

République Algérienne Démocratique et Populaire.  
Ministère de l'enseignement supérieur  
et de la recherche scientifique

Bc. 28/04

جامعة محمد الصديق بن يحيى  
كلية علوم الطبيعة والحياة  
المكتبة  
رقم الجرد : 421

Université de Jijel  
Faculté des sciences

Département de Biochimie et Microbiologie.

Mémoire

de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme  
des études supérieures en biologie

Option : Biochimie.

Thème

L'effet des flavonoïdes du *Ranunculus repens* L  
sur l'insulinosécrétion et la glycémie  
chez les rats hyper glycémiques.

Membres de jury :

- Président: M<sup>r</sup> HANDIS M<sup>ed</sup> Sadek.
- Examinatrice : M<sup>lle</sup> BENGUEDOUAR Lamia.
- Promoteur : M<sup>r</sup> KEBIECHE Mohamed.

Réalisé par :

- ✶ BOULKERAA Nadia.
- ✶ BELKEBIECHE Hayet.
- ✶ BEN AYACHE Samia.

Promotion 2003/2004



## *Remerciements*

*Nous sommes heureux aujourd'hui de remercier plus particulièrement notre dieu le tout puissant de nous avoir aidé et éclairé le chemin pour la réalisation de ce mémoire .*

*Nous tenons à remercier par ce présent mémoire tous ceux qui nous aidés de près ou de loin pour réaliser ce travail . En particulier notre encadreur Mr Kebieche Mohamed pour tout son aide , son directive et ses efforts déployés durant la préparation de notre mémoire . Et également nos sincères remerciements , pour leurs aides précieuses et conseil :*

- Md Kebsa Widad et Cherbale Asma .*
- Laboratoire de l'institut de science et de la nature en particulier Soumia et Raehid*
- Laboratoire d'un privé de Mr Bekioi .*

*Enfin nous tenons à remercier les membres de jury qui ont bien accepté de juger notre travail*

# SOMMAIRE

<b>Introduction</b> .....	01
<b>Chapitre I : Etude bibliographique</b>	
I- 1- Diabète.....	02
I-1-1- Définition du diabète.....	02
I-1-2- Classification du diabète.....	02
I-1-2-1- Diabète insulino-dépendant.....	02
I-1-2-2- Diabète non insulino-dépendant.....	02
I-1-2-3- Diabète gestationnel.....	02
I-1-2-4- Autre types spécifiques.....	02
I-1-3- Etiologie.....	03
I-1-4- Symptômes et diagnostic.....	03
I-1-4-1- Symptômes.....	03
I-1-4-2- Diagnostic.....	03
I-1-5- Complication.....	03
I-1-6- Régulation endocrinienne du métabolisme glucidique.....	03
a- L'insuline.....	05
a-1- Définition.....	05
a-2- Structure.....	05
a-3- Biosynthèse.....	06
a-4- Sécrétion.....	06
a-5- Dégradation.....	06
a-6- Actions de l'insuline.....	06
b- Le glucagon.....	07
c- La somatostatine.....	07
I-1-7- Régulation de l'insulinosécrétion.....	07
I-1-8- Traitement du diabète.....	09
A- L'activité physique.....	09
B- La diététique.....	09
C- Le traitement médicamenteux.....	09
c-1- L'insulinothérapie.....	09
c-2- Traitement par les antidiabétiques oraux (ADO).....	09
c-2-1- Les biguanides.....	10
c-2-2- Les sulfamides hypoglycémiantes.....	10
c-2-3- Les glinides.....	10
c-2-4- Les inhibiteurs de la glucosidase.....	10
D- La phytothérapie.....	10
I-2- Phytochimie.....	11
I-2-1- Généralité sur la plante.....	11
I-2-1-1- La définition et la systématique de la plante.....	11
I-2-1-2- Caractéristiques de la plante.....	12
I- 2-2- Les flavonoïdes.....	14
I-2-2-1- Historique.....	14
I-2-2-2- Définition.....	14

I-2-2-3- Structure générale.....	14
I-2-2-4- Distribution.....	14
I-2-2-5- Localisation.....	15
I-2-2-6- Classification.....	15
I-2-2-7- Biosynthèse.....	15
I-2-2-8- Rôles des flavonoïdes.....	15
• Rôles biologiques.....	15
• Rôles pharmacologiques.....	16
• L'activité hypoglycémiant des flavonoïdes.....	16
I-2-2-9- Méthodes d'études des flavonoïdes.....	16
* l'extraction des flavonoïdes.....	16
I-2-2-10- Pharmacocinétique des flavonoïdes.....	16
<b>Chapitre II : Matériel et méthodes</b>	
II-1- Matériel.....	18
II-1-1- Matériel végétal.....	18
II-1-2- Matériel animal.....	18
II-1-3- Matériel chimique.....	18
II-2- Méthodes.....	18
II-2-1- Extraction des flavonoïdes.....	18
II-2-1-1- Séchage.....	18
II-2-1-2- Broyage.....	18
II-2-1-3- Extraction hydro-éthanolique.....	19
II-2-1-4- Evaporation sec.....	19
II-2-1-5- Reprise par l'eau bouillante.....	19
II-2-1-6- Affrontement.....	19
A-Affrontement par l'ether de pétrole.....	19
B-Affrontement par l'acetat d'ethyle.....	20
C-Affrontement par le n-butanol.....	20
II-2-1-7-Evaporation à sec.....	20
II-2-2- Preparation des solutions administrées.....	21
a- Préparation des solutions flavono Glycémie diques.....	21
b- Préparation de la solution du glucose.....	22
c- Préparation de la solution gliclazide.....	22
II-2-3- Traitement des animaux.....	24
II-2-4- Dosage.....	25
a- Glycémie.....	26
b-Insulinémie.....	26
c-Cholestérolémie.....	27
d-Triglycéridémie.....	28
II-3- Evaluation statistique.....	29
<b>Chapitre III : Résultats et interpretations</b>	
III-1-résultat de l'extraction des deux types de flavonoides .....	30
III-2- Etudes de l'effet des flavonoïdes sur la glycémie,insulinémie cholestérolémie et triglycéridémie.....	30

## Liste des figures :

### Partie bibliographique :

Fig.1 :La régulation du métabolisme glucidique.....	4
Fig.2 :Structure de l'insuline.....	5
Fig.3 : Rôle de l'insuline dans l'absorption du glucose par la cellule.....	8
Fig.4 :Les gènes MODY contrôle la sécrétion de l'insuline par les cellules B.....	8
Fig.5 : <i>Ranunculus repens L</i> .....	13
Fig.6 :Structure générale des <i>flavonoides</i> .....	14
Fig.7 :biosynthèse des <i>flavonoides</i> .....	18

### Partie pratique :

Fig.8 :Protocole d'extraction des <i>flavonoides</i> .....	23
Fig.9 : Effet dose des deux types des <i>flavonoides</i> sur la glycémie(g/L).....	33
Fig10 : Variation de la glycémie en fonction du temps après l'administration d'une dose de 240mg/kg des deux types des <i>flavonoides</i> .....	34
Fig.11 : Effet dose des deux types des <i>flavonoides ; mono, di et triglycosides</i> sur l'insulinémie ( $\mu$ U/ml).....	35
Fig.12 : Effet dose des deux types des <i>flavonoides ; mono, di et triglycosides</i> sur la cholestérolémie (g/L).....	36
Fig.13 : Effet dose des deux types des <i>flavonoides ; mono, di et triglycosides</i> sur la triglycéridémie (g/L).....	37

## Liste des tableaux :

### **Partie théorique :**

**Tableau I :** Les caractéristiques de la plante *Ranunculus repens* L..... 12

### **Partie pratique :**

**Tableau II :** Distribution et traitement des rats pour l'étude de l'effet dose des deux types des *flavonoides* sur la glycémie ,l'insulinémie, le cholestérolémie, et le triglycéridémie. ....24

**Tableau III :** Distribution et traitement des animaux pour l'étude de l'effet temps des deux types des *flavonoides* sur la glycémie (g/L).....25

**Tableau IV :** Effet dose des deux types des *flavonoides, mono , di et triglycosides* sur l'insulinémie (  $\mu$ U/ml) glycémie, cholestérolémie et triglycéridémie g/L).....31

**Tableau V :** Variation de la glycémie (g/L) en fonction du temps après L'administration d'une dose 240mg/kg des deux types des *flavonoides ; mono ,di et triglycosides*.....32

## Introduction

En observant la nature autour de nous, on se rend immédiatement compte que le règne végétal est composé de nombreuses espèces. On estime de 400.000 à 600.000 le nombre d'espèces végétales réparties sur notre planète, parmi les quelles 20.000 vers 25.000 plantes sont utilisées dans la pharmacopée humaine (1, 2,3).

La naissance de la phytothérapie ne date pas d'hier, les témoignages retrouvés çà et là est la preuve que l'homme s'est toujours intéressé aux plantes, qui ont constitués pour lui une source de nourriture, voir un moyen de guérir ses maladies (3,4).

De nos jours, les progrès de la chimie et de l'analyse organique et pharmacologique, ainsi que de la physiologie végétale, ont permis de commencer un tri rationnel dans la masse des actions attribuées aux plantes détruisant certaines légendes, mais établissant solidement certains usages anciens (3).

Aujourd'hui encore les substances issues des végétaux ont des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie; en alimentation, en cosmétologie et dermatopharmacie. Parmi ces composés on retrouve dans une grande mesure les métabolismes secondaires qui se sont surtout illustrés en thérapeutiques et qui font encore l'objet de nombreuses recherches, ceci notamment le cas des polyphénols végétaux qui sont largement utilisés en thérapeutique comme vasculoprotecteurs, anti-inflammatoires, inhibiteurs enzymatiques, antioxydants et antiradicalaires, en particulier les *flavonoïdes* (5).

A l'heure actuelle, une liste de plus de 174 espèces végétales et plus de 31 plantes laxatives a été établie, dont l'usage médical est considéré comme suffisamment bien connu et sûr, et la recherche ne cesse de croître, essentiellement pour des sources naturelles de nouvelle tête de séries moléculaires pharmacologique actives qui constituent pour l'avenir un formidable creuset pour la découverte de nouveaux médicaments qui ont permis à des milliers des malades de retrouver l'espoir, et les diabétiques n'échappent pas à cette liste (1,4).

Des sommes fabuleuses sont dépensées pour financer ces recherches. Mais lorsqu'il s'agit de soigner l'une des maladies fréquentes et graves, l'enjeu justifie tous les efforts (6).

Dans notre travail, après un bref rappel sur le diabète et l'étude phytochimique nous nous attarderons surtout sur les résultats découlant de nos travaux sur l'activité hypoglycémiant des extraits flavonoïdiques; *mono, di et triglycosides* de la plante. *Ranunculus repens L.*, en nous complémentant essentiellement avec la détermination simultanée de l'activité insulinosécrétoire.

**C  
H  
A  
P  
I  
T  
R  
E**

**I**

***ETUDE  
BIBLIOGRAPHIQUE***



## **I- Etude bibliographique :**

### **I-1/ Diabète :**

Le terme de diabète, qui signifie syphon ou filtre était utilisé par les grecs, il y a plus de 2000 ans, pour décrire l'énorme volume d'urines éliminées par certains individus (7).

#### **I-1-1 Définition du diabète :**

Le diabète est un état pathologique aigu ou chronique en rapport avec un trouble métabolique de glycorégulation. Il est du généralement à un déficit relatif en insuline (7,8).

**I-1-2- Classification du diabète :** Le diabète est classé comme suit :

#### **I-1-2-1- Diabète insulino-dépendant (type I) : (DID)**

Il est également appelé diabète « maigre » ou juvénile, survenant le plus souvent avant l'âge de 20 ans et regroupant environ 10 % des personnes touchés. Il regroupe selon l'OMS toute formes du diabète essentiellement due à la destruction des cellules bêta du pancréas ou une insuffisance de leur fonction (9, 10, 11,12).

#### **I-1-2-2 Diabète non insulino-dépendant (type II) : (DNID)**

Il est nommé aussi diabète gras ou diabète de maturité. Il survient le plus souvent après l'âge de 40 ans et représentant entre 85-90 % des diabétiques. Il regroupe toutes formes du diabète qui résultent d'une résistance à l'insuline associée à un défaut de sécrétion de l'insuline (9,11).

#### **I-1-2-3- Diabète gestationnel :**

Est une complication dans environ de 4% des grossesses, souvent se disparaît après l'accouchement .Les femmes représentant un diabète gestationnel ont plusieurs années plus tard, un risque accru de DNID, les bébés ont un risque majeure d'obésité et vraisemblablement de DNID (11,13).

#### **I-1-2-4 -Autres types spécifiques :**

Il y'a aussi des diabètes liés à (9,12) :

- Un défaut génétique de la fonction des cellules B (mutation de l'ADN mitochondrial...) ou de l'action de l'insuline (Lepréchaunisme, diabète lipodystrophique...).
- Diabète pancréatique (pancréatite chronique, cancer du pancréas..).
- Une endocrinopathie (acromégalie, hyperthyroïdie, somatostatine, syndrome de cushing...).
- Diabète induit par des médicaments (glucocorticoïdes, diazoxide, Diurétique, thiazidiques) ou des toxiques (acide nicotinique...).
- Infections (Rubéole congénital, cytomégalovirus...).

**I-1-3- Etiologie :**

Le diabète est d'origine multifactorielle et polygénique, c'est à dire qu'il s'agit d'une maladie génétiquement déterminée par l'interaction d'anomalie de plusieurs gènes, mais qui ne s'expriment qu'en présence de facteurs environnementaux favorisants, tel que l'alimentation, le mode de vie, voir même certaines infections virales(10,14).

**I-1-4 -Symptômes et diagnostic :****I-1-4-1-Symptômes :**

En l'absence de traitement, le diabète se reconnaît par une élévation chronique de la glycémie. Celle-ci s'accompagne parfois par les symptômes suivants :

Soif intense, miction fréquente, asthénie, faim insatiable, vision embrouillée, possibilité de perte de poids et troubles de la conscience aboutissant à un coma mortel (8, 12,15).

**I-1-4-2 Diagnostic(9,16) :**

Le diagnostic clinique du diabète repose sur les symptômes décrits ci-dessus. Pour le diagnostic biologique, il se porte lorsque:

- Deux glycémies à jeun à des temps variables sont supérieures à 1.40 g/L (7,7mmol/L).
- Ou toute glycémie au hasard à deux reprises supérieures à 2g/L (11.1mmol/L).
- Ou plus rarement deux épreuves d'hyperglycémie provoqués par voie orale.

**I-1-5- Complications (8, 10, 17, 18,19) :**

L'hyperglycémie et les autres anomalies biochimiques exposent près de 30 % des diabétiques à des multiples complications, en particulier au niveau des gros et petits vaisseaux, des nerfs ainsi qu'une augmentation des infections. En fonction de sa durée, le diabète peut :

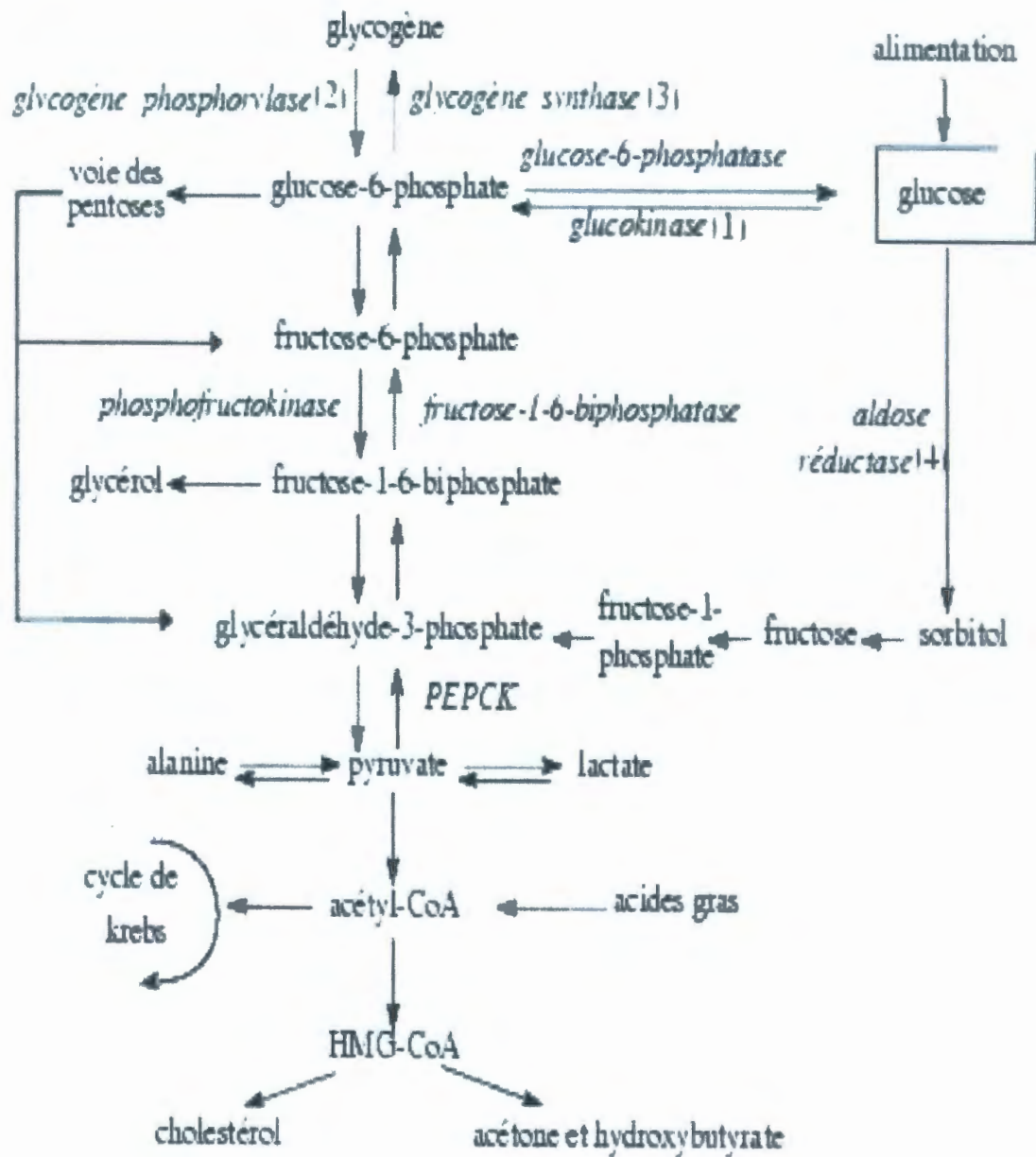
- Développer des lésions de la rétine, des reins, des nerfs périphériques.
- Aggraver les lésions d'athérosclérose au niveau du cœur, des jambes et du cerveau.
- Induire la formation des dépôts amyloïdes pancréatiques.

**I-1-6- Régulation endocrinienne du métabolisme glucidique :**

La glycorégulation est l'ensemble des mécanismes physiologiques, qui permettent le maintien du taux de sucre sanguin, ou glycémie, à un gramme par litre. La valeur normale est inférieure à 1,10g/L (6mmol/L) à jeun et inférieure à 1,40g/L (7,8mmol/L) après un repas.

Cette régulation est assurée par les sécrétions endocrines du pancréas qui pénètrent dans le flot sanguin par la veine mésentérique (7, 17).

Les principales hormones d'origine pancréatique sont au nombre de trois, l'insuline, le glucagon et la somatostatine (8) (figure1).



1) glucokinase: activité augmentée par l'insuline

2) glycogène phosphorylase : activité diminuée par l'insuline  
augmentée par le glucagon

3) glycogène synthase: activité augmentée par l'insuline

4) aldose réductase : transforme l'excès de glucose en sorbitol

5) PEPCK : phosphoenol pyruvate carboxykinase activité diminuée par l'insuline

6) 3 hydroxy-3-méthhylglutaryl CoA

Fig.1 : La régulation du métabolisme glucidique (20).

**A- L'insuline :**

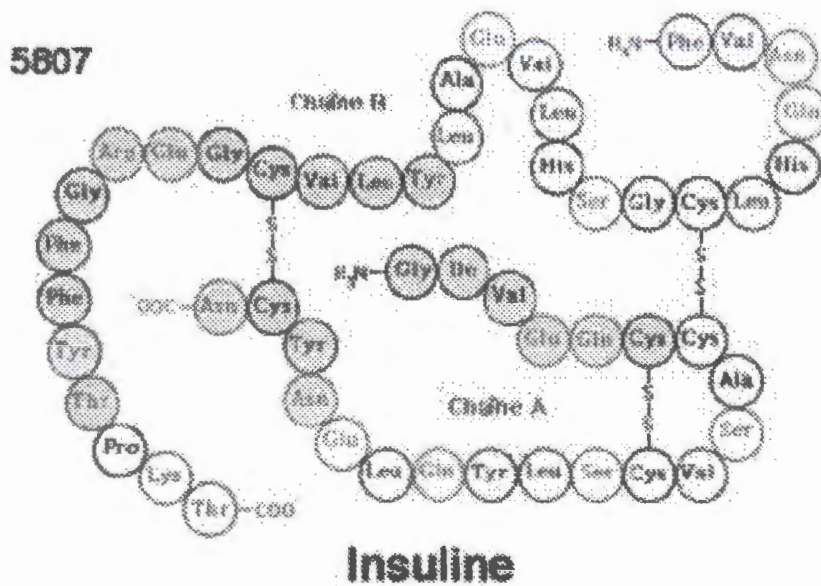
**A-1-Définition :**

Est une hormone de nature protéique, élaborée par les cellules bêta des îlots de Langerhans du pancréas et douée de propriété hypoglycémiant (15).

**A-2- Structure :**

L'insuline est un polypeptide d'un poids moléculaire de 6000 Da, composé de deux chaînes distinctes : chaîne A de 21, et chaîne B de 30 acides aminés, reliés par deux ponts disulfures (21).

Cette structure est bien présentée dans la figure 2.



**Fig.2 : structure de l'insuline (22).**

### A-3-Biosynthèse :

L'insuline est formée à partir d'un précurseur, la pro-insuline d'un poids moléculaire de 9000Da, dont les chaînes A et B sont reliées par un peptide de connexion appelé peptide C. La pro-insuline est ensuite transformée en insuline et peptide C sous l'action enzymatique dans les granules de stockage, et les deux formes seraient sécrétés en quantité égale (20).

### A-4- Sécrétion :

L'insuline est élaborée par deux mécanismes principaux, à savoir la sécrétion tonique qui ne dépend pas d'une stimulation par le glucose exogène mais qui est modulée par les variations de la glycémie, et la sécrétion bi phasique qui apparaît essentiellement comme une réponse directe à une stimulation par le glucose exogène (9).

### A-5- Dégradation

L'essentiel de la dégradation de l'insuline (90%) se fait au niveau du foie, le reste étant dégradé au niveau du rein (9).

### A-6-Action de l'insuline :

L'insuline exerce une puissante action sur les différents métabolismes (21).

❖ **Son action hypoglycémiante :** Elle est due à :

- Un blocage de la sécrétion hépatique de glucose par inhibition de la glucose-6-phosphatase(21).
- Une augmentation de la consommation du glucose par différents tissus notamment :
  - **Au niveau du foie :** L'insuline stimule la glycolyse et la glycogénogenèse et inhibe la néoglucogenèse et la glycogénolyse (23).
  - **Au niveau du tissu adipeux :** L'insuline augmente la captation globale adipocytaire du glucose et stimule l'estérification des acides gras en triglycérides (7)
  - **Au niveau du muscle :** L'insuline active le transport du glucose dans les cellules et la synthèse du glycogène (9).

L'action de l'insuline sur le métabolisme de glucose est représentée dans la figure3.

❖ **Autres actions métaboliques :**

L'insuline favorise la captation adipocytaire et hépatocytaire des acides gras, stimule la lipogenèse et inhibe la lipolyse dans le métabolisme lipidique. Elle augmente la captation cellulaires des acides aminés, stimule la protéolyse et freine la néoglucogenèse dans le métabolisme protéique (7,24).

L'insuline aussi agit sur la répartition de certains ions, elle accroît la pénétration intracellulaire de phosphate et du potassium (21).

**B- Le glucagon :**

Est une hormone hyperglycémiant antagoniste de l'insuline, synthétisée par les cellules alpha des îlots de langerhans et formée de 29 acides aminés avec un PM de 3500 Da. Cette hormone agit en stimulant la glycogénolyse, la néoglucogenèse et la lipolyse (9, 8).

**C- La somatostatine :**

Est une autre hormone hyperglycémiant, synthétisée par les cellules sigma des îlots de langerhans et composée de 14 acides aminés, avec un PM de 1638 Da. Elle inhibe la sécrétion de plusieurs hormones telle que l'insuline, la cholécystokinine et des autres hormones gastro-intestinales (9,24).

**I-1-7- Régulation de l'insulinosécrétion :**

❖ L'agent insulino-stimulant le plus puissant est le glucose. Une fois entré dans la cellule, le glucose tient un double rôle :

- Rôle énergétique, par son métabolisme oxydatif et sa phosphorylation, aboutissant à la synthèse d'ATP qui serait utilisé durant la libération de l'insuline.

- Rôle de signal de la sécrétion de l'insuline : la molécule de glucose activée pourrait former un message intracellulaire activant la sécrétion ou agit directement au niveau du noyau pour déclencher la synthèse de l'insuline (figure4).

❖ Certains acides aminés (Leucine, arginine, lysine,...), les acides gras et les corps cétoniques ont aussi une action stimulante de l'insulinosécrétion.

❖ L'élévation du  $K^+$  et  $Ca^{++}$  extracellulaire et de la concentration du  $Na^+$  dans la cellule bêta stimule l'insulinosécrétion.

❖ Certaines hormones gastro-intestinales et les agents cholinergiques ont un puissant effet stimulant sur l'insulinosécrétion, par contre la somatostatine et les catécholamines ont un effet inverse (9, 25,26).

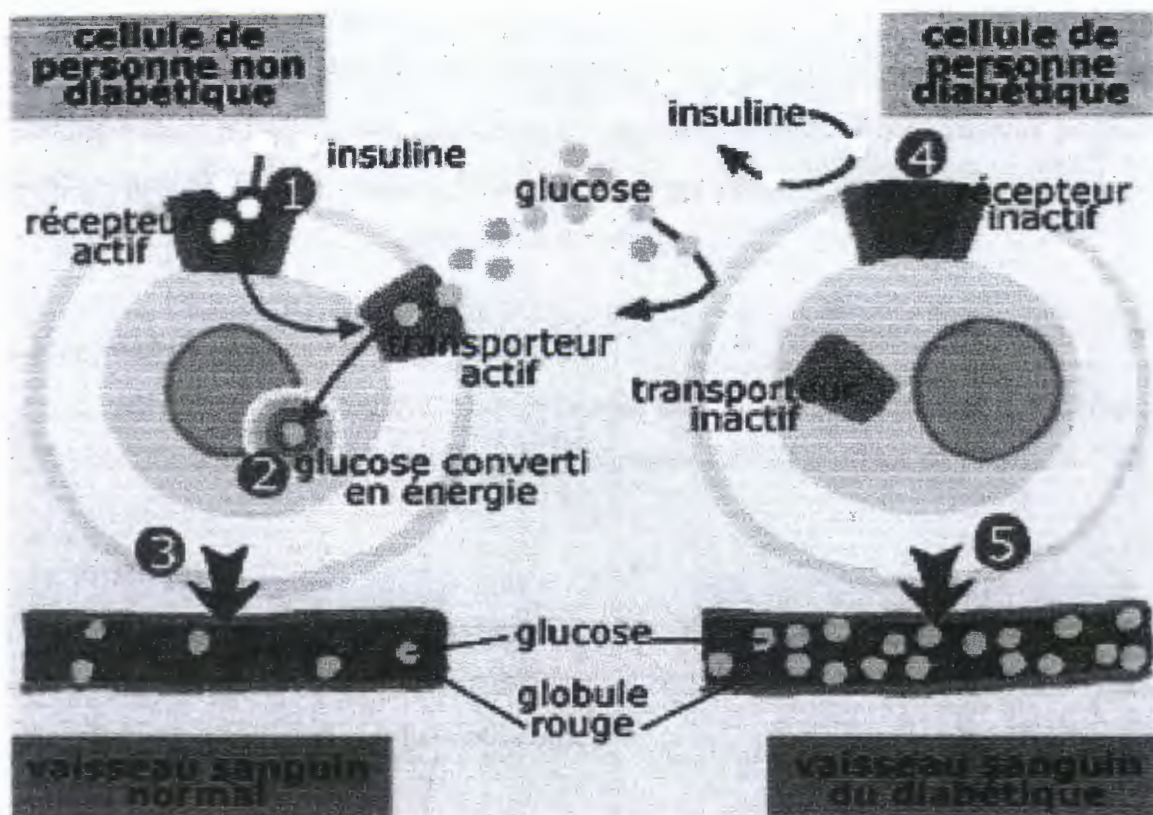


Fig.3 : Rôle de l'insuline dans l'absorption du glucose par la cellule(27)-

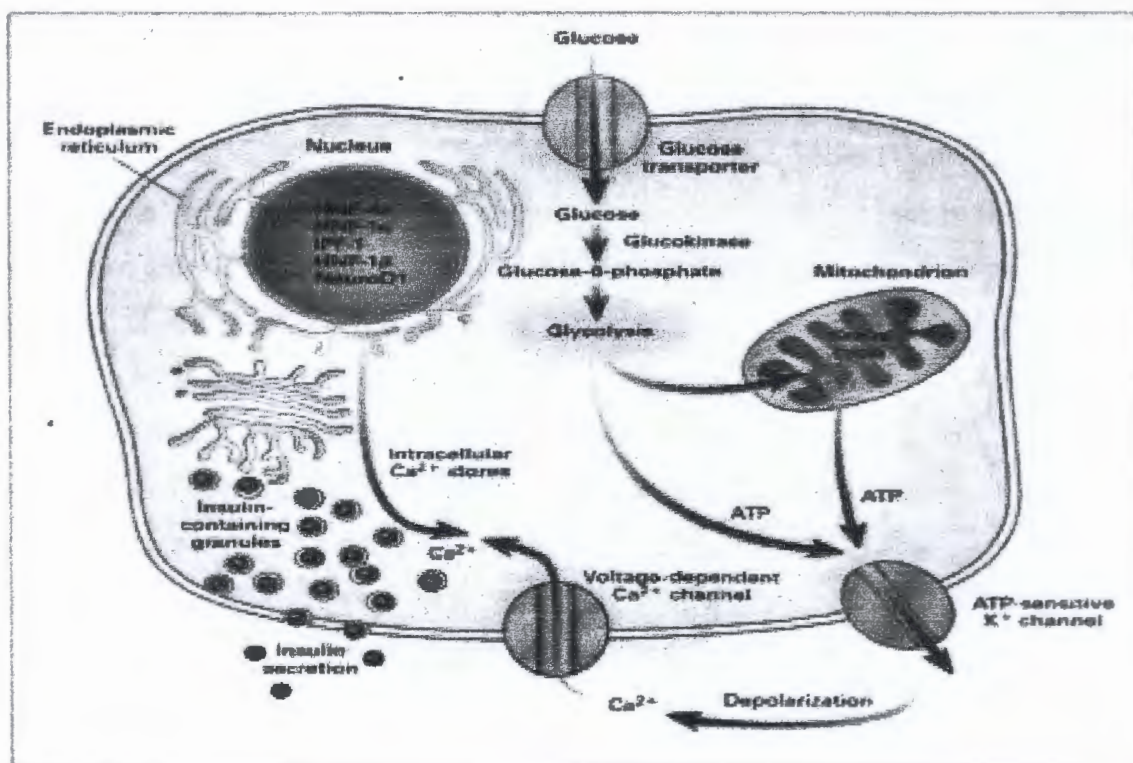


fig. 4 : Les gènes MODY controle la sécrétion de l'insuline par les cellules bêta(20).

### **I-1-8- Traitement du diabète :**

Le traitement du diabète vise à maintenir une glycémie normale, et à lutter contre la morbidité induite principalement par les atteintes cardiovasculaires consécutives au diabète. Le diabétique peut ainsi mener une vie physico- sociale normale ( 28 ).

Le traitement comporte quatre armes majeures:

#### **A- L'activité physique :**

L'activité physique régulière est un facteur de bon développement et d'équilibre chez le diabétique. Elle agit également sur l'insulinorésistance des tissus cibles de l'insuline (28).

#### **B- La diététique :**

Le régime alimentaire est nécessaire, en évitant les apports exagérés en sucres d'absorption rapide, et en consommant des nutriments riches en fibres qui ralentissent l'absorption des glucides et du cholestérol (25) .

#### **C- Le traitement médicamenteux :**

##### **C-1-L'insulinothérapie :**

L'insuline est le traitement spécifique du diabète, et spécialement de ses formes graves, dites << avec dénutrition >> (diabète de type I), et quand les médicaments hypoglycémifiants oraux ne sont pas suffisants.

La forme brute de l'insuline est extraite des pancréas de bœuf, de cheval et de porc. Elle fut découverte en 1921 et fut injectée à l'homme pour la première fois le 11 janvier 1922 (15,29).

L'insuline actuellement utilisée est obtenue par biotechnologie ; les insulines d'origine animale ne sont plus commercialisées. Les différentes insulines disponibles diffèrent uniquement pour leur délai et leur durée d'action (30).

Dans ce côté là, on classe les préparations d'insuline en 3 catégories :

- Brève : insuline ordinaire, avec action brève de 6 à 8 heures.
- Moyen : insuline intermédiaire, avec action semi – prolongée de 8 à 12 heures.
- Longue : insuline lente, avec action prolongée de 12 à 16 heures (15, 31,32).

##### **C-2- Traitement par les antidiabétiques oraux (ADO):**

Il existe de nombreuses substances qui ont un effet antidiabétique et qui agissent en faisant baisser la glycémie, on retrouve:



**C-2- 1- Les biguanides:**

Ils ont un effet anorexigène, ils diminuent l'absorption intestinale des sucres, ils augmentent l'utilisation musculaire et hépatiques du glucose par l'inhibition de la néoglucogenèse et l'intensification de la glycolyse. Aussi, ils stimulent l'insulinosécrétion.

**Ex :** la metformine (*N1, N2 di-méphyl-biguanide*) (9,16).

**C-2-2- Les sulfamides hypoglycémiantes:**

Les sulfamides exercent les actions suivantes : l'inhibition de la néoglucogenèse et de la glycolyse et l'augmentation de la glyco-génogenèse et de la sensibilisation à l'insuline.

**Ex :** le gliclazide (*Diamicron*) (33,34).

**C-2-3- Les glinides:**

Sont des régulateurs de la glycémie post- prandial qui stimulent la sécrétion d'insuline préférentiellement lors des repas.

**Ex :** le repaglinide (*Novonorm- Novo*) (16,34).

**C-2-4- : Les inhibiteurs de l'alpha - glucosidase :**

Ils ralentissent l'absorption des glucides dans le tube digestif.

**Ex :** acarbose (*glucor*) (34).

**D- La phytothérapie :**

C'est l'utilisation des plantes médicinales sous formes de tisanes. On peut traiter le diabète par l'utilisation des plusieurs plantes comme (25) :

**- L'ail :**

Une étude sur les rats diabétiques a montré que des composés de l'ail pouvaient être aussi efficaces que l'insuline (35).

**- La sauge :**

Une nouvelle étude en Allemagne confirme que la sauge diminue la glycémie surtout si elle est prise à jeun. (36).

**- L'olivier :**

L'olivier a un rôle dans la prévention des complications de la maladie. C'est un agent hypoglycémiant (37).

**- Les Céréales :**

Tous les céréales sont riches en fibres, selon une nouvelle étude, ont un effet hypoglycémiant en augmentant le nombre de récepteurs insuliniques (38).

- **L'oignon :**

Il contient une substance dite «L'orinase » qui active la synthèse et la sécrétion d'insuline. Il contient aussi des enzymes « glucokinase » ayant le même effet que l'insuline (37).

- **Le fenugrec :**

Il a un effet hypoglycémiant, hypocholestérolémiant et hypotriglycéridémiant (36).

- **Le bleuet :**

Possède plusieurs principes actifs (anthocyanosides, hétérosides). Elle possède des Propriétés hypoglycémiantes et anti- diabétiques (39) .

## I-2- PHYTOCHIMIE DE LA PLANTE :

### I-2-1- Généralité sur la plante :

#### I-2-1-1- La définition et la systématique de la plante :

Selon les botanistes, la famille des renonculacées, comprend une quarantaine de genres et 1500 à 1800 espèces est cosmopolite, dont le genre *Ranunculus* comprend environ 300 espèces, ce vaste genre comprend des plantes herbacées et de mauvaises herbes, dont *Ranunculus repens*, la seule espèce décrite, est largement répondeue dans les jardins (40, 41,42).

La taxonomie de la plante *Ranunculus repens L* est la suivante :

<b>Règne :</b>	<b>plante</b>
Sous règne :	<i>Tracheobionta.</i>
Super division :	<i>spermatophyta.</i>
Division :	<i>Magnoliophyta.</i>
Classe :	<i>Magnoliopsida.</i>
Sous classe :	<i>Magnoliidae.</i>
Ordre :	<i>Ranunculales.</i>
Famille :	<i>Ranunculaceae.</i>
Genre :	<i>Ranunculus.</i>
Espèce :	<i>Ranunculus repens L.</i>
Nom commun :	<i>Ranunculus rampant.</i>

**I-2-1-2- Caractéristiques de la plante :**

Les principaux critères de la plante *Ranunculus repens L* sont résumés dans le tableau I.

**Tableau I : les caractéristiques de plante *Ranunculus repens L* (40, 43, 41, 44,45) .**

<b>origine</b>	Le nom de genre signifie petite grounouille car certaines espèces vivantes dans des endroits marécageux.
<b>Habitat</b>	Très commune, se rencontre dans les lieux ombragés et suffisamment humides.
<b>Description la la semence</b>	Dimension : 2,0 – 3,5 mm Couleur : jaune – brun Forme : lenticulaire marginée à bec grêle en crochet de 0,5 à 1 mm.
<b>Description la plantule</b>	Plantule à rosette et à feuille alternes, cotylédons allongés en forme de cuillère.
<b>Description la plante adulte</b>	Hauteur : 20 à 50 cm Tige florifère, ascendante plusieurs fois divisée, sillonnée. Feuilles velues, tripartites, lobes centraux à longue pétiole. Fleurs isolées, terminales, de 2 à 2,5 cm de diamètre, d'un jaune, Brillant, contient 5 pétales et plusieurs étamines. Fruits : le fruit est un akène oral et lisse.
<b>Cycle de vie</b>	Plante annuelle vivace, pérenne, se multipliant par stolons. Floraison d'avril à juillet. Plante plus riche en principe actif un peu avant la floraison.
<b>Médecine</b>	Plante caustique, peut provoquer des brûlures si elle est mâchée, et des problèmes cutanées du lactone qu'elle libère.
<b>Culinaire</b>	Sans intérêt alimentaire.

La figure5 représentée la *Ranunculus repens L* .



1817.

*R. Ranuncularius.*

*Ranunculus repens L.*

Kriechender Ranunkel

Fig.5 : *Ranunculus repens* L (46).

## I-2-2-Les flavonoïdes :

### I-2-2-1- Historique :

Le nom *flavonoïde* est dérivé du mot « Flavus » en latin, qui signifie jaune, furent de couvertes en 1936 par hongrois szent Gyögui dans le zest de citron (47).

### I-2-2-2- Définition :

Le terme *flavonoïdes* rassemble une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des *polyphénols*, ce sont des pigments, presque toujours hydrosolubles, issues des métabolismes secondaires des végétaux. Ils sont responsables de la coloration des plantes (48).

### I-2-2-3-Structure générale :

Les *flavonoïdes* possèdent un squelette de base à quinze atomes de carbone constitués de deux cycles benzénique (A et B) reliés par une chaîne de 3 carbones. ( Figure.6) (49).

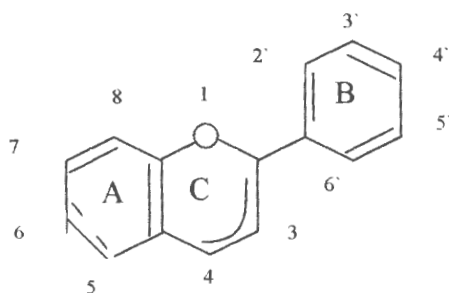


Fig.6 : Structure générale des *flavonoïdes*.

### I-2-2-4- La Distribution :

Les *flavonoïdes* sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs : racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines, bois,.....certains *flavonoïdes* sont plus spécifiques de certains tissus.

Le monde animal est lui aussi très concerné par les *flavonoïdes*. On trouve par exemple de la chrysin, de la quercétine, de la galangine dans la propolis des abeilles.

Ils peuvent également se trouver dans les glandes à sécrétion odoriférante du castor (50,51 ,48).

**I-2-2-5- Localisation :**

Les formes hétérosidiques des *flavonoïdes*, hydrosolubles, s'accumulent dans les vacuoles et selon les espèces, se rencontrent dans l'épiderme des feuilles ou se repartissent entre l'épiderme et le mésophyle.

Lorsque les *flavonoïdes* sont présents dans la cuticule foliaire, il s'agit près que toujours de génies libres(21,47).

**I-2-2-6- Classification :**

Les *flavonoïdes* se repartissent en quinze familles de composés dont les plus importantes sont les suivantes : flavones ,flavonols ,flavanones, flavanonols, iso flavones, iso flavanones, chalcones, aurones et anthocyanes (52) .

Les composés de chaque sous classe se distingue par le nombre, la position et la nature des substituents sur les deux cycles aromatiques A, B et la chaîne intermédiaire (53).

Les *flavonoïdes* se trouvent sous forme libre ou sous forme d'hétérosides qui résultent de la combinaison du groupe réducteur d'un ose avec une substance non glucidique : l'aglycone ou la génine.

La partie osidique peut être mono, di, ou tri saccharidique (47).

**I-2-2-7- Biosynthèse :**

Les *flavonoïdes* sont issus de deux voies complémentaires :

- Voie de l'acide malonique : voie de synthèse du noyau A qui résulte de la condensation d'une para- coumaroyl COA avec 3 unités malonyl COA
- Voie de l'acide shikimique : consiste à la formation du noyau B et les hétérocycles des *flavonoïdes*. L'acide shikimique et la phénylalanine sont les meilleurs précurseurs de cette voie.

Enfin les deux voies se condensent pour donner naissance à un précurseur commun ; la 2, 4, 6,4` tétra hydroxy chalcone.

- Par action d'enzymes spécifiques, cette chalcone est métabolisée en différentes classes des *flavonoïdes* (54,48).

Les principales étapes de la biosynthèse des *flavonoïdes* sont représentées par la figure 7.

**I-2-2-8-Rôles des flavonoïdes :**

Les *flavonoïdes* ont plusieurs rôles :

**-Rôles biologiques :**

Les *flavonoïdes* sont responsables de la couleur chez les plantes pour attirer les insectes et cela a fin de déclencher la fécondation .Elles présentent des propriétés intéressantes dans le

contrôle de la respiration et de la morphogenèse. Certains d'entre eux jouent un rôle de phytoalexine (48, 55).

#### **-Rôles pharmacologiques :**

Les *flavonoïdes* sont de bon antioxydants par leur capacité de piéger et de neutraliser les radicaux libres. D'autre *flavonoïdes* sont de bon inhibiteurs d'enzymes. Ils ont également étudiés dans le domaine médical où on leur reconnaît des activités antibiotiques, antivirales, anti-ulcère, anti-inflammatoire, antiallergiques, antidiurétique (47,48).

#### **- L'activité hypoglycémiant des flavonoïdes :**

Les *flavonoïdes* (anthocyanosides, hétérosides) possèdent des propriétés antidiabétiques. Ils peuvent également améliorer la sécrétion de l'insuline et protéger les cellules pancréatiques qui peuvent être endommagées par les radicaux libres (56,57).

#### **I-2-2-9-Méthodes d'études des flavonoïdes :**

- **L'extraction des flavonoïdes :**

Les hétérosides peuvent être extraits, le plus souvent à chaud, par l'acétone ou par des alcools (dilué 350 éthanol + 150 d'eau distillée).

-Il est possible de procéder ensuite un affrontement :

La phase aqueuse, est affrontée par trois solvants non miscible à l'eau ; par l'éther de pétrole qui élimine la chlorophylle et les lipides, par le di-éthyl éther qui extrait les génines libres et par l'acétate d'éthyle qui entraîne la majorité des hétérosides.

-Les sucres libres restent dans la phase aqueuse (47).

#### **I-2-2-10-Pharmacocinétique des flavonoïdes :**

Les *flavonoïdes* sont présents dans notre alimentation sous plusieurs formes et cette particularité confère des métabolismes différents.

Les formes libres (aglycones) peuvent être directement absorbées au niveau de l'intestin grêle, tandis que les formes glycosylées doivent être hydrolysées (sous l'influence des glycosidases) par la flore intestinale au niveau du côlon, avant d'être absorbées.

Cependant les formes libres issues de cette hydrolyse peuvent aussi être dégradées par la microflore en acide phénolique, eux mêmes absorbées ou éliminées via les fèces.

Dans le sang, les *flavonoïdes* ne sont pas présents sous leur forme native car ils ont été transformés, au niveau du foie et au niveau de la cellule intestinale, par des enzymes de conjugaison qui transforment les *flavonoïdes* en *flavonoïdes* conjugués. La fraction des *flavonoïdes* conjugués finalement dirigée vers les tissus périphériques, a potentiellement un effet biologique (58).

Le temps de demi vie des *flavonoïdes* est de 11 heures (59).

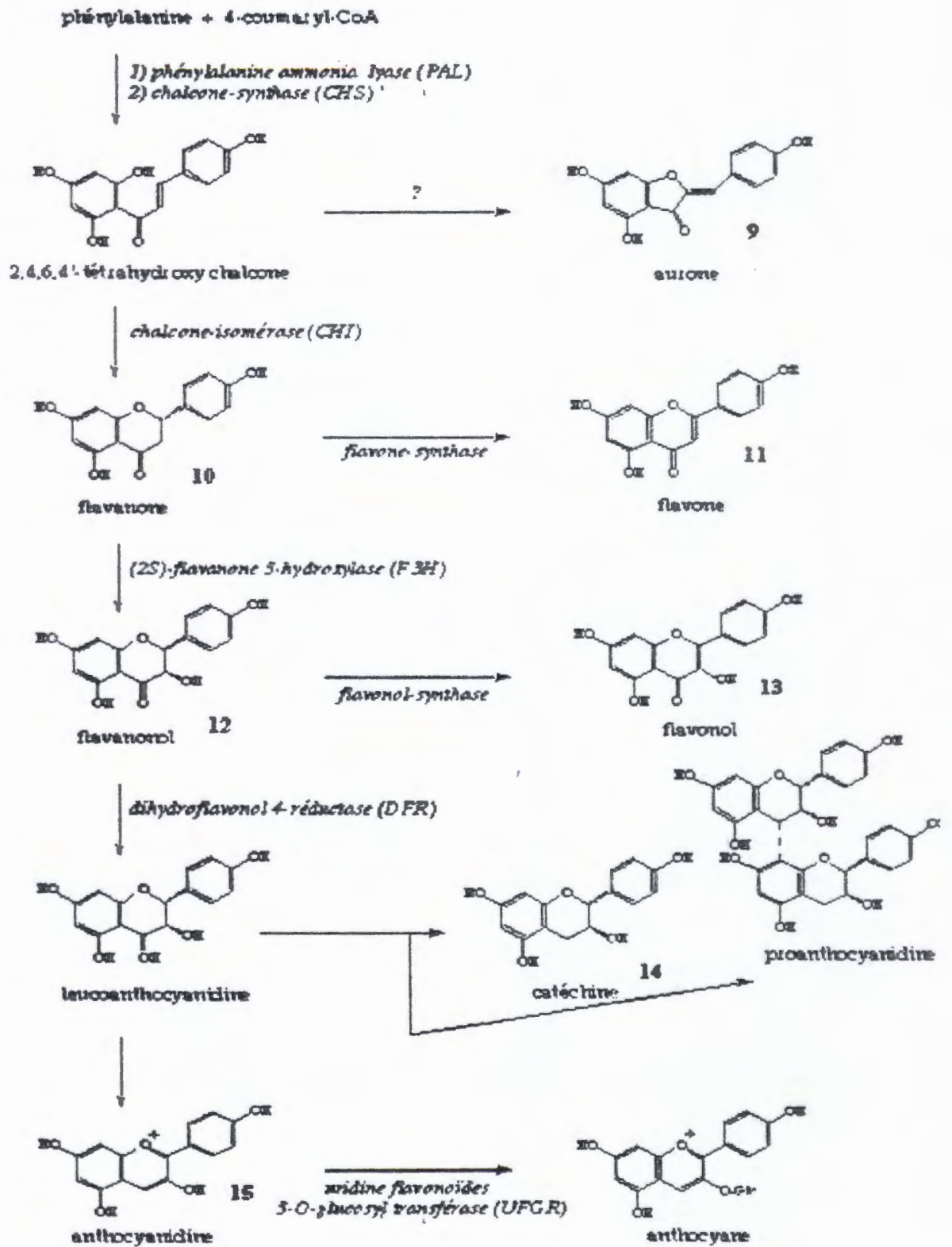


Fig.7: biosynthèse des flavonoïdes (A8).



**C  
H  
A  
P  
I  
T  
R  
E**

**II**

**MATÉRIELS ET MÉTHODES**

## **II- Matériels et méthodes :**

### **II-1-Matériels :**

#### **II-1-1- Matériel végétal :**

La cueillette de la plante *Ranunculus repens L* a été faite à partir de la région de TAHER – Jijel le 11 Mai 2004.

#### **II-1-2- Matériel animal :**

Nous avons réalisé notre travail sur des 20 rats albinos *Wistar* mixtes de poids moyen 260g, provenant de l'institut Pasteur d'Alger. Ils sont élevés dans des cages en métal sous des conditions environnementales standard de notre animalerie (approximativement 20-30°C). Ces animaux sont nourris de croquettes et bus de l'eau normal, ils sont maintenus à jeun 16-18 heures avant de commencer l'expérience.

#### **II-1-3-Matériels Chimiques :**

Le glucose en poudre, ainsi que les solvants ; éthanol, éther de pétrole, acétate d'éthyle et n-butanol sont obtenus à partir de notre laboratoire. Le médicament hypoglycémiant oral gliclazide est apporté de l'association d'aide des malades et des dons du sang.

## **II-2-Méthodes :**

### **II-2-1-Extraction des flavonoïdes:**

L'extraction est faite au niveau du laboratoire de l'institut de biologie selon le protocole expérimental suivant (figure 8) :

#### **II-2-1-1- Séchage:**

Après la cueillette de la plante et le lavage par l'eau distillée, on la sèche à l'air libre pendant 3 jours, puis dans l'étuve à 45 °C pendant 2 jours.

#### **II-2-1-2- Broyage:**

Nous avons fait le broyage des parties les plus jeunes de la plante sauf les racines à l'aide d'un broyeur de 8000 tours/ mn pendant 25 secondes jusqu'à l'obtention d'une poudre très fine.

**II-2-1-3- Extraction hydro- éthanolique :**

Nous avons pris 31 g du matériel végétal avec 500 ml de l'éthanol dilué à 75% (soit 350 ml d'éthanol +150 ml d'eau distillée )dans une fiole et nous laissons macérer pendant 3 jours, puis nous filtrons le mélange à l'aide du papier filtre.

**II-2-1-4- Evaporation à sec :**

A fin de séparer l'extrait sec de la phase éthanolique, nous avons utilisé le rotavapeur à température de 79C° à 2 tours/ mn jusqu'à obtention d'un extrait sec des substances organiques et notamment les *flavonoïdes*.

**II-2-1-5- Reprise par l'eau bouillante :**

Nous avons : 10g de matière végétale —————> 100 ml d'eau distillée  
 31 g de matière végétale —————> x ml d'eau distillée

$x = 310 \text{ ml}$

Donc le volume d'eau distillée qu' on ajoute est 310 ml .

On laisse macérer pendant 24 heures, puis on filtre à fin d'éliminer les impuretés.

Le volume final de la phase aqueuse obtenue est de 300 ml.

**II-2-1-6- Affrontement :**

L'affrontement de la phase aqueuse se fait par 3 solvants différents :

- éther de pétrole pour éliminer la chlorophylle.
- acétate d'éthyle : solvant préférentiel des *monoglycosides*.
- n- butanol : solvant préférentiel des *di et triglycosides*.

**A- Affrontement par l'éther de pétrole :**

Nous avons ajouté 100 ml d'éther de pétrole à la phase aqueuse. Après agitation énergique et repos de 10 mn, on met le mélange dans une ampoule à décantation. Deux phases sont obtenues :

- une phase aqueuse en bas.
- Une phase éther de pétrole en haut contenant la chlorophylle.

**B- Affrontement par l'acétate d'éthyle :**

Sur la phase aqueuse obtenue après affrontement par l'éther de pétrole, nous avons répété les mêmes opérations mais avec un autre solvant qui est l'acétate d'éthyle. Deux phases sont obtenues :

- Une phase aqueuse en bas.
- Une phase acétate d'éthyle contenant les *monoglycosides* en haut.

**C- Affrontement par le n-butanol :**

Même technique que précédemment, mais le solvant utilisé est le n-butanol. De même, deux phases sont obtenues :

- Une phase aqueuse en bas.
- Une phase n-butanol contenant les *di* et les *triglycosides* en haut.

**II-2-1-7- Evaporation à sec :**

Les deux phases : acétate d'éthyle ; n- butanol ont subi une évaporation à sec :

- pour la phase acétate d'éthyle l'évaporation s'effectue dans le rotavapeur à 76,8 c°.
- pour le n-butanol, l'évaporation s'effectue dans l'étuve à 50 c°.

Nous avons obtenu l'extrait brut de chaque phase, et à l'aide d'une balance électronique sensible, nous avons calculé la masse des extraits bruts obtenus à partir de 186 g du matériel végétal broyé :

**A- Extrait des *monoglycosides* :**

$m = 281,32$  g (poids du ballon contenant l'extrait brut des *monoglycosides*).

$m = 280,56$  g (poids du ballon vide).

$Dm = 0,76$  g (masse de l'extrait sec des *monoglycosides* ).

**B- Extrait des *di* et des *triglycosides* :**

$m = 114,16$  g (poids du cristalliseur contenant l'extrait brut des *di* et *triglycoside* ).

$m = 112,56$  g (poids du cristalliseur vide).

$Dm = 1,69$ g (masse de l'extrait sec des *di* et des *triglycosides* )

## II-2-2- Préparation des solutions administrées :

### a- Préparation des solutions flavonoïdiques :

#### ➤ Préparation des solutions de base :

Nous avons préparé la solution des *monoglycosides* en additionnant 12 mL d'eau distillée bouillante à l'extrait sec des *monoglycosides* ( 0,76 g ), nous avons donc obtenu une solution des *monoglycosides* à 63,33 mg / mL.

De même, nous avons ajouté la même quantité de l'eau distillée bouillante à l'extrait sec des *di* et *triglycosides* (1,69 g) afin d'obtenir une solution de 12 mg / mL.

#### ➤ Préparation des différentes concentrations :

Dans notre travail, nous sommes intéressés de faire étudier l'effet hypoglycémiant de quatre doses des mono, *di* et *triglycosides* à savoir 40, 80, 120, 240 mg/kg.

Pour réaliser ces concentrations, nous avons basé sur une méthode de dilution, en additionnant de l'eau distillée à l'extrait de base.

La préparation de la dose 40 mg /Kg des *monoglycosides* c'est l'exemple suivi pour toutes les concentrations restantes. Elle se fait comme suite.

40 mg —————> 1000 g (dose 40 mg/ Kg)

m mg —————> 260 g (poids moyen du rat)

Donc : m= 10,4 mg pour chaque rat.

On a besoin de 10 ml de la solution des *monoglycosides* de concentration 10,4 mg/ml à partir de la solution 63,33 mg/ml.

$$C_1 V_1 = C_2 V_2 \rightarrow V_1 = \frac{C_2 \times V_2}{C_1} = \frac{10,4 \times 10}{63,33} = 1,64 \text{ ml.}$$

Donc, nous complétons 1,64 ml de la solution de base des *monoglycosides* avec un volume  $V_2$  de 8,36 mL de l'eau distillée ( $V_2 = V - V_1 = 10 - 1,64 = 8,36$  ml).

Sachant que :  $V_1$  = Volume de la solution de base des *monoglycosides*

$V_2$  = Volume d'eau distillée que l'on ajoute.

$C_1$  = concentration de la solution de base des *monoglycosides*

$C_2$  = concentration voulue de la solution des *monoglycosides*

$V$  = volume total.



Par la même méthode nous avons préparé les autres doses 80, 120, 240 mg/ Kg pour les *monoglycosides* et les *di* et *triglycosides*

**b- Préparation de la solution du glucose :**

Nous avons besoin de 100 ml de la solution du glucose à 1 g/ml pour provoquer l'hyperglycémie.

1g de glucose       $\longrightarrow$       1 ml d'eau distillée.  
 X g de glucose       $\longrightarrow$       100 ml d'eau distillée.

X= 100 g de glucose.

Donc, nous avons dissout 100 g de glucose dans 100 ml d'eau distillée.

**C- Préparation de la solution de gliclazide :**

Le gliclazide (*DIAMICRON*) est un hypoglycémiant de la famille des sulfonylurées, qui entraîne une baisse de la glycémie par action sur la libération d'insuline par le pancréas et par l'augmentation de la sensibilité cellulaire à l'insuline. Ce médicament se présente sous forme de comprimé blanc de 80 mg.

On a besoin de 4 doses différentes de la solution du gliclazide à savoir 40, 80, 120 et 240mg/kg.

La méthode utilisée pour ces préparations est démontrée par l'exemple suivant :

Ex : préparation de la dose 40 mg /Kg :

La quantité du gliclazide soluble dans 1 ml d'eau distillée est :

40 mg  $\longrightarrow$  1000 g (dose 40 mg /Kg)  
 m mg  $\longrightarrow$  260 g (poids moyen du rat)

$m = \frac{260 \times 40}{1000} = 10,4$  mg , du gliclazide dans 1ml d'eau distillée pour chaque rat.

On a besoin 10 ml de la solution du gliclazide d'une dose 40 mg/Kg :

Donc, la quantité du gliclazide soluble dans 10 ml d'eau distillée est égale à 104 mg (10,4 x 10 )

La même méthode est utilisée pour préparé les doses 80, 120 et 240mg/kg.

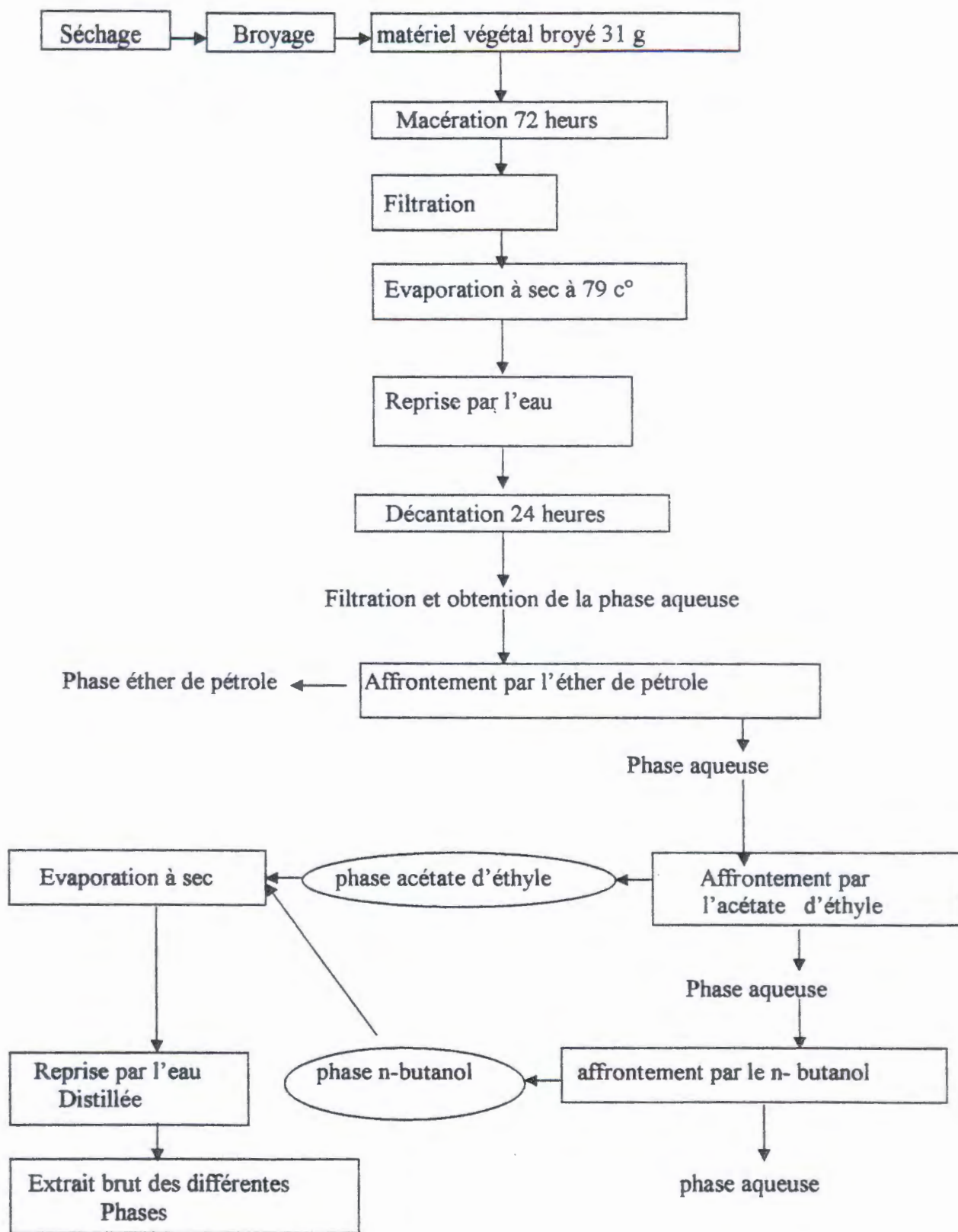


Fig.8 : Protocole d'extraction des flavonoïdes (47).

**II-2-3- Traitement des animaux :**

Les animaux sont répartis en 2 groupes.

**Groupe 1 : Evaluation de l'effet dose des deux types des flavonoïdes sur la glycémie, l'insulinémie, cholestérolémie et triglycéridémie :**

Pour l'évaluation de l'effet dose des flavonoïdes sur la glycémie l'insulinémie, cholestérolémie et triglycéridémie, nous avons fait la répartition des animaux en 14 lots à 4 rats chacun. Nous avons administré nos principes actifs et le glucose, en même temps par voie orale à l'aide d'une sonde métallique au animaux soumis à un jeun 16 -18 heures, et nous utilisons l'hypoglycémiant le gliclazide (*DIAMICRON*) pour comparer son effet avec celui des flavonoïdes. Les doses utilisées sont 40, 80, 120, et 240mg/kg.

Le tableau II résume la répartition et le traitement des animaux.

**Tableau II : distribution et traitement des rats pour l'étude de l'effet dose des deux types des flavonoïdes sur la glycémie , l'insulinémie, cholestérolémie et triglycéridémie .**

Lot	Reçoit
Lot 1 : témoin 1	1 ml d'eau distillée.
lot 2 : témoin 2	1 ml de la solution du glucose .
Lot 3	1 ml de la solution du glucose + 1 ml de la solution des <i>monoglycosides</i> a la dose de 40 mg/Kg.
Lot 4	1 ml de la solution du glucose+ 1 ml de la solution des <i>monoglycosides</i> a la dose 80 mg/Kg..
Lot 5	1 ml de la solution du glucose + 1 ml de la solution des <i>monoglycosides</i> a la dose de 120 mg/Kg.
Lot 6	1 ml de la solution du glucose + 1 ml de la solution des <i>monoglycosides</i> a la dose de 240mg/Kg.
Lot 7	1 ml de la solution de glucose + 1 ml de la solution des <i>di</i> et des <i>triglycosides</i> a la dose 40 mg/Kg.
Lot 8	1 ml de la solution du glucose +1ml de la solution des <i>di</i> et des <i>triglycosides</i> à la dose 80 mg/Kg.
Lot 9	1 ml de la solution de glucose + 1 ml de la solution <i>di</i> et des <i>triglycosides</i> à la dose 120 mg/Kg.
Lot 10	1 ml de la solution du glucose+ 1 ml de la solution des <i>di</i> et des <i>triglycosides</i> à la dose 240 mg/Kg.
Lot 11	1 ml de la solution du glucose+ 1 ml de la solution de gliclazide a la dose 40 mg/Kg.
Lot 12	1 ml de la solution du glucose + 1 ml de la solution de gliclazide a la dose 80 mg/Kg.
Lot 13	1 ml de la solution du glucose+ 1 ml de la solution de gliclazide a la dose 120 mg/Kg.
Lot 14	1 ml de la solution du glucose+ 1 ml de la solution de gliclazide a la dose 240 mg/Kg.



Le prélèvement s'effectue une heure après l'administration, au niveau du rétro-orbital : un capillaire à hématocrite enfoncé dans l'angle antérieur de l'œil perce, la paroi du sinus caverneux. Le sang monte par capillarité, et est ensuite récupéré dans des tubes à hémolyse héparines.

Le sang prélevé subit une centrifugation afin de séparer les cellules sanguines du plasma, et ce dernier est récupéré dans des épendorfs pour le dosage.

### Groupe 2 : Evaluation de l'effet temps des deux types de *flavonoïdes* sur la glycémie :

Pour évaluer l'effet temps des *flavonoïdes* sur la glycémie nous avons fait la répartition des lots pour obtenir 5 lots à 4 rats chacun. Nous avons administré la solution des *flavonoïdes* et le glucose (pour provoquer une hyperglycémie) en même temps, en utilisant aussi le gliclazide. Les rats reçoivent la même dose à savoir 240 mg/Kg.

La répartition et le traitement des rats sont réalisés selon le tableau III.

**Tableau II : Distribution et traitement des animaux pour l'étude de l'effet temps des *flavonoïdes* sur la glycémie :**

Lots	Reçoit
Lot 1 : témoin 1	1 ml d'eau distillé.
Lot 2 : témoin 2	1 ml de la solution du glucose 1g/ml.
Lot 3	1 ml de la solution du glucose + 1 ml de la solution des <i>monoglycosides</i> .
Lot 4	1 ml de la solution du glucose+ 1 ml la solution des <i>di et triglycosides</i> .
Lot 5	1 ml de la solution du glucose+ 1 ml de la solution de gliclazide.

Le sang est prélevé en fonction du temps (3 fois) c'est à dire, nous réalisons le prélèvement après 30, 90 et 120 mn.

#### II-2-4-Dosage :

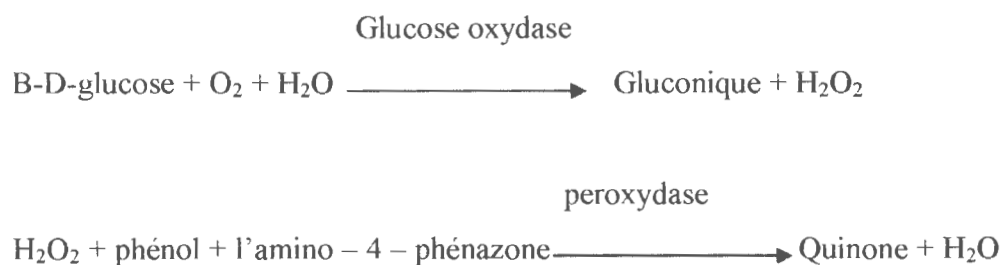
Le dosage de la glycémie, insulinémie, cholestérolémie et triglycéridémie a été réalisé au niveau d'un laboratoire privé.

**a- Glycémie :**

Le plasma doit être séparé le plus rapidement possible, afin d'éviter la glycolyse. La glycémie est dosée selon la méthode enzymatique colorimétrique à la glucose oxydase ( 60,61).

**❖ Principe :**

En présence de glucose oxydase, le glucose est oxydé en acide gluconique. L'eau oxygénée libérée au cours de la réaction, réagit sous l'action de la peroxydase avec le phénol et l' amino - 4- phénazone, pour former un complexe rose. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration en glucose.

**Mode opératoire :**

	<b>Dosage</b>	<b>Etalon</b>	<b>Blanc</b>
<b>Echantillon</b>	10 µl	-	-
<b>Etalon</b>	-	10 µl	-
<b>Mélange réactif</b>	10 µl	10 µl	10 µl

On mélange et on laisse reposer 15 mn à 37°C. La lecture de la concentration se fait directement sur le spectrophotomètre contre le blanc réactif à 500 nm. La coloration est stable une heure à l'abri de la lumière.

**b- Insulinémie :**

Le dosage de l'insuline peut être effectué sur des échantillons de sérum ou de plasma qui doit être séparé le plus rapidement possible pour éviter la dégradation de l'insuline dans les globules rouge par les insulinas plasmatique, les échantillons hymolysés ne doivent pas être utilisés. L'insuline est dosé par la méthode immunoenzymatique microparticulaire ( MEIA).(62)

❖ **Principe :**

Les réactions ont lieu dans l'ordre suivant :

- L'échantillon, les microparticules recouvertes d'anticorps anti-insuline et le tampon de dosage sont pipetés dans un puits du globule rouge. Pendant l'incubation de ce mélange réactionnel, l'insuline représente sous forme d'un complexe anticorps – antigène dans l'échantillon.
- Une partie aliquote du mélange réactionnel est transférée sur la matrice, les microparticules se lient irréversiblement à la matrice en fibres de verre.
- La matrice est lavée afin d'éliminer le matériel non lié.
- Le conjugué d'anticorps anti-insuline phosphatase alcaline est distribué sur la matrice et se lie au complexe anticorps – antigène.
- La matrice est lavée afin d'éliminer le matériel non lié.
- Le substrat, phosphate de méthyl - 4 - ombelliféryl, est ajouté sur la matrice et le taux de formation du produit fluorexent est mesuré par le système optique MEIA.

**c-Cholestérolémie :**❖ **Principe :**

La détermination enzymatique colorimétrique du cholestérol total se fait selon les réactions suivantes .(63,64)

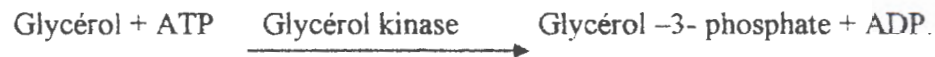
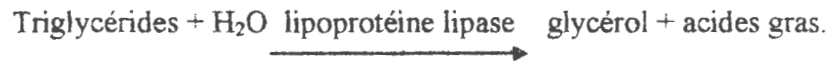
**Mode opératoire :**

	<b>Dosage</b>	<b>Etalon</b>	<b>Blanc</b>
<b>Echantillon</b>	10 µl	-	-
<b>Etalon</b>	-	10 µl	-
<b>Mélange réactif</b>	1 ml	1 ml	1 ml

On mélange, et on lit la concentration après 5 mn d'incubation à 37° C. La lecture se fait contre le blanc réactif à 500 nm. La coloration finale est stable une heure au maximum.

**d- Triglycéridémie :**

La détermination enzymatique colorimétrique des triglycérides se fait selon les réactions suivantes (65,66,67).



GPO = glycérol 1 -3- phosphate oxydase.

ADPS = N-éthyl-N-sulfopropyl - n - méthxyaniline.

**Mode opératoire :**

	<b>Dosage</b>	<b>Etalon</b>	<b>Blanc</b>
<b>Echantillon</b>	10 µl	-	-
<b>Etalon</b>	-	10 µl	-
<b>Mélange réactif</b>	1ml	1ml	1ml

On mélange, et on lit la concentration après 5 mn d'incubation à 37°C La lecture. se fait contre le blanc réactif à 37 C. La coloration finale est stable 30 mn au maximum.

**II-3-Evaluation statistique :**

Les résultats numériques et graphiques sont présentés sous forme de moyenne  $\pm$  écart type.

Nous avons également fait la comparaison des moyennes par le test de student, pour tester la signification de la différence entre la moyenne des deux lots traité et témoin. Pour cela on doit calculer le volume de t qui est donné par la formule suivante :

$$T = \frac{|\bar{X}_A - \bar{X}_B|}{\sqrt{\frac{S^2}{N_A} + \frac{S^2}{N_B}}}$$

$$S^2 = \frac{S_A^2 (N_A - 1) + S_B^2 (N_B - 1)}{(N_A - 1) + (N_B - 1)}$$

$\bar{X}_A$ : moyenne pour le lot témoin.

$\bar{X}_B$ : moyenne pour le lot traité.

$|\bar{X}_A - \bar{X}_B|$  signifie la valeur absolue de la différence entre les deux moyennes.

$N$  : le nombre de rats.

Après le calcul de t, on cherche dans la table de t la valeur correspondante au degré de liberté qui est égale à  $N_A + N_B - 2$ .

La valeur trouvée par le calcul de t nous renseigne sur la signification de la différence entre le lot témoin et le lot traité selon le risque d'erreur p.

$p > 0,05$  : la différence n'est significative (ns).

$0,05 > p > 0,01$  : la différence est significative (\*).

$0,01 > p > 0,001$  : la différence est hautement significative (\*\*).

$p < 0,001$  : la différence est très hautement significative (\*\*\*) .

**C  
H  
A  
P  
I  
T  
R  
E**

**III**

**RÉSULTATS ET INTERPRÉTATIONS**

### III- Résultats et interprétation :

#### III-1- Résultat de l'extraction des deux types de *flavonoïdes* :

Après affrontement de l'extrait brut de la plante *Ranunculus repens L* par les solvants appropriés (acétate d'éthyle et le n- butanol), nous avons obtenu 2 types de *flavonoïdes*: les *monoglycosides* et les *di* et les *triglycosides*. En effet, à partir de 186 g du matériel végétal broyé, nous avons obtenu :

- 0,76 g des *monoglycosides*.
- 1,6 g des *di* et *triglycosides*.

#### III-2- Etude de l'effet des *flavonoïdes* sur la glycémie, l'insulinémie, le cholestérolémie et la triglycéridémie :

##### III-2-1-Effet dose des deux types des *flavonoïdes* (*mono, di* et *triglycosides* ) sur la glycémie, l'insulinémie, la cholestérolémie et triglycéridémie :

Les résultats de l'effet dose des *flavonoïdes* sur, glycémie, l'insulinémie, cholestérolémie et triglycéridémie sont représentés dans le tableau IV.

Les figures 9,11,12,13 montrent respectivement les variations de la glycémie, l'insulinémie, la cholestérolémie et la triglycéridémie en fonction de la dose des différents *flavonoïdes* (*mono, di* et *triglycoside* )

Tableau IV : effet dose des deux types des flavonoïdes sur l'insulinémie, glycémie, cholestérolémie et triglycéridémie :

Lots	Glycémie	Insulinémie	Cholestérolémie	Triglycerédémie
Lot1 : témoin1	0,51 ± 0,11	0,085 ± 0,095	0,99 ± 0,07	0,64 ± 0,24
Lot2 : témoin2	0,81 ± 0,16	0,21 ± 0,2	1,18 ± 0,18	0,66 ± 0,04
<b>Monoglycosides :</b>				
Lot3 : 40 mg/kg	0,80 ± 0,29 ns	0,51 ± 0,75ns	0,56 ± 0,11***	0,65 ± 0,13ns
Lot4 : 80 mg/kg	0,72 ± 0,09 ns	1,36 ± 2,7ns	0,59 ± 0,17**	0,43 ± 0,16*
Lot5: 120 mg/kg	0,30 ± 0,09 **	0,11 ± 0,2ns	0,59 ± 0,17 **	0,37 ± 0,01***
Lot6: 240 mg/kg	0,25 ± 0,14**	0,31 ± 0,47ns	//	//
<b>Di et triglycosides:</b>				
Lot7 : 40 mg/kg	0,78 ± 0,33 ns	0,56 ± 1,1ns	0,89 ± 0,23ns	0,54 ± 0,09ns
Lot8 : 80 mg/kg	0,69 ± 0,28 ns	0,13 ± 0,15ns	0,80 ± 0,06**	0,52 ± 0,03**
Lot9: 120 mg/kg	0,22 ± 0,07***	0,13 ± 0,18ns	0,83 ± 0,18*	0,37 ± 0,03***
Lot10: 240 mg /kg	0,17 ± 0,10 ***	0,38 ± 0,25ns	//	//
<b>Gliclazide:</b>				
Lot11 :40 mg/kg	0,30 ± 0,11 **	1,13 ± 0,09***	//	//
Lot12 : 80 mg/kg	0,19 ± 0,05 ***	0,56 ± 0,34 ns	//	//
Lot 13: 120 mg/kg	0,18 ± 0,06***	0,61 ± 0,95 ns	//	//
Lot14: 240 mg/kg	0,18 ± 0,04 ***	0,11 ± 0,2 ns	//	//

Chaque valeur correspond à la moyenne ± l'écart type

Test de student : ns p > 0,05, \*p > 0,01,\*\*p > 0,001, \*\*\*p < 0,001.



**III-2-2-Effet temps des deux types des flavonoïdes sur la glycémie:**

Les résultats de l'effet temps d'une dose 240 mg / kg de chacun des deux types des flavonoïdes ( *mono, di et triglycosides* ) et des médicament, sont représentés dans le tableau V.

**Tableau V: Variation de la glycémie ( g/l ) en fonction du temps après l'administration d'une dose 240 mg/kg des deux types des flavonoïdes :**

lot	60 mn	90 mn	120 mn
Lot1: témoin1	0,51 ± 0,11	0,53 ± 0,04	0,52 ± 0,17
Lot 2: témoin 2	0,69 ± 0,13	0,90 ± 0,135	0,79 ± 0,12
Lot3: monoglycoside	0,36 ± 0,13***	0,57 ± 0,07**	0,60 ± 0,14*
Lot4: di et triglycosides	0,68 ± 0,01ns	0,76 ± 0,17ns	1,06 ± 0,11ns
Lot5 : gliclazide	0,33 ± 0,1**	0,26 ± 0,12***	0,19± 0,5***

Chaque valeur correspond à la moyenne ± l'écart type

Test de student : ns  $p > 0,05$ , \* $p > 0,01$ ,\*\* $p > 0,001$ , \*\*\* $p < 0,001$ .

La figure 10montre les résultats de tableau V.

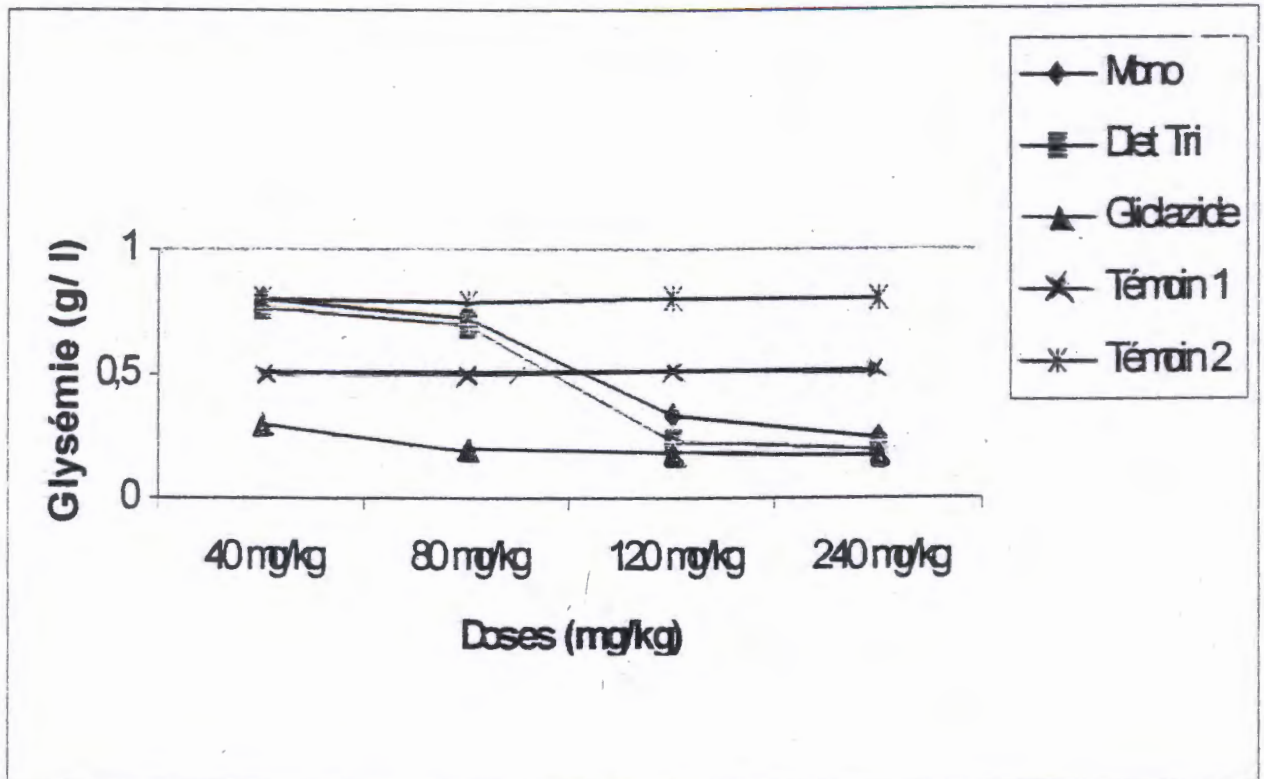


Fig. 9 : Effets dose des deux types des flavonoïdes sur la glycémie ( g / L ) .

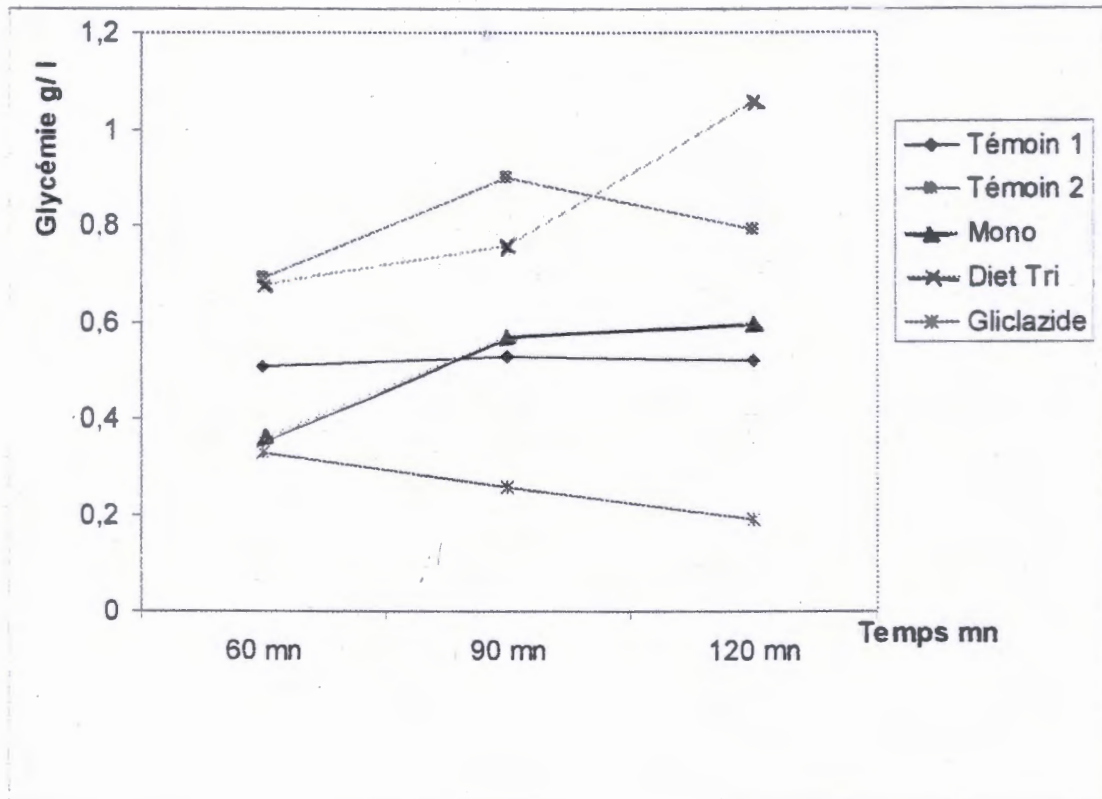
Nous constatons l'apparition d'une variation des taux de glycémie à partir de la dose de 120 mg/kg.

Cette diminution de la glycémie est hautement significative ( $p < 0,01$ ) pour la dose de 240 mg/kg des *monoglycoside*, et très hautement significative ( $p < 0,001$ ) pour les *di* et *triglycosides* à la même dose. En effet, la dose de 240 mg/kg conduit à une forte hypoglycémie qui atteint chez les *di/triglycosides*  $0,17 \pm 0,1$  g/L et  $0,25 \pm 0,14$  g/L chez les *monoglycosides* par rapport  $0,81 \pm 0,16$  g/L du témoin et comparable à  $0,18 \pm 0,04$  g/L du gliclazide à la même dose.

La valeur normale de la glycémie chez les rats est de  $0,55 - 1,35$  g/l (68).

**Remarque :**

Dans notre étude nous avons fait la comparaison avec le témoin 2 qui prend le glucose (sont mis à une hyperglycémie provoquée).



**Fig. 10: Variation de la glycémie en fonction du temps après l'administration D'une dose de 240 mg/ kg des deux types des flavonoïdes .**

Nous observons que les variations de la glycémie du lot qui prend de l'eau distillée ( lot1) est négligeables en fonction du temps.

Après administration d'une dose de 240 mg/kg de l'extrait des *monoglycosides*, nous observons une chute de la glycémie à partir de 60 mn empêchant la formation du pic d'hyperglycémie existant chez les témoin à 90 mn . Cette diminution de la glycémie se réduit progressivement avec le temps mais la différence par rapport au témoin reste toujours positive. Après 60 mn ,les diminutions de la glycémie est très hautement significative ( $p < 0,001$ ) qui atteint  $0,36 \pm 0,13$  g/L par rapport au  $0,69 \pm 0,13$  g/L du lot témoin et comparable a celle du gliclazide  $0,33 \pm 0,1$  g/L.

La variation de la glycémie est significative après 90 et 120 mn aboutissant à la revient au taux normales de la glycémie.

Par contre nous constatons qu'il n'y a aucun effet hypoglycémiant des *di* et *triglycosidse* sur la glycémie par rapport au témoin.

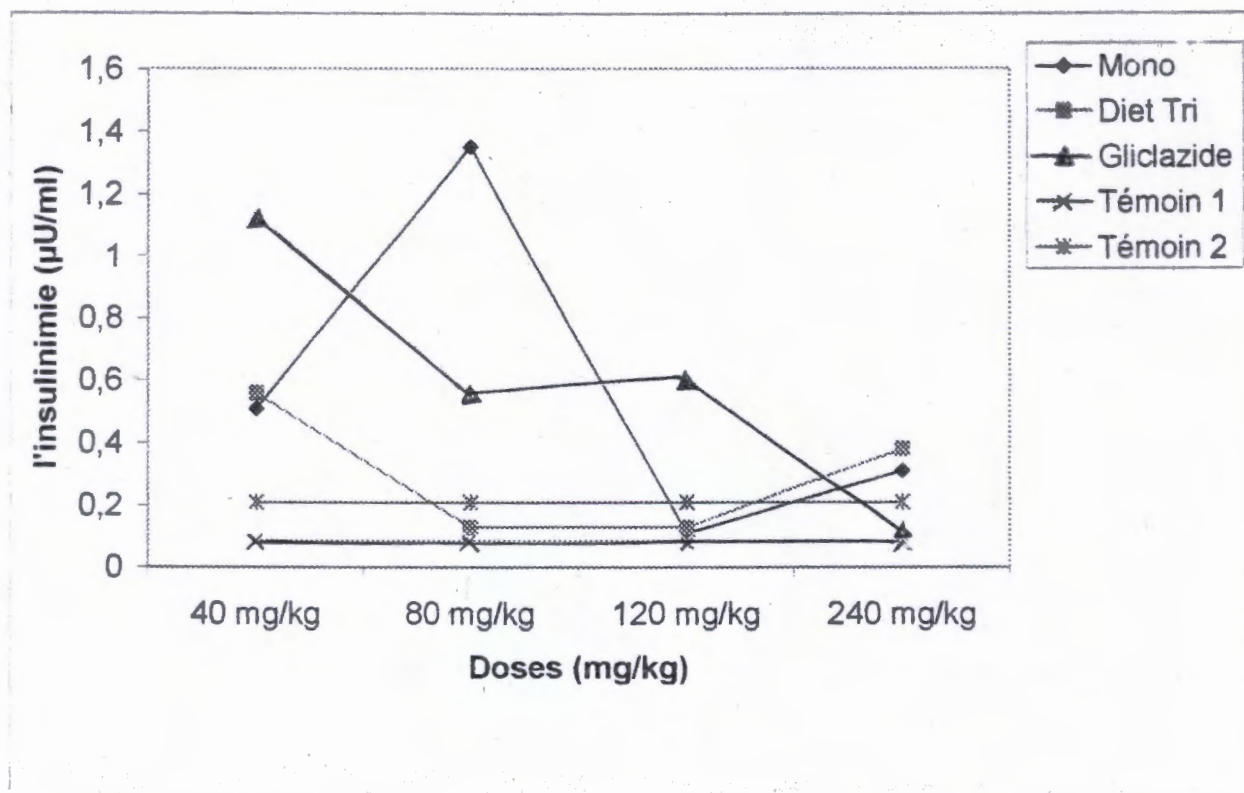


Fig. 11 : Effet dose des deux types des *flavonoïdes* (*mono*, *di* et *triglycoside*) sur l'insulinémie ( $\mu\text{U} / \text{ml}$ ).

Nous constatons qu'il n'y a aucune variation significative de l'insulinémie entre le lot témoin et les lots traités par les quatre doses des deux types des *flavonoïdes*.

Après administration d'une dose de 40 mg/kg des *di* et *triglycosides* et une dose de 80 mg/kg des *monoglycosides*, nous observons une augmentation de l'insulinémie qui atteint successivement  $0,56 \pm 1,1 \mu\text{U} / \text{ml}$  et  $1,36 \pm 2,7 \mu\text{U} / \text{ml}$ , mais aucune signification par rapport au lot témoin  $0,21 \pm 0,2 \mu\text{U} / \text{ml}$  était remarquée.

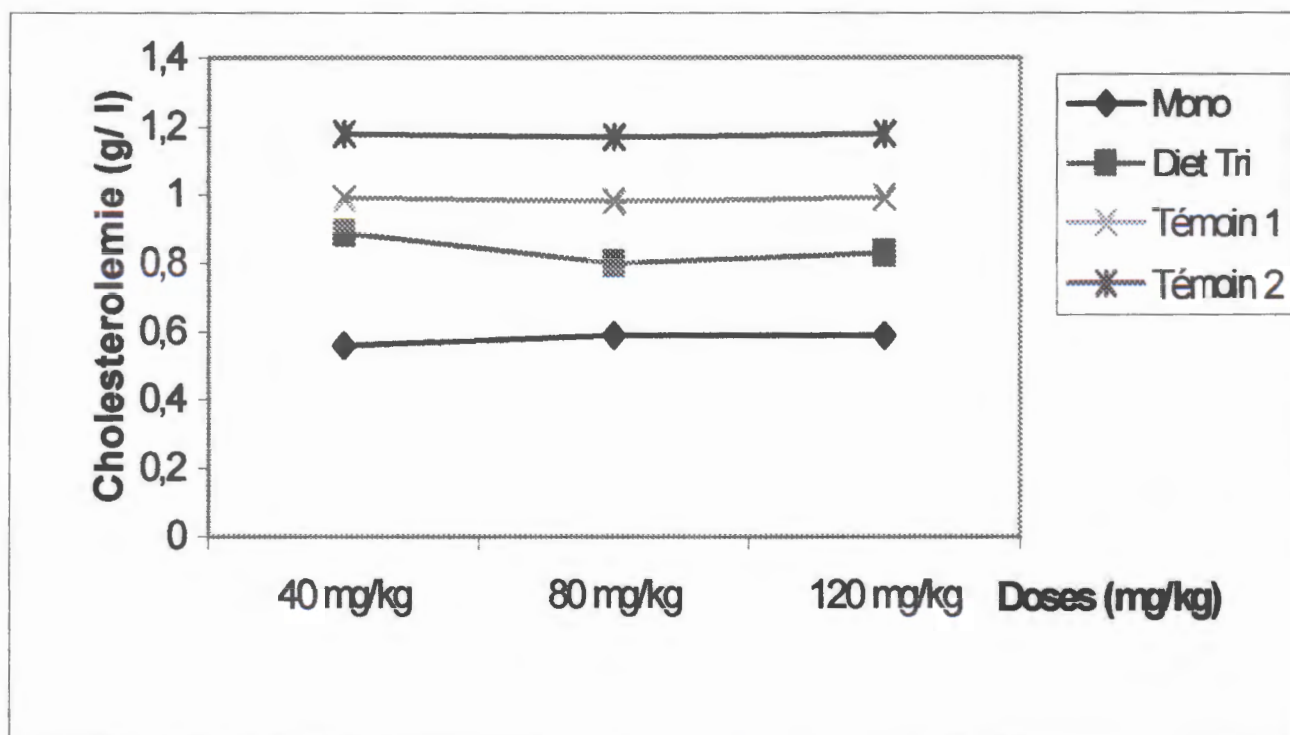
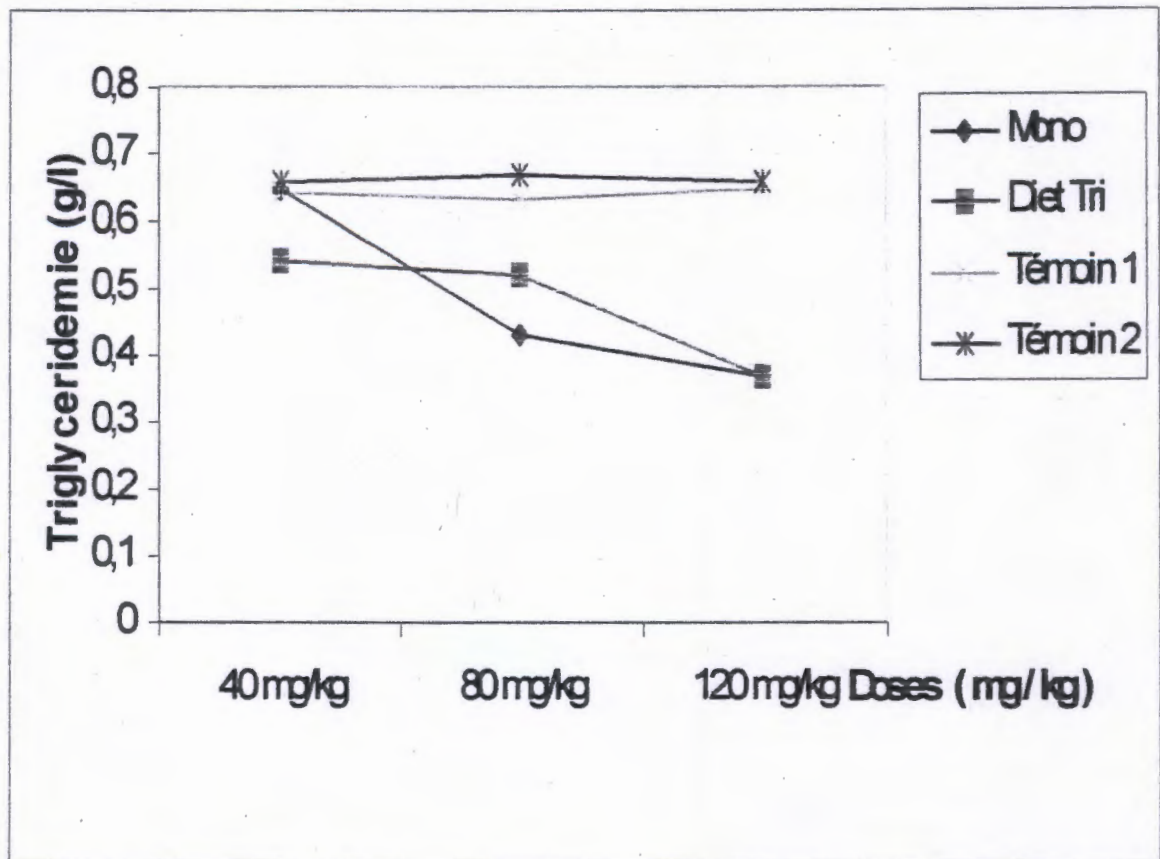


Fig.12 : Effet dose des deux types des flavonoïdes ( *Mono-di* et *triglycosides* ) sur la cholestérolémie .

Nous observons une diminution de différents niveaux de signification avec toutes les concentrations utilisées à savoir 40 ,80 et 120mg/kg de nos extraits .Cette diminution sera très hautement significative ( $p < 0,001$ ) avec 40mg/kg des formes *monoglycosides* et hautement significative ( $p < 0,01$ ) avec 80 mg/kg des formes *di* et *triglycosides* ,ces variation atteignent successivement  $0,56 \pm 0,06$  g/L par rapport au  $1,18 \pm 0,18$  g/L du témoin.



**Fig.13** : Effet dose des deux types des *flavonoïdes* ( *Mono-di* et *triglycosides* ) sur la Triglycéridémie ( g / l ) .

Nous observerons une diminution de la triglycéridémie à partir de la dose 80 mg/kg ; elle est significative (  $p < 0,05$  ) pour les *monoglycosides* et hautement significative ( $0,01 > p$ ) pour les *di* et *triglycosides*. Cette diminution sera très hautement significative ( $p < 0,001$ ) avec la dose de 240mg/kg ; une dose par laquelle, les *monoglycosides* et les *di* et *triglycosides* entraînent une forte activité hypotriglycéridémie , qui atteint successivement  $0,37 \pm 0,01$ g/ L et  $0,37 \pm 0,03$  g/ L par rapport au  $0,66 \pm 0,04$  g/L du lot témoin. .

**C  
H  
A  
P  
T  
E  
R**

**IV**

***DISCUSSION***

## IV- Discussion

### 1-Extraction et fractionnement des flavonoïdes :

Quand nous abordons les études pharmacologiques ayant pour but de mettre en évidence l'activité hypoglycémiant, nous commençons par un fractionnement de constituants de la préparation initiale expérimentée dans le but de détecter les fractions qui gardent une activité hypoglycémiant.

Le fractionnement nous a permis l'obtention des deux types des flavonoïdes à savoir: les *monoglycosides* et les *di* et *triglycosides*, en appliquant la méthode des affrontements par les solvants.

Le rendement en extrait final de chaque flavonoïde est moyen puisque nous avons recueilli la plante le mois de Mai 2004, sachant, la *Ranunculus Repens L* est normalement plus riche en principe actif un peu avant la floraison qui se déroule entre le mois d'avril et juillet.(32)

Nous avons obtenu à partir de 186g de poudre sèche, une quantité limitée en extrait sec à savoir ; 0,76g pour les *monoglycosides* et 1,6 g pour les *di* et *triglycosides*.

### 2-Etude pharmacologique :

Cette étude concerne l'activité hypoglycémiant, insulinosécrétoire, hypocholestérolémiant et hypotriglycéridémiant:

#### ❖ L'étude de l'activité hypoglycémiant :

Le paramètre le plus caractéristique et le plus simple pour évaluer l'activité hypoglycémiant est la détermination du glucose dans le sang et les variations que celle-ci connaît dans le temps, après l'administration des différentes doses de la préparation étudiée.

#### ➤ L'effet dose.

Les résultats de notre étude montrent que nos principes actifs ont un effet hypoglycémiant qui s'élève avec la concentration 120 mg / kg et que les formes *di* et *triglycosidiques* donnent un effet plus meilleurs que les formes *monoglycosidiques*, aboutissant à réduire les hyperglycémies expérimentales chez les rats. En effet l'administration d'une dose de 240 mg/ kg d'extraits entraîne une diminution hautement significative ( $p < 0,01$ ) de la glycémie, dans le cas des rats traités par les *monoglycosides* ( $0,25 \pm 0,14$  g/L) et une diminution très hautement significative ( $p < 0,001$ ) dans le cas des animaux traités par les *di* et *triglycosides* ( $0,17 \pm 0,10$ g / L) par rapport aux animaux normaux ( $0,81 \pm 0,16$ g/L); c'est un effet comparable à celle-ci de l'hypoglycémiant oral gliclazide ( $0,18 \pm 0,04$ g/L).

Sachant que les mécanismes de glycorégulation, nous pouvons dire que l'activité hypoglycémiant induite par les *mono*, *di* et *triglycosides* est éventuellement dûe à:



-Sachant que la demi vie de l'insuline est très courte alors que ,nos échantillons ont été conservés plus du temps, ce qui réduire la quantité de l'insuline dans les échantillons, La congélation et la décongélation.

Ces deux conditions pourraient altérer la méthode de dosage l'insuline en réduisant ainsi sa valeur.

- par malheur, nous avons constaté à la fin de nos expériences que la majorité des rats étaient gestantes, ceci ayant un effet sur la régulation du métabolisme des glucides aussi que sur la sécrétion des hormones endocrines.

❖ L'activité hypocholestérolimante et hypotriglycéridemiante :

La détermination du taux du cholestérol et des triglycérides est très importante en cas des maladies hyperlipidémiques en générale, et chez les diabétiques en particulier qui aggravent et menacent les complications vasculaires telle l'athérosclérose.

L'administration par voie orale d'une dose de 3.84g/Kg de glucose provoque chez les rats une hypercholestérolémie égale à  $1,18 \pm 0,18\text{g/L}$  par rapport au taux normale ( $0,99 \pm 0,07\text{g/L}$ )

Le traitement de ces animaux avec les différentes doses des fractions flavonoïdiques, conduit à une diminution de ces valeurs qu'est proportionnelle à la dose utilisée. L'administration de 40mg/kg des *monoglycosides* et 80mg/kg des *di* et *triglycosides* peut causer une forte diminution de cholestérolémie qui atteint respectivement  $0.56 \pm 0.11\text{g/L}$  et  $0.80 \pm 0.06\text{g/L}$  par rapport à la cholestérolémie des rats hyperglycémiques( $1.18 \pm 0.18\text{g/L}$ )

Cet effet pourrait être expliqué par le fait que ces *flavonoïdes* :

-Augmentent la captation du cholestérol par les cellules.

-Inhibent la biosynthèse du cholestérol.

-Diminuent la réabsorption intestinale des sels biliaires en diminuant par conséquent le taux du cholestérol sanguin.

Les résultats de l'effet dose des *flavonoïdes* sur la triglycéridémie montre que les deux types de *flavonoïdes* ; *mono*, *di* et *triglycosides* entraînent une diminution hautement significative à la dose de 120mg/Kg, pour atteindre  $0,37 \pm 0,01\text{g/L}$  pour les *monoglycosides* et  $0,37 \pm 0,03\text{g/l}$  pour les *di* et *triglycosides* par rapport au témoin ( $0,66 \pm 0,04\text{g/l}$ ).

La diminution de la triglycéridémie pourrait être le résultat de plusieurs possibilités d'action, parmi d'autres:

-L'augmentation de la captation des triglycérides par les cellules.

-Activation de l'insulinosécrétion et donc la diminution du taux des triglycérides.

- L'augmentation de l'activité des lipoprotéines lipases se trouvant sur les membranes des adipocytes, qui hydrolysent les triglycérides circulants.

**CONCLUSION**

## Conclusion :

Les plantes sont des sources premières pour l'extraction industrielle de substances naturelles pures, destinées dans la grande majorité des cas à des indications thérapeutiques. Les *flavonoïdes*, en particulier sont l'un de ces substances qui par leurs efficacité pharmacologique, comme par leurs biodiversité moléculaire, sont fut l'objet de nombreuses recherches a fin de découvrir des nouveaux médicaments qui vont renforcer la pharmacopée actuelle.

En effet, c'est dans cette voie que notre étude pharmacologique s'inscrit et ayant permis de conclure les points suivants :

La *Ranunculus repens L* est un modèle des plantes qui renferment les substances flavonoïdiques. En effet une série d'extraction et de fractionnement de cette plante nous a permis l'obtention des différents types flavonoïdiques à savoir ; *mono, di et triglycosides*.

L'étude expérimentale pour les deux types ; *monoglycosidiques* et les *di et triglycosidiques* sur les rats *wistar* hyperglycémiques, montre une activité hypoglycémiant comparable à celle remarquée chez les rats traités par l'hypoglycémiant oral gliclazide .

Par contre, leurs effets sur l'insulinosécrétion n'a pas été démontré. Alors qu'ils ont une action positive sur le cholestérol et le triglycéride, en diminuants leur taux dans la circulation sanguine.

# BIBLIOGRAPHIE

# Référence

## Livres en français :

- (01) ANTON ROBERT. Plantes thérapeutiques : tradition, pratique officinal, science et thérapeutique, tec et doc, 3<sup>ème</sup> édition. Paris 1999. P.959, 993, 995,998.
- (02) GARASSINO ALEXANDRO. Les plantes origine et évolution. 1<sup>ère</sup> édition. 1992. P.4.
- (04) SEVENET, T. plantes, molécules et médicament. NATHAM. Paris 1994. P.7.8.
- (06) CALLE JASUAZ. J. M des méthodes pharmacologiques d'évaluation des propriétés antidiabétiques de substances d'origine naturelle. Mars 1990. P. 242 ,243 ,247
- (07) VANDER.A.J. et collaborateurs. Physiologie humaine, 2<sup>ème</sup> édition. 1997. P.1, 389,390 ,391.
- (09) SELAM. J-L, et collaborateurs. Diabète et maladie métabolique. 3<sup>ème</sup> édition. Paris. Novembre 2000.P. 67- 71, 40 – 49, 54 – 60.
- (15) DOMART. A. nouveau la rousse médical, 1<sup>ère</sup> édition, paris. 1990. P.320-322.457.458.536.537.
- (16) CORNET. PHILIPPE. Guide pratique du diabète, 2<sup>ème</sup> édition, paris. septembre 2001. P.71.
- (21) E CHAT. Abrégé de pharmacologie générale. Paris 1982.P.533, .534, 536.
- (23) FREMY. M. le quid 2002.Rrobert Laffont. Paris. P.148 – 175.
- (24) SCHORDERT. M. et collaborateurs, pharmacologie des concepts fondamentaux aux applications thérapeutiques. Alger. 1992. P. 481, 494.
- (25) EKKDE. J.M. et collaborateurs. Le diabète sucré, reconnaître, comprendre traiter. 2<sup>ème</sup> édition, 1994. P. 65 – 69.
- (26) KRUIH. J. Biochimie. Études médicales et biochimiques. Herman. Paris. Tome 2. 1989. P.121.
- (40) BRUNETON JEON. Plantes toxiques : végétaux dangereuse pour l'homme et l'animal. Septembre 1997. P.395, 406.
- (41) MAZOYER, M et collaborateurs. Larousse agricole. Larousse éd. P.543.
- (43) GAUSSEN, H, LEROY, J. et OZENDA, P. précis de botanique, végétaux supérieurs. Masson, paris, 2<sup>ème</sup> édition, 1982. P. 239.
- (47) BRUNETON JEON. Pharmacognosie, phytochimie et plantes midicinales. La voisier tec et doc, paris. 2<sup>ème</sup> édition. 1993. P.268, 274,277.
- (49) NUTR. J. Flavonoide, chemistry, cardioprotectrice, effet antidirectery, source, biochen. Vol7. 1996. P.165.
- (50) HSLAME. Plante polyphonols vegital tonnis. 1989. P.65.



- (51) MARKAM. K.R. technique of flavonoide identification academic press, London. 1982. P.79.
- (54) GERHARDE, R. métabolisme des végétaux, physiologie et biochimie. La voisier Tec et doc. 1993. P. 333-339.
- (56) HERTOGE. M.G. Antioxydants flovonoides. 1997. P. 116.
- (60) Kaplan A.Glucose.Kaplane A et al .Clin .Ehem the C.V.Mosby Co.Stluis.Toronto.Princeton 1984 ; 1032-1036.
- (61) Trinder P.Ann Clin Biohem 1969 ;6 :24-23.
- (62) Jacobs DS,editor.Laboratory Test Handbook .Cleveland Lixicomp /mosby .1988:139.
- (63) Naito H.K.Cholesterol.Kaplan A et al.Clin Chem the C.V.Mosby Co.Stlins.Toronto.Princeton 1984 ; 1194 - 11206 and 437 .
- (64) Meiattini F. Et al. The 4-hydroxybenzoïque / 4 –amino – pheno phenazone chromogenic. Clin Chem 1978 ;24(12) :2161 -2165.
- (65) Buccolo G et al.Quntitative detèrmination of serum triglycérides by use of enzymes .Clin Chem 1973;19 (5) :476 -482.
- (66) Fossati P et al .Clin .Chem 1982 ; 28 (10) :2077 -2080.
- (67) Kaplan A et al .Triglycérides .Clin Chem the C.V.Mosby Co. St Luis.Torpono.Princeton 1984 ;437 and lipids 1194 -1206.
- (68) JABOT,G.Le rat de laboratoire un réactif biologique. Masson édition. Paris. 1981. P. 83.

**الكتب باللغة العربية:**

- (36) الحسيني. أعشاب ونباتات من الطب الشعب في خدمة مريض السكري. دار الهدى للطباعة والنشر والتوزيع الجزائر 1994.
- (37) من. عطية، و. م. ر عقوق. الغذاء والأعشاب وصحة الإنسان مطابع الأهرام التجارية.مصر الطبعة الأولى. 2000.
- (38) ع. النجوى. موسوعة النباتات الطبية والعطرية. دار النشر مكتبة مدبولي. 1996.

**CD :**

- (08) CD le diabète non insulino- dépendant, aspects fondamentaux 2002.
- (59) CD le providal 1997.

**Site web :**

- (03) <http://www.Flore.Reunion.Com/plantemedicinales.htm>.
- (05) substance naturelle actives farc. Gov. mu/ Ld 95. htm.
- (10) <http://www.Frm.Org/scientifique/sujetsfond/diabète/caddiab.htm>.
- (11) <http://www.Chbc.qc.ca/diabète/formation/questce.htm>.
- (12) [Chbc.qc.ca/diabète/alimentation/default.htm](http://www.Chbc.qc.ca/diabète/alimentation/default.htm).
- (13) <http://www.Exulpe.Com/Endocrino/grossesse/diabète.Htm>.
- (14) <http://www.Chbc.qc.ca/diabète/formation/ecarts.htm>.
- (17) <http://www.doctissimo.Fr/santé/principale/patho/Sa893/diabète>.

Réalisé par:

Belkebieche Hayet  
Boulkeraa Nadia  
Benayache Samia

Date de soutenance : 27/09/2004

Dirigé par : Mr. Kebieche Mohamed

Thème :

L'effet des flavonoïdes du RRL sur l'insulinosécrétion et la glycémie chez les rats hyperglycémiques

Nature de diplôme : Diplôme des études supérieures en biologie option biochimie

Résumé

Le diabète est la première des maladies métaboliques par sa fréquence comme par sa gravité, et qui malgré le traitement actuel progressé reste imparfait de contraignant et n'atteignant ses objectifs que chez une minorité de patients.

Notre étude phytopharmacologie de la plante *Ranunculus repens L* sur des rats *wistar* hyperglycémiques, a permis de conclure que les fractions flavonoïdiques extraites de cette plante à savoir les *mono, di et triglycosides*, s'avèrent doués d'une activité hypoglycémiant comparable à celle de l'hypoglycémiant oral; le gliclazide.

Par contre l'extrait *monoglycosidique* et *di et triglycosidique* ne provoque pas des changements dans les taux de l'insulinémie, mais ayant montré un effet hypocholestérolémiant et hypotriglycéridémiant sur ces animaux.

summary

Diabetes is the first metabolic disease by its frequency and its gravity, and which even though the present treatment it progressed remains imperfect of fatal and reaching objectives at a minority of patients.

Our phytopharmacological survey of the plant *Ranunculus repens L* on hyperglycemic *wistar* rats, permitted to conclude that the flavonoïdic fractions extracts from this plant such as *mono, di and triglycosides*, have on hypoglycemic activity comparable with oral hypoglycemic gliclazide.

On the other hand the extract *mono di and triglycosidic* does provoke the changeover in the rates of the insulinemia. But having shown an hypocholestérolémic and hypotriglyceridemic effect on these animals.

الملخص:

يعتبر داء السكر أولى الإختلالات الأيضية من حيث شيوعها وكذا خطورتها، والتي رغم أن العلاج الحالي لها أحرز تطور إلا أنه يبقى ناقص وغير كافي لتحقيق الأهداف المنتظرة إلا عند أقلية من المرضى المصابين بهذا الداء. إن دراستنا التي تخص الصيدلة النباتية لنبتة الحوذان الزاحفة *Ranunculus repens L* على جرذان *WISTER* بينت لنا بأن الفلافونويدات المستخلصة من هذه النبتة (أحنية، شنية و ثحية سكر) لها تأثير مخفض لنسبة الجليكوز في الدم التي أعطت نتائج مماثلة لتلك التي أعطتها الدواء المخفض لنسبة الجليكوز في الدم (glyclazide). على العكس فإن هذه المستخلصات الفلافونويدية لم تؤدي إلى أي تغيير في نسبة الأسولين في الدم. لكنها تملك خاصية تخفيض نسبة الكلوستيرول و الغليسيريدات الثلاثية عند هذه الحيوانات.

Les mots clés

Diabète, Flavonoïdes, *Ranunculus repens L*, mono-, di-, Triglycosides, Hypoglycémie.

Faculté des sciences de la nature- Université Abdelhak Ben Hammouda jijel