



Université Mohamed Khider de Biskra
Faculté des sciences exactes et sciences de la nature et de
la vie
Département des sciences de la nature et de la vie

MÉMOIRE DE MASTER

Domaine : Sciences de la nature et de la vie
Filière : Sciences biologiques
Spécialité : Biochimie appliquée

Réf. :

Présenté et soutenu par :
Djaouida DEFDAF et Loubna BENKAHOUL

Le : mercredi 10 juillet 2019

Thème

**Contribution à l'Etude De L'effet Antidiabétique
D'un Extrait Aqueux De Deux Plantes (*Opuntia ficus
indica* L et *Nigella sativa* L) Issue De La Région De –
Batna- Sur Des Souris (*Wistar albinos*) Diabétiques
à L'Alloxane**

Jury :

| | | | |
|----------------------|-----|----------------------|------------|
| Mme. Rima RCHID | MAA | Université de Biskra | Président |
| Mme. Imene MERZOUGUI | MCB | Université de Biskra | Rapporteur |
| Mme. Asma SAIDI | MAA | Université de Biskra | Examineur |

Année universitaire : 2018 - 2019

Remerciements

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

Nous remercions nos familles qui nous ont toujours encouragés et soutenus durant toutes nos études.

Nous adressons notre reconnaissance et nos remerciements à notre encadreur MERZOUGUI Imene d'avoir accepté de nous guider dans ce travail, En suivant toutes les étapes du travail et en fournissant un soutien et des conseils.

Nos remercions les membres de jury qui nous feront l'honneur de juger ce travail.

Nous remercions l'enseignant BOUSIF Asma, BELEBCIR Laila, Ben Maddour Tarek.

Nous remercions les ingénieurs de laboratoire de biologie « Al-Hadjeb » en particulier Madame TIBARMASSIN Moufida.

Enfin, nous tenons également à remercier toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail, en particulier **MEDDOUR Nadjat, HELIS Saddam GOUTTAYA Abdelhakim.**

Dédicace

Au terme de toutes ces années d'étude je dédie ce modeste travail en signe de respect et de remerciement

A ce qui ont donnée un sens pour mon existence, qui mon soutenu jours et nuits durant tout mon parcours, a ce qui ont fait de moi ce que je suis aujourd'hui, A vous mes très chère et adorable parents.

A mes adorables sœurs : Samiha, Linda, Chaima.

A mes très chers frères : Hamza, Abderezak, Bilal, Sefiane

Et à toute ma famille

A tous les enseignants qui ont contribué à ma formation

A tous mes amis(es) : Selma, Madjda, Chahrazed, Yamina, Khaoula , Nadia ,Naoual, Ibtisam.

Sans oublier mon chère amie Hicham qui m'a donné de l'aide.

Djaouida



Dédicace

J'ai l'honneur de dédie ce modeste travail réalisé grâce a l'aide de dieu .à mes chers parents OMAR et Saida qui m'avez dirigé et suivi pendent toute mes années d'étude et surtout ma mère pour leurs sacrifices de tous les instants, sa patience sans limite et l'éducation

qu'elle ma donnée, je lui dit merci mille fois. Dieu Tout-Puissant vous préserve et vous apporte santé, bonheur et longue vie.

Je ne pourrai jamais oublier d'exprimer ma profonde gratitude à:

Mes frères : Abdelrazek, Abdelmalek et mohamed pour le soutien qu'ils m'ont apporté.

Egalement je dédie ce travail à mes amies: chahrazed , khaoula, nadia , yamina , selma , ibtisem et je souhaite le bonheur et le succès dans la vie.

Et à tous mes collègues.

A tous les membres de la famille BEN KAHOUL, petits et grands.

A tous les enseignants qui ont contribué à ma formation.

loubna


Sommaire

| | |
|-----------------------------|-----|
| Remerciements | |
| Dédicace | |
| Dédicace | |
| Sommaire | |
| Liste des tableaux..... | I |
| Liste des figures..... | II |
| Liste des abréviations..... | III |
| Introduction..... | 1 |

Première partie : SYNTHESES BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre 1. ETUDE DU DIABETE ET PHYTOTHERAPIE

| | |
|---|----------|
| 1. Etude du diabète | 3 |
| 1.1. Définition du diabète..... | 3 |
| 1.2. Classification..... | 3 |
| 1.2.1. Le diabète de type 1 | 3 |
| 1.2.2. Le diabète de type 2 | 3 |
| 1.3. Diabète expérimental | 3 |
| 1.3.1 Diabète induit par l'Alloxane..... | 3 |
| 1.4. Traitement..... | 4 |
| 1.4.1. L'insulinothérapie | 4 |
| 1.4.2. Les médicaments antidiabétiques oraux..... | 4 |
| 1.4.3. Traitement par les plantes | 4 |
| 2. Diabète et Phytothérapie..... | 4 |
| 2.1. Définition de la phytothérapie..... | 4 |
| 2.1.1. La phytothérapie traditionnelle | 4 |
| 2.1.2. La phytothérapie clinique..... | 4 |
| 2.2. Différents principes actifs à effets antidiabétiques | 5 |
| 2.2.1. Alcaloïdes..... | 5 |
| 2.2.2. Polysaccharides | 5 |
| 2.2.3. Le composé phénolique..... | 5 |
| 2.2.3.1. Flavonoïdes..... | 5 |

| | |
|----------------------------|---|
| 2.2.3.2. Les tanins | 5 |
| 2.2.4. Les saponines | 5 |
| 2.2.5. Les terpènes | 5 |
| 2.2.6. Les mucilages | 5 |

Chapitre 2. LES PLANTES MEDICINALES ETUDIEES

| | |
|---|----------|
| 1. Généralités sur Figuier de Barbarie (<i>Opuntia ficus indica</i>) | 6 |
| 1.1. Origine et Répartition géographique | 6 |
| 1.2. Description de la plante | 6 |
| 1.3. Classification botanique | 7 |
| 1.4. Composition chimique des raquettes | 8 |
| 1.5. Utilisation thérapeutiques de la plante | 8 |
| 2. Généralités sur graines de <i>Nigella sativa</i> | 9 |
| 2.1. Origine et Répartition géographique | 9 |
| 2.2. Description botanique | 9 |
| 2.3. Classification botanique | 9 |
| 2.4. Composition chimique | 10 |
| 2.5. Utilisation thérapeutiques de la plante | 10 |

Deuxième partie : PARTIE EXPERIMENTALE

Chapitre 3. MATERIEL ET METHODES

| | |
|---|-----------|
| 1. Présentation de la zone d'échantillonnage | 11 |
| 2. Le climat | 11 |
| 3. Végétation naturelle | 12 |
| 4. Enquête ethnobotanique | 12 |
| 4.1. Mise en place des enquêtes | 12 |
| 5. Etude phytochimique | 12 |
| 5.1. Le matériel végétal | 12 |
| 5.1.1. Préparation d'extrait aqueux brut de l'OFI | 12 |
| 5.1.2. Préparation d'extrait aqueux brut du NS | 14 |
| 5.2. Etude phytochimique | 14 |
| 5.2.1. Dosage qualitative | 14 |
| 5.2.1.1. Test des alcaloïdes | 14 |
| 5.2.1.2. Test des stérols | 15 |
| 5.2.1.3. Les substances polyphénoliques | 15 |

| | |
|--|-----------|
| 5.2.1.4. Test des saponines | 15 |
| 5.2.1.5. Test des sucres réducteurs (glucides) | 16 |
| 5.2.1.6. Test des Terpénoïdes : Test de Slakowski | 16 |
| 5.2.1.7. Test d'Amidon | 16 |
| 5.2.1.8. Test des Mucilages | 16 |
| 5.2.2. Dosages quantitatifs | 16 |
| 5.2.2.1. Détermination du rendement | 16 |
| 5.2.2.2. Dosage des phénols totaux | 17 |
| 5.2.2.3. Dosage des flavonoïdes | 17 |
| 6. Etude biologique | 18 |
| 6.1. Activité antidiabétique | 18 |
| 6.1.1. Matériel animal | 18 |
| 6.1.1.1. Conditions d'élevage | 18 |
| 6.1.2. Méthodes | 18 |
| 6.1.2.1. Protocole expérimental | 18 |
| Les souris ont été divisées en 4 lots de huit souris par cage (TS, TNT, OFI, NS).... | 18 |
| 6.1.2.2. Traitement des animaux | 19 |
| 6.1.2.3. Détermination des poids corporels | 20 |
| 6.1.2.4. Détermination de la glycémie | 20 |
| 6.2. Sacrifice et préparation des prélèvements | 21 |
| 6.2.1. Sacrifice et prélèvement sanguin | 21 |
| 6.2.2. Dissection et prélèvement des organes | 22 |
| 6.3. Collecte de données | 24 |
| 6.4. L'analyse des données | 24 |
| 6.5. Considérations éthiques | 25 |

Chapitre 4. RESULTATS ET DISCUSSION

| | |
|--|-----------|
| 1. Enquête ethnobotanique | 26 |
| 1.1. Analyse des données concernant le profil de l'informateur | 26 |
| 1.1.1. Selon l'âge | 26 |
| 1.1.2. Selon sexe | 27 |
| 1.1.3 Selon niveau d'étude | 28 |
| 1.1.4. Origine de l'information | 28 |
| 1.1.5. Selon parties utilisées | 29 |

| | |
|--|-----------|
| 1.1.6. Selon mode de préparation | 30 |
| 1.1.7. Selon mode d'administration | 30 |
| 1.1.8. Selon les maladies traitées..... | 31 |
| 2. Etude phytochimique | 32 |
| 2.1. Analyse dosage qualitatif..... | 32 |
| 2.1.1. <i>Opuntia ficus indica</i> L..... | 33 |
| 2.1.2. <i>Nigella sativa</i> L | 33 |
| 2.2. Analyse dosage quantitatif..... | 33 |
| 2.2.1. Rendement en extraits bruts aqueux..... | 33 |
| 2.2.2. Teneur des extraits bruts en phénols totaux | 34 |
| 2.2.3. Teneur des extraits bruts en flavonoïdes totaux | 36 |
| 3. Etude biologique | 37 |
| 3.2. Activité antidiabétique | 37 |
| 3.2.1. Étude de paramètres avant sacrifice | 37 |
| 3.2.1.1. Détermination des poids corporels | 37 |
| 3.2.1.2. Détermination de la glycémie..... | 38 |
| 3.2.2. Etude de certains paramètres après sacrifice..... | 40 |
| 3.2.2.1. Dosage de paramètres plasmatiques | 40 |
| 3.2.2.2. Poids relatifs des organes | 43 |
| Conclusion | 46 |
| Références..... | 48 |
| Annexe | |
| Résumé | |

Liste des tableaux

| | |
|--|----|
| Tableau 1. L'utilisation thérapeutique des plantes étudiées..... | 31 |
| Tableau 2. Résultat des tests phytochimique de quelques métabolites secondaires de l'extrait aqueux du <i>Opuntia ficus indica</i> L et <i>Nigella sativa</i> L..... | 32 |

Liste des figures

| | |
|---|----|
| Figure 1. Figuier de barbarie et ces différentes parties. | 7 |
| Figure 2. Les graines de <i>Nigella sativa</i> | 9 |
| Figure 3. Carte de situation géographique de la ville de Batna. | 11 |
| Figure 4 . Préparation d'extrait aqueux brut d' <i>Obuntia ficus induca</i> L. | 13 |
| Figure 5. Préparation d'extrait aqueux brut du <i>Nigella Sativa</i> ((a)graines (b) poudre (c) Chauffer le mélange). | 14 |
| Figure 6. Induction du diabète par injection par voie intrapéritonéale (originale). | 19 |
| Figure 7. Introduction de l'extrait par gavage (originale). | 20 |
| Figure 8. Mesure le taux de glycémie (originale). | 21 |
| Figure 9. Sacrifice et prélèvement sanguin (originale). | 22 |
| Figure 10. Dissection et prélèvement des organes (originale). | 22 |
| Figure 11. Répartition de la fréquence d'utilisation des plantes médicinales par classe d'âge dans la région de Biskra. | 27 |
| Figure 12. Représentation statistique descriptive des résultats d'enquête ethnobotanique selon le sexe. | 27 |
| Figure 13. Répartition des informateurs selon le niveau de scolarisation. | 28 |
| Figure 14. Répartition des informateurs selon l'origine de l'information. | 29 |
| Figure 15. Représentation statistique descriptive des résultats d'enquête ethnobotanique selon la partie utilisée. | 29 |
| Figure 16. Représentation statistique descriptive des résultats l'enquête ethnobotanique selon le mode de préparation. | 30 |
| Figure 17. Représentation statistique descriptive des résultats l'enquête ethnobotanique selon le mode d'administration. | 31 |
| Figure 18 . Rendements (%) en extraits bruts aqueux des espèces étudiées. | 34 |
| Figure 19 . Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage de phénols totaux. | 35 |
| Figure 20. Teneurs en phénols totaux dans les extraits aqueux des deux espèces étudiées. | 35 |
| Figure 21. Droite d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonoïdes. | 36 |
| Figure 22. Teneurs en flavonoïdes dans les extraits aqueux des espèces étudiées. | 37 |
| Figure 23. Evolution des poids corporels des différents lots des souris femelles. | 38 |
| Figure 24 . Evolution de la glycémie à jeun, avant sacrifice des différents lots des souris femelles. | 39 |
| Figure 25. Résultats des concentrations des différents paramètres biochimiques étudiés des lots des souris femelles. | 41 |
| Figure 26. Poids relatifs des différents organes des lots étudiés des souris femelles. | 44 |

Liste des abréviations

ADF : Acide Détergent Fibre ou lignocellulose

ADL : Acide détergent lignine ou lignine

ADP : Adénosine diphosphate

ATP : Adénosine triphosphate

CE: Catéchine équivalents

CHE: Cholestérol estérase

CHO: Cholestérol oxydase

CPG: La chromatographie en phase gazeuse

DW: Dry weight extract

EAG: Equivalent acid galique

EQ : Equivalant quercétine

GLDH : Glutamate Déshydrogénase

HK : Hexokinase

HPLC : La chromatographie en phase liquide à haute performance

MAT : Matières azotées totales

NAFLD: Non-Alcoholic Fatty Liver Disease

NDF : Neutral Detergent Fiber ou paroi totale

NS : *Nigella sativa*

OFI : *Opuntia ficus indica* L

OMS : Organisation mondiale de la santé

POD : Peroxydase

POMC : Pro-opiomélanocortine

RMN : Résonance magnétique nucléaire

TNT : Témoin diabétique non traité

TS : Témoin sain

Introduction

Introduction

Le diabète sucré, principalement le diabète type 2, est considéré depuis quelques années comme un des fléaux du troisième millénaire, partout dans le monde, dans les pays développés comme dans les pays en voie de développement. Le nombre de personnes atteintes de diabète ne cesse de croître de façon très alarmante. On comptait 366 million de diabétiques en 2010 et 552 million sont attendus en 2030 (Whiting *et al.*, 2011).

Selon l'OMS la médecine traditionnelle assume 80 % à 90 % des soins de santé en Afrique [OMS, 2002], et la phytothérapie antidiabétique connaît à ce jour un essor considérable du fait de la découverte d'un nombre important d'extraits des plantes antidiabétiques. L'utilisation des plantes est une pratique courante dans le monde. Aujourd'hui plus de 800 plantes ont été identifiées et étudiées comme traitement potentiel du diabète de type II (Marles et Fransworth, 1995).

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

Les objectifs de notre travail sont les suivants :

Dosage qualitatif et quantitatif d'un extrait aqueux de deux plantes médicinales (*Opuntia ficus indica* et *Nigella sativa*).

Détermination de effets anti-hyperglycémique (diabète type 2) d'un extrait aqueux de deux plantes (*Opuntia ficus indica* et *Nigella sativa*) sur des souris (*Wistar albinos*) diabétiques à l'Alloxane.

Faire une comparaison entre *Opuntia ficus indica* L et *Nigella sativa* pour connaître la plante qui a un grand effet antidiabétique.

De fait, plusieurs phytothérapeutes à travers le monde s'intéressent à la recherche des nouvelles substances d'origine végétale pouvant avoir ce secret. C'est pourquoi nous sommes intéressés à entreprendre ce travail qui est subdivisé en deux parties essentielles :

- **Une partie bibliographique :**

Chapitre 1 : où nous apportons des données générales sur le diabète sucré et ses traitements, la phytothérapie.

Chapitre 2 : Etude des plantes médicinales (*Nigella sativa* et *Opuntia ficus indica*)

• **Une partie expérimentale :** où nous avons:

Chapitre 3 : Matérielle et Méthodes (étude ethnobotanique, Étude phytochimique, Étude biologique).

Chapitre 4 : Résultats et Discussion.

Synthèse Bibliographique

Chapitre 1

Etude du diabète et phytothérapie

1. Etude du diabète

1.1. Définition du diabète

La définition du diabète est fondée sur le seuil glycémique à risque de micro angiopathie en particulier de rétinopathie. Le diabète se définit par une hyperglycémie chronique, soit une glycémie à jeun supérieure à 1,26 g/l (7 mmol/l) (Grimaldi, 2000) .liée à une déficience, soit de la sécrétion de l'insuline, soit de l'action de l'insuline, soit des deux (Fagot *et al* ,2010).

1.2. Classification

1.2.1. Le diabète de type 1

Ou diabète insulino-dépendant, juvénile, maigre, cétosique. Il survient à tout âge et est plus fréquent chez les jeunes entre 9-14 ans. Il est lié ou non à une destruction auto-immune progressive des cellules β des îlots de Langerhans, par infiltration des lymphocytes et de macrophages qui conduisent en quelques années à un état d'insulinopénie absolue (Zidi, 2010) .Il peut être associé à d'autres maladies auto-immunes (vitiligo, maladie de Basedow, thyroïdites, maladie de Biermer) (Grimaldi, 2000).

1.2.2. Le diabète de type 2

Le diabète non insulino-dépendant ou diabète de la maturité, gras, non cétosique. C'est entre 40 à 80 ans qu'il est le plus fréquent. On le décrit plus rarement chez les adolescents et les enfants (Zidi, 2010). Le plus souvent, on retrouve une hérédité familiale de diabète non insulino-dépendant. Le diabète de type 2 est souvent associé à une hypertension artérielle essentielle et/ou à une hypertriglycéridémie (Grimaldi, 2000).

1.3. Diabète expérimental

Le diabète expérimental consiste à produire, chez l'animal, un état comparable au diabète sucré, en vue de mieux comprendre le diabète sucré de l'homme ou de trouver de nouvelles thérapies (Agroum & Koucha, 2016).Ceux-ci comprennent, par exemple, des modèles de diabète induit par des toxines, comme : Alloxane, streptozotocine...etc (Szkudelski, 2001) .

1.3.1 Diabète induit par l'Alloxane

L'Alloxane est un composé organique basé sur un squelette de l'hétérocyclique de la pyrimidine (Szkudelski, 2001).C'est le produit chimique le plus couramment utilisé pour l'induction du diabète mellitus. C'est un agent bien connu largement utilisé pour induire un diabète de type 2 chez les animaux tels que : les lapins, les rats, les souris et les chiens (Habibiyar, 2016).

1.4. Traitement

1.4.1. L'insulinothérapie

Pour le diabète de type 1 l'insulinothérapie est le seul traitement. L'insulinothérapie consiste en la substitution de l'insuline manquante par des injections quotidiennes d'insuline exogène dont la quantité est déterminée au préalable en fonction de la glycémie (Klein, 2009).

1.4.2. Les médicaments antidiabétiques oraux

Il existe différentes classes d'antidiabétiques oraux. Cinq d'entre elles (approuvées aux Etats-Unis pour le traitement du diabète sucré non insulino-dépendant chez l'homme) sont envisagées ici : les Biguanides, les Glitazones, les Sulfamides, les Glinides et les Inhibiteurs des α -glucosidases. Les deux premiers diminuent l'insulino-résistance ; alors que les trois derniers stimulent l'insulino-sécrétion (Klein, 2009).

1.4.3. Traitement par les plantes

Les plantes médicinales sont employées pour le contrôle du diabète dans beaucoup de pays. Environ 1200 plantes, couvrant 725 genres différents et 183 familles de plantes dans le monde sont jugées bénéfiques pour les diabétiques et utilisées à travers le monde. La plupart d'entre elles auraient des propriétés hypoglycémiantes, mais la plupart du temps, ces affirmations sont isolées et peu d'entre elles ont fait l'objet d'une vérification scientifique (Bouxid, 2012).

2. Diabète et Phytothérapie

2.1. Définition de la phytothérapie

Le mot phytothérapie provient de deux mots (phyton = végétal et *Therapein* = soigner) qui signifient essentiellement « soigner avec les plantes ». La phytothérapie désigne la médecine basée sur les extraits des plantes et les principes actifs naturels (Boussaid *et al.*, 2014).

2.1.1. La phytothérapie traditionnelle

C'est une thérapie de substitution qui a pour but de traiter les symptômes d'une affection. Ses origines peuvent parfois être très anciennes et elle se base sur l'utilisation de plantes selon les vertus découvertes empiriquement (Chabrier, 2010).

2.1.2. La phytothérapie clinique

C'est une médecine de terrain dans laquelle le malade passe avant la maladie. Une approche globale du patient et de son environnement est nécessaire pour déterminer le traitement, ainsi qu'un examen clinique complet. Son mode d'action est basé sur un traitement à long terme agissant sur le système neuro-végétatif (Chabrier, 2010).

2.2. Différents principes actifs à effets antidiabétiques

2.2.1. Alcaloïdes

Initialement définis comme des substances azotées, basiques, d'origine naturelle et de distribution restreinte. Leur atome d'azote est inclus dans système hétérocyclique et ils possèdent une activité pharmacologique significative (Bhira, 2012).

2.2.2. Polysaccharides

On les trouve dans toutes les plantes. Du point de vue phytothérapie, les plus importants sont les mucilages et les gommes qui absorbent de grande quantités d'eau (Boussaid *et al.*, 2014).

2.2.3. Le composé phénolique

2.2.3.1. Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont formés d'un squelette à 15 atomes de carbone (C6-C3-C6), correspondant à la structure du diphenylpropane. Au sein des flavonoïdes, on retrouve les flavonols, les flavones, les flavonoïdes et les tanins condensés...etc (Boutakiout, 2015)

2.2.3.2. Les tanins

Les tanins (ou tannins) sont des polyphénols d'origine végétale caractérisés par leur réaction de précipitation avec les protéines

Les tanins représentent un groupe de métabolites secondaires largement distribué dans le monde végétal (Bhira, 2012).

2.2.4. Les saponines

On entend par saponosides, des hétérosides naturels dont la matière est un composé soluble à l'eau ou dans l'alcool qui la rend moussante comme une eau de savon (Bhira, 2012).

2.2.5. Les terpènes

Ce sont des composés organiques lipidiques dérivant de la condensation de plusieurs molécules d'isoprène. Les terpènes constituent le principe odoriférant des végétaux (Zidi, 2010).

2.2.6. Les mucilages

Ce sont des polysaccharides hétérogènes acides. Ils sont composés de fucose, d'acide glucuronique et d'acide manuronique. Ce sont des constituants normaux des cellules végétales qui se dissolvent plus ou moins au contact de l'eau (Zidi, 2010).

Chapitre 2

Les plantes médicinales étudiées

1. Généralités sur Figuier de Barbarie (*Opuntia ficus indica*)

1.1. Origine et Répartition géographique

Le genre *Opuntia* est originaire du Mexique. Sa distribution géographique est très large: Mexique, Sicile, Chili, Brésil, Turquie, Corée, Argentine et Afrique du Nord. Il a été introduit d'abord en Espagne et plus tard au 16^{ème} siècle au Nord et au Sud de l'Afrique (Barbera *et al.*, 1992 ; Nassar, 2008 ; Halmi, 2015).

En Algérie, les plantations du figuier de barbarie sont réparties dans les hauts plateaux, à Batna, Biskra et Bordj-bou-Arrerijj, Constantine, sur les hauts plateaux Algérois à 550 mètres, et environs 750 mètres à M'sila, Laghouat et même à 1100 mètres Ain-Sefra. Du centre à l'ouest l'*Opuntia* occupent une superficie dépassant les 25.000 hectares (Neffar, 2012).

1.2. Description de la plante

La famille des cactacées (ou cactées) regroupe des végétaux phanérogames appartenant à la classe des dicotylédones, polypétales. Ce sont des arbustes et des arbres vivaces, à tiges charnues, caliciflores, apparemment aphylls. Leurs fleurs sont grandes, rotacées, hermaphrodites (Schweizer, 1997).

Le figuier de Barbarie est une plante arborescente robuste de (3 à 5 m) de hauteur, ayant une longueur de (30 à 50 cm), une largeur de (15 à 30 cm) et une épaisseur de (1.5 à 3 cm) appelés cladodes ou raquettes (Neffar, 2012 ; Temagoult, 2017).

Les feuilles sont de forme conique et ont quelques millimètres de long. Les épines sont blanchâtres, sclérifiées, solidement implantées et longues de 1 à 2 cm (Neffar, 2012).

Les fleurs sont de couleur jaunâtre et deviennent rougeâtres à l'approche de la sénescence de la plante, Ses fruits sont des baies charnues ovoïdes (300 graines pour un fruit de 160 grammes) et pourvues d'épines (Habibi, 2004).



Figure 1. Figuier de barbarie et ces différentes parties (Temagoult, 2017).

1.3. Classification botanique

D'après Wallace et Gibson (2002), leur classification botanique est rappelée ci-dessous :

Règne : Plantae ;

Sous règne : Tracheobionta ;

Division : Magnoliophyta ;

Classe : Magnoliopsida ;

Sous classe : Caryophyllidae ;

Ordre : Caryophyllales ;

Famille : Cactaceae ;

Sous-famille : Opuntioideae ;

Tribu : Opuntieae ;

Genre : *Opuntia* ;

Espèce : *Opuntia ficus indica* L

Nom commun

Figuier de Barbarie

Nom latin

Opuntia ficus-indica

Nom vernaculaire

Hindi

1.4. Composition chimique des raquettes

Les raquettes du figuier de barbarie est une source d'énergie et d'eau. Les teneurs en eau des raquettes fraîches varient de 80 à 90%. La teneur des raquettes en matières azotées totales (MAT) ainsi que la teneur en paroi totale (NDF), en lignocellulose (ADF) et en lignine (ADL) sont faibles (Habibi, 2004 ; Bhira, 2012).

Les raquettes sont réputées d'être riches en minéraux essentiellement le calcium et les oxalates et en mucilage, polysaccharides de structure chimique parfois très complexe retrouvés dans plusieurs plantes supérieures. (Boutakiout, 2015).

1.5. Utilisation thérapeutiques de la plante

Les composés actifs principaux dans les cladodes sont les polysaccharides qui ont accéléré le processus de réparation dans tout le tissu. Les glycoprotéines, composés aromatiques, en particulier les bêta-cyanines, les bêta-xanthines, les polyphénols, les acides gras, les stérols, la β - carotène, en raison de leur activité antioxydante et les flavonoïdes polyphénoliques sont des métabolites qui possèdent de nombreuses propriétés pharmacologiques. Ils pourraient potentiellement avoir une action protectrice contre les maladies chroniques. Ces composés agissent sur les aspects de la maladie commune dégénérative, stress oxydatif, inflammation et chondrodégénération (Panico *et al.*, 2007)

Des études montrent que le cactus a un potentiel thérapeutique pour le syndrome métabolique (y compris le diabète de type 2 et l'obésité), la stéatose hépatique non alcoolique (NAFLD), les rhumatismes, l'ischémie cérébrale, les cancers, et les infections bactériennes et virales (Kharrassi, 2015), anti-ulcère, cicatrisant, antirides (elle contient la vitamine E) (Aitougueni et Ben Hamma, 2015 ; Yang *et al.*, 2008).

Dans la médecine traditionnelle, l'espèce *Opuntia ficus indica* a été utilisée pour le traitement des brûlures, des œdèmes, de l'hyperlipidémie, de l'obésité et de la gastrite catarrhale (Kharrassi, 2015).

Les fleurs sont utilisées à des fins médicinales. En effet, les capsules des corolles des fleurs séchées sont utilisées comme remède du dysfonctionnement de la prostate (hypertrophie bénigne de la prostate), et aussi comme régulateur diurétique. En Sicile, le thé préparé avec les fleurs de l'*Opuntia ficus-indica* est utilisé comme traitement contre les douleurs rénales (Habibi, 2004).

2. Généralités sur graines de *Nigella sativa*

2.1. Origine et Répartition géographique

Du latin *nigellus* "noirâtre", la nigelle nous offre ses petites graines aromatiques menées d'un noir intense communément connues sous le nom de cumin noire, black seed en anglais, *Habbat el baraka* ou encore *El habbah sauda* dans les pays arabes, *Sinouj* en Algérie (Meziti, 2009). Les pays producteurs de la nigelle sont principalement la Syrie, l'Égypte, l'Arabie Saoudite, la Turquie, l'Iran, le Pakistan et l'Inde (Khither, 2011).

2.2. Description botanique

Nigella sativa L est une plante herbacée annuelle de la famille des Renonculacées. Atteignant 30 à 60 cm de haut avec des feuilles linéaires finement divisées. Les fleurs sont délicates et généralement de couleur blanche, jaune, rose, bleu pâle ou pourpre pâle, avec 5 à 10 pétales (Bouaker et Guechiri ,2015).

Les fruits murs constitué de follicules soudés s'ouvrant par une fente interne renferment de nombreuses graines de couleurs noir mat, ovoïdes, mesurant de 2 à 3 mm de long et présentant 3 ou 4 angles. Il est généralement cultivé sur un sol sec entre Novembre à Avril et le graines prendre environ 10-15 jours pour germer (Bennini et Merdaci, 2016).



Figure 2. Les graines de *Nigella sativa* (Benzine, 2014).

2.3. Classification botanique

Selon la classification botanique des Angiospermes de Cronquist (1988) basée sur les critères morphologiques, anatomiques et chimiques, *Nigella* est une plante à graines, donc elle fait partie de l'embranchement des Spermaphytes (Negre, 1962).

Sous règne : Cormophyte ;
Supra embranchement : Rhizophyte ;
Embranchement : Spermaphyte ;
Sous embranchement : Angiosperme ;
Classe : Eudicotylédone ;
Sous classe : Audicots archaïques ;
Ordre : Renonculacées ;
Famille : Renonculacées ;
Sous famille : Helloboroidées ;
Genre : *Nigella* ;
Espèce : *Nigella sativa* L (Benzine, 2014).

2.4. Composition chimique

Les études phytochimiques effectuées pour déterminer la composition chimique et les principes actifs des graines de NS (Khither, 2011).

2.5. Utilisation thérapeutiques de la plante

La Nigelle et ses dérivés possèdent des effets sur l'activité cardio-vasculaire, l'activité hypocholestérolémiant et hypolipémiant, l'activité antibactérienne, l'activité antiparasitaire, l'activité antidiabétique, l'activité antitumorale, l'activité antiulcéreuse, l'activité sur la réponse immunitaire et l'activité hépato-protecteur (Bennini et Merdaci, 2016).

En Algérie, la nigelle cultivée (confondue avec *Nigella damascena*) est employée en cas de fièvre, d'algies dentaires, de maux de tête, comme diurétique et emménagogue. En infusion, elle est indiquée dans les nausées, les gastralgies, les vomissements et les coliques. Écrasées dans l'huile, les graines sont employées comme liniment contre les rhumatismes. Efficaces contre la constipation et les céphalées (Khither, 2011).

Partie Expérimentale

Chapitre 3

Matériel et méthodes

1. Présentation de la zone d'échantillonnage

La wilaya de Batna est située au nord-est de l'Algérie, dans la région des Aurès. Le territoire de la Wilaya de Batna s'inscrit presque entièrement dans l'ensemble physique constitué par la jonction de deux Atlas (Tellien et saharien), ce qui représente la particularité physique principale de la Wilaya et détermine, de ce fait, les caractères du climat et les conditions de vie humaine. Elle se localise à 410 KM d'Alger et s'élève à plus de 900 m du niveau de la mer. Elle est délimitée :

- Au nord, par la Wilaya de Mila ;
- Au nord-est, par la wilaya d'Oum-El-Bouaghi ;
- A l'est, par la Wilaya de Khenchela ;
- Au sud, par la Wilaya de Biskra ;
- A l'ouest, par la Wilaya de M'Sila ;
- Au nord-ouest, par la wilaya de Sétif. (Anonyme, 2017)



Figure 3. Carte de situation géographique de la ville de Batna (ANDI, 2013).

2. Le climat

Le Climat de la ville de Batna est celui d'une région semi-aride. La température moyenne est de 4°C en janvier et de 35°C en juillet. Durant l'hiver la température descend en dessous de zéro la nuit avec souvent des gelées (présence de verglas sur les chaussées). Durant l'été la température peut atteindre les 45°C à l'ombre. La pluviométrie moyenne est de 210 mm par an, alors que la neige très rare, ces dernières années, ne fait son apparition que pendant quelques jours seulement (ANDI, 2013).

3. Végétation naturelle

Les principales formations sylvatiques sont à base de cèdre de l'Atlas (*Cedrus atlantica*) pur ou mélangé avec le Houx (*Ilex aquifolium*) ou chêne vert (*Quercus ilex*). Ce dernier présente des peuplements purs ou mélangé avec le genévrier rouge (*Juniperus phoenicea*) ou le frêne épineux (*Fraxinus dimorpha*). Notons aussi la présence importante de peuplements reliques de pin d'Alep (*Pinus halepensis*). Au parc national de Belezma, un nombre de 447 espèces de végétaux est recensé, dont 9 espèces endémiques, 18 espèces protégées, 14 espèces assez rares, 21 espèces rarissimes, 19 espèces rares, 62 plantes médicinales et 29 espèces de champignons. (Anonyme, 2005)

4. Enquête ethnobotanique

L'étude ethnobotanique est effectuée suite à une série d'enquêtes réalisées à l'aide d'un questionnaire préétabli (**Annexe E**), comportant des questions précises sur :

- * L'informateur (Age, Sexe..).
- * L'identité vernaculaire de la plante médicinale.
- *Caractéristiques ethnobotaniques (formes d'utilisation, parties de plantes utilisées ...).
- *Caractéristiques ethnopharmacologiques (mode de préparation, mode d'administration)

Les données recueillies ont été inscrites dans une base de données puis traitées et analysées statistiquement à l'aide du logiciel Excel 2007.

4.1. Mise en place des enquêtes

L'enquête s'est déroulée le mois de Mars 2019, répartie à base de 50 fiches questionnaires, auprès un échantillon au hasard de population. Cette enquête a permis d'interroger 50 personnes (Utilisateurs), de la population (personnes sains ou malades) de Biskra.

5. Etude phytochimique

5.1. Le matériel végétal

5.1.1. Préparation d'extrait aqueux brut de l'OFI

Les cladodes d'*Opuntia ficus indica* L (OFI) ont été récoltés à Manaa (Batna) dans l'Algérie au cours de la période d'octobre 2018. Les cladodes ont été étudiés sans épines ni épiderme; dans ce cas, environ 35% de l'épiderme des deux côtés a été retiré.

Les dimensions physiques moyennes des cladodes sélectionnées étaient de $276,38 \pm 29,62$ mm de long, $132,54 \pm 32,93$ mm de large et $16,9 \pm 6,5$ mm d'épaisseur; nombre d'aréoles $123 \pm 12,77$; la masse initiale était de $451,58 \pm 186,4$ g (annexe A).

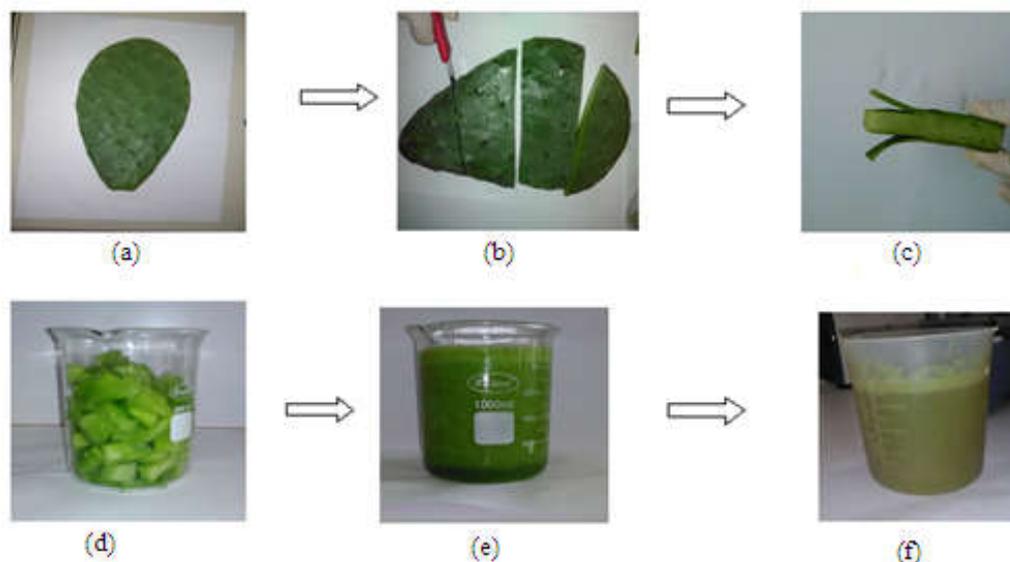


Figure 4 . Préparation d'extrait aqueux brut d' *Obuntia ficus indica* L.

(a) Les cladodes ont été rincés à l'eau distillée.

(b) Coupure du cladode en fragment

(c) L'épiderme des deux cotés à été retire

(d) Chaque fragment a été coupé en petit morceau

(e) Les cladodes pelées ont été pulvérisés à l'aide d'un mélangeur (rotations de 5 minutes effectuées trois fois) jusqu'à consistance,

Les homogénats obtenus ont été stockés à 4°C pour d'autres utilisations.

(f) Environ 100 g du pulvérisé échantillon (extrait du cladodes) a été placé dans un extracteur contenant 20 ml de eau stérile pendant 48 heures.

Le mélange a été chauffé pendant environ 20-30 minutes jusqu'à l'ébullition.

Le mélange a ensuite été laissé refroidir et filtré à travers un Entonnoir de Buchner utilisant une filtration par aspiration. La solution aqueuse extrait brut a ensuite été placée dans un four à 40°C et dispersé pour former un gel épais.

L'extrait a été conservé au réfrigérateur entre 6 et 8°C (Chichonyi Kalungia *et al.*, 2018).

5.1.2. Préparation d'extrait aqueux brut du NS

Les graines de *N. sativa* ont été achetées chez une herboristerie locale (octobre 2018), Batna (Algérie), puis identifiée par botaniste Mr. Benmeddour dans Université Mohamed Khider de Biskra.

Décoction en milieu aqueux

- Mélanger 5g de la poudre de N.S avec 100 ml d'eau potable
- Chauffer le mélange (bouillir) pendant 10 min
- Filtrer et récupérer le filtrat (Abdelmeguid *et al.*, 2010)

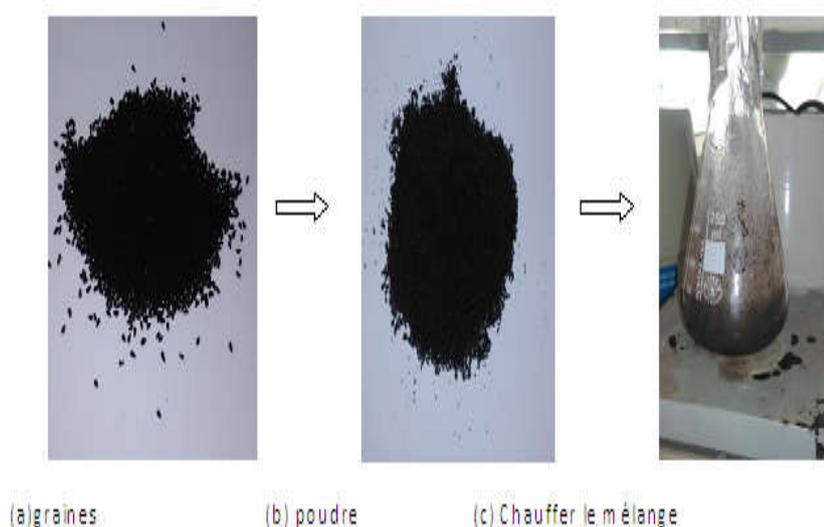


Figure 5. Préparation d'extrait aqueux brut du *Nigella Sativa* ((a)graines (b) poudre (c) Chauffer le mélange).

5.2. Etude phytochimique

Les tests phytochimiques ont été réalisés sur l'extrait préparé des deux plantes (OFI ; NS) en milieu aqueux par des techniques de caractérisation qualitatives et quantitatives, selon les méthodes :

5.2.1. Dosage qualitatif

Nous avons caractérisé la présence ou l'absence des métabolites secondaires (Alcaloïdes, Flavonoïdes, Tanins, Composés réducteurs, Stérols, Phénols, Quinones libres, Saponines, des Terpénoïdes, Amidon, Mucilages).

5.2.1.1. Test des alcaloïdes

L'extrait aqueux brut (2 ml) a été mesuré dans un tube, 2 ml d'acide chlorhydrique dilué (HCl) ont été ajoutés. La solution a été bien agitée et filtrée.

Le test de Wagner: quelques gouttes de réactif de Wagner (une solution d'iode dans l'iodure de potassium) a été ajoutée au filtrat, la formation d'un précipité brun rougeâtre indique la présence des alcaloïdes (Chichonyi Kalungia *et al.*, 2018).

5.2.1.2. Test des stérols

Test de Liebermann (A): Deux millilitres d'acide acétique et 2 ml du chloroforme ont été ajoutés à 2 ml d'extrait aqueux brut. Le mélange a été refroidi et ajouté à l'acide sulfurique concentré (H₂SO₄). Une couleur verte était indicative de la présence de glycosides stéroïdiens.

Test de Salkowski (B): Deux millilitres d'extrait aqueux brut a été traité avec 2 ml de H₂SO₄ concentré. La Formation d'une couleur brune rougeâtre dans la couche inférieure indique la présence des stérols (Chichonyi Kalungia *et al.*, 2018).

5.2.1.3. Les substances polyphénoliques

➤ Test des phénols

Test au chlorure ferrique: à 2 ml d'extrait aqueux brut, quelques gouttes de la solution de chlorure ferrique diluée (fer III) étaient ajoutée. La Formation d'une couleur rougeâtre, verte ou violette a indiqué la présence de phénols (Chichonyi Kalungia *et al.*, 2018).

➤ Test des tanins

La présence des tannins est mise en évidence en ajoutant dans un tube à essai 2 ml de la solution à tester, on ajoute 2 à 3 gouttes d'une solution aqueuse de chlorure de fer FeCl₃ à 1%. Un test positif est révélé par l'apparition d'une coloration bleu-noire (tannins galliques) ou bleu- verte (tannins cathéchiqes) (Karumi *et al.*, 2004).

➤ Test des flavonoïdes

Test de réactif alcalin: Deux millilitres de solution aqueuse brut a été traité avec 2 ml de la solution d'hydroxyde de sodium à 2,0% (NaOH). Une couleur jaune intense a été produite, qui devient incolore à l'addition de 2 gouttes d'HCl dilué. Ceci indique la présence des flavonoïdes (Chichonyi Kalungia *et al.*, 2018).

➤ Quinones libres

Sur un volume de chacun de nos extraits, on ajoute quelques gouttes de NaOH 1%.

L'apparition d'une couleur qui vire au jaune, rouge ou violet indique la présence des quinones libres (Oloyede, 2005).

5.2.1.4. Test des saponines

Leur présence est déterminée par le calcul de l'indice de mousse. **1 ml** d'eau distillée est ajouté à **2 ml** au décocté, bien agité le tout pendant 2min. Après un repos de 15 min en position verticale, on mesure la hauteur de la mousse persistante en cm (Dohou *et al.*, 2003).

S'il n'y a pas de mousse : test négatif (-)

Si la hauteur de la mousse est de 1 cm d'épaisseur : test faiblement positif (+)

Si la hauteur de la mousse est de 1 cm à 2 cm d'épaisseur : test positif (++)

Si la hauteur de la mousse est de plus de 2 cm d'épaisseur : test fortement positif (+++)

5.2.1.5. Test des sucres réducteurs (glucides)

Leur détection consiste à traiter 1 ml de l'extrait aqueux avec de l'eau distillée et 20 gouttes de la liqueur de Fehling puis chauffer. Un test positif est révélé par la formation d'un précipité rouge brique (Trease et Evans, 1987).

5.2.1.6. Test des Terpénoïdes : Test de Slakowski

Dans un tube à essai, ajouter à **2,5ml** d'extrait, **0,4ml** de chloroforme et **0,6ml** d'acide sulfurique concentré. La formation d'un anneau marron-rouge à l'interphase indique la présence des terpénoïdes (Trease et Evans, 1989).

5.2.1.7. Test d'Amidon

On chauffe **5 ml** de l'extrait aqueux avec **10 ml** d'une solution de **NaOH** saturée dans un bain marie jusqu'à l'ébullition. Ajouter ensuite le réactif d'amidon. (**Annexe B**). Un test positif est révélé par l'apparition d'une coloration **bleue-violacé** (Bruneton, 1999).

5.2.1.8. Test des Mucilages

À 1 ml de la solution à analyser, on ajoute 5ml d'alcool absolu. L'apparition d'un précipité floconneux montre la présence de mucilage (Adiaratou, 2001).

5.2.2. Dosages quantitatifs

5.2.2.1. Détermination du rendement

Le rendement désigne la masse de l'extrait déterminée après évaporation du solvant, il est exprimé en pourcentage par rapport à la masse initiale de la plante soumise à l'extraction.

Les pourcentages en extrait brut ont été calculés par la formule suivante :

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

Où:

R (%) : Rendement exprimé en %.

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

M0 : Masse en gramme du matériel végétal à traiter.

5.2.2.2. Dosage des phénols totaux

➤ Principe

Le contenu total de polyphénols a été estimé selon la méthode colorimétrique basée sur le réactif de Folin Ciocalteu. Le réactif est formé d'acide phosphotungestique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_4$), qui sont réduits lors de l'oxydation des phénols en oxydes bleus de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_3) (Boizot et Charpentier, 2006).

L'intensité de la coloration produite est proportionnelle à la quantité des polyphénols présents dans l'extrait analysé mesurable dans le visible à une longueur d'onde de l'ordre 765 nm.

➤ Mode opératoire

Les ont été déterminés en suivant le protocole réalisé par (Khady *et al.*, 2010).

Brièvement, 200 μ l de l'extrait (dissous dans l'eau distillée) est ajouté à 1 ml du réactif de Folin Ciocalteu (dilué 10 fois par l'eau distillée). Après 4 min, 800 μ l de carbonate de sodium à 7,5% $Na_2 CO_3$ sont ajoutés, après agitation, l'ensemble est incubé à l'ombre pendant 2 heures. L'absorbance est lue à 765nm par un spectrophotomètre.

La concentration des polyphénols totaux est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage ($y = ax + b$), établie avec des concentrations précises d'acide gallique (0-200 μ g /ml). La préparation de la solution mère d'acide gallique 1 mg dans 1ml d'eau distillé (v/v). Les résultats sont exprimés en milligramme d'équivalent d'acide gallique par un gramme de l'extrait (mg EAG/g d'extrait).

5.2.2.3. Dosage des flavonoïdes

Principe

La formation d'une liaison covalente entre le trichlorure et groupements hydroxyles (OH) des flavonoïdes produise un complexe de couleur jaune ayant une absorbance maximale à 430 nm (Rezzaghi, 2012).

Mode opératoire

La teneur en flavonoïdes des extraits bruts aqueux a été déterminée spectrophotométriquement selon la méthode de trichlorure d'aluminium $AlCl_3$ décrite par (Djeridane *et al.*, 2006) avec des modifications : Le chlorure d'aluminium forme des complexes jaunâtres avec les atomes d'oxygène présents sur les carbones 4 et 5 des flavonoïdes.

Brièvement, 1 ml de l'échantillon (préparé avec les dilutions convenables) est ajouté à 1 ml de la solution d' $AlCl_3$ (2% dans le méthanol), le mélange est vigoureusement agité.

Après 10 min d'incubation, à température ambiante et à l'abri de la lumière, l'absorbance est lue à 430 nm.

Une courbe d'étalonnage ($y = ax + b$) établie par la quercétine, réalisée dans les mêmes conditions opératoires que les échantillons, servira à la quantification des flavonoïdes. La teneur en flavonoïdes est exprimés en milligramme équivalent de quercétine par gramme d'extrait (mg EQ/ g).les concentrations des flavonoïdes sont exprimées en microgramme d'équivalent de quercétine par un milligramme d'extrait sec (μg EQ/mg d'extrait).

6. Etude biologique

6.1. Activité antidiabétique

6.1.1. Matériel animal

6.1.1.1. Conditions d'élevage

L'étude a été réalisée sur des souris (*Wistar Albinos*), femelles, produits au niveau de l'institut pasteur d'Alger (centre d'élevage de Kouba-Alger). Le commande de souris reçu le 25 octeuber 2018.

32 souris albinos adultes en bonne santé pesant entre 30 et 34 g. Les animaux ont été logés dans des cages et maintenu dans des conditions standard et la température ambiante. Les animaux ont été nourris avec un culot de souris standard alimentation et fourni de l'eau à travers le période expérimentale. Tous les animaux ont été autorisés à s'acclimater aux conditions de laboratoire avant expérimentation. Tous les animaux ont été autorisés à s'acclimater aux conditions de laboratoire pendant 7 jours avant expérimentation (Chichonyi Kalungia *et al.*, 2018).

6.1.2. Méthodes

6.1.2.1. Protocole expérimental

Les souris ont été divisées en 4 lots de huit souris par cage (TS, TNT, OFI, NS).

Pour faire un suivi de chaque souris femelle durant la manipulation, les animaux de tous les lots ont été marqués à l'aide de feutres permanents.

6.1.2.2. Traitement des animaux

- **Induction de l'hyperglycémie persistante (diabète sucré) chez les souris**

Les 32 souris ont été mises à jeun pendant la nuit. Une persistance état hyperglycémique (diabète type 2) chez les souris a été induite en utilisant monohydrate d'Alloxane (Sigma-Aldrich, St. Louise, États-Unis) administré par voie intrapéritonéale à une dose unique ou répétée (pour induire le diabète chez les souris résistants) de 150mg / kg poids corporel. La matière à injecter a été préalablement dissoute dans de l'eau physiologique à 0,9%.

Animaux avec une glycémie de base niveau constamment supérieur à 120 mg /dl après 48 à72 heures considéré comme ayant développé une hyperglycémie persistante et ont été inclus dans l'expérience. Après 48à72 heures, les souris diabétiques ont ensuite été divisées au hasard en 3 différents groupes expérimentaux avec chaque groupe contenant au moins 8 souris (Chichonyi Kalungia *et al.*, 2018).



Figure 6. Induction du diabète par injection par voie intrapéritonéale (originale).

- **Administration de l'extrait**

Durant la période de manipulation, les 2 lots OFI, NS, sont traités deux fois par jour, par voie orale, par la dose de 200 mg /kg de la plante.



Figure 7. Introduction de l'extrait par gavage (originale).

6.1.2.3. Détermination des poids corporels

Les poids des souris femelle ont été mesurés à des moments fixes tous les trois jours, du jour J1 (début de l'expérience) jusqu'au 21ème jour (décapitation des souris). Au total 7 mesures de poids ont été effectuées.

6.1.2.4. Détermination de la glycémie

Pendant la période de manipulation (de J1 à J19), 10 glycémies ont été mesurées. La première a été effectuée dans le but de vérifier l'installation du diabète chez les lots traités par l'Alloxane en prenant comme référence de glycémie normale : la glycémie du lot TS (avant le début du traitement). Elle a été mesurée à jeun, 72 h après l'administration du produit diabétogène (Sabu *et al.*, 2002). Si pendant cette période, le test est positif (la maladie est installée), on commencera alors la manipulation le même jour (temps $t = 0$ de la manipulation) ; sinon on réinjecte l'Alloxane jusqu'à installation du diabète. Après cette mesure de la glycémie, 8 autres ont été mesurées tous les 2 jours et à des horaires fixes à l'aide de glucomètre à bandelettes ACCU-CHEK Active.

Le sang est prélevé à partir de la veine caudale des souris femelles et cela en effectuant une petite incision dans la partie distale de la queue. Après chaque opération établie, la queue

(BVA, FRAME, BSPCA, UFAW, 1993) de l'animal doit être désinfectée à l'aide de coton imbibé de Bétadine. La 10^{ème} mesure de la glycémie a été effectuée le 21^{ème} jour par dosage colorimétrique et cela après sacrifice des animaux.



Figure 8. Mesure le taux de glycémie (originale).

6.2. Sacrifice et préparation des prélèvements

6.2.1. Sacrifice et prélèvement sanguin

A la fin du traitement et au 21^{ème} jour (16 avril à 7 mai), les souris femelles sont sacrifiées le matin à jeun et à la même heure choisie pour mesurer la glycémie par bandelettes ACCU-CHEK, tous les souris femelles de tous les lots ont été décapités à l'aide de lames bistouri stériles. Après chaque décapitation, le sang est prélevé dans des tubes héparines et tout de suite centrifugé à 3000 tours / min pendant 10min. Le plasma récolté a été servi pour doser les paramètres biochimiques.



Figure 9.Sacrifice et prélèvement sanguin (originale).

6.2.2. Dissection et prélèvement des organes

Après le sacrifice, on procède à une dissection des souris femelles dans le but de prélever certains organes : Le foie, le pancréas, les reins, la rate et le cœur. Ces organes sont pesés à l'aide d'une balance précis.



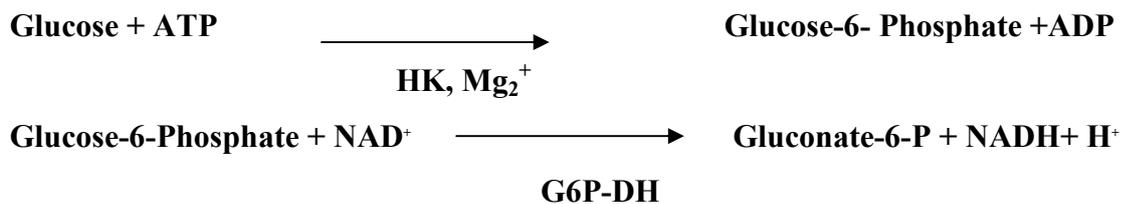
Figure 10.Dissection et prélèvement des organes (originale).

6.2.3. Dosage des paramètres plasmatiques

Tous les paramètres plasmatiques ont été dosés grâce à l'automate **KENZA 240 TX**

• Glucose

Le glucose est phosphorylé par l'action de l'hexokinase (HK) en présence d'adénosine triphosphate (ATP) et d'ions Mg_2^+ pour produire du glucose 6- phosphate et de l'adénosine diphosphate (ADP). Le glucose-6-phosphate déshydrogénase (G6P-DH) oxyde le glucose-6-déshydrogénase (G6P-DH) oxyde le glucose-6-phosphate de façon spécifique pour produit duproduire du gluconate-6-phosphate. Le NAD^+ est simultanément réduit en NADH. L'augmentation de l'absorbance à 340 nm est proportionnelle à la concentration en glucose de l'échantillon (Teuscher et Richterich, 1971; Braham et Trinder, 1972).

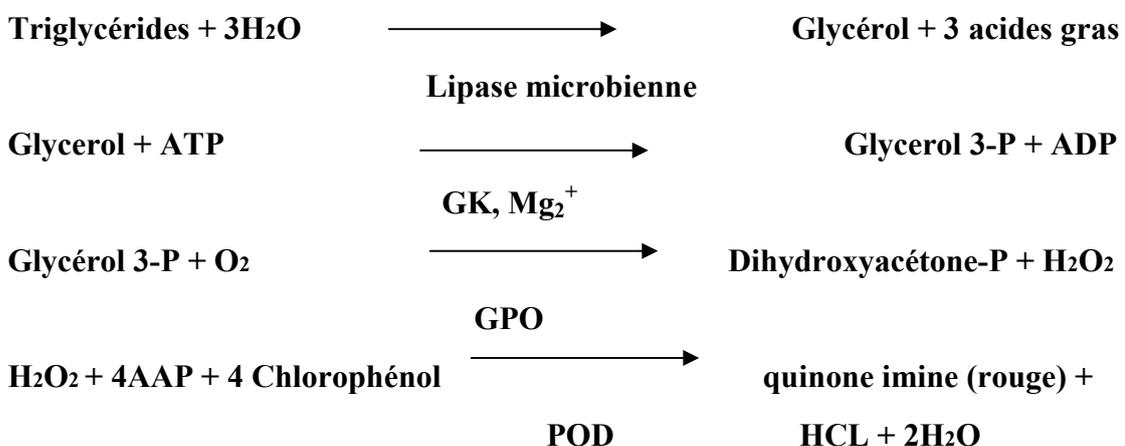


• Cholestérol Total

La méthode utilisée pour mesurer le taux de cholestérol dans un échantillon est une méthode enzymatique. Au cours de la procédure, les esters de cholestérol de l'échantillon sont hydrolysés par la CHE. Le cholestérol libre produit, est oxydé par la CHO pour former du cholestène-3-One, avec production simultanée de H_2O_2 qui s'allie par oxydation avec la 4-AA et le phénol en présence de la POD et produit un groupement chromophore (la quinonéimine) dont l'augmentation de l'absorbance à 540/600 nm peut être mesurée par spectrophotométrie (Allain *et al.*, 1974).

• Triglycérides

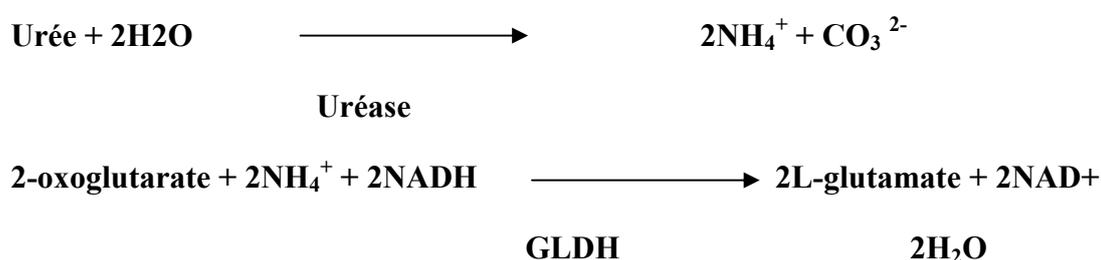
La méthode du dosage est basée sur une série de réactions enzymatiques couplées :



L'absorbance du complexe coloré (quinoneimine) est maximale à 500 nm. L'augmentation de l'absorbance est proportionnelle au contenu en triglycérides de l'échantillon (Jacobs et VanDenmark, 1960).

- **Urée**

L'urée est hydrolysée en présence d'H₂O et d'uréase. Cette réaction produit de l'ammoniaque et du dioxyde de carbone. L'ammoniaque produit, se lie au 2-oxoglutarate et au NADH en présence de la GLDH pour former du glutamate et du NAD⁺. La baisse de l'absorbance du NADH par unité de temps est proportionnelle à la concentration en Urée (Thomas, 1998).



- **Créatinine**

Dans un milieu alcalin, la créatinine forme avec l'acide picrique un composé de couleur jaune orangé. L'importance de l'absorbance à 520 / 800 nm est proportionnelle à la concentration en créatinine de l'échantillon (Newman et Price, 1999).



6.3. Collecte de données

Les données pour le criblage phytochimique ont été collectées par enregistrer les résultats de test et les observations respectifs (**Tableau 4**). Dans chaque animal, le niveau de glycémie dans le sang était mesuré et enregistré sur une feuille d'entrée des données pendant 21 jours.

6.4. L'analyse des données

Données expérimentales normalement distribuées pour chaque groupe a été exprimée comme la moyenne \pm SD. Un test t apparié était utilisé pour comparer les niveaux moyens de glucose dans le sang au sein des groupes avant et 72 heures après l'administration d'Alloxane, alors qu'un Test d'échantillons indépendants. Analyses statistiques ont été menées en utilisant SPSS pour les tests statistiques, une valeur p inférieure à 0,05 était considéré comme statistiquement significative avec un degré d'intervalle de confiance 95%.

6.5. Considérations éthiques

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

Chapitre 4

Résultats et discussion

1. Enquête ethnobotanique

Une enquête ethnobotanique réalisée dans la région de Biskra du 1 mars au 30 mars 2019 a permis d'inventorier deux plantes utilisées dans le traitement traditionnel du diabète.

L'information ethnobotanique rassemblée chez les populations, a été inscrite sur des fiches de données brutes puis traitée et analysée pour obtenir des données standardisées portant sur les aspects suivants :

- ✚ Selon l'âge.
- ✚ Selon sexe.
- ✚ Selon niveau d'étude.
- ✚ Origine de l'information.
- ✚ Selon parties utilisées.
- ✚ Selon mode de préparation.
- ✚ Selon mode d'administration.
- ✚ Selon les maladies traitées.

1.1. Analyse des données concernant le profil de l'informateur

1.1.1. Selon l'âge

Notre étude se touche tous les niveaux d'âge de la région.

la tranche la plus dominante [20-30] représente 32 % ensuite devient la tranche de [40-50] représentant 18% et les deux tranches de [30-40] et [50-60] avec 16% ainsi que la tranche des personnes âgés >60 avec 12%, et finalement la tranche <20 qui représente le taux le plus faible avec un taux de 6%.

Le traitement des données nous a permis d'obtenir le graphique de la **Figure 11**.

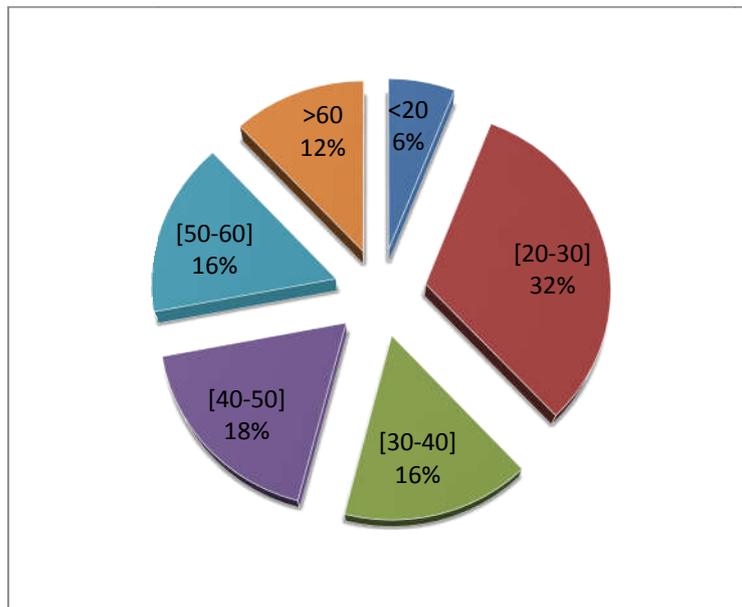


Figure 11. Répartition de la fréquence d'utilisation des plantes médicinales par classe d'âge dans la région de Biskra.

1.1.2. Selon sexe

Dans la zone d'étude, on a remarqué que les femmes ont une connaissance relativement élevée sur les plantes médicinales et les utilisent beaucoup plus que les hommes, soit 56% contre 44% (**Figure12**). Cela est dû au fait que les femmes profitent mieux des vertus médicinales pour traité les maladies.

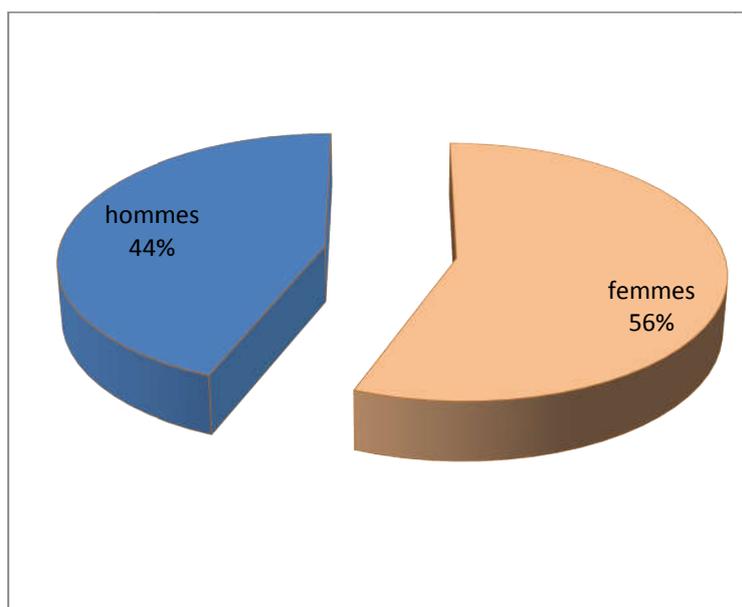


Figure 12. Représentation statistique descriptive des résultats d'enquête ethnobotanique selon le sexe.

1.1.3 Selon niveau d'étude

Dans la zone d'étude en générale, la grande majorité des utilisateurs des plantes médicinales ont un niveau universitaire, avec un pourcentage de 42%, suivi par Les personnes analphabètes avec un pourcentage de 40 %, primaire et enfin secondaires avec des pourcentages (10 et 8%) respectivement.

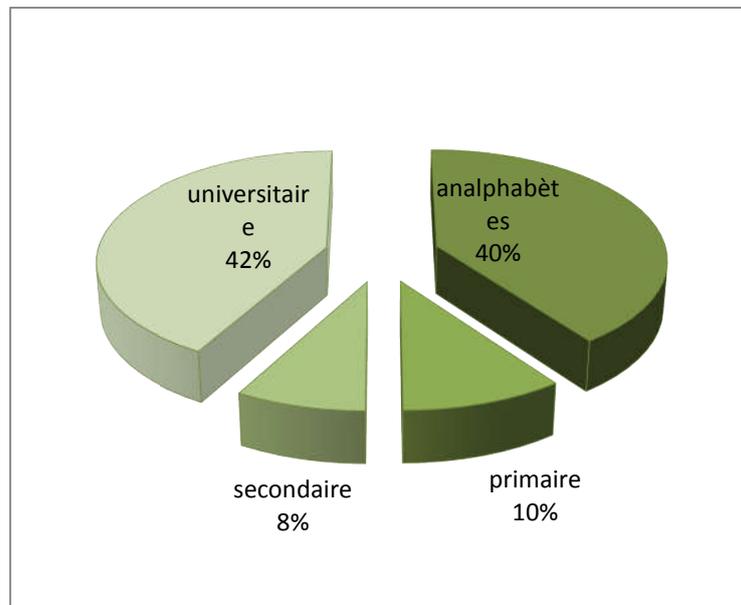


Figure 13.Répartition des informateurs selon le niveau de scolarisation

1.1.4. Origine de l'information

Notre fiche ethnobotanique montre que la plupart de la population leurs informations sont basée sur les expériences des autres par 40% suivi par les informations obtenue par Achab 24 % ensuite on a des informations devient de lecteur avec 22% enfin les informations qui sont portées par les personnes médicales sont 14%

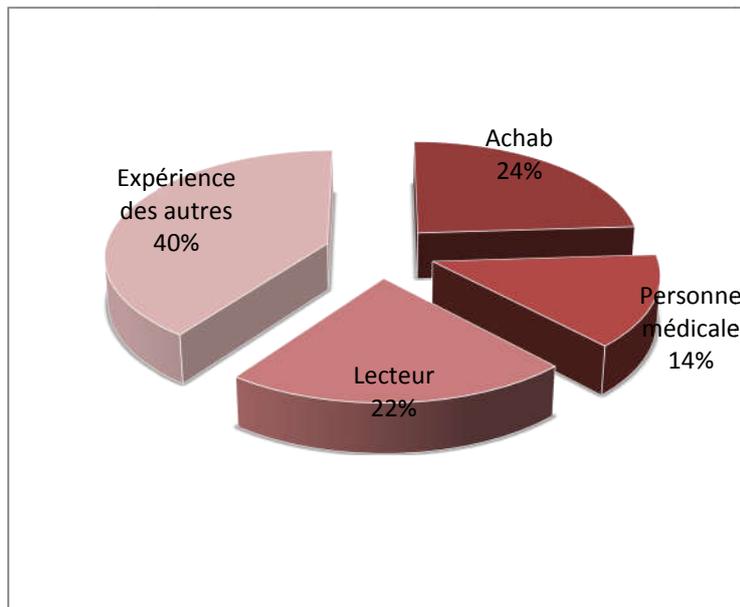


Figure 14. Répartition des informateurs selon l'origine de l'information.

1.1.5. Selon parties utilisées

Dans notre étude nous avons trouvé que l'utilisation des graines de la nigelle est à 100%.

Pour OFI les feuilles, les fruits et les graines sont les organes les plus utilisés dans les préparations traditionnelles des plantes avec un taux de 56%, 36%, 8% respectivement (**Figure15**). Cela est dû à la disponibilité de la plante et la partie utilisée dans la préparation préconisé selon les ancêtres.

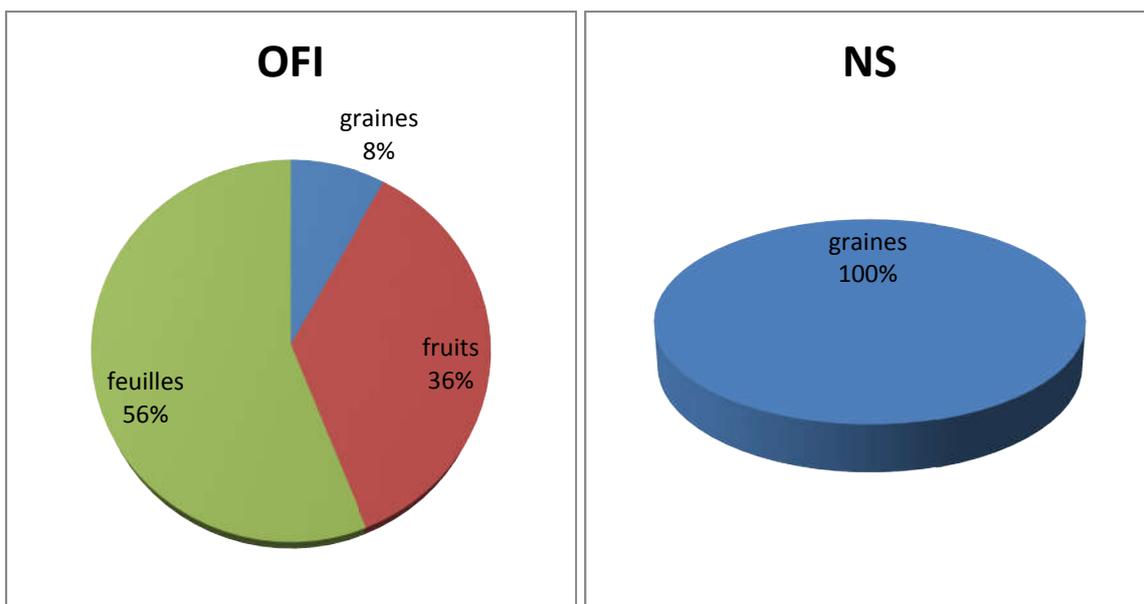


Figure 15. Représentation statistique descriptive des résultats d'enquête ethnobotanique selon la partie utilisée.

1.1.6. Selon mode de préparation

D'après l'enquête le mode de préparation de la plante varie en fonction de l'efficacité du mode vis à vis la plante.

Pour NS l'utilisation la plus fréquente est en poudre avec du Miel (34%), ensuite en poudre avec un liquide (lait, jus...), (32%), en forme de décoction avec 24%, et enfin comme une huile avec 10 %

Pour OFI le mode d'utilisation le plus dominant est comme un extrait aqueux 60% suivi par l'emploi comme une huile et à son état Natural avec 14%, enfin la tranche de 12% représente les personnes qui ignorent ses effets médicamenteux.

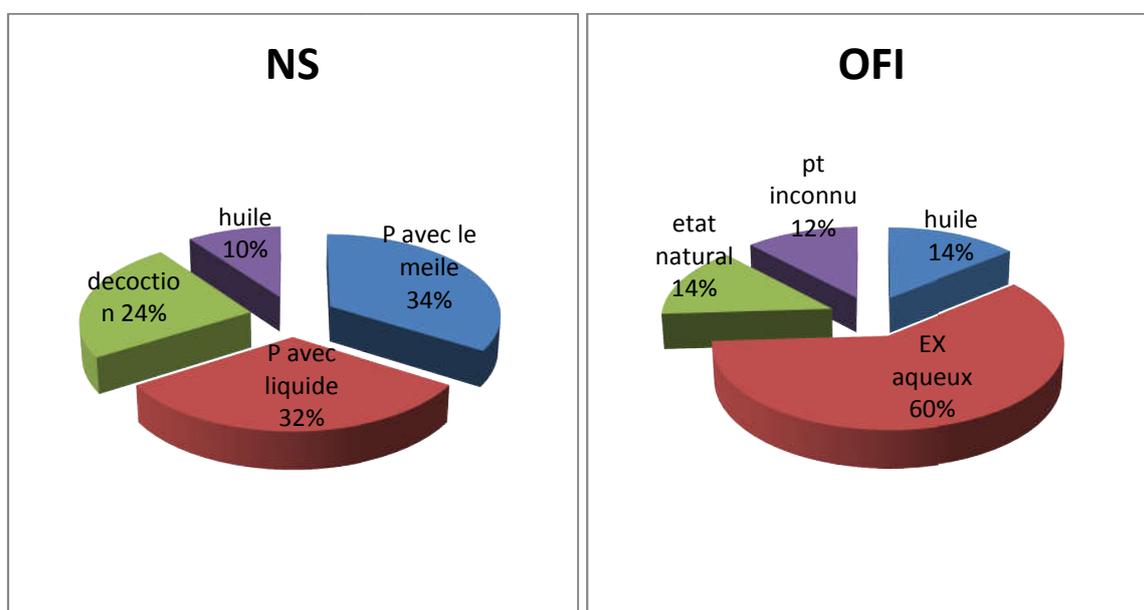


Figure 16. Représentation statistique descriptive des résultats l'enquête ethnobotanique selon le mode de préparation.

1.1.7. Selon mode d'administration

Le mode d'administration des plantes médicinales est varié selon les connaissances

Pour la nigelle l'administration sera globalement en voie oral (92%), Ensuite administré comme une pommade pour la peau avec un pourcentage faible de 8 %.

Pour OFI est administré en voie orale à 60%, ensuite utilisée en l'esthétiques (la peau, les cheveux, gommages ...) avec 28%, enfin la tranche de 12% représente les personnes qui ignorent ses effets médicamenteux.

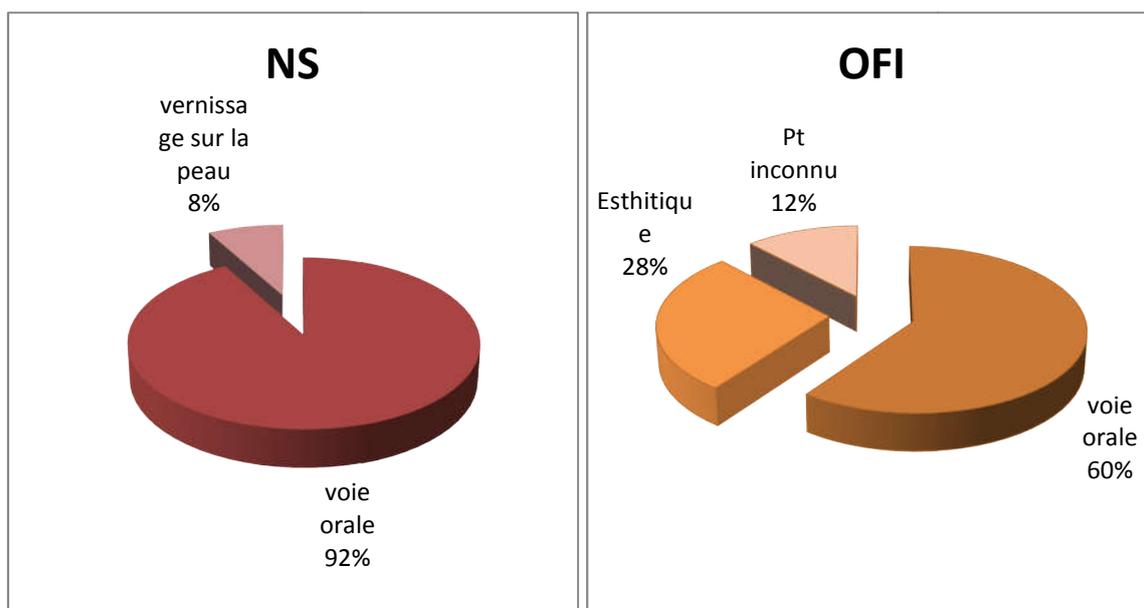


Figure 17. Représentation statistique descriptive des résultats l'enquête ethnobotanique selon le mode d'administration.

1.1.8. Selon les maladies traitées

L'utilisation et largement rependue de ses plantes médicinales pour traiter plusieurs maladies.

Tableau 1. L'utilisation thérapeutique des plantes étudiées.

| Les maladies | OFI% | NS% |
|----------------------|------|------|
| Diabète | 13,4 | 9,28 |
| cancer | 3,09 | 2,06 |
| Anémie | 3,09 | 1,03 |
| Rhumatisme | 4,12 | 0 |
| Asthme | 2,06 | 4,12 |
| aide au sommeil | 0 | 2,06 |
| Diarrée | 1,03 | 7,22 |
| Renforcer la mémoire | 0 | 2,06 |
| Esthétiques | 4,12 | 8,24 |
| Stress | 0 | 4,12 |
| Grippe | 0 | 5,15 |
| Douleurs articulaire | 1,03 | 0 |
| Immunitaire | 0 | 3,09 |
| Tube digestif | 5,15 | 4,12 |
| Cholestérolémie | 3,09 | 2,06 |
| cardiovasculaire | 2,06 | 3,09 |

2. Etude phytochimique

2.1. Analyse dosage qualitatif

Les résultats de la mise en évidence de quelques métabolites secondaires dans les deux plantes *Opuntia ficus indica* L et *Nigella sativa*: des polyphénols, des flavonoïdes, des tanins et des saponines se traduisent dans le tableau ci-dessous :

Tableau 2. Résultat des tests phytochimique de quelques métabolites secondaires de l'extrait aqueux du *Opuntia ficus indica* L et *Nigella sativa* L.

| Test | | plante | <i>Opuntia ficus indica</i> L | <i>Nigella sativa</i> L |
|---------------------------------|---|--------|-------------------------------|-------------------------|
| Alcaloïdes | | | - | ++ |
| les stérols | A | | +++ | - |
| | B | | +++ | ++ |
| les phénols | | | +++ | +++ |
| les tanins | | | + | ++ |
| les flavonoïdes | | | +++ | +++ |
| Quinones libres | | | +++ | +++ |
| les saponines | | | - | - |
| Terpénoïdes | | | +++ | +++ |
| Amidon | | | - | + |
| Mucilages | | | +++ | - |
| réduction des sucres (glucides) | | | +++ | + |

(-) Absence, (+) Faiblement présence, (++) Moyennement présent, (+++) présence plus importante

On à réalisé des testes phytochimiques pour la détection de la présence des déférentes familles qui sont basées sur des réactions de précipitation ou de coloration par des réactifs spécifiques à chaque famille de chaque composé.

2.1.1. *Opuntia ficus indica* L

Les résultats des études phytochimiques effectuées sur l'extrait Aqueux des cladodes d '*Opuntia ficus indica* L présentent quelques métabolites secondaires (Tanins, flavonoïdes, stérols et triterpènes, Terpénoïdes, mucilages, Quinones libres et sucres réducteurs (glucides)).

Ces résultats sont en accord avec les travaux de Dib *et al.*, (2013) qui confirme la présence des alcaloïdes, tanins, flavonoïdes, stérols, triterpènes et sucres réducteurs dans la même plantes.

De plus, l'analyse phytochimique faite par Chichonyi Kalungia *et al.*, (2018) sur *Opuntia ficus indica* L montre la présence des tanins, flavonoïdes, stérols, triterpènes et sucres réducteurs ,des alcaloïdes, et des terpénoïdes ce qui confirme notre résultats.

2.1.2. *Nigella sativa* L

L'analyse phytochimique réalisée a permis de constater la présence des grands groupes chimiques, les alcaloïdes, les tanins, les flavonoïdes, les stérols et triterpènes Terpénoïdes, Amidon, Quinones libres et sucres réducteurs

Tous ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par Samarakoon, *et al.*, (2010) où l'analyse phytochimique faite sur l'extrait aqueux de la poudre des graines de NS qui a donné des résultats positifs pour les flavonoïdes, les tanins et les triterpènes , stérols, alcaloïdes ,sucres réducteurs et les phénols.

De même, Les résultats des études phytochimiques effectuées par Islam *et al.*, (2012) sur *Nigella sativa* ont permis d'isoler un grand nombre de métabolites secondaires tels que les flavonoïdes, les stérols et triterpènes. Ils confirment aussi l'existence des tanins et les alcaloïdes.

2.2. Analyse dosage quantitatif

2.2.1. Rendement en extraits bruts aqueux

Les résultats obtenus (**figure 18**) montrent que le rendement en extrait aqueux des cladodes d'OFI (75%) se forme de mucilages, par contre celui de l'extrait des graines des NS est à l'ordre (37.4%) qui est en forme de poudre.

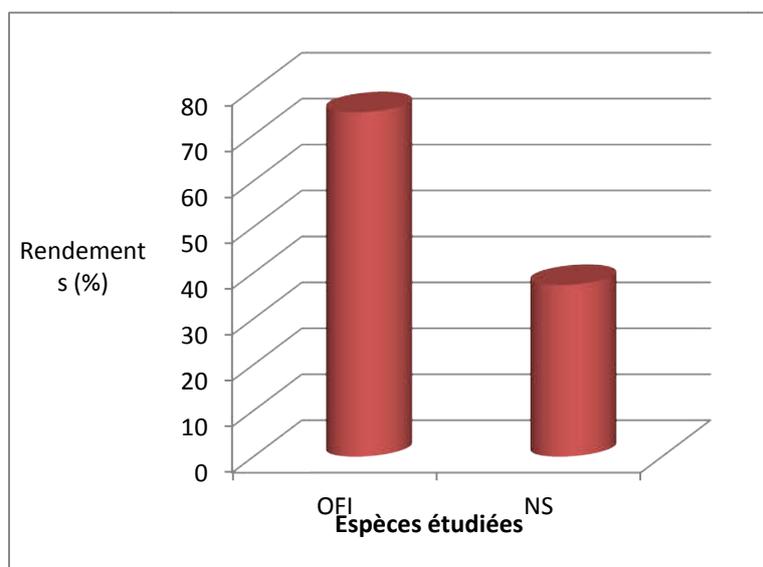


Figure 18 . Rendements (%) en extraits bruts aqueux des espèces étudiées.

2.2.2. Teneur des extraits bruts en phénols totaux

Un dosage des polyphénols totaux, a été effectué afin de caractériser la teneur des extraits aqueux préparés à partir des cladodes d' OFI et graines de NS

Les teneurs en phénols totaux des espèces étudiées ont été déterminées en utilisant le réactif de Folin–Ciocalteu (Khady *et al.*, 2010).

Cette méthode est basée sur la réaction d'oxydoréduction entre les phénols présents dans les extraits et le réactif de Folin– Ciocalte. Une étude comparative en phénols totaux a été faite grâce à une courbe d'étalonnage (**figure 19**). Réalisée avec un extrait d'acide gallique à différentes concentrations. Les valeurs de l'absorbance pour la courbe d'étalonnage de l'acide gallique sont semis dans (**Tableau 2, Annexe B**).

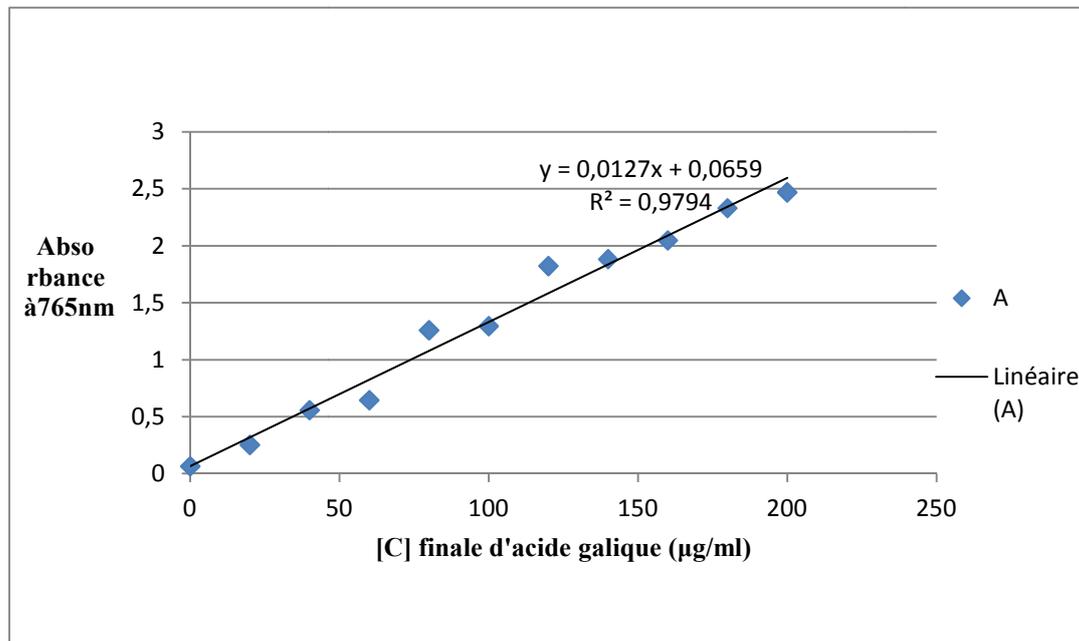


Figure 19 . Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage de phénols totaux.

Le dosage des polyphénols indique la présence de ce métabolite secondaire dans les deux extraits qui a été mesurés à l'aide du réactif de Folin-Ciocalteu ces résultats sont : **149.535 ; 119.078 µg/mg** équivalent en acide gallique pour les deux extraits NS et d'OFI respectivement (**figure20**). Les valeurs de l'absorbance à 765nm des deux plantes étudiées sont semis dans (**Tableau 3, Annexe B**).

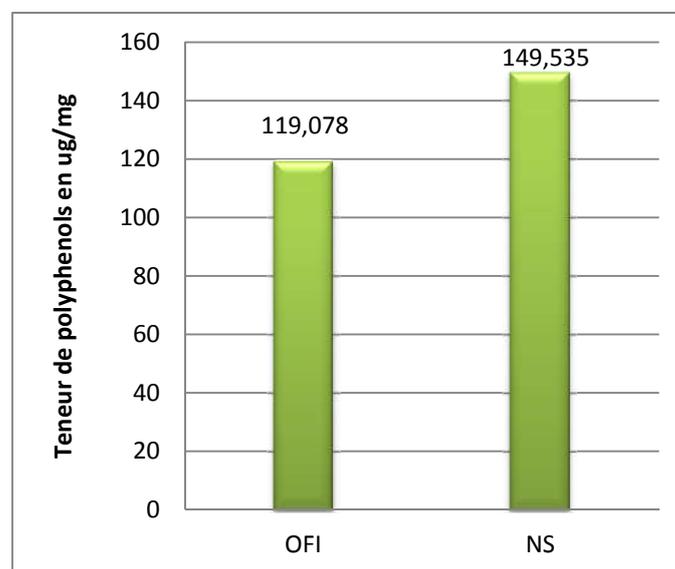


Figure 20. Teneurs en phénols totaux dans les extraits aqueux des deux espèces étudiées.

Ces études sont en accord avec ceux des Aboura *et al .*,(2017) qui ont confirmés la richesse de la plante d'OFI cladodes en polyphénols (6,99 mg de GAE / 100 ml)

Les expériences de Stintzing et Carle (2005) sur le genre *opuntia* donné une valeur de polyphénols inférieure (8 à 9 mg / 100 g de poids frais) à celle de notre étude, ceci est peut être lié au climat de la région ou à la méthode de préparation utilisée qui ne donne pas une composition quantitative complète des extraits.

La comparaison de nos résultats avec ceux trouvés par Dib *et al* (2013) montre la richesse de la plante d'*Opuntia ficus indica* étudié en composés phénoliques (26.7 mg GAE/g DW).

L'extrait aqueux de *nigella sativa* contient une teneur en polyphénols plus faible comparé aux résultats obtenus par les études de Samarakoon, *et al.* (2010) (23.80 ± 4.563 mg GAE/100g \pm SD), ceci est peut être lié au climat de la région ou à la méthode d'extraction utilisée qui ne donne pas une composition quantitative complète des extraits.

2.2.3. Teneur des extraits bruts en flavonoïdes totaux

La teneur en flavonoïdes est quantifiée par la méthode du trichlorure d'aluminium. Les résultats obtenus à partir de l'équation de la droite de régression des droites d'étalonnages (**figure 21**) a été réalisée avec un extrait de quercétine à une longueur d'onde 430 nm. Les Valeurs de l'absorbance de la courbe d'étalonnage de la quercétine sont soumis dans le (**Tableau 4, Annexe B**)

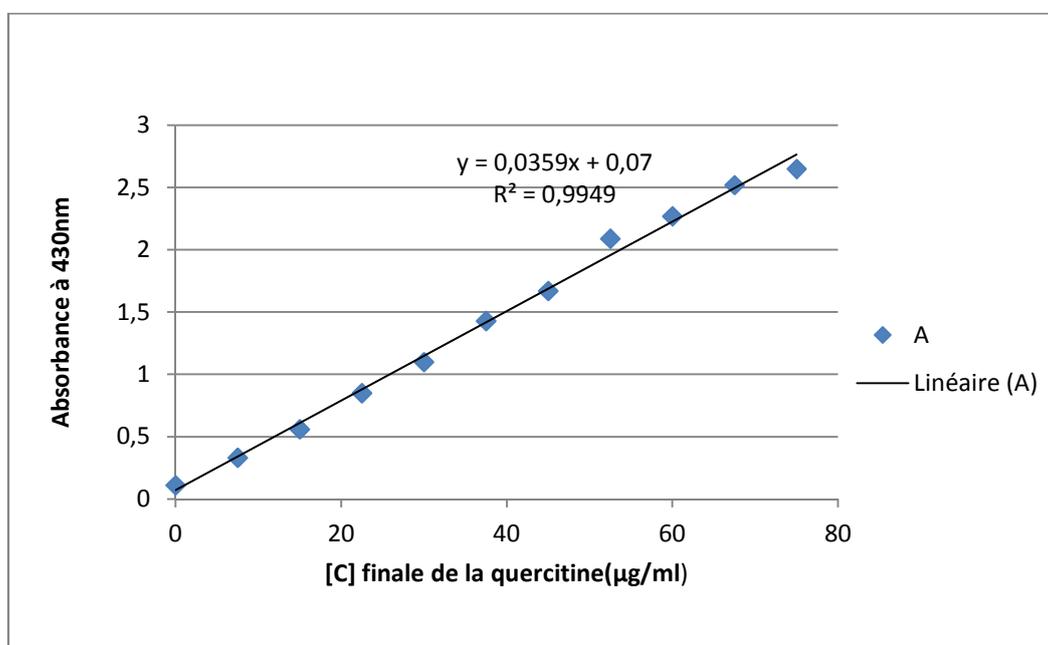


Figure 21. Droite d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonoïdes.

Les teneurs en flavonoïdes correspondantes aux espèces étudiées ont été rapportées en µg équivalent de quercétine /mg (**figure 22**). Les valeurs de l'absorbance à 430 nm sont

soumis dans (**Tableau 5, annexe B**), La courbe d'étalonnage : $y = 0,0359x + 0,07$ avec $R^2 = 0,9949$

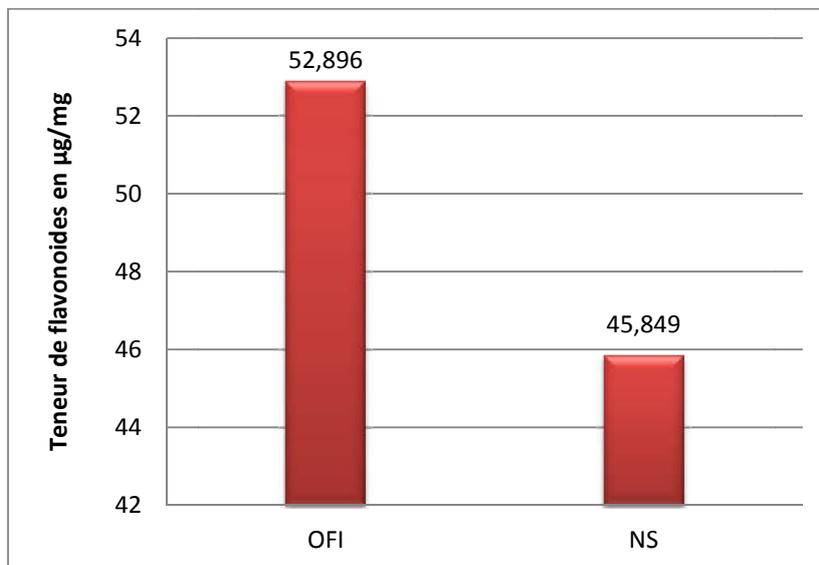


Figure 22. Teneurs en flavonoïdes dans les extraits aqueux des espèces étudiées.

Les résultats obtenus montrent que les concentrations des flavonoïdes dans les deux extraits d'OFI et NS sont respectivement (52.896 et 45.849µg EQ/mg).

Les études de Samarakoon *et al.*, (2010) révèlent une quantité très importante des flavonoïdes totaux à partir de l'extrait aqueux des graines de *nigella sativa* environ 4.566 ± 1.004 (mg QE / 100g \pm SD).

Des études réalisées par Dib *et al.*, (2013) sur l'extrait aqueux des grains d' *opuntia ficus indica* L ont montré une teneur des flavonoïdes égale à 11.86 mg CE/g DW.

3. Etude biologique

3.2. Activité antidiabétique

3.2.1. Étude de paramètres avant sacrifice

3.2.1.1. Détermination des poids corporels

Les résultats des poids corporels du souris femelles sont représentés par (**Annexe C, Tableau 1**) et la **Figure23**.

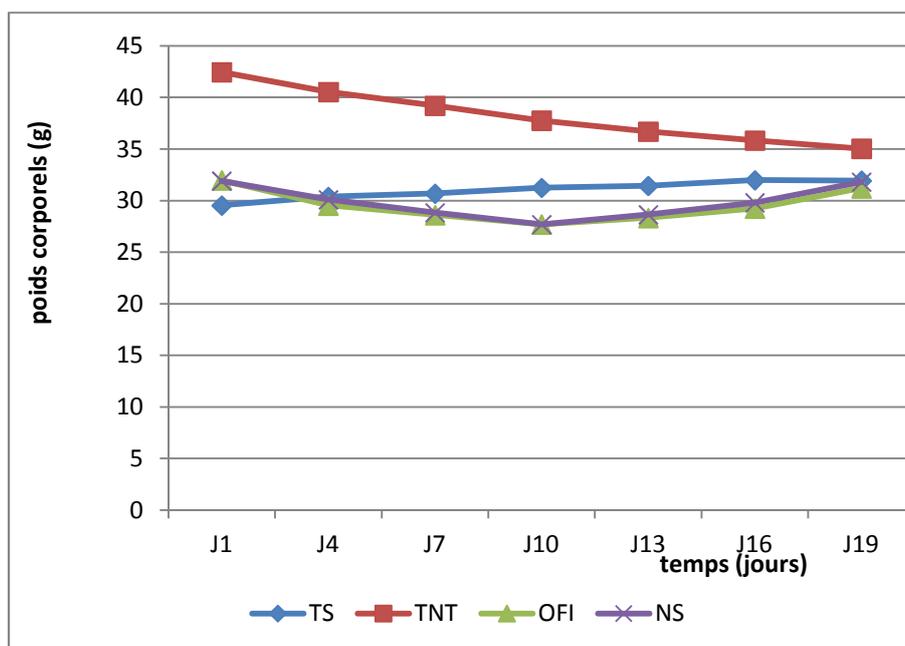


Figure 23. Evolution des poids corporels des différents lots des souris femelles

Les résultats obtenus ont montré que les poids du lot TS sont normaux grâce aux conditions stables d'élevage et de nourriture et à la croissance normale des animaux.

Dans le groupe TNT on observe une diminution du poids corporel tout au long de la période de traitement à cause de catabolisme, plus particulièrement des lipides par lipolyse des tissus adipeux suite à l'insulinodéficience (Vats *et al*, 2004; Oliveira *et al*, 2008).

Le lot NS et OFI montre une perte des poids corporels des souris femelles pendant la période de J1 à J10 par rapport au lot sain TS. Après J10 on remarque une augmentation remarquable jusqu'à le dernier jour de traitement.

Pour OFI selon Yang, 2008 dit qu'Après l'administration de POMC, l'apport alimentaire des rats diabétiques induits par la streptozotocine était même supérieur à celui du groupe témoin, en particulier aux troisième et quatrième semaines. Le poids corporel du groupe I a augmenté régulièrement, passant de $31,1 \pm 1,7$ g à $41,6 \pm 2,3$ g au cours de la période de quatre semaines. Le groupe témoin (non traité) a présenté une légère diminution du poids corporel de $31,6 \pm 1,9$ g à $26,9 \pm 2,6$ g. Le groupe témoin positif, En comparant les données des groupes IV, V et VI, aucune différence significative ($P < 0,05$) n'a été observée entre eux (pour groupe VI diminue de $31,2 \pm 1,5$ à $28,9 \pm 2,0$ puis augmente jusqu'à $36,9 \pm 2,9$).

3.2.1.2. Détermination de la glycémie

Les résultats des mesures de la glycémie sont montrés par **La Figure 24** et **Annexe C, tableau 2.**

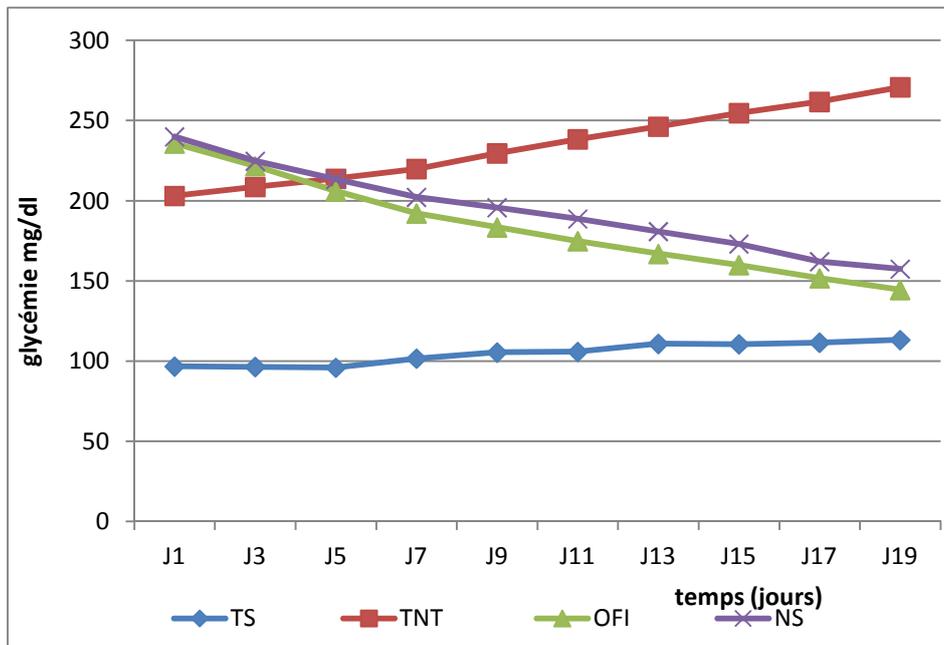


Figure 24 . Evolution de la glycémie à jeun, avant sacrifice des différents lots des souris femelles.

Notre TS montre des résultats normaux entre 96.75 mg/ dl et 113.25 mg / dl.

Pour le Lot de TNT présent une augmentation du taux de glycémie (203.13 mg/ dl – 270.88 mg/ dl) due à l'effet d'Alloxane, par une analogie structurale au glucose, pénètre à travers les transporteurs de glucose GLUT2 des cellules β pancréatiques. Au cytosol, l'Alloxane est réduit en acide dialurique (Lenzen *et al.*, 1988).

L'Alloxane a un groupe 5 carbonyles centraux qui réagissent très avidement avec des groupes thiol. La glucokinase est l'enzyme thiol le plus sensible de la cellule β . À des concentrations élevées, l'Alloxane peut inhiber nombreuses enzymes fonctionnellement importants, ainsi que d'autres protéines et fonctions cellulaires (Lenzen, 2008).

L'Alloxane se relie avec deux groupements thiol du site actif de la glucokinase formant un pont disulfure et inactivant l'enzyme (Lenzen *et al.*, 1988).

Pour les deux autres lots NS et OFI en observe une réduction du taux de la glycémie, les résultats sont respectivement 240mg/dl à 157.5 mg/dl et de 235.72 mg/dl à 144.5 mg/dl, cette observation est confirmé par les analyses statistique (**Annexe D, Tableau 1**).

- ✓ $\alpha < \text{sig}$ (0.05 < 0.16) donc variance de NS = la variance de OFI
- ✓ $\alpha < \text{sig p}$ (0.05 < 0.438) donc l'effet hypoglycémiant des plantes est homogène

Pour OFI les résultats obtenue sont convenable avec celle de Chichonyi Kalungia *et al.*, 2018, L'extrait aqueux des cladodes d'*Opuntia stricta* produit une réduction significative de la

glycémie des souris diabétiques à l'Alloxane (pour 1mg/Kg d' extrait ,de $16,6 \pm 1,4$ mmol / L, IC 95%: 14,9-18,3 à la base à $7,5 \pm 1,0$ mmol / L, IC 95%: 6,2-8,9 au point final, $p < 0,001$, $n = 5$).

Selon Hawsawi *et al.*, 2001. L'effet de *N. sativa* montre une réduction significative de la glycémie par un Traitement à 100, 200 et 300 mg qui a produit une réduction significative de la glycémie pendant toutes les durées sauf celle d'un jour. Cependant, la réduction induite par des doses de 200 et 300 mg semble être plus importante à la fin du traitement de 14 jours. Les doses de 400 et 500 mg.

Houcher *et al.*, 2007, montre aussi que NS a un effet réducteur significatif de l'hyperglycémie au cours du traitement (L'administration orale quotidienne de l'extrait méthanoïque brut de NS (810 mg / kg / jour) à diminutions de 58,09%.

Les chercheurs précédents confirment nos résultats mais par des valeurs variables cela est due aux différentes conditions d'élevage.

3.2.2. Etude de certains paramètres après sacrifice

3.2.2.1. Dosage de paramètres plasmatiques

Les résultats des concentrations des différents paramètres biochimiques étudiés des lots des souris femelles ont été montrés dans **la Figure 25 et l'Annexe C, Tableau 4.**

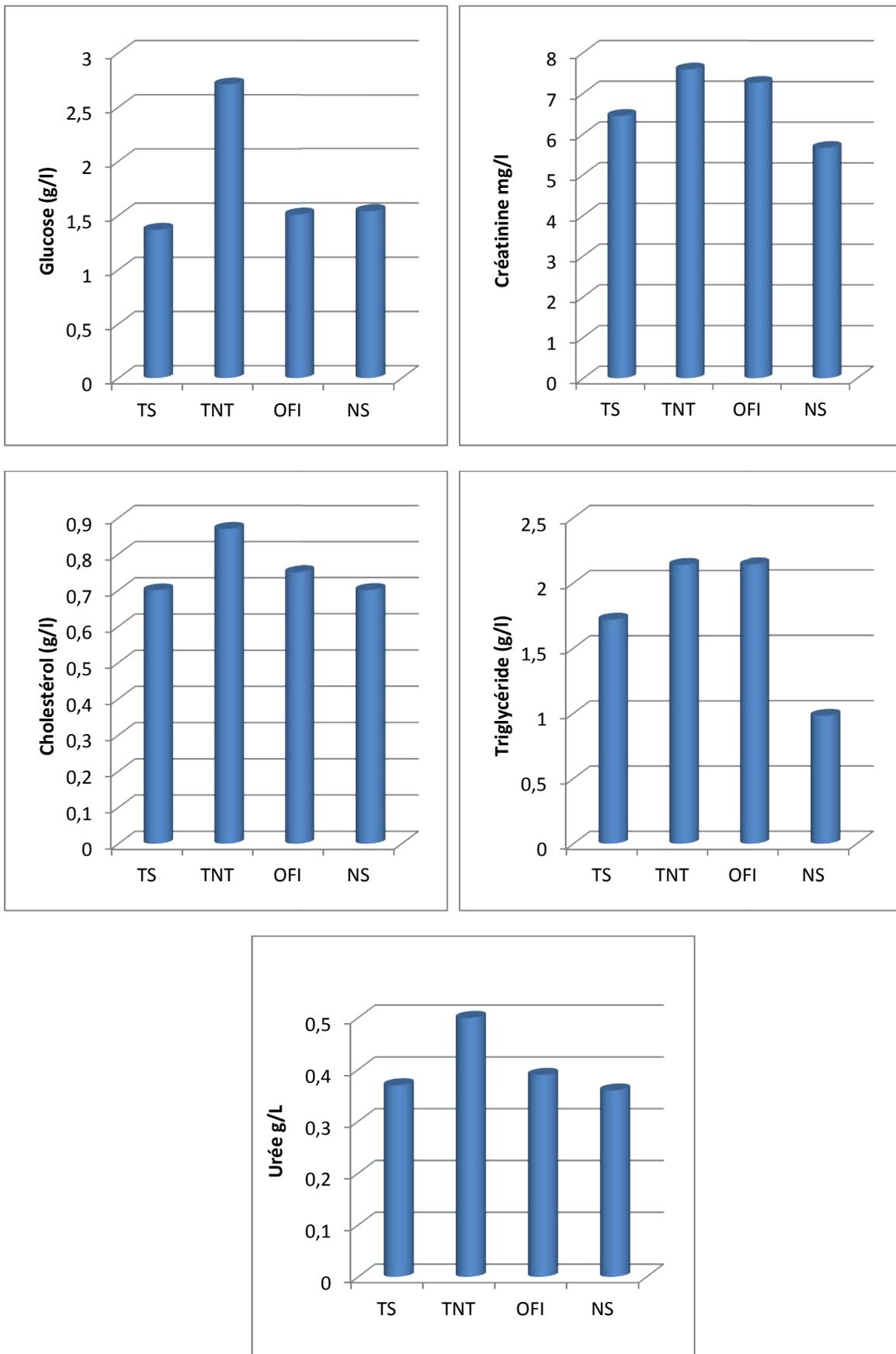


Figure 25. Résultats des concentrations des différents paramètres biochimiques étudiés des lots des souris femelles.

❖ *Glucose*

Notre résultat montre que le taux du glucose du lot NS et OFI est proche à celui du lot TS : ce qui confirme l'effet antidiabétique homogène de la nigelle et le Figuier de barbarie.

Le lot TNT montre des résultats significativement élevée que TS cela due à l'absence total du traitement.

Dans le sang le taux de glucose chez les souris diabétiques traitées par les cladodes d'OFI est en diminution successive tout au long de la période de traitement jusqu'à la valeur normale (pour une dose de 2mg/kg de $18,7 \pm 4,6$ mmol / L à $6,9 \pm 1,7$ mmol / L) (Chichonyi Kalungia *et al.*, 2018) et aussi selon yang ,2008 l'OFI montre une diminution significative de la glycémie chez les rats diabétiques.

Selon Houcher *et al.* , 2007 NS représente une diminution significative de la glycémie (l'administration de 810 mg / kg a provoqué un taux de glycémie ($1,32 \pm 0,54$ g / l)) . et aussi selon Hawsawi *et al.* , 2001 montre qu'il y a une importante diminution de la glycémie après une semaine de l'ingestion de *N. sativa* en poudre , La gamme de dose efficace de *N. sativa* semblait situer entre 100 et 300 mg / 200 g de rat / jour pendant la majeure partie de la durée étudié. Les doses plus élevées de *N. sativa*, en particulier 500 mg, avaient tendance à perdre leur effet après deux semaines de traitement.

Enfin ces résultats confirme que les deux plantes NS et OFI ont un effet hypoglycémiant durant la période de traitement étudié.

❖ *Triglycérides*

En remarque que lot de NS représente un taux faible de triglycérides par rapport au TS mais pour OFI représente une légère augmentation qui est proche au TNT.

Ce résultat est confirmé par Ikram et Hussain, 2014, elles montrent que le traitement de NS réduise la glycémie et l'activité hypolipidémiques. Le TG ont permis une réduction de 15% ($P < 0,05$). Donc l'extrait de NS réduit le TG plus que l'effet hypoglycémique.

Pour OFI : selon yang ,2008 la plante représente aucun déférence significative observée entre le taux de TG des groupes IV – VI et ceux des groupes témoin ($3,55 \pm 0,26$ Mm). Cela preuve qu'OFI augmente le TG.

❖ *Cholestérol*

On observe que les lots TS et NS sont sensiblement similaire mais pour OFI représente une légère augmentation ; Pour TNT le taux du cholestérol est élevée.

Ce résultat est en accord avec celui de yang ,2008 y a une augmentation de cholestérol (de TC et HDL étaient respectivement de $1,86 \pm 0,15$ et $1,97 \pm 0,14$ mM) pour OFI et aussi pour la nigelle NS qui a présenté un effet hypoglycémiant et une activité hypolipimiante. Bien que les traitements NS (500 mg / jour) réduisent la glycémie, TC, C-LDL et augmentent HDL-C dans les groupes diabétiques, il était incapable de normaliser tous les paramètres (Ikram et Hussain ,2014).

❖ *Créatinine*

Notre résultat montre que le lot TNT représente toujours le taux la plus élevée suivie respectivement par les lots OFI, TS et NS.

L'extrait d'OFI à un effet sur la créatinémie par une légère augmentation par contre l'extrait de la deuxième plante NS réduise le taux de la créatinine.

Pour TNT selon Boizard *et al.*, 1979 La créatinine sérique est augmentée de manière significative ($P < 0,001$) chez les animaux diabétiques.

❖ *urée*

Il semble que le témoin sain et NS ont des valeurs proches entre eux mais l'OFI représente une légère augmentation, cela est dû à une légère réparation des reins par la NS et l'OFI, alors que le taux élevé de l'urée chez le lot témoin non traitée est dû à la toxicité d'Alloxan qui il semble avoir un effet toxique sur les reins.

Pour TNT selon Boizard *et al.*, 1979 L'urée sanguine est élevée chez les animaux diabétiques par rapport aux animaux témoins ($P < 0,001$).

3.2.2.2. Poids relatifs des organes

La Figure 26 et l'Annexe C, Tableau 3 représente les résultats de cinq organes ont été prélevés et pesés : Pancréas, foie, rate, reins et cœur.

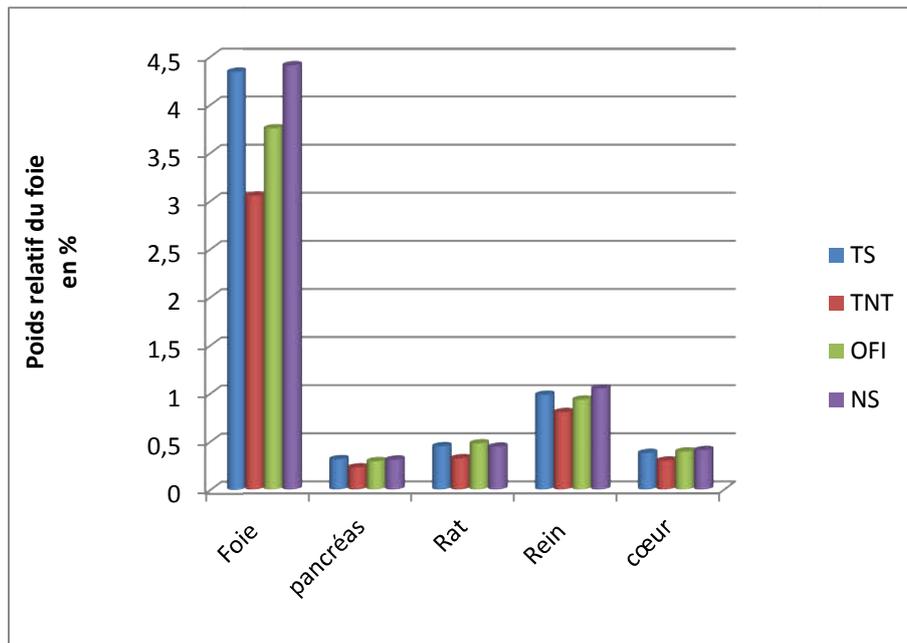


Figure 26. Poids relatifs des différents organes des lots étudiés des souris femelles.

❖ Foie

Les résultats ont montré que dans le lot non diabétique TS, le foie présente sensiblement les poids normaux et similaire avec lot NS puis chez lot OFI cela est dû à la récupération du poids chez les lots diabétiques traités grâce au traitement.

Le groupe TNT représente les poids les plus faibles à cause de l'effet de l'Alloxane ou possibilité de l'effet diabétique (les animaux ne sont pas supportés par un traitement).

❖ Pancréas

Les résultats obtenus par le lot témoin sain (TS) pour le Pancréas présente sensiblement des poids normaux par contre le lot TNT représente une diminution du poids reste sous l'action de l'Alloxane qui exerce un effet destructeur des cellules β de Langerhans cela est confirmé par Lenzen *et al.*, 1988.

Pour le reste des lots OFI et NS les poids sont similaire et proche de celle du lot TS cela est due à la régénération du pancréas sous l'effet des plantes étudiés.

Ce résultat est en accord avec Chichonyi Kalungia *et al.*, (2018) et Hawsawi *et al.*, 2001 qui ont montré que l'Alloxane est facilement et rapidement absorbé par les cellules pancréatiques. Dans les cellules pancréatiques, l'Alloxan a une forte affinité pour les groupes sulfhydryle et réagit avec thiols intracellulaires, générant des espèces réactives de l'oxygène et les radicaux libres qui causent des dommages cellulaires immédiats.

❖ Rate

les résultats des lot TS, OFI et NS montre des poids presque similaire par contre le lot TNT représente les poids les plus faible dû à la toxicité d'Alloxane (Beytout *et al.*, 2003)

❖ Reins

On remarque que les poids des reins des lots NS et OFI sont proche du lot TS, alors que le Lot TNT représente toujours la moindre valeur du poids à cause de la toxicité d'Alloxane et l'absence de traitement Cela est confirmé par (Liu *et al.*, 2007).

❖ Cœur

Le poids du cœur des animaux sain représente des poids normaux.

On note une similarité entre le poids relatif du cœur des deux lots NS et OFI le lot TNT représente un faible poids par rapport à celui du lot TS. L'Alloxane semble n'avoir eu aucun effet sur le cœur des souris diabétiques, Il n'entraînerait des complications cardiaques qu'à long terme (Srinivasan et Ramarao, 2007).

Conclusion

Conclusion

Dans ces dernières années, les recherches scientifiques s'intéressaient aux composés des plantes qui sont destinés à l'utilisation dans le domaine phytopharmaceutique. Les molécules issues des plantes dites naturelles sont considérées comme une source très importante de médicaments

Au terme du travail réalisé concernant l'activité antidiabétique des graines de *Nigella Sativa* et *Opuntia ficus indica* L, pour faire un bon connaissance locale de ces plantes médicinales une enquête ethnobotanique a été réalisée.

IL ressort clairement de ce travail que après l'injection intrapériténial des souris (*wistar albinos*) femelles par l'alloxane par conséquent l'induction du diabète qui sont par la suite traitée par des extraits aqueux des 2 plantes médicinales (NS, OFI) par une dose de 200 mg /kg 2 fois par jour cela révéla l'effet antihyperglycémiant par le biais d'un effet régénératif sur les cellules de Langerhans conduisant à une amélioration de la sécrétion d'insuline.

Ces résultats prouvent que les extraits des deux plantes OFI et NS ont un effet homogène améliorant l'effet antidiabétique.

Une étude phytochimique réalisé révèle que le dosage qualitatif des 2 plantes montre ces richesses en polyphénols, des flavonoïdes, des tanins, des saponines et terpénoïde qui pourraient être à l'origine de l'effet régénératif des plantes et donc de son effet antidiabétique.

D'autre par le dosage quantitatif, des deux extraits aqueux de *nigella sativa* et *Opuntia ficus indica* L se caractérise par une richesse en polyphénols et en flavonoïdes.

Les résultats sur l'ensemble des tests biologiques des extraits montrent que les extraits aqueux des deux plantes possèdent une activité antihyperglycémique importante.

L'extrait de *Nigella Sativa* présentait une forte activité hypolipidémique en plus de son action hypoglycémique chez les animaux diabétiques.

En perspective il serait utile d'identifier, du point de vue scientifique, les molécules ou le groupe de molécules responsables des effets étudiés quoi que, du point de vue économique et pratique.

Il serait aussi intéressant de compléter la valorisation de cette plante(OFI) par l'étude des cladodes qui auraient des effets dermatologiques (curatifs et cosmétiques).

L'étude de la toxicocinétique des plantes étudiées.

L'identification, caractérisation, et séparation des différentes fractions des principes actifs responsables de l'effet antidiabétique par les méthodes d'analyses chimiques : Chromatographie sur colonne, HPLC, CPG, RMN,...

Tester des composés purifiés afin de déterminer le principe actif de chaque extrait.

Utiliser d'autres espèces animales et modèles expérimentaux.

Changer la méthode d'extraction (méthanoïque, macération, décoction, infusion) des plantes et l'administration.

Pour améliorer nos résultats il faut travailler avec les animaux en saison température ambiante (éviter le chaud).

On pourrait expérimenter in vitro l'action de la plante sur un tissu pancréatique animal ou humain aux fins de confirmer ou d'infirmer ses effets cyto-protecteurs et son innocuité retrouvés dans notre travail.

Références bibliographiques

Références

- ❖ Abdelmeguid N. E., FakhourY.R., Kamal S.M., Al Wafai R.J.2010. Effects of *Nigella sativa* and thymoquinone on biochemical and subcellular changes in pancreatic b-cells of streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Diabetes* 2: 256-266.
- ❖ Aboura I., Nani A., Belarbi M., Murtaza B., Fluckiger A., Dumont A., Benammar C., Saidani T.M., Ghiringhelli F., Rialland M., Akhtar Khan N., Hichami A.2017. Protective effects of polyphenol-rich infusions from carob (*Ceratonia siliqua*) leaves and cladodes of *Opuntia ficus-indica* against inflammation associated with diet-induced obesity and DSS-induced colitis in Swiss mice. *Biomedicine & Pharmacotherapy*: 1-14. Ce document est disponible sur : <http://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.11.125>
- ❖ Adiaratou, T. 2001. Etude de la phytochimie et de l'activité antipaludique d'Alchornea cordifolia Schmach (Euphobiaceae). Doctorat en pharmacie, Bamako (Mali), p 42.
- ❖ Agroum S et Koucha S.2016. Evaluation de l'activité antioxydante in vivo et hypoglycémante des composés phénoliques d'extraits du lichen *xanthoria parietina* de la région de Boumerdès. Université M'Hamed Bougara,Boumerdès, 112p.
- ❖ Aitougueni S., Ben Hamma K. 2015. Optimisation de l'extraction et comportement de gélification des pectines hydrosolubles issues des raquettes de la figue de barbarie (*Opuntia ficus indica* L). Mémoire de Master, Université A. MIRA, Bejaia, 92p.
- ❖ Allain C.C., Doon L.S., Chan C.S.G., Richmond W., Fu P.C.1974.Enzymatic determination of total serum cholesterol. *Clinchem* 20:470-475.
- ❖ ANDI.2013.Wilaya de batna.p18.
- ❖ Anonyme, 2005. Atlas des parcs nationaux algériens. Direction générale des forets, Algérie, 96 p.
- ❖ Anonyme.2017. Monographie de la Région de Batna.p35.
- ❖ Barbera G., Carimi F., Inglese P., Panno M.1992.Physical, morphological and chemical changes during fruit development and ripening in three cultivars of prickly pear, *Opuntia ficus-indica* (L.) Miller. *Journal of Horticultural Science*, 67 (3): 307-312.

-
- ❖ Bennini A., Merdaci H. 2016. Etude de l'effet anti-diarrhéique et apéritif de *Nigella Sativa*. Mémoire du Diplôme de Master, Université des Frères Mentouri, Constantine, 71p.
 - ❖ Benzine O. 2014. Caractérisation par HPLC de quelques composés chimique de l'huile de nigelle (*Nigella Sativa*), et recherche d'une activité antimicrobienne. MEMOIRE de master en Sciences des Aliments, Université Abou Bekr Belkaid, Tlemcen, 105p.
 - ❖ Beytout J., Tournilbac O., Laurichesse H., 2003. Asplénie et hyposplénisme. La presse médicale : 32-34.
 - ❖ Boizard F., Andreux J.P., Quevauviller A. 1979. Sur le diabète alloxannique de la souris Étude biochimique. Bull. Acad. Vét. de France, 52 : 49-60.
 - ❖ Boizot N et Charpontier J.P. 2006. Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénolique des organes d'un arbre forestier. Le Cahier des Technique de l'Inra, 79-82.
 - ❖ Bouaker M et Guechiri A. 2015. Etude de la toxicité des huiles *Nigella sativa* L. Mémoire du Diplôme de Master, Université des Frères Mentouri, Constantine, 67p.
 - ❖ Bourezgue S et Lebcir A. 2016. Evaluation de l'activité antioxydante des huiles des graines de *Nigella sativa*. Mémoire du Diplôme de Master, Université des Frères Mentouri, Constantine, 67p.
 - ❖ Boussaid I., Boulaiche S., Bouzenir D. 2014. diabète de type 2 et phytothérapie : plantes hypoglycémiantes utilisées par des sujet diabétique. Mémoire de Diplôme de Master, Université Constantine1, 101p.
 - ❖ Boutakiout A. 2015. Etude physico-chimique, biochimique et stabilité d'un nouveau produit : jus de cladode du figuier de Barbarie marocain (*Opuntia ficus-indica* et *Opuntia megacantha*). Thèse de doctorat Agronomie, Université d'Angers, Français. 212p.
 - ❖ Bouxid H. 2012. Les plantes médicinales et diabète de type 2 (A propos de 199 cas). Thèse de doctorat, Université Sidi Mohammed Ben Abdellah, Maroc, 107p.
 - ❖ Bhira O. 2012. Potentielles thérapeutiques d '*Opuntia ficus indica* L au maroc et en tunisie. Thèse de doctorat d'état, université Mohammed V- Souissi, 171p.
 - ❖ Braham, D., Trinder, P. 1972. Analyst : 97 -142.

-
- ❖ Bruneton J. 1999. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Editions Tec & Doc, Paris, 207-211.
 - ❖ BVA, FRAME, BSPCA, UFAW, Joing working group of refinement, (1993). Removal of blood from laboratory mammals and birds. *Laboratory Animals* 27: 1-22.
 - ❖ Chabrier J.Y. 2010. Plantes médicinales et formes d'utilisation en phytothérapie. Thèse de doctorat d'état, université Henri Poincaré -Nancy 1, 183p.
 - ❖ Chichonyi Kalungia A., Mataka1 M, Kaonga P., Gono Bwalya1 A., Prashar L., Munkombwe D. 2018. *Opuntia stricta* Cladode Extract Reduces Blood Glucose Levels in Alloxan-induced Diabetic Mice. *International Journal of Diabetes Research* 7(1): 1-11.
 - ❖ Dellile. L .2007. Les plantes médicinales d'Algérie. Ed. Berti, Alger, pp: 10, 12 14, 42-44.
 - ❖ Dib H., Beghdad M.C., Belarbi M .2013. Phytochemical study of Algerian *Opuntia ficus-indica* .*Annals of Biological Research*, 4 (2):185-189.
 - ❖ Dib H., Beghdad M.C ., Belarbi M ., SELADJI M., GHALEM M.(2013)a. Antioxidant Activity of Phenolic Compounds of the Cladodes of *Opuntia ficus-indica* Mill. From Northwest Algeria. *International Journal of Medicine and Pharmaceutical Sciences (IJMPS)*, 3(4): 147-158.
 - ❖ Djeridane A., Yousfi M., Nadjemi B., Boutassouna D., Stocker P., Vidal N. 2006. Antiox-idant activity of some algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *J. Food Chem*, **97**: 654-660.
 - ❖ Dohou N., Yamni K., Tahrouch S., Idrissihassani LM., A. Badoc A., Gmira N .2003. Screening phytochimique d'une endémique ibéro marocaine, *Thymelaea lythroïdes*. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux* 142: 61-78.
 - ❖ Fagot C.A., Fosse S., Romon I., Roudier C. 2010. Prévalence et incidence du diabète, et mortalité liée au diabète en France – Synthèse épidémiologique — Institut de veille sanitaire. P12.
 - ❖ Grimaldi A. 2000. Diabétologie. Université Pierre et Marie Curie, page 142.

-
- ❖ Habibi Y. 2004. Contribution à l'étude morphologique, ultra structurale et chimique de la figue de Barbarie, les polysaccharides pariétaux : caractérisation et modifications chimiques. Thèse de Doctorat, Université Joseph Fourier, 264p.
 - ❖ Habibyar A .F.2016.Novel insights into the animal models of Diabetes Mellitus . J Syst Integr Neurosci 3(1):1-4.
 - ❖ Halitim A., Bensid Z., Hassaine B. et Dekhinet S., 2006. Les indicateurs biologiques et pédologiques de la désertification sur le versant sud de l'Atlas saharien (Aurès). Rapport annuel. F 0501-07-2006, 10 p.
 - ❖ Halmi S.2015.Etude botanique et phytochimique : approche biologique et pharmacologique d '*Opuntia ficus indica* L. Thèse de doctorat en Sciences, université des Freres Mentouri de Constantine, 243p.
 - ❖ Harbone J.B., (1998) : Phytochemical Methods : A guide to modern techniques of plant analysis 3e ed. :chapman and hill. 303p.
 - ❖ Hawsawi Z.A., Ali B.A., Bamosa A.O.2001. Effect of *Nigella Sativa* (Black Seed) and Thymoquinone on Blood Glucose in Albino Rats. Annals of Saudi Medicine, Vol 21, Nos 3-4, p 242-244.
 - ❖ Houcher Z., Boudiaf K., Benboubetra M., Houcher B.2007. Effects of Methanolic Extract and Commercial Oil of *Nigella sativa* L. on Blood Glucose and Antioxidant Capacity in Alloxan-Induced Diabetic Rats. University of Sétif, Sétif 19000, Algeria. Vol. 18, p: 8 -18.
 - ❖ Ikram F., Hussain F.2014.Antidiabetic Efficacy of *Nigella sativa* linn.in Alloxan-induced Diabetic Rabbits.University of Agriculture, 13(1):13-18.
 - ❖ Islam M.H., Ahmad I. Z., Salman M. T.2012. Antibacterial activity of *Nigella sativa* seed in various germination phases on clinical bacterial strains isolated from human patients, E3 Journal of Biotechnology and Pharmaceutical Research Vol. 4(1), p. 8-13.
 - ❖ Jacobs V.J., Vandenmark P.J. 1960.The purification and properties of the alphas glycerophosphate-oxidizing enzyme of *Streptococcus faecalis* 10C1.Arch Biochem Biophys, 88: 250-255.
 - ❖ Jouad H., Lemhadri A., Maghrani M., Burcelin R., Eddouks M., 2003. Hawthorn evokes a potent antihyperglycemic capacity in streptozotocin induced diabetic rat .Journal of Herbal Pharmacotherapy 3:19-23.

- ❖ Karumi Y., Onyeyili P.A., Oyugbuaja V.O. 2004 .Identification of active principals of M. Balsamia (Balsam Apple) leaf extract. J.Med.Sci, 4 (3): 179 -182.
- ❖ Kharrassi Y.2015. Mise en évidence de la diversité des populations de cactus (*Opuntia* spp.) au Maroc et de la modulation du métabolisme lipidique par des extraits naturels et de phytostérols issues de cactus ou d'huile d'Argan dans les cellules microgliales BV2. Thèse de Doctorat en Biochimie, Université HASSAN I – Settat – Maroc, 219p.
- ❖ Khady B., Emmanuel T., Jacqueline D., Ndiaga C., Philippe T.2010.Étude comparative des composés phénoliques, du pouvoir antioxydant de différentes variétés de sorgho sénégalais et des enzymes amylolytiques de leur malt. Biotechnol. Agron. Soc. Environ,14(1) : 131-139
- ❖ Khither H.2011. Etude des effets des huiles polaires et apolaires des graines de *Nigella sativa* L. sur l'activité de l'élastase: Application à la maladie pulmonaire obstructive chronique et à l'emphysème pulmonaire. Mémoire du Diplôme de Magister, université Ferhat Abbas, Setif, 92p.
- ❖ Klein M .2009. Relations entre le diabète sucré de type 2 et l'amyloidose chez le .Thèse d'état en vitrine .Univ de Toulouse, France.17-88.
- ❖ Lenzen S.2008. The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced Diabetes. Diabetologia, 51:216-226.
- ❖ Lenzen S, Freytag S, Panten U.1988. Inhibition of Glucokinase by Alloxan through Interaction with SH Groups in the Sugar-Binding Site of the Enzyme. Molecular Pharmacology, 34:395 - 400.
- ❖ Liu Z., Li J., Zeng Z., Liu M., Wang M.2007. The antidiabetic effect of Cysteinyl Metformin, Anewly sunthesized agent, in alloxan and streptozotocin induced diabetic rats.Chemico-Biological Interactions, 5522: 1-20.
- ❖ Majhenic L., kerget M.S., Knez Z. 2007 Antioxidant and antimicrobial activity of guarana seed extracts. Food Chemistry, 104: 1258-1268.
- ❖ Marles R J., Farnsworth N R.1995. Antidiabetic plants and their active constituents. Phytomedicine, 2: 137-189.
- ❖ Meziti A.2009. Activité antioxydante des extraits des graines de *Nigella sativa* L Étude in vitro et in vivo. Mémoire du Diplôme de MAGISTER, université El-haj Lakhdar, Batna ,105p.

- ❖ Nassar A.G.2008. Chemical Composition and Functional Properties of Prickly Pear (*Opuntia ficus indica* L) Seeds Flour and Protein Concentrate. World Journal of Dairy & Food Sciences, 3 (1): 11-16.
- ❖ Negre R. 1962. Petite flore des régions arides du Maroc occidental, édition CRNS paris. T1, pp. 237-238.
- ❖ Neffar S. 2012. Etude de l'effet de l'âge des plantations de figuier de Barbarie (*Opuntia ficus indica* L. Miller) sur la variation des ressources naturelles (sol et végétation) des steppes algériennes de l'Est. Cas de Souk- ahras et Tébessa. Thèse de Doctorat, université Badji Mokhtar, Annaba, 236p.
- ❖ Newman D.J., Price C.P.1999. Renal function and nitrogen metabolites. Clinical chemistry.3ème Ed. Burtis CA et Wood ER, philadelphia, p: 1204.
- ❖ Oliveira H.C., Dos-Santos M.P., Grigulo, R., Lima L.L., Martins D.T.O., Lima J.C.S., Stoppiglia L.F., Lopes C.F., Kawashita N.H., 2008. Antidiabetic activity of valairea macrocarpa extract in rats. Journal of Ethnopharmacology, 111: 515-519.
- ❖ Oloyede O.I. 2005. Chemical profile of Unripe Pulp of *Carica papaya*. Pak J Nutr ,4 : 379 - 381.
- ❖ OMS (Organisation Mondiale de la Santé). 2002. Diabète sucré. Aide mémoire ; N°138.
- ❖ Panico AM., Cardile V., Garufi F., Puglia C., Bonina F., Ronsisvalle S. 2007. Effect of hyaluronic acid and polysaccharides from *Opuntia ficus-indica* (L.) cladodes on the metabolism of human chondrocyte cultures. J. Ethnopharmaco, 111: 315-321.
- ❖ Rebbas., Bounar R., Gharzouli R., Ramdani M., Djellouli Y, Alatou D. 2012 .Plantes d'intérêt médicinale et écologique dans la région d'Ouanougha (M'Sila, Algérie). © Springer-Verlag France 2012 -DOI 10.1007/s10298-012-0701-6.
- ❖ Rezzaghi A. 2012. Evaluation de l'effet toxique de l'extrait brut et de l'activité antioxydante des différents extraits des graines de *Peganum harmala* L. Thèse de magister. Université Sétif. 90p.
- ❖ Sabu, M.C., Smitha, K., Kutta, R.2002. Antidiabetic activity of green tea polyphenols and their role in reducing oxidative stress in experimental diabetes. Journal of Ethno Pharmacology, 83: 109-116.

-
- ❖ Samarakoon S .R., Thabrew I., Galhena P.B., Dilip D.S., Kamani H., Tennekoon K.H.2010. A comparison of the cytotoxic potential of standardized aqueous and ethanolic extracts of a polyherbal mixture comprised of *Nigella sativa* (seeds), *Hemidesmus indicus* (roots) and *Smilax glabra* (rhizome). Cytotoxic role of a standardized poly-herbal mixture,2(6):335-342.E-mail:ranganath148@yahoo.com ;DOI: 10.4103/0974-8490.75451
 - ❖ Schweizer M.1997. Docteur nopal le médecin du bon dieu. APB Edition, Paris, P81.
 - ❖ Stintzing F.C., Carle R.2005. Cactus stems (*Opuntia* spp.): A review on their chemistry, technology, and uses. Mol. Nutr. Food Res,49:175-194.DOI 10.1002/mnfr.200400071
 - ❖ Srinivasan K., Ramarao P. 2007. Animal models in type2 diabetes research: An overview. Indian J Med,125:451-472.
 - ❖ Szkudelski T. 2001.The Mechanism of Alloxan and Streptozotocin Action in B Cells of the Rat Pancreas. Physiological Research, 50: 536-546.
 - ❖ Temagoult A. 2017. Caractérisation et Transformation de la Figue de Barbarie (*Opuntia ficus indica* L.), Elaboration d'une Confiture et d'une Gelée Extra. Mémoire de MAGISTER, Université Hadj Lakhdar, Batna 1,117p.
 - ❖ Thomas L., (1998). Alanine aminotransferase (ALT), Aspartat aminotransferase (AST). Clinical laboratory diagnostics. Ed. TH Book verlagsgesellschaft, Frankfurt, pp: 55-65.
 - ❖ Toparslan C. 2012. À propos de *Nigella sativa* L. Thèse de Doctorat d'Etat, université de Lorraine, 136p.
 - ❖ Trease G.E., Evans W.C. 1987.Pharmacognsy.13th edn. Brailliar Tiridel Can Macmillian Publishers.
 - ❖ Trease G.E., Evans W.C.1989.A textbook of Pharmacognosy (13th edition) Bacilluere Tinal Ltd, London.
 - ❖ Teuscher, A., Richterich P.1971. Schweiz-Med. Wschr 101: 345, 390. Braham D.,Trinder P.1972. Analyst 97:142p.

-
- ❖ Vats V., Yadav S.P., Grover J.K.2004. Ethanolic extract of *Ocimum sanctum* leaves partially attenuates streptozotocin-induced alterations in glycogen content and carbohydrate metabolism in rats. *J Ethnopharmacol*, 90: 155-160.
 - ❖ Wallace R.S., Gibson A.C. 2002. Cacti evolution and systematics. In: *Cacti, Biology and Uses*.(Nobel, P.S. Ed.).University of California Press, Berkeley, California, United States of America: 1-21.
 - ❖ Whiting DR., Guariguata L., Weil C., Shaw J.2011.IDF Diabetes Atlas: Global estimates of the prevalence of diabetes for 2011 and 2030,94:311-21.
 - ❖ Yang N., Zhao M., Zhu B., Yang B., Chen C., Cui C., Jiang Y.2008.Anti-diabetic effects of polysaccharides from *Opuntia monacantha* cladode in normal and streptozotocin-induced diabetic rats. *Innovative food science & emerging technologies* 9(4): 570-574.
 - ❖ Zemoura A.K. 2005. Etude comparative de quelques méthodes de dosage du phosphore assimilable des sols calcaires en région semi aride (Batna). Mémoire de Magister, Université El hadj Lakhdar de Batna, 182 p
 - ❖ Zidi S.2010. Contribution à l'étude de l'effet antidiabétique potentiel d'un extrait aqueux de *Crataegus azarolus* Chez des rats *Wistar* avec un diabète induit à l'Alloxane. Mémoire de Magistère, Université Badji-Mokhtar, Annaba, 114p.

Annexes

Annexe A. Etudes morphologique d' *Obuntia ficus induca***Tableau 1 .Etudes morphologique d' *Obuntia ficus induca***

| Nombre de cladodes | longueur (mm) | largeur (mm) | épaisseur (mm) | poids(g) | aréoles |
|--------------------|---------------|--------------|----------------|----------|---------|
| 1 | 308,8 | 144,5 | 15 | 502,2 | 130 |
| 2 | 265,6 | 154,4 | 28,4 | 698,6 | 130 |
| 3 | 235,7 | 112,1 | 12,5 | 310,3 | 104 |
| 4 | 301,8 | 165,9 | 14,7 | 520,4 | 135 |
| 5 | 270 | 85,8 | 13,9 | 226,4 | 116 |
| moyenne | 276,38 | 132,54 | 16,9 | 451,58 | 123 |
| Ecarte type | 29,618 | 32,925 | 6,501 | 186,402 | 12,767 |

Annexe B. Tests phytochimiques qualitatifs et dosages quantitatifs des polyphénols totaux et des flavonoïdes.

Composition de réactif Mayer et l' Amidon :

➤ Réactif de Mayer: 1.358g de chlorure de mercure HgCl₂ dans 60ml d'eau distillée puis 5g d'iodure de potassium KI dans 10ml d'eau distillée. Mélanger les deux solutions et ajuster le volume total à 100ml avec l'eau distillée.

➤ Réactif d'amidon : Dissoudre 1,2g d'iode (I₂) dans 50ml d'eau distillée contenant 2,5gd'iodure de potassium (KI) puis chauffer pendant 5 minutes et diluer jusqu'à 250ml ou 500 ml

Tableau 1: Rendement (%) en extrait bruts aqueux des espèces étudiées

| L'extrait brut aqueux des plantes | Rendement % |
|-----------------------------------|-------------|
| <i>Obuntia ficus induca</i> | 75 |
| <i>Nigella sativa</i> | 37.4 |

Tableau 2. Valeurs de l'absorbance pour la courbe d'étalonnage de l'acide gallique

| [C] finale d'acide gallique (µg/ml) | 0 | 20 | 40 | 60 | 80 | 100 | 120 | 140 | 160 | 180 | 200 |
|-------------------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| Absorbance à 765nm | 0.067 | 0.407 | 0.501 | 0.647 | 0.905 | 1.126 | 1.972 | 2.050 | 1.559 | 1.981 | 2.118 |
| | 0.067 | 0.179 | 0.627 | 0.834 | 1.677 | 1.433 | 2.084 | 2.236 | 1.954 | 2.418 | 2.933 |
| | 0.067 | 0.176 | 0.549 | 0.46 | 1.203 | 1.333 | 1.418 | 1.368 | 2.638 | 2.60 | 2.361 |
| Absorbance moyenne | 0.067 | 0.254 | 0.559 | 0.647 | 1.261 | 1.297 | 1.825 | 1.885 | 2.05 | 2.333 | 2.471 |

Tableau 3. Valeurs de l'absorbance à 765nm les deux plantes étudiées

| Plantes | <i>Obuntia ficus induca</i> | <i>Nigella sativa</i> |
|--------------------|-----------------------------|-----------------------|
| Absorbance à 765nm | 1.807 | 1.921 |
| | 1.872 | 2.026 |
| | 1.055 | 1.950 |
| Absorbance moyenne | 1.578 | 1.965 |

Tableau 4. Valeurs de l'absorbance pour la courbe d'étalonnage de la quercétine

| | | | | | | | | | | | |
|-------------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| [C] finale quercitine (µg/ml) | 0 | 7.5 | 15 | 22.5 | 30 | 37.5 | 45 | 52.5 | 60 | 67.5 | 75 |
| Absorbance à 430nm | 0.111 | 0.285 | 0.558 | 1.070 | 1.056 | 1.433 | 1.350 | 2.156 | 2.327 | 2.588 | 2.683 |
| | 0.111 | 0.313 | 0.568 | 0.785 | 1.104 | 1.519 | 1.829 | 2.134 | 2.227 | 2.510 | 2.705 |
| | 0.111 | 0.399 | 0.556 | 0.708 | 1.169 | 1.343 | 1.833 | 2.000 | 2.273 | 2.483 | 2.588 |
| Absorbance moyenne | 0.111 | 0.333 | 0.566 | 0.855 | 1.111 | 1.433 | 1.677 | 2.099 | 2.277 | 2.522 | 2.655 |

Tableau 5 : Valeurs de l'absorbance à 430 nm des deux plantes étudiées

| Plantes | <i>Obuntia ficus induca</i> | <i>Nigella sativa</i> |
|--------------------|-----------------------------|-----------------------|
| Absorbance à 430nm | 1.916 | 1.419 |
| | 1.797 | 2.062 |
| | 2.196 | 1.669 |
| Absorbance moyenne | 1.969 | 1.716 |

Annexe C : activité antidiabétique**Tableau 1 :** Évolution des poids corporels des différents lots des souris femelles (*Wistar Albinos*) pendant la période de manipulation.

| Lots \ Poids(g) | Poids J1 | Poids J4 | Poids J7 | Poids J10 | Poids J13 | Poids J16 | Poids J19 |
|-----------------|----------|----------|----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| TS | 29,54 | 30,38 | 30,69 | 31,25 | 31,44 | 31,99 | 31,94 |
| TNT | 42,46 | 40,54 | 39,21 | 37,76 | 36,7 | 35,83 | 35,04 |
| OFI | 31,98 | 29,54 | 28,61 | 27,7 | 28,33 | 29,24 | 31,21 |
| NS | 31,91 | 30,1 | 28,84 | 27,69 | 28,64 | 29,8 | 31,81 |

Tableau 2 : La glycémie à jeun, avant sacrifice (J1 à J19), des différents lots des souris femelles (*Wistar Albinos*)

| Glycémie (mg/dl) \ Lots | glycémie J1 | glycémie J3 | glycémie J5 | glycémie J7 | glycémie J9 | glycémie J11 | glycémie J13 | glycémie J15 | glycémie J17 | glycémie J19 |
|-------------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| TS | 96,75 | 96,5 | 96 | 101,63 | 105,5 | 105,88 | 110,88 | 110,63 | 111,63 | 113,25 |
| TNT | 203,13 | 208,63 | 213,88 | 219,88 | 229,63 | 238,38 | 246,25 | 254,75 | 261,75 | 270,88 |
| OFI | 235,75 | 221,63 | 206,00 | 192,16 | 183,5 | 174,88 | 167 | 160 | 151,75 | 144,5 |
| NS | 240,00 | 224,75 | 213,38 | 202,25 | 195,75 | 188,75 | 180,88 | 173,13 | 162,13 | 157,5 |

Tableau 3: Poids relatifs de certains organes des différents lots des souris femelles

| Organes Lots | Les Poids relatifs (poids organe/poids corporels) en % Moyennes \pm écart type | | | | |
|-----------------|--|-------------------|-------------------|------------------|------------------|
| | Foie | pancréas | Rat | Rein | cœur |
| TS | 4,345 \pm 0.5 | 0,315 \pm 0.025 | 0,45 \pm 0.04 | 0,985 \pm 0.12 | 0,38 \pm 0.08 |
| TNT | 3,055 \pm 0.7 | 0,23 \pm 0.06 | 0,325 \pm 0.06 | 0,805 \pm 0.1 | 0,3 \pm 0.05 |
| OFI | 3,755 \pm 0.3 | 0,295 \pm 0.063 | 0,48 \pm 0.08 | 0,935 \pm 0.2 | 0,395 \pm 0.06 |
| NS | 4,41 \pm 0.52 | 0,311 \pm 0.12 | 0,445 \pm 0.056 | 1,05 \pm 0.2 | 0,41 \pm 0.054 |

Tableau 4 : La concentration des différents paramètres biochimiques-plasmatiques des différents lots étudiés.

| Paramètres biochimiques plasmatiques | | | | | |
|--------------------------------------|-----------------|-----------------------|----------------------|--------------------|-----------------|
| Paramètres Lots | Glucose (g/l) | Lipides | | Créatinine mg/l | Urée |
| | | Triglycéride (g/l) | Cholestérol (g/l) | | |
| TS | 1,37 \pm 0,09 | 1,72 \pm 0,13 | 0,7 \pm 0,09 | 6,45 \pm 0,85 | 0,37 \pm 0,09 |
| TNT | 2,71 \pm | 2,14 \pm 0,16 | 0,87 \pm 0,06 | 7,59 \pm 0,3 | 0,5 \pm 0,06 |
| OFI | 1,51 \pm 0,35 | 2,14 \pm 0,04 | 0,75 \pm 0,1 | 7,27 \pm 0,21 | 0,39 \pm 0 |
| NS | 1,54 \pm 0,13 | 1,2 \pm 0,98 | 0,7 \pm 0,16 | 5,67 \pm 0,48 | 0,36 \pm 0,01 |

Annexe D L'analyse des données

Tableau 1 : Test d'échantillons indépendants
Test d'échantillons indépendants

| | Test de Levene sur l'égalité des variances | | Test-t pour égalité des moyennes | | | | | | |
|---------------------------------|--|------|----------------------------------|--------|-------------------|--------------------|-----------------------|--|------------|
| | F | Sig. | t | ddl | Sig. (bilatérale) | Différence moyenne | Différence écart-type | Intervalle de confiance 95% de la différence | |
| | | | | | | | | Inférieure | Supérieure |
| Hypothèse de variances égales | ,160 | ,694 | -,793 | 18 | ,438 | -10,13500 | 12,77317 | -36,97044 | 16,70044 |
| Hypothèse de variances inégales | | | -,793 | 17,762 | ,438 | -10,13500 | 12,77317 | -36,99629 | 16,72629 |

Annexe E. Fiche questionnaire**Le Pole Universitaire : Université Med kheider –Biskra-****La Faculté :** faculté des Sciences Exact et Sciences de la Nature et de la Vie

Département Sciences de la Nature et de la Vie

Les Etudiantes : Defdaf Djaouida, Benkahoul Loubna **L'Encadreur :** MARZOUGUI Imen**Spécialité :** biochimie fondamental et appliquée, 2^{eme} Master**L'Année Universitaire:** 2018/2019**Questionnaire**

Prîés de répondre de façon précise et honnête, mettre une croix dans la case que vous estimez convenable ou choisir la bonne réponse. Parmi les proportions et merci de votre collaboration.

Profil de l'informateur :**Age :** A1 < 20 A2 [20–30] A3 [30–40] A4 [40-50] A5 [50-60] A6 > 60**Sexe :** Masculin Féminin**Niveau d'étude :** Analphabète Primaire Secondaire Universitaire**Origine de l'information :** Achab Personne médicale Lecteur Expérience des autres

| Plantes | | Utilisation(Maladie) | Partie utiliser | Mode de Préparation et mode d'administration |
|-------------------------------|--------------------|----------------------|-----------------|--|
| Nom scientifique | Nom vernaculaire | | | |
| <i>Nigella Sativa</i> L | Sinoudj السينوج | | | |
| <i>Opuntia ficus indica</i> L | Hindi الهندي | | | |

Résumé

ملخص

في هذه الدراسة ، تمت علاج داء السكري الناجم عن الألوكسان في الفئران (*wistar albinos*) باستخدام المستخلص المائي *nigella sativa* و *Opuntia ficus indica* L. وأجريت دراسة استقصائية إثنولوجية لجمع المعلومات عن هذه النباتات الطبية في منطقة بسكرة. مقايسة نوعية كشفت عن ثراء النباتات بواسطة المستقلبات الثانوية: (polyphénols, flavonoïdes, tanins saponines, terpénoïde, mucilage et stérols) ، أظهر التقدير الكمي وجود محتوى أكثر تطوراً في الفلافونويدات في نباتات *Opuntia ficus indica* L مكافئ (52,896 مكغ / ملغ) والبوليفينول في *nigella sativa* (149.535 مكغ / ملغ) . الحقن داخل الصفاق من الألوكسين (150 ملغم / كغم) في الفئران (*wistar albinos*) مما أدى الى ارتفاع السكر في الدم ، وأظهرت نتائج العلاج باستخدام المستخلصات المائية (200 ملغم / كغم) من كلا النباتين بواسطة الابتلاع عن طريق الفم تحسناً في نسبة السكر في الدم ، والبيانات الحيوية ووزن الجسم.

الكلمات المفتاحية: *Nigella sativa* ، *Opuntia ficus indica* L ، السكرى ، الأوكسان ، فئران *wistar albinos* ، flavonoïdes ، polyphénols

Résumé

Dans cette étude ont traité le diabète sucré qui a été induit par l'Alloxane chez les souris (*wistar albinos*) avec l'extrait aqueux de *nigella sativa* et *Opuntia ficus indica* L, on a réalisée une enquête ethnobotanique pour la collection des informations sur ces plantes médicinales dans la région de Biskra. Un dosage qualitatif qui a révélé la richesse des plantes par des métabolites secondaires: (polyphénols, flavonoïdes, tanins, saponines, terpénoïde, mucilage et stérols), le dosage quantitatif a montré une teneur plus élevée en flavonoïdes chez *Opuntia ficus indica* L (52.896 µg EQ/mg) et en polyphénols pour *nigella sativa* (149.535 µgEAG/mg). L'injection intrapéritoniale d'Alloxane (150mg / kg) chez des souris (*wistar albinos*) a induit une hyperglycémie. Les résultats du traitement par les extraits aqueux (200 mg / kg) des deux plantes par gavage ont montré une amélioration du taux de glycémie, des profils biochimiques et du poids corporel.

Mots clés : *Nigella sativa*, *Opuntia ficus indica* L, diabète, Alloxan, Souris *wistar albinos*, flavonoïdes, polyphénols.

Abstract

In this study, alloxan-induced diabetes mellitus in mice (*albino wistar*) was studied with the aqueous extract of *nigella sativa* and *Opuntia ficus indica* L. An ethnobotanical survey was conducted for the collection of information on these medicinal plants in the region of Biskra. A qualitative assay which revealed the richness of the plants by secondary metabolites: (polyphenols, flavonoids, tannins, saponins, terpenoid, mucilage and sterols), the quantitative determination showed a more evolved content in flavonoids in *Opuntia ficus indica* L (52.896 µg EQ / mg) and polyphenols for *nigella sativa* (149,535 µgEAG / mg). Intraperitoneal injection of Alloxane (150 mg / kg) in mice (*albino wistar*) induced hyperglycemia. The results of treatment with aqueous extracts (200 mg / kg) of both plants by gavage showed an improved rate. glycemia, biochemical profiles and body weight.

Key words: *Nigella sativa*, *Opuntia ficus indica* L, diabetes, Alloxan, albino *wistar mice*, flavonoids, polyphenols.