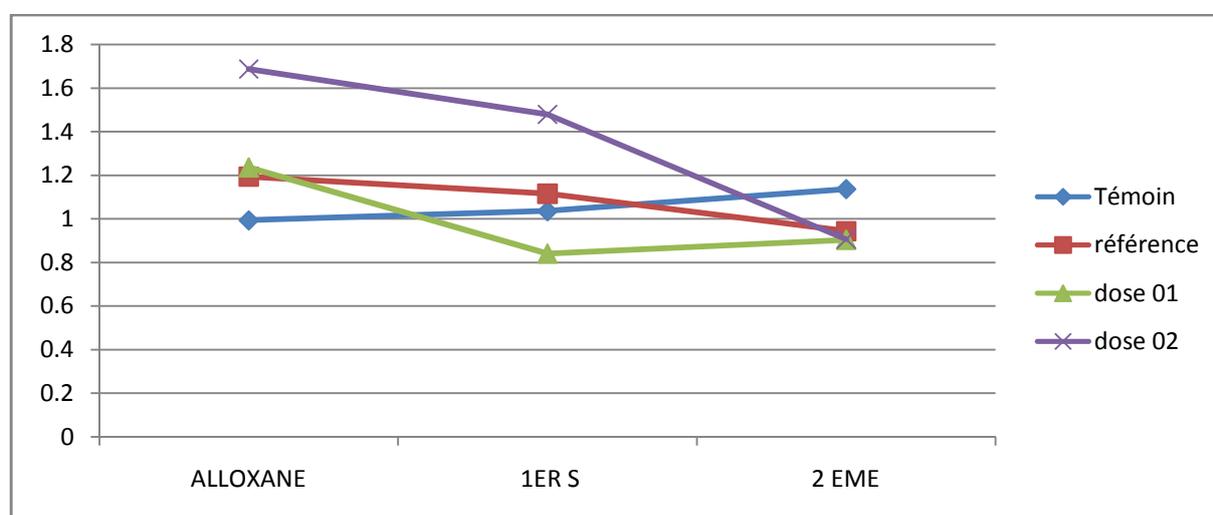


Figure 3.4. Variation de concentration sérique de triglycérides chez les rats témoins et traités.

La concentration plasmatique de triglycérides a été élevée après induction du diabète, elle atteint 0.9938 ± 0.48 , 1.193 ± 1.13 , 1.2355 ± 1.12 , 1.686 ± 1.07 chez les lots témoin, référence, dose 1 et dose 2 respectivement. L'administration de l'extrait aqueux de la plante et le glucophage ont favorisé la diminution du taux des triglycérides sériques. Nos résultats ont montré qu'il n'existe pas une différence significative entre le glucophage® et l'extrait aqueux de la plante aux deux doses à la deuxième semaine de traitement ($p > 0,05$) par contre la différence est significative par rapport au témoin.

Nos résultats montrent qu'il y a eu un déclin très significatif dans le taux de triglycérides sériques chez les rats de lot traité par l'extrait de la plante à la dose de (870 mg/kg) à la première semaine par contre chez le lot traité par la dose 2 (1153 mg/kg) la diminution significative de taux de triglycérides sériques est observé qu'au niveau de la deuxième

Chapitre 3 : Résultats et Discussion

semaine. L'effet de l'extrait aqueux de la plante sur le taux des triglycérides ne dépend pas de la dose mais dépend du temps ce qui correspond aux travaux de **Mirbadalzadeh et Shirdel (2010)**, sur la même espèce.

l'alloxane provoque une augmentation significative de taux des triglycérides dans le sang (**Maqsood et al., 2008; Negras et al., 2013**).

Asad et ses collaborateurs (**2011**), ont montré des changements importants dans le métabolisme des lipides notamment dans le sérum des diabétiques, et suggèrent que l'augmentation des triglycérides et du cholestérol total chez les rats diabétiques par STZ, peuvent être induits par un manque d'insuline.

La carence en insuline et l'insulinorésistance peut être responsable d'une hyperlipidémie, l'insuline a une action inhibitrice sur l'enzyme clé dans la biosynthèse du cholestérol (**Azzi, 2013**). il facilite le stockage des acides gras en triglycérides dans le tissu adipeux et diminue la mobilisation de ceux-ci par inhibition de la lipolyse en inhibant la lipase hormonosensible (**Ladouri et Harkouk, 2012**).

L'augmentation de taux de triglycérides sériques constatés chez le lot témoin est en accord avec les résultats souligné par **Schkadae et Routes (1996); djedioui (2010)**, cette augmentation peut être expliquée par la dégradation des composés lipidiques des tissus adipeux due à une forte activité enzymatique de lipase en présence du glucagon.

Haribabu et al.(2013), ont indiqué que le glucagon, les catécholamines et d'autres hormones accélèrent la lipolyse responsable de l'hyperlipidémie marquée qui caractérise l'état diabétique.

La diminution de taux de triglycérides chez le lot traité par le glucophage® est expliqué par sa capacité à diminuer l'insulinorésistance (**Slama, 2000**).

La diminution de taux de triglycérides chez les lots des rats traité par l'extrait aqueux des feuilles de *juglans regia* L. aux doses de (780mg/kg) et (1153mg/ kg) est en accord avec ceux obtenus par **Hosseini et al. (2014)**, qui confirment l'effet hypolipidémique de l'extrait éthanolique des feuilles de cette plante sur des patients diabétiques. Ces derniers n'ont montrés aucun effet secondaires.

Egalement, des études expérimentales abordées par **Mohammadi et al.(2011)**, montrent qu'un traitement avec l'extrait de *juglans regia* L. chez des animaux d'expérience a eu comme conséquence une diminution significative en glucose sanguin, en LDL, en triglycérides et en cholestérol et une croissance significative dans les niveaux de l'insuline et HDL.

Chapitre 3 : Résultats et Discussion

L'effet de hypotriglycéridémie de l'extrait aqueux des feuilles de *juglans regia* L. est probablement dû à son activité cholérétique, qui réduit la synthèse de cholestérol par les hépatocytes ou en diminuant sa réabsorption partielle par l'intestin (Munazza et al., 2015).

3.4. Résultats de l'étude anatomopathologique :

Pour confirmer, à échelle cellulaire, l'activité antidiabétique de l'extrait aqueux de la plante dont le diabète est induit par l'injection intra péritonéal d'une dose unique de l'alloxane monohydrate de **150mg/kg**, nous avons réalisé des coupes histopathologiques au niveau des pancréas des rats de chaque lot, en les comparant avec le pancréas d'un rat sain non traité. Les observations, accomplies par microscopie photonique, sont rapportées dans les Figures ci dessous.

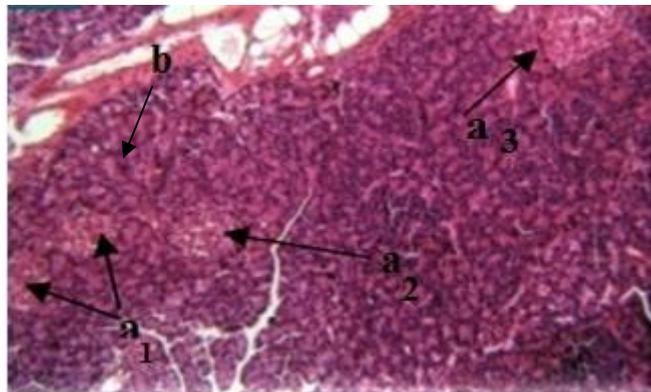


Figure 3.5. Tissu pancréatique du rat normal non traité,

a₁, a₂, a₃: îlots de langerhans ; **b** : acini.

L'observation des coupes histologiques des pancréas des rats témoins, a permis d'observer une structure normale de pancréas, ce qu'il est divisé en lobules par des cloisons de tissu conjonctif, les lobules sont composées en grande partie des cellules exocrines appelés acini

Au sein de tissu exocrine du pancréas, les îlots de Langerhans ont été intégrés, formant la composante endocrine du pancréas, les cellules des îlots ont une couleur plus claire, que les cellules des acini, les îlots sont de tailles différentes et de forme ronde, contiennent plusieurs types des cellules et sont richement vascularisées, les cellules sont des cellules de forme polygonales et avec des noyaux réguliers.

La majorité des cellules des îlots sont formées par les cellules β , qui sont responsables de la production d'insuline, l'épuisement des cellules β va donc se traduit par une carence en insuline qui conduit à un trouble de glucides, des protéines et de métabolisme des graisses par l'hyperglycémie résultante (Sanadhya et al., 2013).

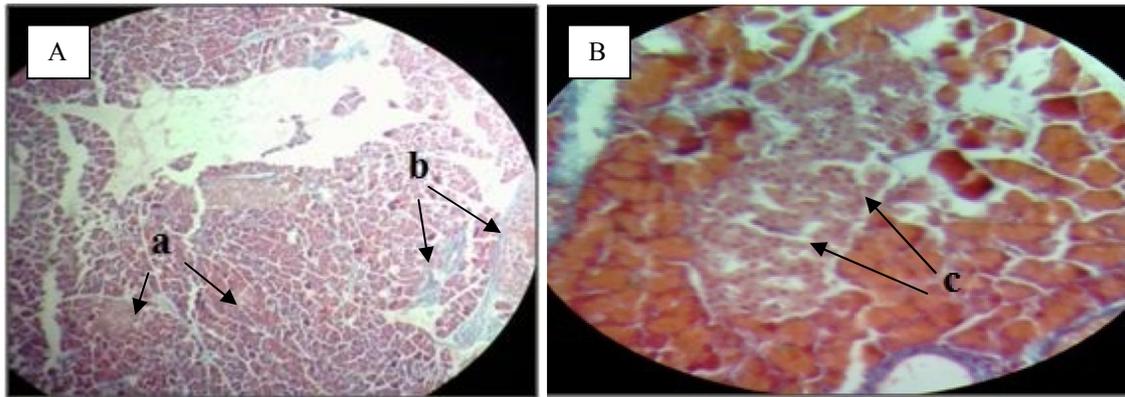


Figure 3.6. Tissu pancréatique du rat témoin.

A : aspect général

B : agrandissement de **a**

a : ilots de langerhans **b :** aspects fibreux **c :** nécrose cellulaire

Les ilots de langerhans de pancréas chez les rats de référence présentent le même aspect observé chez les ilots de témoin dont l'aspect général est fibreux avec une réduction de taille des ilots et destruction massive des noyaux et des cellules β (noyau pycnotique).

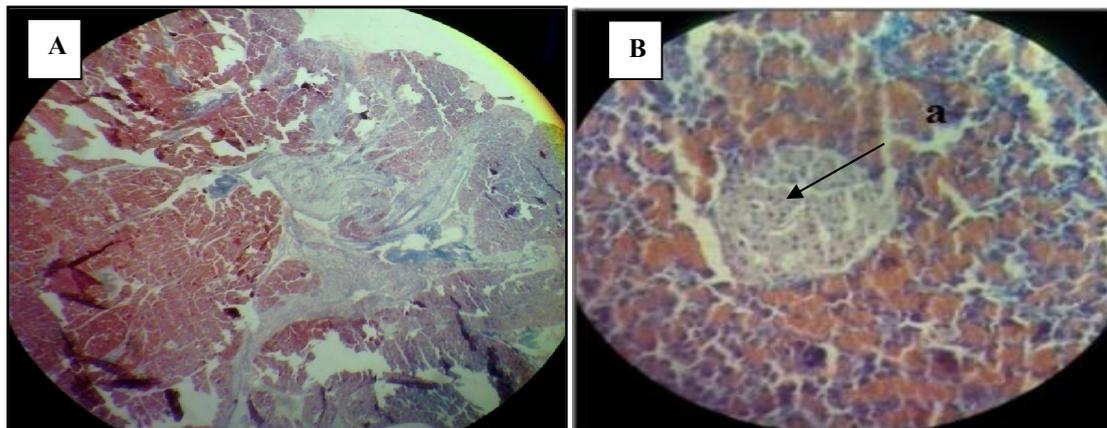


Figure 3.7 : Tissu pancréatique du rat de référence (glucophage®).

A : aspect général fibreux, **B :** aspect de l'îlot de Langerhans.

a: nécrose cellulaire.

Chez les tissus pancréatiques des rats traités par l'extrait aqueux a la dose de 870 mg/kg (D1) et 1153mg/kg (D2) on observe que les cellules de langerhans ont une taille comparable avec celles de pancréas de rat sain avec toujours une destruction remarquable sur une certaines partie de l'îlot présentée par des espaces intercellulaires.

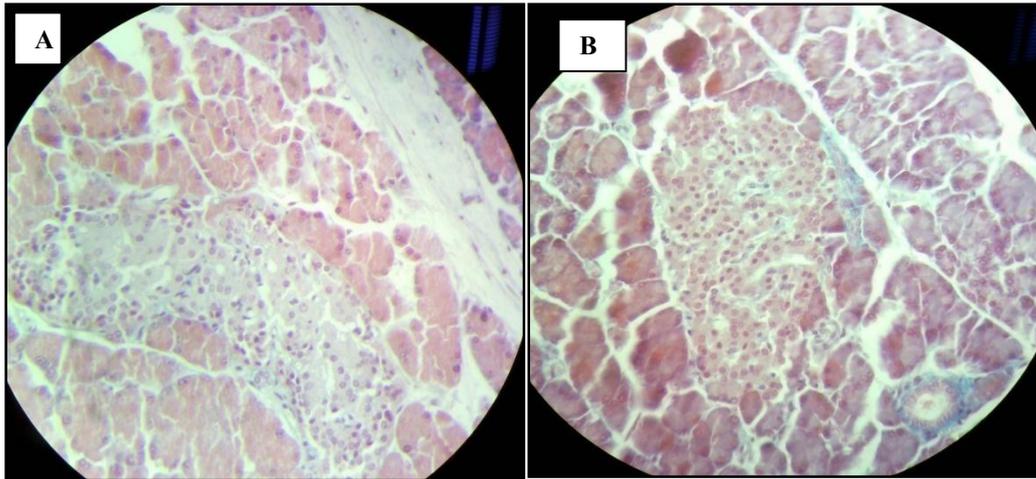


Figure 3.8. Ilots de langerhans des rats traités par l'extrait aqueux.

A : ilot traité par la dose 1, **B :** ilot traité par la dose 2.

Les coupes pancréatiques réalisées montrent que l'alloxane a causé des changements nécrotiques graves, des îlots pancréatiques, particulièrement au centre des îlots il détruit les noyaux cellulaires et déstructure les cellules. Disparition du noyau et dans le résidu de quelques endroits des cellules détruites étaient évidents. Une perte de structures, les îlots infiltrés par cellules lymphocytaires (insulinite).

Nos résultats sont similaires avec ceux rapportés par **Nermeen et al. (2010)**, qui ont indiqué que chez les rats diabétiques, l'alloxane entraîne des changements nécrotiques sévères des îlots pancréatiques, changement nucléaires, réduction relative de la taille et du nombre des îlots. L'alloxane a un effet sélectif sur la cellule β des îlots de Langerhans. (**Fayzieva et al., 2010**).

Nos observations réalisées sur les coupes des tissus pancréatiques des témoins (eau physiologique) et des références (métformine) sont concordantes avec celles soulignées par **Halimi et al. (2008)**, selon lesquels, il existe une similitude entre les îlots de Langerhans du lot traité par la métformine et celui du lot diabétique non traité (témoin). Ces îlots sont d'aspect diffus et présentent quelques nécroses cellulaires. La destruction de certaines cellules de Langerhans expliquerait le taux réduit de l'insuline observé chez ces deux lots (**Halimi et al., 2008**).

Il est établi que la métformine agit uniquement au niveau périphérique (inhibition de la formation du glucose par le foie, utilisation du glucose par les muscles et donc n'a aucune action sur le pancréas (**Liu et al., 2007; Halimi et al., 2008**)).

Chapitre 3 : Résultats et Discussion

Nos coupes histologiques du pancréas des lots traité par l'extrait aqueux de *Juglans regia* L à la dose 1 et 2 présentent des îlots de Langerhans mieux délimités; les cellules ont gardé leurs formes mais elles présentent quand même des nécroses cellulaires qui ne sont pas assez importantes. Ces lésions tissulaires limitées expliqueraient l'insulinémie proche de la normale de ces deux lots. Cela pourrait signifier que les deux doses de la plante ont restauré la sécrétion de l'insuline et ont favorisé la régénération des cellules β de Langerhans détruites par l'alloxane (West, 2000).

Le screening phytochimique a révélé que la plante est très riche en tanins et selon Munazza et al.(2015), les tanins reconstituent la fonction des cellules β pancréatiques et stimulent le dégagement de l'insuline alors que les polyphénols réduisent le niveau de glucose de sang par inhibition de l'enzyme de α glucosidases de l'intestin.

Les mêmes résultats soulignées sur des rats rendus diabétiques par l'alloxane et traité par les feuilles de *Juglans regia* L par Gholamali et al.(2007) montrent l'existence éventuelle de certaines molécules chimiques qui exercent un effet régénérateur sur les cellules β de Langerhans, et stimulent ces dernières à produire plus d'insuline, en effet les feuilles de noyer commun sont très riches en fibre, de phénols et de minéraux tels que le calcium et le manganèse qui avec d'autres facteurs peuvent stimuler l'activité hypoglycémique.

Selon Rubenstein et al. (1965), le chlorure de manganèse contenu dans les feuilles de noyer exerce une action hypoglycémique. De plus l'étude histologique a indiqué que le *Juglans regia* pourrait préserver la taille des îlots de Langerhans chez des rats rendus diabétiques (Asgary et al., 2008).

3.5. Résultats de l'activité anti-inflammatoire :

Les résultats des moyennes de réduction de l'œdème sont obtenus dans le tableau et la figure ci-dessous.

Tableau 3.6. Test anti-inflammatoire pour les trois lots testés (témoin, référence, extrait aqueux).

| | Poids pattes (g) | | % d'œdème | % de réduction d'œdème |
|----------------|------------------|--------------|-----------|------------------------|
| | Gauches | Droites | | |
| Témoin | 0.171±0.017 | 0.121±0.008 | 41.32 | 00 |
| Référence | 0.1608±0.010 | 0.1435±0.017 | 10.75 | 73.98 |
| Extrait aqueux | 0.135±0.011 | 0.113±0.008 | 16.20 | 60.79 |

Chapitre 3 : Résultats et Discussion

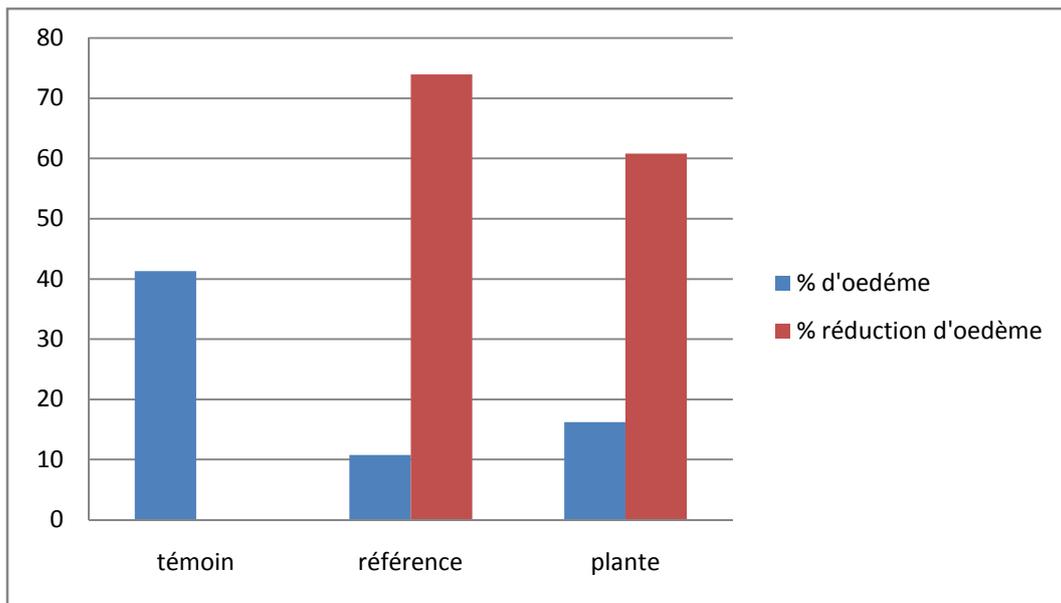


Figure 3.9. Pourcentage d'œdème et de réduction d'œdème pour les trois lots de souris.

Selon les résultats de tableau, le pourcentage de réduction de l'œdème est nul chez le témoin, cependant il atteint 73,98 % chez la référence et 60,79% chez le lot des souris traité par l'extrait aqueux des feuilles de la plante. Le pourcentage de la réduction de l'œdème chez le lot de référence et lot traité par l'extrait de la plante présente des différences significatives ($P > 0.01$) comparativement au lot témoin.

L'extrait aqueux a présenté un effet anti-inflammatoire statistiquement similaire ($p > 0.05$) à celui du produit référence.

Le pouvoir anti-inflammatoire de l'extrait aqueux des feuilles de *Juglans regia* L. à la dose de (675 mg/ kg) peut être expliqué par la présence des tanins, des flavonoïdes et des Saponosides qui ont été révélés par le screening phytochimique.

Il a été rapporté que les flavonoïdes, antioxydants naturels, joueraient un rôle très important dans le traitement des inflammations, des tumeurs et des affections bactériennes (**Ezeja et al., 2011; Ibrahim et Fagbonun, 2013; Duru et al., 2013**).

Les tanins sont impliqués dans l'inhibition de la synthèse de la prostaglandine et des leucotriènes qui sont des intermédiaires dans la réaction inflammatoire (**Da Silva et al., 2008**).

A ce jour et d'après la littérature scientifique, il n'existe aucun rapport ou publication scientifique rapportant l'action anti-inflammatoire de l'extrait aqueux des feuilles de *Juglans regia* L. cependant des études élaborées par **kshiti et al. (2013)**, sur les différents extraits aqueux et alcooliques de l'écorce de *Juglans regia* L. ou le produit de référence était le déclofenac ont montré un effet anti-inflammatoire comparable à nos résultats.

Chapitre 3 : Résultats et Discussion

De même **Hosseinzadeh et al. (2011)**, ont indiqué que les feuilles de *juglans regia* L. possèdent des activités anti-inflammatoire, anti-cancérogène et des propriétés cardioprotectives.

Conclusion :

L'objectif de notre travail s'inscrit dans le cadre de la valorisation des plantes à intérêt thérapeutique et économique et s'intéresse à la composition chimique et la détermination des propriétés antidiabétiques et anti-inflammatoire de *Juglans regia*.

A la lumière des résultats obtenues, le screening phytochimique basé sur des tests spécifiques a permis de mettre en évidence des tanins, alcaloïdes, flavonoïdes, quinones libres. Ces métabolites secondaires sont connus par leurs larges effets pharmacologiques.

Les résultats de l'activité hypoglycémisante de l'extrait aqueux de la plante (**631mg/kg**) à des rats chez les quels une hyperglycémie par voie orale a été provoquée, montre que ce dernier provoque une diminution importante de l'hyperglycémie. Le glucose sanguin a diminué de **1,5g/l** à **0,9 g/l** avec un pourcentage de réduction de la glycémie de **24,36 %**.

Les résultats de l'activité antidiabétique des deux doses (**870mg/kg (D1)** et **1153 mg/kg (D2)**, de l'extrait aqueux des feuilles chez les rats femelles de type wistar rendues diabétiques par l'alloxane montrent un effet antidiabétique qui s'exerce par le biais d'un effet régénératif sur les cellules de Langerhans conduisant à une amélioration de la sécrétion d'insuline dont le pourcentage de diminution de la glycémie sanguin est de **35%, 36%** pour la dose (**D1**) et (**D2**) respectivement.

L'extrait aqueux des feuilles semble avoir un effet positif sur le rétablissement de certains paramètres plasmatiques (taux des triglycérides) lié au désordre métaboliques provoqué par le diabète. L'extrait aqueux a la dose (**D1**) réduit de **20%** le taux de triglycérides. Cependant la dose (**D2**) provoque une diminution de **21%** le taux de triglycérides. L'extrait aqueux aux mêmes doses exerce un effet positif sur la croissance corporelle et la capacité de rétablir la perte en poids corporel due au diabète.

Le résultat de l'études histopathologiques réalisées au niveau du pancréas nous a permis d'observer une légère amélioration au niveau des cellules β Langerhans chez les rats diabétiques après l'administration de l'extrait en comparaison avec l'atrophie des mêmes ilots observés chez les rats diabétiques non traités.

Nos résultats sur l'activité anti-inflammatoire souligne que le dose (**675 mg/kg**) de l'extrait aqueux possède un pouvoir anti-inflammatoire appréciable sur des souris albinos, chez les

quels on a provoqué une inflammation par la carragénine. Le pourcentage de réduction de l'œdème atteint **(60,79 %)** comparativement au témoin de référence **(73,98%)**

En conclusion, nous pouvons dire que l'extrait aqueux de *juglans regia L.* peut jouer un rôle préventif dans le développement du diabète sucré par l'amélioration des métabolismes glucidique, lipidique, et il peut utiliser comme un anti-inflammatoire.

A partir de ces résultats il serait intéressant de tester plusieurs doses de l'extrait des feuilles sur des échantillons quantitativement plus importants et plusieurs types d'extrait (alcoolique,...etc.). Dans le but de rechercher un meilleur effet thérapeutique

On pourrait tester l'effet de l'extrait sur d'autres organes (le foie, le cœur, l'estomac) et d'autres paramètres biochimiques (cholestérol...etc.).

Aussi, prolonger la durée du traitement (1 à 6 mois), encore isoler quelques molécules actives telle que les tanins, alcaloïdes.

Références bibliographiques:

1. Abdelmoaty, MA., Ibrahim,MA., Ahmed, NS., Abdelaziz,MA. (2010).confirmatory studies on the antioxidant and antidiabétique effect of quercetin in rats. *Indian J Clin Biochem*, 25 (2),pp: 92-188.
2. Allali, H., Benmehdi, H., Dib, M.A., Tabti,B., Ghalem,S, Benabadji, N. (2008). Phytotherapy of Diabetes in West Algeria. *Asian journal of chemistry*, 20 (04), pp: 2701-2710.
3. Aggarwal, B.B., Sung, B . (2009). Pharmacological basis for the role of curcumin in chronic diseases : an age-old.Spice with modern targets.trends pharmacol Sci .(30), pp : 85-95.
4. Arnal, B., Schnebelen., Goetz, P., Paris M. (2009). Phytothérapie: la santé par les plantes médicinales. Ed VIDAL. Canada.
5. Asad, M., Aslam, M., Munir, T. A., Nadeem,A . (2011). Effect of acacia nilotica leaves extract on hyperglycaemia,lipid profile and platelet aggregation in streptozotocin induced diabetic rats. *Journal Ayub Med Coll Abbottabad*, 23(2), pp: 3-7.
6. Auroba, M., Nibras,N. (2010). Study Antidiabetic Effect of Momordica Charantia (bitter gourd) seeds on Alloxan Induced Diabetic Rats. *Iraqi Journal of Veterinary Medicine*, 34(1), pp : 165-170.
7. Azzi, R. (2013). Contribution à l'étude de plantes médicinales utilisées dans le traitement traditionnel du diabète sucré dans l'Ouest algérien : enquête ethnopharmacologique ; Analyse pharmaco-toxicologique de Figuier (*Ficus carica*) et de coloquinte (*Citrullus colocynthis*) chez le rat Wistar. These de Doctorat, université Tlemcen.
8. Baba Aissa, F. (2011). Encyclopedie des plantes utiles. *Ed El Maarifa*, Alger pp : 257.
9. Bailey, C.J., Day, C. (1989). Traditional plant medicines as treatment for diabetes. *Diabetes Care*, 12, pp : 553-64.
10. Batrels, A. (1998). Guide de plante de bassin méditerranéen.Ed Eugen Ulmer, Paris, France, pp 346, P400.
11. Barton, G.M. (2008) A calculated response: control of inflammation by the innate immune system. *J Clin Invest*, 118, pp: 413-420.

12. Becquey, J. (1997). Les guides de sylviculteur les noyers à bois, instituts pour le développement forestier, pp : 125-130.
13. Benmehdi, H. (2000). Valorisation des plantes médicinales à activité hypoglycémiantes comme la coloquinte. Thèse de Magister. Chimie organique appliquée. Université Abou Bekr Belkaïd -Tlemcen-
14. Berkan, T., Ostunes, I., Lermiolu, F., Ozer, A. (1989). Anti-inflammatory analytic and anti-pyretic effects of an aqueous extract of *neuts planta medica*, pp 357-358.
15. Bnouham, M., Ayyat, A., Mekhfi, H., Tahri, A. (1999, 2000). Plantes médicinales de Legssyer A. avec l'activité antidiabétique potentielle.
16. Bouhouche, I. (2014). Etude comparative de l'alloxane et la streptozocine dans le diabète expérimentale chez le rat blanc. Etude histologique du pancréas endocrine et la variation de paramètres sanguins.
17. Borel, JP, Marquart, F, Grillery, P et Exposito, M (1999) . Biochimie pour le clinicien, mécanisme moléculaire et chimiques à l'origine des maladies . Ed *Frison-Roche*. PP : 187-193
18. Brenness, L. (2005). Plantes aromatiques et médicinales. Ed *Lesley*, Paris, pp : 59.
Breteau, J., Fauré, Y., (1979). Atlas d'arboriculture fruitière .Ed *Lavoisier Paris* pp : 160-167
16. Breton, J. (1984). Botanique pour tous: histoire des principales familles végétales (2e édition), Paris, pp : 120-122.
17. Bruneton, J. (1999). Pharmacognosie, phytochimie, médicinales de plantes. Paris. Technique ET Doc., pp: 418-419.
18. Brignon, J.M., Gouzy, A. (2012), Données technico-économiques sur les substances chimiques en France: Diclofénac. pp: 57.
19. Calop, J., Limat, S., Fernandez, C ; (2008). Pharmacie Clinique et thérapeutique 3^{ème} Ed. Masson, Elsevier, Paris, pp : 417-427.
20. Cefalu, WW.T . (2006). Animals models of type 2 Diabètes : Clinical Presentation and pathophysiological relevance to the human condition. ILAR Journal. Volume 27, Number, 3, PP: 186-198.
21. Chaouche Mazouni, S. (2011). Glossaire de biologie. Office des publications universitaires, pp : 69.

22. Chrazanowski, G., Leszczyrski, B., Czerniewicz, P., Sytykiewicz, H., Matok, H., Krzyzanowski, R. (2011). Phenolic acids of walnut (*Juglans regia* L.). *Tela botanica* vol .57, pp: 2.
23. Daisy, P., Feril, G., KANI, J. (2012). Evaluation of antidiabetic activity of various extracts of *Cassia auriculata* L. Bark on streptozotocin induced diabetic wistar rats. *International Journal Pharm*, 4 (4),pp : 312-318.
24. Daisy, P., Feril, G., Jeeva, K. (2013) Hypolipidemic and hepatoprotective effects of *Cassia auriculata* linn bark extracts on streptozotocin induced diabetics in male Wistar albinos' rats. *Asian J Pharm Clin Res.*,6 (2), pp: 43-48.
25. Da Silva, S.I., Calgarotto, A.k., Chaar, J.S., Marangoni, S. (2008). Isolation and characterization of ellagic acid derivatives isolated from *Casearia Sylvestris* bark aqueous extract with anti inflammatory activity. *Toxicon*, (52), pp : 655-666.
26. Debuingue, G., Couplan, F. (2006). *Petit Larousse des plantes qui guérissent. Ed Larousse 2006* Paris France, pp : 618, 896.
27. Dellile, L. (2007). Les plantes médicinales d'Algérie. *Ed Berti*, pp171-172.
28. De Smet, P.A. (2002). Herbal remedies. *N. Engl. J. Med.*, 347 (25), pp: 2046-57
29. Dey-Anoja, S., Chun-Su, Y. (2002). Thérapies alternatives pour le diabète de type 2. *Altern Med.*, 7 (1), pp : 45-58.
30. Dhanabal, S.P., Mohan, Maruga Raja, M.K., Ramanathan, M., Suresh, B., (2007). A Hypoglycemic activity of *Nymphaea stellata* leaves ethanolic extract in alloxan induced diabetic rats, *Fitoterapia*, (78), pp: 288–291.
31. Diatwa, M., Samba, C.B., Assah, T.C., Abena, A.A. (2004). Hypoglycemic and antihyperglycemic effects of diethyl ether fraction isolated from the aqueous extract of the leaves of *Cogniauxia podoleana* Baillon in normal and alloxan-induced diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*, pp: 92- 229.
32. Djerroumi, A., Nacef, M.(2009). 100 plantes médicinales d'Algérie. *Ed Houma* pp : 104-105.
33. Duke, J.A. (2004). *Green pharmacy. Ed Jarir Bookstor KSA* (Arabie Saoudite) pp : 428.
34. Dupérat, M., Polese, J.M. (2008). *Encyclopédie visuelle des arbres et arbustes* Ed Artémis, France, p : 124-133.
35. Duru, M., Ugbogu, A., Amadi, B., Odika, P.O., Chima-Ezika, O., Anudike, J., Osuocha, K. (2013). Chemical constituents of *Buchholzia coriacea* seed. *Academia.edu*, 70, pp: 39-41.

36. Eddouks, M. Ouahidi, M.L., Farid, O., Moufid, A., Khalidi, A., Lemhadri, A. (2007). L'utilisation des plantes médicinales dans le traitement du diabète au Maroc. *Phytothérapie*, 5, pp: 194-203.
37. Eisenberg, D.M., Kessele,r R.C., Foster, C., et al.,(1993). Unconventional medicine in the United States. *N. Engi. J. Med.*, 328, pp: 246-52.
38. Hernandez, M.A., Garcia M.D., Saenz M.T. (1996). Antibacterial activity of the phenolic acids fractions of *sclophularia frutescens* and *sclophularia sambucifolia*. *Journal of Ethnopharmacology*, 53(1), pp: 11-14.
39. Ernst, E. (1997). Plants with hypoglycaemic activity in humans. *Phytomedicine*, 4 (1) pp: 73-8.
40. Etuk, E.U. (2010). Animals models for studying diabetes mellitus. *Agric. Biol. J. N*, 1(2), pp : 130-134.
41. Ezeja, M. I., Ezeigbo, I. I, Madubuike, K. G. (2011).Analgesic activity of the methanolic seed extract of *Buchholzia coriacea*. *ResearchJournal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, 2, pp: 187-193.
42. Fabricant, D.S., Farnsworth, N.R. (2001).The value of plants used in traditional medicine for drug discovery. *Environ. Health Perspect*, 109, pp: 69-75.
43. Fathiazad, F., Garjani, A., Motavallian naini, A. (2006).Study of hypoglycemic activity of the hydroalcoholic extract of *Juglans regia* innormal and diabetic rats. *J Pharm Sci*, 2, pp: 13-7.
44. Fukuda, T., et al. (2004). Affect of the walnut polyphénols fraction on oxidative stress in type 2 diabetes mice. *Biofactors*, 2, pp: 251-253.
45. Gaziano, J.M., Gibson, C.M. (2006). Potential for drug-drug interactions in patients taking analgesics for mild-to-moderate pain and low-dose aspirin for cardioprotection. *Am J Cardiol* , (97), pp: 23-9.
46. Gholamali, J., Maleki, M.,Sirus, S. (2007). Effect of leaves coriand, grend about blood glucose and histopathological effect of walnut in pancréas of diabetic rats induce by alloxane. *Afr. J. Traditional,Complementary and Alternative Medicines*. 4 (3),pp : 299 – 305.
47. Grimaldi,A. (2005). *Traité de diabétologie*. Ed. flammariion, Paris,pp :1-116.
48. Grover, J.K., Yadav, S., Vats, V. (2002). Medicinal plants ot' Indian with anti-diabetic potential. *Journal of Ethnopharmacol*, 81,pp: 8 1-100.

49. Guata Yoro, S.Y, Barbosa F.S., Wele, A., Gueye, P.M., Gueye C.D., Cisse, A., Dieye, A.M., Bassene, E., Faye, B. (2008). Activité anti-hyperglycémiant de la fraction de l'extrait total et acétonique de feuilles de *Veronica Colorata* (composeae). Article originale Pharmacopée et Médecine Traditionnelle Africaines, (15), pp : 6 – 10.
50. Halimi, S., Debaty, I., Villaret, L., Muller, M.(2008). Les nouveaux traitements du diabète de type 2: quelle place pour les incretines et le rimonabant par rapport aux précédents. La Revue Médecine Interne, 29, pp: 881-890.
51. Hamza, N. (2011). Effets préventif et curatif de trois plantes médicinales utilisées dans la Wilaya de Constantine pour le traitement du diabète de type 2 expérimental induit par le régime « high fat » chez la souris C57BL/6J. Thèse Doctorat en science alimentaire option : Nutrition. Université Mentouri Constantine, Institut de Nutrition de l'alimentation et des Technologies agroalimentaires. pp : 32-61.
52. Hao, J., Liu, S., Chen, Y., Li, Y., Kitanaka, S., Li, H.(2015). Coumarins from the twigs of *juglans regia* and their nitric oxide inhibitory activities. Chemistry of Natural compounds, pp: 236.
53. Haribabu, T., Divakar, K., Divakar, G. (2013). Evaluation of anti-diabetic activity of Lycopene and its synergistic effect with Metformin hydrochloride and Glipizide in Alloxan induced diabetes in rats. Sch. Acad. J. Pharm, 2(2), pp:119-124.
54. Hertel.J.M (2003).Plantes médicinales et diabète. Nouveau Magazine de phytomania.
55. Hermans, MP. (1999). Diabète de type 2 et adaptation thérapeutique.Louvain Med., pp : 118-120.
56. Houlot, R. (1984). Techniques d'histopathologie et de cytopathologie. *Ed Maloine*, 19(21), PP 225-227.
57. Hosseini, S., Jamshidi, L., Mehrzadi, S., Mohammad, K., Najmizadeh, A.R., Alimoradi, H., Huseini, H.F. (2014). Effects of *juglans regia* L. leaf extract on hyperglycemia and lipid profiles in type two diabetic patients : A randomized double-blind, placebo-controlled clinical trial ».journal of Ethnopharmacology. PP: 451-456.
58. Hosseinzadeh, H., Zarei, H., Taghiabadi, E. (2011). Effets d'Antinociceptive, anti inflammatoire and acute toxicity effects of *juglans regia* L. leaves in mice. Iran. Red Crescent Med. J. (13),pp : 27-33.
59. Idelman,, S., Verdetti, J., (2000). *Endocrinologie et Communications cellulaires*. Ed. Sciences, France, pp: 281-425.

60. Ivorra, M.D., Paya, M., Villar, A. (1989). A review of natural products and plants as potential antidiabetic drugs. *Journal of Ethnopharmacology*, 27, pp : 243-75.
61. Jouad, H., Haloui, M., Rhiouani, H., et al. (2001). Ethnobotanical survey of medicinal plants used for the treatment of diabetes, cardiac and renal diseases in the North centre region of Morocco (Fez *Boulemane*). *Journal of Ethnopharmacology*, 77 (2-3), pp : 175-82.
62. Karthik, D., Vijayakumar, R., Pazhanichamy, K., Ravikumar, S. (2014). A proteomics approach to identify the differential protein level in cardiac muscle of diabetic rat. Paper in Press, 61, pp: 1-9.
63. Khalifa, S. (1999). Le diabète sucré, office des publications universitaires pp : 17-30.
64. Khalil, N.M., Sperotto, J.S., Manfron, M.P. (2006). Anti-inflammatory activity and acute toxicity of *Dodonaea viscosa*. *Fitoterapia*, (77), pp : 478-80.
65. Kirpichnikov, D., McFarlane, S.I., Sowers, J.R. (2002). Metformine: An Update. *Ann Intern Med*, 137, pp: 25-33.
66. Koane, J.N., Ouamba, J.M., Syssa-Magale, J.L. (2016). Société Francophone du Diabète (SFD).
67. Kothe Hans, W. (2007). 1000 plantes aromatiques et médicinales. Ed Terre, Toulouse pp : 120.
68. kshitiij, A., Ankit Kumar, V., Prem, S.(2013).In vitro antiinflammatory activity of *juglans regia* bark. *Journal of Drug Delivery & Therapeutics*, 3(4),pp : 122-123.
69. Kumar, S., Kumar, D., Deshumukh RR., LOkhande, P.D., More, S.N., Rangari, V.D. (2008). Antidiabetic potential of *phyllanthus reticulatus* in alloxan-induced diabetic mice. *J. Filoter*,(79), pp : 3-21.
70. Kumar Tiwari, B., Kumar, D., Abidi, A B ., Rizvi, S I.(2014). Efficacy of Composite Extract from leaves and Fruits of medicinal plants used in traditional diabetic therapy against oxidative Stress in Alloxan-Induced diabetic Rats. *ISRN Pharmacology*. pp: 1-7.
71. Ladouri, A., Harkouk, Y. (2011). Effet du décocté de *Zygophyllum album* Coss sur le diabète et le stress oxydant associé. These de Doctorat.université d'alger.
72. Larousse médicale, (2006). www.larousse.fr.
73. Lenzen, S., Pauten, U., (1988). History and mechanism of action. *Diabetologia*, 31, pp: 337-342.
74. Lenzen, S. (2008). The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced diabetes. *Diabetologia*, 51, pp: 216–226.
75. Levy, L. (1969). Carrageenan paws oedema in the mouse. *Life science* 8, pp : 601-606.

76. Lompo, M. (1998). Activité anti- inflammatoire de l'extrait d'écorce de tronc de *khaya senegalensis* A juss (meliaceae) mise au point d'une forme galénique topique (phase 1). Thèse de Doctorat. Université de Ouagadougou.
77. Liu, Z., Li, J., Zeng, Z., Liu, M., Wang, M. (2007). The antidiabetic effect of CysteinylMetformin, Anewly sunthesized agent, in alloxan and streptozotocin induced diabetic rats. *Chemico-BiologicalInteractions*, 5522, pp: 1-20.
78. Liu,J., Meng, M., Li, C., Di, D. (2008). Simulataneous determination of three diarylheptanoids and an alpha-tetralone derivative in the green walnuts husks (*juglans regia* L.) bye high- performance liquid chromatography with photodiode array detector.*J. chromatogr.A* 1190, pp : 80-85.
79. Maqsood, A., Zaman, F., Tanveer, S., Zabta, M. (2008). Antidiabetic and Hypolipidemic Effects of Aqueous Methanolic Extract of *Acacia Nilotica* Pods in Alloxan-Induced Diabetic Rabbits. *Scand. J. Lab. Anim. Sci*, 35 (1) pp :29-34.
80. Mark, W. Chase, Michael, F. Fay, James, L. Reveal, Douglas, E. Soltis, Pamela, S. Soltis , Peter, F. Stevens , Arne, A. Anderberg, Michael, J. Moore, Richard, G. Olmstead, Paula, J. Rudall, Kenneth, J. Sytsma, David, C. Tank, Kenneth, Wurdack, Jenny, Q.Y.Xiang, Sue, Zmarzty, *Botanical Journal of the Linnean Society*. (2009)., 161, 105-121. With 1 figure.
81. Maries, R.J., Fransworth, N.R. (1995). Ant diabetic plants and their active constituents. *Phytomedicine*, 2, pp: 137-189.
82. Mbodj, N.A. (2003). Etude de l'activité antidiabétique des extraits acetoniques, méthanoliques et hexaniques de *vernonia colorata* (willd/drake) composees chez des rats WISTAR, pp: 70-74.
83. Mohammadi, J., Sadeqpour, K., Delaviz, H., Mohammadi, B. (2011). Anti-diabetic effects of an alcoholic extract of *juglans regia* in an animal model.*Turk Journal of Medecin Science*, (41), pp: 685- 691.
84. Morigane, M. (2004). Grimoire des plantes. livre publié sous la licence libre Creative Commons-BY-NC-ND :<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/2.0/be/> pp : 125-127.
85. Middleton, J.E. (1998). Effect of plant flavonoids on immune and inflammatory cell function. *Adv Exp Med Biol* 439, pp : 175–82.
86. Mirbadalzadeh, R., Shirdel, Z. (2010). Evaluation of blood-glucose reducing effects of walnut green husk extract in diabet rats. *International journal of pharmaceutical sciences review and research*, Vol 5, issue 3, (25), pp: 145-147.

87. Munazza, A., Tahir Ahmad, M., Sadaf, F., Muhammad, A., Syed Shoaib, S. (2015). Duration effect of *Acacia nilotica* leaves extract and glibenclamide as hypolipidaemic and hypoglycaemic activity in alloxan induced diabetic rats .Original article, pp: 1266-1270.
88. Ndiaye, S.A., Faye, B. (2008). Medicinal plants and the treatment of diabetes in Senegal: survey with patients. *Fundamental and Clinical Pharmacology*, 22 (2), pp : 211-216.
89. Negras, S., Chirita, C., Morosan, E., Arsene, A.L. (2013). Experimental pharmacological model of diabetes induction with aloxan in rat. *FARMACIA*, (61), 2 pp:313-323.
90. Nermeen, M., Shaffie., Fatma, A., Morsy, Amina, G., Hafiza, A. Sharaf. Effect of Caway, Coriander and Fennel on the structure of Kidney and Islets of Langerhan in Alloxan-Induced Diabetic Rats:Histological and Histochemical Study. *Researcher*.2010; 2 (7) :27-40.
91. OMS (Organisation Mondiale de la Santé). (2004). Communiqués de presse 2004 : il faut agir contre le diabète. Genève.
92. OMS (Organisation Mondiale de la Santé). (2016). Rapport mondial sur le diabète.
93. Oubré, A.Y., Carlson, T.J., King, S. R. et al. (1997). From plant to patient: an ethnomedical approach to the identification of news drugs for the treatment of NIDDM. *Diabetologia*, 40: 614-7.
94. Pacaud, G. (1995). Le diabète et ses complications : prévention, prise en charge, traitement. Edition Dahleb,pp : 12-14.
95. Peltier, F. (2005). Un arbre au fil des saisons : le noyer commun, Nature et patrimoine en pays, pp : 10-13.
96. Pereira, J.A., Oliveira, I., Sousa, A., Valentao, P., Ferreira, I., Ferreres, F., Bento A., Seabra, R., Estevinho L. (2007). Walnut (*Juglans regia* L.) Leaves: Phenolic compounds, antibacterial activity and antioxidant potential of different cultivars» *Food and chemical toxicology*, (45), pp2287-2288.
97. Perlemuter, L., Collin, G. De L'hortet, Sélam, J.-L. Diabète et maladies métaboliques 3eme edition MASSON 2000 Vol pages 369.
98. Phytotherapy of Diabetes in West Algeria. *Asian journal of chemistry*, 20 (04),pp: 2701-2710.
99. Pinheiro, L S., Dutra de Melo, A., Andreazzi, A E., de Caires Júnior, L C., Costa, M B., González Garcia, R M. (2011). Protocol of Insulin Therapy for Streptozotocin-Diabetic

- Rats Based on a Study of Food Ingestion and Glycemic Variation. *Scand. J. Lab. Anim. Sci.*, 38 (2), pp: 117-127.
100. Pougnet, A. (1875). *Etude sur le noyer commun et sur son emploi en thérapeutique*. Ed Firmin Montpellier.
 101. Prasenjit, M., Mahua, S., Parames., C.S. (2009). Protective role of arjunolic acid in response to streptozotocin-induced type-I diabetes via the mitochondrial dependent and independent pathways. *Toxicology* 257, pp : 53–63.
 102. Qureshi, M.N., Stecher, G., Kal Bon, G. (2014). Determination of total polyphenolic compounds and flavonoids in *Juglans regia* leaves. Determination of total polyphenolic compounds, pp: 865-869.
 103. Ragunathan, V., Sulochana, N. (1994). A new flavonol bioside from the flower of *Hibiscus vitifolius* Linn. And its hypoglycaemic activity. *Journal of Indian Chemical Society*, (71), pp: 705-706.
 104. Rubenstein, A.H., Levin, N.W., et Elliott, G.A. (1965). Hypoglycémie induite par manganèse. *Bistouri*, 2, pp:1348 – 1356.
 105. Sallé, JL. (1991). *Le totum en phytothérapie approche de phytothérapie*. Ed., Frison-Roche. Paris.,pp : 175 ; pp : 239.
 106. Salles, S . (2012). Valorisation d'une plante médicinale à activité antidiabétique de la region de Tlemcen *anacyclus pryrenthrum* L. application de l'extrait aqueux à l'inhibition de coorosion d'un acier doux h2so4 .0.5 M. Thèse de Doctorat. Tlemcen.
 107. Sanadhya, I., Lobo, V., Bhot, M., Varghese, J., Chandra, N. (2013). Antidiabetic activity of anthocephalus indicus a rich fruits in alloxan induced diabetic rats. *Int J Pharm. Pharm. SCI*; 5(2) pp : 519-523.
 108. Schkade, P.A and Routes, J.M. (1996). Hypersensitivity pneumonitis in a patient with hypogammaglobulinemia. *J. Allergy. Clin.Immunol*, 98(3), pp : 710-712.
 109. Seguy, B. (1996). Préparation au diplôme d'état d'infermiere et aux professions paramédicales. 3ème Ed. *Maloine.*, pp : 303.
 110. Sheeja, C., and August, K.T. (1995). *Indian J ExpBiol*, 33, pp : 608 –611.
 111. Silbernagl, S., Lang, F. (2000). *Atlas de poche de physiopathologie*. Ed Flammarion Médecine –Sciences, Paris pp : 117.
 112. Silva, B.M., Szpoganicz, B., Pizzolatti, M.G., Willrich, M.V., De Sousa E., (2002). Acute effect of Bayhinia forficata on serum glucose levels in normal and alloxan-induced diabetic rats. *Journal of Ethonopharmacology* , pp: 1-5.

113. Slama, G. (2000). Prise en charge du diabétique non insulino-dépendant. Edition John Libbey Eurotext. Paris.
114. Solomon, G., Raosaheb, K.K., Najma, Z.B. (1999). Indian J Exp Biol, 37, pp : 200–202.
115. Stadelmann, R., Mirimanoff, A. (1949). Contribution a la phytochimie du péricarpe de *Juglans regia*. phyton annales rei botanicae, pp : 246.
116. Szukukudelski, T. (2001). The mechanism of alloxan and streptozotocin. Action in β cells of the rat pancreas. Physiol Res., 50, pp : 536-546.
117. Tabourin, M.F. (1853). Nouveau traité de matière médicale et thérapeutique et de la pharmacie vétérinaire. Edition Victor Masson, Paris pp : 192.
118. Thakur, A. (2011). Juglone: A therapeutic phytochemical from *Juglans regia* L. Journal of medicinal plant research, pp: 3525-3530.
119. Teimori M, Montasser KS, Ghafarzadegan R, Hajiaghache R (2010). Étude d'effet hypoglycémique des feuilles de *Juglans regia* et de son mécanisme, Med de J.. Plante le 9h57 - 65.
120. Thulé, PM. Mechanisms of current therapies for diabetes mellitus type 2. Adv physiol Educ. 2012; 36: 275-283.
121. Tielmans, A., Laloi-Michelin, M., Coupaye, M., Virally, M., Meas, T., Guillausseau, P.J. (2007). Traitement médicamenteux du diabète de type 2 (première partie). Diabétologie ; Presse Med., 36 (2), pp : 69-78.
122. Trében, M. (1985). La santé a la pharmacie de bon dieu : conseils pratiques des simples (des plantes médicinales). Ed Ennsthaler, pp : 35.
123. Vetrichelvan, T., M, Jegadeesan. (2002). Journal of Ethnopharmacology, 80, pp : 103–107.
124. Vercautera, J. (2011). Plans de cours de pharmacognosie-formation commune de base, pp110-113.
125. Weill, B., Batteaux, F. (2003). Immunopathologie et réaction inflammatoire. Ed bruxelle , pp : 310.
126. West, I.C. (2000). Radicals and oxidative stress in diabetes. Diabetic Medicine, 17, pp: 171-180.
127. Wolfgang, H. (2007). 350 plantes médicinales, pp : 225-226.

128. Young, J. (2011). *Abrégés connaissances et pratiques : endocrinologie, diabétologie et maladies métaboliques*. Ed Elsevier Masson, pp 56-77.
129. Ying, A., Jie, C., Jiang, Y., Ren-Xiu, P. (2008). Effects of 18a-glycyrrhizin on the pharmacodynamics and pharmacokinetics of glibenclamide in alloxan-induced diabetic rats. *Europe Journal of Pharmacology*, 587(1-3), pp : 330-337.
130. Zheng, W., Wang, S.Y. (2001). Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs. *Journal of Agricultur Food Chemistry*,(5165),pp : 49-70.

ANNEXE (1)

Appareillage, Verrerie et réactifs

| Appareillage | Verrerie | Réactifs et autres produit |
|----------------------------------|--------------------------|---|
| - Agitateur | - béciers | - Toluène |
| - Broyeur « Moulinex » | - fiole | - Paraffine |
| - Bain marie | - entonnoir | - Eau physiologique (0.9%) |
| - Etuves bactériologiques (25°C) | - ballons rodés à fond | - Solution glucosé à 5% |
| - Incubateur | rond | - Solution glucosé à 50% |
| - Plaque chauffante. | - Pipettes Pasteurs | - Kit de dosage de glycémie |
| - Glucomètre ACCU-CHEK | - Tubes à essai stériles | - Kit de dosage de triglycérides |
| - Centrifugeuses | - Lame et lamelles | - Ethanols à différentes concentrations |
| - Sonde œsophagique pour rat | - tubes à capillaire | - Ether « Rectapur ». |
| - Sonde œsophagique pour souris | - tubes héparines | - Carragénine |
| - Portoir de tubes à essai | - cuves | - Alloxane monohydrate |
| - Réfrigérateur | - tubes micro | - déclofenac |
| - Balance de précision | hématocrite | - glibenclamide |
| - Balance pour animaux | - cloche à éther | - Chloroforme |
| - Microtome | | - Glucophage |
| - Microscope optique | | - Eau distillée |
| - Agitateur VOLTEX | | - seringues, embouts, eppendorf. |
| - Portoir pour tubes et cuves | | - Compresses, coton, sparadrap, |
| - Spectrophotomètre | | gants. |
| - | | - Bandelettes d'auto-surveillance |
| | | glycémique Accu-Chek active. |



Balance de précision



Plaque chauffante



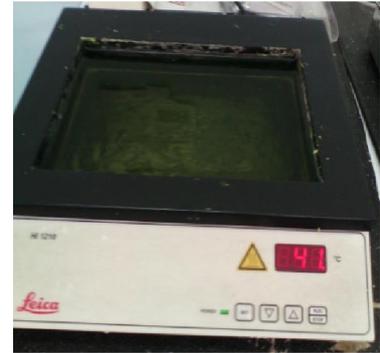
Microtome



Etuve



Cloche à éther



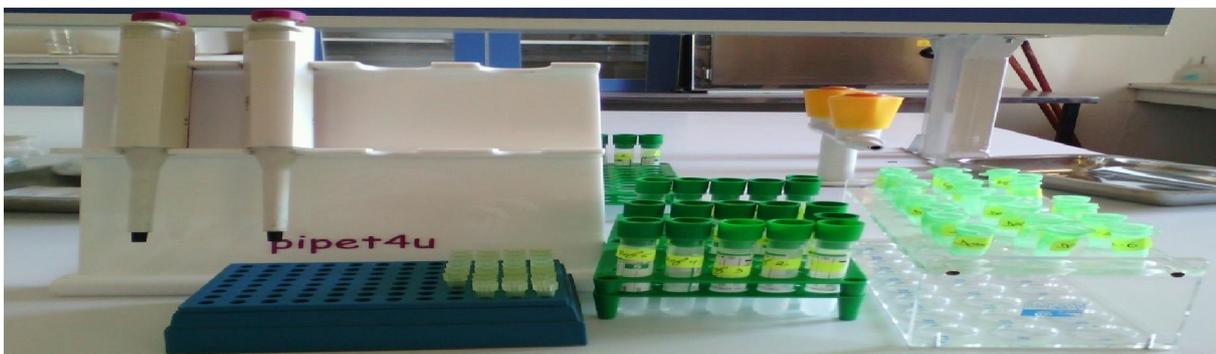
Bain Marie



Spectrophotomètre



Kit de dosage : A (glycémie) ; B (triglycérides).



Pipettes, endorfes, tubes héparines

ANNEXE II : Etapes de déroulement de l'étude.



Figure 2.1. Etapes de préparation de l'extrait aqueux « infusé » (Originale, 2016).



Figure 2.2. Identification de quelques composés chimiques (Originale, 2016).



Figure 2.3. Gavage des rats à l'aide d'une seringue en plastique équipée d'une sonde œsophagique (original, 2016).



Figure 2.4. Prélèvement sanguin à partir de l'extrémité distal de la queue (Originale, 2016).



Figure 2.5. Injection intra péritonéale de la solution d'alloxane a 150mg/kg aux rats (originale ; 2016).



Figure2.6. Répartition des rats en lots (Originale, 2016).

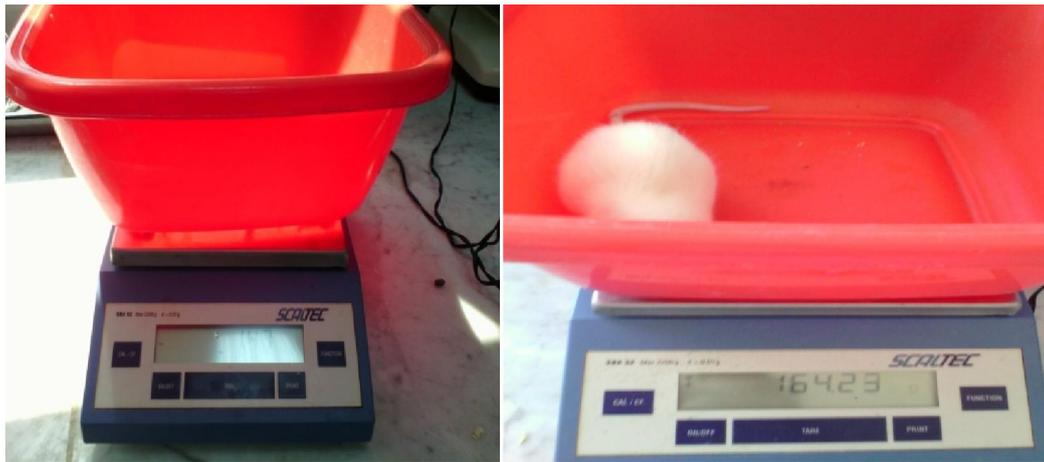


Figure 2.7. Pesée des rats (Originale, 2016).



Figure2.8. Prélèvement sanguin par ponction dans le sinus rétro orbital au niveau de l'œil des rats (Originale, 2016).

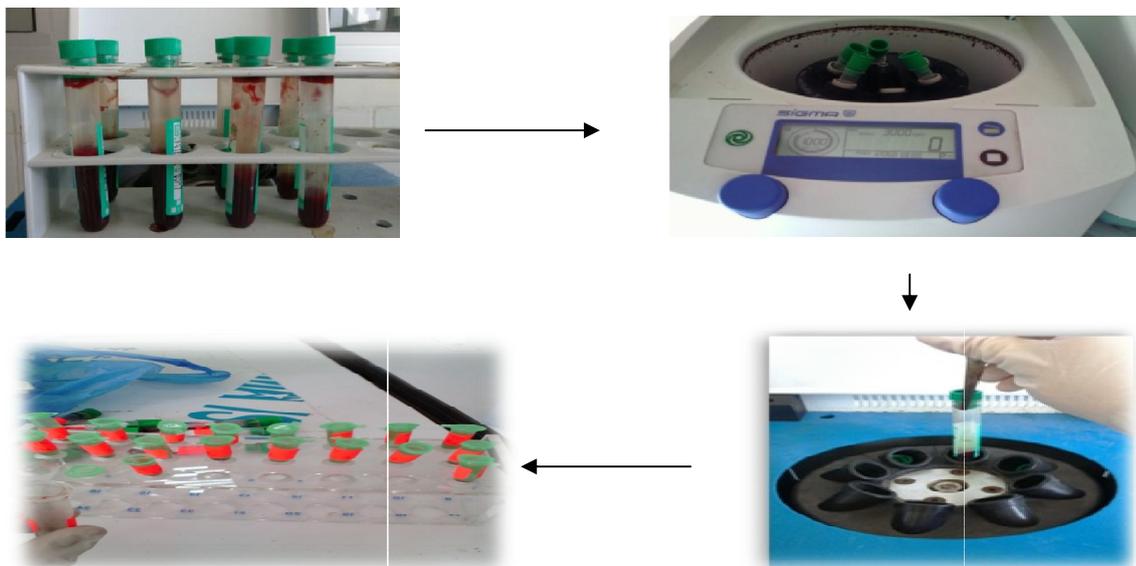


Figure2.9. Centrifugation du sang et séparation de sérum prélevé des rats (originale ; 2016)

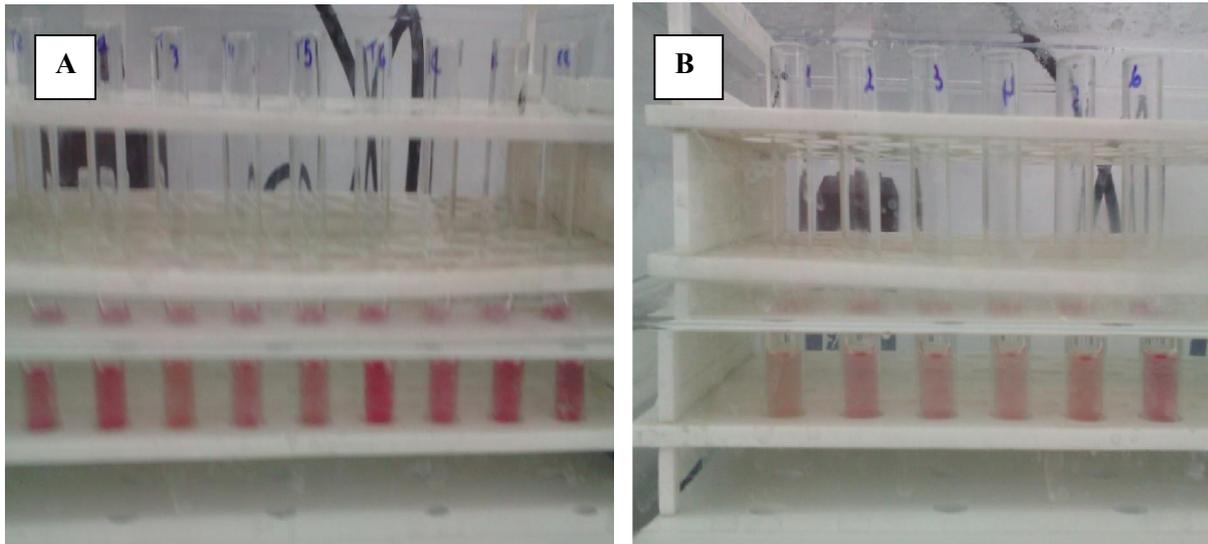


Figure 2.10. Dosage de différents paramètres sanguins (Originale, 2016).

A : glycémie ; **B :** triglycérides



Figure 2.11. Etapes de déroulement de l'activité anti- inflammatoire (Originale, 2016).

Glossaire :

Alloxane : L'alloxane ou (**2, 4, 5,6 Tétraoxypyrimidine ; 5,6 dioxyuracil**): est un composé issu de l'oxydation de l'acide urique, est un composé très utilisé pour l'induction du diabète chez les animaux rongeurs et non rongeurs. Son effet diabétogène est obtenu après son administration par les voies intraveineuse, intra péritonéale ou enfin sous cutanée. La dose nécessaire pour induire un diabète dépend de l'espèce utilisée, de la voie d'administration ainsi que du statut nutritionnel de l'animal (les animaux mis à jeun sont plus susceptibles à l'effet de ce produit). (**Lenzen et Panten, 1988; Szkudelski, 2001**).

Anti-inflammatoire : Médicament utilisé dans le traitement local de l'inflammation ou le traitement général des maladies inflammatoires. Les anti-inflammatoires se répartissent en deux classes : stéroïdiens et non stéroïdiens. Ce sont des médicaments symptomatiques, qui n'agissent pas sur la cause de l'inflammation. Ils sont indiqués quand l'inflammation, processus normal de défense contre les agressions, devient gênante, notamment à cause de la douleur qu'elle provoque. (**Larousse médicale 2006**).

Carragénine : substance extraite d'algue rouge qui injectée dans la patte de rat pour induire l'inflammation. (**Glossaire médecine en phytothérapie, 2015**).

Diclofénac : est une substance active de la famille des non stéroïdiens (AINS). A noter que les anti-inflammatoires non stéroïdiens sont des médicaments aux propriétés analgésiques, antipyrétiques (pour combattre la fièvre) et anti-inflammatoires. (**INERIS, 2012**).

Îlots de Langerhans : Portion endocrine du pancréas sécrétant l'insuline (hormone régulant le taux de glucose dans le sang). Les îlots de Langerhans sont faits de trois types de cellules endocrines regroupées en petits amas, ou îlots, disséminés dans le pancréas. Les cellules bêta sécrètent l'insuline, les cellules alpha sécrètent le glucagon et les cellules delta sécrètent la somatostatine. (**Larousse médicale 2006**).

Métformine : molécule de la classe de biguanides, commercialisée sous le nom de GLUCOPHAGE® (500 ; 850 ; 1000 mg) et le STAGID® (700 mg). Elle freine la production hépatique de glucose. (**Tielmans et al., 2007**).

Pancréas : est un organe abdominal, situé profondément en travers de la colonne vertébrale à hauteur de D12-L3.elle est exocrine par les acini pancréatiques, et endocrine par les amas de cellules disposées en ilots : les ilots de Langerhans (**Séguy, 1996**).

Chapitre 1

Revue bibliographique

Chapitre 2

Matériels et méthode

Chapitre 3

Résultats et discussion

Conclusion

Annexe