



Royaume du Maroc  
Université Mohammed V de Rabat  
Faculté de Médecine et de Pharmacie



Année 2022

N° de thèse : 13/22/CSVS

Centre d'Etudes Doctorales des Sciences de la Vie et de la Santé

Formation doctorale : Sciences du Médicament

Thèse de Doctorat

---

Etude Pharmacologique et Toxicologique des plantes *Euphorbia resinifera*  
*L.*, *Echinops spinosus L.* et *Erodium guttatum L.* du Maroc

---

Présentée et soutenue publiquement le 01/12/2022

Par : **Kaoutar BENRAHOU**

*Devant les membres de jury :*

Pr Yahia CHERRAH	Faculté de Médecine et de Pharmacie-Rabat Université Mohammed V	Président
Pr My El Abbes FAOUZI	Faculté de Médecine et de Pharmacie-Rabat Université Mohammed V	Directeur de thèse
Pr Mourad ER-RASFA	Faculté de Médecine et de Pharmacie-Fès Université Sidi Mohammed Ben Abdellah	Rapporteur
Pr Hamid EL AMRI	Institut Agronomique et Vétérinaire Hassan II-Rabat	Rapporteur
Pr Jaouad EL HARTI	Faculté de Médecine et de Pharmacie-Rabat Université Mohammed V	Rapporteur
Pr Hicham BELLAOUI	Faculté des Sciences- Rabat Université Mohammed V	Examineur
Pr Samira SERRAGUI	Faculté de Médecine et de Pharmacie-Rabat Université Mohammed V	Examinatrice



Royaume du Maroc  
Université Mohammed V de Rabat  
Faculté de Médecine et de Pharmacie



Année 2022

N° de thèse : 13/22/CSVS

Centre d'Etudes Doctorales des Sciences de la Vie et de la Santé

Formation doctorale : Sciences du Médicament

Thèse de Doctorat

---

Etude Pharmacologique et Toxicologique des plantes *Euphorbia resinifera*  
*L.*, *Echinops spinosus L.* et *Erodium guttatum L.* du Maroc

---

Présentée et soutenue publiquement le 01/12/2022

Par : **Kaoutar BENRAHOU**

*Devant les membres de jury :*

Pr Yahia CHERRAH	Faculté de Médecine et de Pharmacie-Rabat Université Mohammed V	Président
Pr My El Abbes FAOUZI	Faculté de Médecine et de Pharmacie-Rabat Université Mohammed V	Directeur de thèse
Pr Mourad ER-RASFA	Faculté de Médecine et de Pharmacie-Fès Université Sidi Mohammed Ben Abdellah	Rapporteur
Pr Hamid EL AMRI	Institut Agronomique et Vétérinaire Hassan II-Rabat	Rapporteur
Pr Jaouad EL HARTI	Faculté de Médecine et de Pharmacie-Rabat Université Mohammed V	Rapporteur
Pr Hicham BELLAOUI	Faculté des Sciences- Rabat Université Mohammed V	Examineur
Pr Samira SERRAGUI	Faculté de Médecine et de Pharmacie-Rabat Université Mohammed V	Examinatrice

## Dédicace :

A la mémoire de mon grand-père Ahmed ZAOUI, puisse dieu l'accueillir dans son infinie miséricorde.

*A mes chers parents* qui sont la lumière de mes yeux, l'ombre de mes pas et le bonheur de ma vie. Qui m'ont apporté son appui durant toutes mes années d'études, pour ses sacrifices et soutien et qui m'ont donné la confiance, le courage et la sécurité.

Puisse ce travail vous combler de joie et de fierté. Que dieu vous bénisse et vous accorde longue vie.

*A mes chères sœurs,*

Vos encouragements et vos soutiens multiformes m'ont beaucoup nourrie. Infiniment merci.

*A mon petit cher frère,*

Merci pour ton encouragement, ton soutien et pour ta présence à mes côtés. Que le seigneur te préserve et t'aide dans la réalisation de tes projets

*A la grande famille Zaoui,*

Kaoutar BENRAHOU

## Remerciements

À Dieu, Tout puissant, pour sa divine présence, et sa bonne guidance.

Au terme de ce travail, j'adresse mes remerciements les plus sincères à mon encadrant le **Professeur My El Abbas FAOUZI** de m'avoir donné sa confiance en acceptant la direction de ce travail. Je tiens également à le remercier pour tout le soutien scientifique et moral qu'il m'a apporté tout au long de ce travail mais également pour ses précieux conseils et pour sa grande disponibilité.

Je remercie le **Professeur Yahia CHERRAH**, Directeur du Laboratoire de Pharmacologie et Toxicologie, Faculté de Médecine et de Pharmacie de Rabat, pour m'avoir accueillie au sein de son unité de recherche et d'avoir accepté de juger ce travail et de participer à mon jury de thèse en qualité de président.

J'exprime mes sincères remerciements à Monsieur le **Professeur Mourad ER-RASFA** de la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Fès, qui me fait l'honneur d'accepter aimablement de juger cette thèse en qualité de rapporteurs, je le prie de bien trouver ici l'expression de ma plus grande estime d'avoir accepté de siéger parmi le jury.

Mes remerciements vont également à Monsieur le **Professeur Hamid El AMRI** de l'Institut Agronomique et Vétérinaire Hassan II de Rabat, qui me fait l'honneur en acceptant de porter leur jugement hautement qualifié sur mon travail de thèse en qualité de rapporteurs et de siéger dans mon jury de thèse.

J'exprime mes sincères remerciements à Monsieur le **Professeur Jaouad EL HARTI** de la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Rabat, qui me fait l'honneur d'accepter aimablement de juger cette thèse en qualité de rapporteurs.

Je tiens à adresser mes remerciements à Madame la **Professeur Samira SERRAGUI** de la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Rabat, pour m'avoir fait l'honneur d'examiner ma thèse et d'être membre de jury de soutenance.

Je tiens à exprimer ma respectueuse gratitude à Monsieur le **Professeur Hicham BELLAOUI** de la Faculté des Sciences de Rabat, pour avoir accepté d'examiner ma thèse

Je remercie chaleureusement le **Professeur Mohamed BNOUHAM** de la Faculté des Sciences, Université Mohammed Premier, Oujda, qui m'a aidé à maîtriser la manipulation réalisée au cours de ce travail, je la remercie pour, son implication directe et pour sa sympathie.

Mes vifs remerciements vont également aux **Professeur Mostafa KOUACH** pour la qualité de sa collaboration. Je lui exprime toute ma reconnaissance pour l'intérêt porté à ce travail.

Je tiens à remercier bien chaleureusement **Professeur Abdelhakim BOUYAHYA** de la Faculté des Sciences Rabat pour sa précieux collaboration à la réalisation et le suivie de ce travail. Je le prie de trouver ici l'expression de ma plus grande gratitude.

J'adresse mes s'incères remerciement à ma chère amie **Hanae Naceiri Mrabti**, Professeur à l'Institut Supérieur des Professions d'Infirmiers et Techniques de Santé à Casablanca, pour sa générosité, son aide et pour ces précieux conseils et orientation. Qu'elle trouve ici l'expression de ma profonde reconnaissance.

Je tiens à remercier profondément **Dr. Hicham MEZZOUR**, médecin biologiste, **Dr. Abdellah DAMI** et **Dr. Rim EL BACHA** pour leur collaboration pour la réalisation des analyses médicales sanguines.

Je remercie également **Professeur Lamiaa ROUAS**, de l'unité d'anatomie pathologique et de cytologie de la Faculté de Médecine et de Pharmacie, Rabat, pour la qualité de sa collaboration. Je lui exprime toute ma reconnaissance pour l'intérêt porté à ce travail.

Mes derniers remerciements vont à toutes les personnes qui m'ont aidé de près ou de loin pour réaliser ce travail.

## **Avant-propos**

Cette thèse a été réalisée au sein de l'équipe de recherche Analyses Bio Pharmaceutiques et Toxicologiques du Laboratoire de Pharmacologie et Toxicologie, à la Faculté de Médecine et de Pharmacie, Université Mohammed V de Rabat, Sous l'encadrement du Professeur My El Abbes FAOUZI.

La partie de l'analyse chimique (ESI-HRMS) a été réalisée au sein de groupe de Recherche sur les formes Injectables et les Technologies Associées, Université de Lille, CHU Lille-France, en collaboration avec Professeur Mostafa KOUACH.

L'étude du mécanisme d'action antidiabétique a été réalisée au sein de Laboratoire des Bioressources, Biotechnologies, Ethnopharmacologie et Santé, Faculté des Sciences, Université Mohammed Premier, Oujda, Maroc, en collaboration avec Professeur Mohamed BNOUHAM.

Les analyses hématologiques ont été faite en collaboration avec Professeur Azlarab MASRAR à l'Hôpital Militaire d'Instruction Mohammed V, Rabat.

Les analyses biochimiques ont été effectuées en collaboration avec Dr. Abdellah DAMI et Dr. Rim EL BACHA au sein du laboratoire de biochimie-toxicologie, l'Hôpital Militaire d'Instruction Mohammed V à Rabat.

L'étude histologique a été réalisée au sein de l'unité d'anatomie pathologique et de cytologie de la Faculté de Médecine et de Pharmacie, Rabat, sous la direction du Professeur Lamiaa ROUAS.

## Sommaire

Dédicace : .....	3
Remerciements.....	4
Avant-propos .....	6
Production scientifique .....	11
Liste des Abréviations.....	13
Liste des Figures : .....	15
Liste des tableaux : .....	17
Introduction générale .....	19
I. Homéostasie énergétique :.....	22
1. Homéostasie des glucides : .....	22
2. Homéostasie des lipides :.....	22
II. Diabète : .....	23
1. Généralité :.....	23
2. Physiopathologie du diabète de type 2 :.....	24
3. Complications du diabète de type 2 :.....	25
III. Stress oxydatif et diabète de type 2 :.....	26
1. Stress oxydant : .....	26
2. Le stress oxydatif et l'insulinorésistance : .....	26
IV. Les enzymes digestives et le diabète :.....	28
1. Hydrolyse, absorption et transport du glucose :.....	28
2. Hydrolyse, absorption et transport des lipides :.....	29
2. L'état postprandial :.....	30
V. Traitement du diabète de type 2 :.....	31
VI. Plantes médicinales et diabète :.....	32
1. Mécanisme d'action des plantes antidiabétiques : .....	32
2- Les plantes médicinales et la toxicité .....	33
VII. Etude botanique de <i>Euphorbia resinifera</i> , <i>Echinops spinosus</i> et <i>Erodium guttatum</i> :.....	33
1. Etude botanique de <i>Euphorbia resinifera</i> : .....	33
1.1 Classification :.....	33
1.2 Description :.....	34
1.3 Distribution géographique : .....	35
1.4 Utilisations traditionnelles :.....	35
1.5 Activités biologiques d' <i>E. resinifera</i> :.....	36

2.	Etude botanique d' <i>Echinops spinosus</i> :	37
2.1	Classification :	37
2.2	Description de <i>Echinops spinosus</i> :	37
2.3	Répartition géographique :	38
2.4	Utilisations traditionnelles :	38
2.5	Activités biologiques d' <i>E. spinosus</i> :	39
3.	Etude botanique de <i>E. guttatum</i> :	40
3.1	Classification :	40
3.2	Description et caractéristique de <i>Erodium guttatum</i> :	40
3.3	Distribution géographique :	41
3.4	Utilisations traditionnelles :	41
3.5	Activités biologiques :	42
<b>Etude phytochimique et antioxydante <i>in vitro</i> des extraits des plantes <i>E. resinifera</i>, <i>E. spinosus</i> et <i>E. guttatum</i></b>		
I.	Matériel et méthodes :	45
1.	Matériel végétal :	45
2.	Préparation des extraits :	45
2.1	Préparation de l'extrait aqueux :	45
2.2	Préparation de l'extrait éthanolique :	46
3.	Calcul de rendement :	46
4.	Dosage phytochimique :	46
4.1	Dosage des polyphénols totaux :	46
5.	Activité antioxydante <i>in vitro</i> :	47
5.1	Piégeage du radical libre DPPH :	47
5.2	Test de l'ABTS :	49
5.3	Test de piégeage de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> :	50
5.4	Xanthine oxydase :	50
6.	Analyse chimique par ESI-HRMS :	51
II.	Résultats :	51
1.	Rendement d'extraction :	51
2.	Dosage phytochimique des extraits :	52
2.1	Dosage des polyphénols totaux :	52
2.2	Dosage des flavonoïdes totaux :	52
3.	Activité antioxydante <i>in vitro</i> :	53
4.	Analyse chimique par ESI-HRMS :	55
III.	Discussion :	56



**Etude de l'activité antihyperglycémique et antihyperlipidique des extraits des plantes *E. resinifera*, *E. spinosus* et *E. guttatum***

<b>I. Matériel et méthodes :</b> .....	60
1. Activité antihyperglycémique <i>in vitro</i> :	60
1.1 Test d'inhibition de $\alpha$ -amylase :	60
1.2 Test inhibition de $\alpha$ -glucosidase:	60
2. Activité antihyperlipidique :	61
2.1 Test de lipase:.....	61
3. Activité antihyperglycémique <i>in-vivo</i> et <i>in situ</i> :.....	61
3.1 Protocole expérimentale :	61
3.2 Test de tolérance orale à l'amidon (OSTT) :	61
3.3 Test de perfusion intestinale <i>in situ</i> :	62
<b>II. Résultats :</b> .....	62
1. Activité antihyperglycémique et antihyperlipidique <i>in vitro</i> .....	62
1.1 Activité inhibitrice de $\alpha$ -amylase et de $\alpha$ -glucosidase et lipase <i>in vitro</i> .....	62
2. Activité antihyperglycémique <i>in vivo</i> et <i>in situ</i> :.....	63
2.1 Test de tolérance a l'amidon (OSTT) :	63
2.2 Test absorption intestinal <i>in situ</i> : .....	65
<b>III. Discussion :</b> .....	66
<b>Evaluation de l'effet antioxydant et antidiabétique <i>in vivo</i> des extraits aqueux et éthanolique de la plante <i>E. guttatum</i></b>	
<b>I. Matériel et méthodes :</b> .....	69
1. Activité antidiabétique <i>in vivo</i> :.....	69
1.1 Développement du diabète de type 2 :	69
1.2 Evaluation des effets antidiabétiques :	69
1.3 Evolution du poids corporel :	70
1.4 Détermination des paramètres hématologiques et biochimiques :.....	70
2. Activité antioxydante <i>in vivo</i> :.....	70
2.1 Préparation des homogénats :	70
2.2 Dosage du malondialdéhyde (MDA) :	70
2.3 Dosage du superoxyde dismutase (SOD) :	71
2.4 Dosage de la catalase (CAT) :	71
3. Etude histologique :	72
<b>II. Résultats :</b> .....	72
1. Activité antidiabétique <i>in vivo</i> :.....	72
1.1 Mesure de glycémie à jeun :	72
1.2 Effet sur le poids :	73

1.3 Effet sur les paramètres hématologiques et biochimiques :.....	73
2. Activité antioxydante <i>in vivo</i> :.....	75
2.1 La peroxydation lipidique : .....	75
2.2 Activité de superoxyde dismutase (SOD) et catalase (CAT) :.....	75
3. Etude histologique :.....	77
III. Discussion : .....	79
<b>Etude de la toxicité aigüe et subaigüe des extraits aqueux et éthanoliques des plantes chez la souris.</b>	
I. Matériel et méthodes :.....	84
1. Animaux : .....	84
2. Test de la toxicité aigüe chez la souris : .....	84
3. Test de la toxicité subaigüe : .....	84
4. Détermination des paramètres hématologiques et biochimiques :.....	85
5. Etude histologique :.....	85
II. Résultats :.....	85
1. Test de toxicité aigüe chez la souris : .....	85
2. Test de toxicité subaigüe chez la souris : .....	85
2.1 Poids corporels :.....	85
2.2 Poids des organes :.....	86
2.3 L'analyse hématologique :.....	86
2.4 L'analyse biochimique : .....	87
2.5 Etude histologique : .....	88
III. Discussion : .....	91
Conclusion générale et perspectives .....	94
Références:.....	98
Résumé .....	114
Abstract: .....	114
Annexes .....	117

## Production scientifique

### Articles scientifiques :

1/ **K. Benrahou**, L. Doudach, O. El Guourrami, H. Naceiri Mrabti, G. Zengin, A. Bouyahya, Y. Cherrah, My A. Faouzi. " Acute toxicity, phenol content, antioxidant and postprandial anti-diabetic activity of *Echinops spinosus* extracts". *Int. J. Second. Metab.*, vol 9, no.1, pp.91-102,2022.

2/ **K. Benrahou**, H. Naceiri Mrabti, A. Bouyahya, N H. Daoudi, M. Bnouham, H.Mezzour, S. Mahmud, M M. Alshahrani, A J. Obaidullah, Y. Cherrah, My A. Faouzi. "Inhibition of  $\alpha$ -Amylase,  $\alpha$ -Glucosidase, and Lipase, Intestinal Glucose Absorption, and Antidiabetic Properties by Extracts of *Erodium guttatum*". *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. Vol 2022, pages 10.

3/ **K. Benrahou**, O. El Guourrami, H. Naceiri Mrabti, Y. Cherrah, My A. Faouzi." Investigation of antioxidant, hypoglycemic and anti-obesity effects of *Euphorbia resinifera* L.," *Journal of Pharmacopuncture*. Vol 25.3 (2022), pages 1–8

4/ **K. Benrahou**, H. Naceiri Mrabti, S. Fettach, M R. Kachmar, M. Kouach, J-F Goossens, L. Doudach, S. Mahmud, M M. Alshahrani, A A. Awadh, A. Bouyahya, My A. Faouzi. "Mineral and phenolic composition of *Erodium guttatum* extracts and investigation of their antioxidant property in diabetic mice". *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. Vol 2022 (2022) <https://doi.org/10.1155/2022/4229981>.

5/ **K. Benrahou**, M. Driouech, O. El Guourrami, H. Naceiri Mrabti, Y. Cherrah, My A. Faouzi. "Polygonum aviculare L.: review on taxonomical aspects, ethnopharmacological, phytochemistry and biological activities". *Medicinal Chemistry Research*. (accepté)

6/ **K. Benrahou**, H. Naceiri Mrabti, S. Mortada, N. Salhi, L. Rouas, R. El Bacha, A. Dami, A. Masrar, A. Bouyahya, Y. Cherrah, My A Faouzi." Acute and Subacute Toxicity Studies of the Aqueous and alcoholic Extracts from *Erodium guttatum* by Oral Administration in Rodents". *Toxins*, 14.11 (2022), 735 <https://doi.org/10.3390/toxins14110735>.

7/ H. Naceiri Mrabti, L. Doudach, M R. Kachmar, A. Ed Dra, Z. Khali, N. Naceiri Mrabti, **K. Benrahou**, K. Harraqui, G. Zengin, A. Bouyahya, My A. Faouzi. "Phenolic content,

antibacterial, antioxidant, and toxicological investigations of *Erodium guttatum* (Geraniaceae) collected from the Northeast of Morocco”. *Turkish Journal of Botany*. Vol 45: 739-749. Doi :10.3906/bot-2107-29.

8/ L. Doudach, N. El Omari, H. Naceiri Mrabti, F. Touhami, N. Naceiri Mrabti, **K. Benrahou**, A. Bouyahya, Y. Cherrah, B. Meddah, My A. Faouzi. “Hepatoprotective Effect of *Corrigiola telephiifolia* Pourr. Root Methanolic extracts against CCL4-Induced Hepatic Damage in Mice”. *Biointerface Research in Applied Chemistry*. Vol 12, Issue 2, 2022, 2489-2502. <https://doi.org/10.33263/BRIAC122.24892502>

### **Communications dans des congrès et journées scientifiques :**

Kaoutar Benrahou, My El Abbes Faouzi. « Etude de la toxicité aigüe, de l’activité antioxydante et anti-hyperglycémique des extraits d’*Echinops spinosus* », 15<sup>ème</sup> journée scientifique sous le thème la recherche scientifique : levier de développement des sciences de la santé, 18-19 Mai 2022.

Kaoutar Benrahou, My El Abbes Faouzi. « Etude de contenu phénolique et activité antioxydante d’*Erodium guttatum* racinaire ». Congrès international sur les vigilances sanitaires Kénitra, 15-17 juillet 2021.

Kaoutar Benrahou, My El Abbes Faouzi. « Etude anti-hyperglycémique in vitro et ex-vivo d’*Erodium guttatum* racinaire », Congrès international sur les vigilances sanitaires Kénitra, 15-17 juillet 2021.

Kaoutar Benrahou, My El Abbes Faouzi. « Etude Phytochimique, Toxicologique, Activité Antioxydant et Anti-hyperglycémique d’*Erodium guttatum* », Journée scientifique sur les Plantes Aromatiques et Médicinales Oujda, 7 décembre 2019.

## Liste des Abréviations

<b>ABTS</b>	Acide 2,2'-azino-bis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)
<b>ADN</b>	Acide desoxyribonucléique.
<b>AlCl<sub>3</sub></b>	Chlorure d'Aluminium
<b>BHT</b>	butylHydroxytoluène
<b>CAT</b>	Catalase
<b>DL<sub>50</sub></b>	Dose Létale Médiane
<b>DPPH</b>	Diphényl Picryl Hydrazyl
<b>EAG</b>	Equivalent acide gallique
<b>EDTA</b>	Acide éthylènediaminetétraacétique
<b>ESI</b>	Ionisation par électrospray
<b>ER</b>	Equivalent de Rutine
<b>FeCl<sub>3</sub></b>	Chlorure ferrique
<b>GLUT-4</b>	Glucose transporteur type 4
<b>GLUT-5</b>	Glucose transporteur type 5
<b>GLUT</b>	Glucose Transporteur
<b>HCL</b>	Chlorure d'hydrogène
<b>HDL</b>	Lipoprotéine de haute densité
<b>HRMS</b>	Détection à haute résolution et masse exacte
<b>HFD/STZ</b>	High Fat Diet/ Streptozotocine
<b>IC<sub>50</sub></b>	Concentration inhibitrice médiane
<b>IR</b>	Insulinorésistance
<b>LDL</b>	Lipoprotéine de basse densité
<b>mM</b>	Millimolaire

<b>NADH</b>	Nicotinamide adenine dinucléotide
<b>NADPH</b>	Nicotinamide adenine dinucléotide phosphate
<b>NBT</b>	Nitroblue tetrazolium
<b>Nm</b>	Nanomètre
<b>MDA</b>	Malondialdéhyde
<b>OCDE</b>	Organisation de coopération et de développement économiques
<b>OSTT</b>	Oral Starch Tolerance Test
<b>OMS</b>	Organisation mondiale de la santé
<b>P/V</b>	Poids/ Volume
<b>PI</b>	Pourcentage d'inhibition
<b>PPAR<math>\gamma</math></b>	Récepteur gamma activé par les proliférateurs de peroxyosomes
<b>PKC</b>	Protéine kinase C
<b>ROS</b>	Reactive oxygen species
<b>SGLT</b>	Sodium-Glucose Linked Transporter
<b>SOD</b>	Superoxyde dismutase
<b>TE</b>	Equivalent trolox
<b>UV</b>	Ultraviolet

## Liste des Figures :

Figure 1: Mécanisme moléculaire de l'IR induite par les acides gras et l'hyperglycémie. ....	28
Figure 2: Voies intestinales responsables de l'hydrolyse et l'absorption du glucose. ....	29
Figure 3: Voies intestinales responsables de l'hydrolyse et l'absorption des lipides. ....	30
Figure 4 : <i>Euphorbia resinifera</i> L.....	35
Figure 5: Photo d' <i>Echinops spinosus</i> L. ....	38
Figure 6: <i>Erodium guttatum</i> L. ....	41
Figure 7: La réduction du radical libre DPPH.....	48
Figure 8: Spectre de masse obtenu en mode négatif pour l'acide shikimique. ....	55
Figure 9: L'effet des extraits d' <i>E. resinifera</i> , <i>E. soinosus</i> et <i>E. guttatum</i> sur les taux plasmatiques de glucose après surcharge d'amidon chez des rats normaux. Les valeurs sont des moyennes $\pm$ SD (n = 6). **p< 0.01 ; ***p <0,001 ; ****p<0.0001. ....	65
Figure 10: : Effet des extraits d' <i>E. guttatum</i> sur l'absorption intestinale du glucose par perfusion du segment jéjunal des rats avec la solution de perfusion contenant du glucose (1g/L) et les extraits à la dose (200 mg/kg). Les données sont des moyennes $\pm$ Erreur standard .....	66
Figure 11: Photomicrographies des coupes histologiques du pancréas des souris normales (A), des souris diabétiques non traités (B), des souris diabétiques traités par la metformine (C), des souris diabétiques traités par l'extrait aqueux d' <i>E. guttatum</i> (D), des souris diabétiques traités par l'extrait éthanolique d' <i>E. guttatum</i> (E).....	79
Figure 12: Effet des extraits d' <i>E. guttatum</i> sur l'histologie rénale chez la souris. Les coupes histologiques ont été visualisées par coloration à l'hématoxyline et à l'éosine (H et E) et observées au microscope optique (OPTIKA Microscopes, Italie) avec un grossissement $\times 40$ . (a) Souris témoins, (b) souris traitées avec l'extrait aqueux d' <i>E. guttatum</i> (200 mg/kg), (c) souris traitées avec l'extrait éthanolique d' <i>E. guttatum</i> . ....	89

Figure 13: Histopathologie du foie. Les coupes histologiques ont été visualisées par coloration à l'hématoxyline et à l'éosine (H et E) et observées au microscope optique (OPTIKA Microscopes, Italie) avec un grossissement  $\times 40$ . (a) Souris témoins, (b) souris traitées avec l'extrait aqueux d'*E. guttatum* (200 mg/kg), et (c) souris traitées avec l'extrait éthanolique d'*E. guttatum*. .....90

Figure 14: Histopathologie du pancréas. Les coupes histologiques ont été visualisées par coloration à l'hématoxyline et à l'éosine (H et E) et observées au microscope optique (OPTIKA Microscopes, Italie) avec un grossissement  $\times 40$ . (a) Souris témoins, (b) souris traitées avec l'extrait aqueux d'*E. guttatum* (200 mg/kg), et (c) souris traitées avec l'extrait éthanolique d'*E. guttatum*. .....91



## Liste des tableaux :

Tableau 1: Classification de l'espèce <i>Euphorbia resinifera</i> L.....	34
Tableau 2 : Classification de l'espèce <i>Echinops spinosus</i> L.....	37
Tableau 3: Classification de l'espèce <i>Erodium guttatum</i> L.....	40
Tableau 4: Rendements des extraits d' <i>E. resinifera</i> , <i>E. spinosus</i> et <i>E. guttatum</i> .....	51
Tableau 5 : Teneurs en polyphénols totaux des extraits aqueux et éthanoliques d' <i>E. resinifera</i> , <i>E. spinosus</i> et <i>E. guttatum</i> .....	52
Tableau 6: Teneurs en flavonoïdes totaux des extraits aqueux et éthanoliques d' <i>E. resinifera</i> , <i>E. spinosus</i> et <i>E. guttatum</i> .....	53
Tableau 7 : Activité antioxydante par les méthodes DPPH, ABTS, H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> et xanthine oxydase (XO) des extraits d' <i>E. resinifera</i> , <i>E. spinosus</i> et <i>E. guttatum</i> .....	54
Tableau 8 : Analyse par ESI-HRMS de l'extrait aqueux et éthanolique d' <i>E. guttatum</i> .....	55
Tableau 9: Valeurs IC <sub>50</sub> des extraits de <i>E. resinifera</i> , <i>E. spinosus</i> et <i>E. guttatum</i> sur l'inhibition de l' $\alpha$ -amylase, $\alpha$ -glucosidase et lipase.....	63
Tableau 10: Effet des extraits d' <i>E. guttatum</i> sur la glycémie à jeun chez les souris rendues diabétiques par HFD-STZ.....	72
Tableau 11: Effet des extraits d' <i>E. guttatum</i> sur le poids corporel chez des souris rendues diabétiques par HFD-STZ.....	73
Tableau 12: Effets des extraits d' <i>E. guttatum</i> sur les paramètres hématologiques et biochimiques chez les souris rendues diabétiques par HFD-STZ. ....	74
Tableau 13: Taux de malondialdéhyde (MDA) dans le foie, reins et le pancréas chez des souris diabétiques traitées avec les extraits d' <i>E. guttatum</i> (200mg/kg) et de metformine (300mg/kg) (nM/g tissu). ....	75

Tableau 14: Taux de superoxyde dismutase (SOD) dans le foie, les reins et le pancréas chez des souris diabétiques traitées avec les extraits d' <i>E. guttatum</i> (200 mg/kg) et de metformine (300 mg/kg) (unité/g de tissu). .....	76
Tableau 15: Niveau de l'enzyme antioxydante Catalase (CAT) dans le foie, les reins et le pancréas chez des souris diabétiques traitées avec des extraits d' <i>E. guttatum</i> (200mg/kg) et de metformine (300mg/kg) (protéine U/mg). .....	77
Tableau 16: Effets de l'administration orale subaiguë des extraits d' <i>E. guttatum</i> sur le poids corporel des souris Swiss avec une dose de 200 mg/kg. ....	86
Tableau 17: Effet de l'administration orale subaiguë des d' <i>E. guttatum</i> sur le poids des organes chez les souris albinos suisses. ....	86
Tableau 18: Effet de l'administration orale subaiguë des extraits d' <i>E. guttatum</i> sur les paramètres hématologiques chez des souris albinos suisses. ....	87
Tableau 19: Effet de l'administration orale subaiguë des extraits de <i>E. guttatum</i> sur les paramètres biochimiques chez des souris suisses. ....	88

## Introduction générale

Le diabète a été décrit anciennement par Aetius of Cappadocia (81-133AD) par la suite Thomas Willis (Grande-Bretagne) en 1675 a rajouté le terme « mellitus » après avoir observé l'urine et le sang des patients. Actuellement le diabète n'a plus avoir des limites géographiques, et devenu touche essentiellement les pays en cours de développement et développés. C'est l'une des maladies les plus répandues dans le monde et son incidence augmente progressivement (Ahmed, 2002). De plus en plus des preuves dans les études expérimentales et cliniques suggèrent qu'il existe un lien étroit entre l'hyperglycémie, le stress oxydatif et les complications du diabète. Une glycémie élevée détermine la surproduction d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) par la chaîne de transport d'électrons des mitochondries. Afin de faire face aux effets délétères de ces espèces, le corps a des systèmes antioxydants endogènes ou il obtient des antioxydants exogènes à partir d'un régime alimentaire qui neutralise ces espèces et maintient l'homéostasie du corps (Chikezie et al., 2015). Tout déséquilibre entre le ROS et les antioxydants conduit à produire une condition connue sous le nom de « stress oxydatif » qui se traduit par le développement de conditions pathologiques parmi lesquelles le diabète. La plupart des études révèlent l'inférence du stress oxydatif dans la pathogenèse du diabète par l'altération des systèmes enzymatiques, la peroxydation des lipides, l'altération du métabolisme du glutathion et la diminution des niveaux de vitamine C. Les lipides, les protéines, les dommages à l'ADN, le glutathion, le catalane et la superoxyde dismutase sont divers biomarqueurs du stress oxydatif dans le diabète sucré. Les complications du diabète induites par le stress oxydatif peuvent inclure les accidents vasculaires cérébraux, la neuropathie, la rétinopathie et la néphropathie (Asmat Ullah et al., 2016).

Malgré des progrès considérables dans le traitement du diabète par des agents hypoglycémiantes oraux, la recherche de nouveaux médicaments se poursuit car les médicaments synthétiques existants présentent plusieurs limites. Les médicaments à base de plantes ayant une activité antidiabétique n'ont pas encore été formulés commercialement en tant que médicaments modernes, même s'ils ont été acclamés pour leurs propriétés thérapeutiques dans les systèmes de médecine traditionnels (Wadkar *et al.*, 2008). Les plantes constituent une source potentielle de médicaments hypoglycémiantes car de nombreuses plantes et composés dérivés de plantes ont été utilisés dans le traitement du diabète. De nombreuses plantes ont été étudiées pour leur utilisation bénéfique dans différents types de diabète et des rapports sont publiés dans de nombreuses revues scientifiques (Kooti *et al.*, 2016).

Notre travail s'inscrit dans le cadre général de l'étude des propriétés antioxydante, antidiabétique des plantes médicinales de la flore locale, nous nous sommes intéressés particulièrement à l'évaluation de leur effet sur l'hyperlipidémie, l'hyperglycémie postprandiale et leur activité antioxydante. Ainsi, à l'étude toxicologique et la caractérisation des composés phytochimiques. Dans un premier temps, nous nous sommes basés sur des études ethnobotaniques pour les choix des plantes ; *Euphorbia resinifera* de la famille Euphorbiacées, *Echinops spinosus* (Astéracées) et *Erodium guttatum* (Géraniacée) (Abderrazak El Alami et al., 2020; Bouzabata et al., 2018; Munekata *et al.*, 2019), ces trois plantes sont connues respectivement sous les noms Zeggoum, Tasekra et Wedmi. Cependant, malgré ses utilisations traditionnelles peu d'études pharmacologiques ont été réalisés sur ces plantes.

A cet égard, ce travail est divisé en deux parties :

La première partie est une synthèse des connaissances bibliographiques, qui comporte un aperçu général sur la physiopathologie du diabète de type 2 et ces complications, le stress oxydatif et sa relation avec le diabète et les principales thérapies. Ainsi, l'état des connaissances botaniques, relater les différentes utilisations et les propriétés pharmacologiques de *Euphorbia resinifera*, *Echinops spinosus* et *Erodium guttatum*.

La deuxième partie est consacrée à l'étude pharmacologique et toxicologique des plantes *Euphorbia resinifera*, *Echinops spinosus* et *Erodium guttatum*, dans une section, une étude phytochimique préliminaire a été réalisé. Une étude *in vitro* de leurs activités antioxydante respective vis-à-vis du radical libre DPPH, ABTS, piégeage de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> et par l'inhibition de l'enzyme xanthine oxydase, suivi par l'évaluation *in vitro* de leurs pouvoir antihyperglycémique et antihyperlipidique par l'inhibition des enzymes respectivement de l' $\alpha$  amylase,  $\alpha$ -glucosidase et lipase pancréatique, et *in vivo* à l'étude de leur effet sur l'hyperglycémie postprandiale chez les rats soumis à une hyperglycémie induite par l'amidon. Sur la base des résultats obtenus, les extraits les plus actives ont été évaluées *in situ* pour confirmer leur effets antihyperglycémique postprandiale suivi d'une étude *in vivo* de l'effet des extraits sur les paramètres physiologiques chez les souris diabétiques HFD- STZ. Cette étude est complétée par un examen histologique du pancréas et par évaluation du profil oxydant dans le foie, rein et pancréas. Le travail est ensuite finalisé par l'étude de la toxicité aiguë et subaiguë par voie orale selon le protocole décrite respectivement dans les lignes directrices OCDE-423 et OCDE-407.

**Première partie :**  
**Synthèse bibliographique**

## **I- Homéostasie énergétique :**

### **1. Homéostasie des glucides :**

Le glucose est une source d'énergie essentielle pour le corps humain. C'est pour cette raison le niveau de glucose dans le sang, autrement dit glycémie, doit être maintenu à une valeur stable entre 0,8 et 1,2 g/L (OMS, 2013). A l'état d'hypoglycémie ou d'hyperglycémie, les conséquences sur l'organisme peuvent être très nocives à court ou à long terme. Pour réguler cette glycémie, l'organisme doit équilibrer les apports de glucose dans le sang et la consommation de glucose par les cellules et les organes (Gerich, 2000).

Le foie, tissu adipeux et le muscle squelettique sont impliqués dans la régulation de l'homéostasie glucidique. D'autres organes sont également impliqués dans l'augmentation ou la diminution de la glycémie. Notamment les reins et les intestins qui peuvent produire de l'énergie. Pendant la période postprandiale (juste après un repas), l'élévation du taux de glucose dans le sang induire l'utilisation et le stockage de glucose sous forme de glycogène dans les muscles squelettiques et le foie, et sous forme de triglycérides dans les tissus adipeux. En revanche, pendant le jeûne, la glycémie est maintenue stable par une augmentation de la production de glucose principalement au niveau du foie et dans une moindre mesure, par le rein et l'intestin. L'entrée et la sortie du glucose sont contrôlées par une modulation nerveuse et hormonale (Gerich, 2000).

### **2. Homéostasie des lipides :**

Dans des conditions normales, le tissu adipeux est capable d'affiner une série de signaux neuroendocriniens pour adapter précisément l'équilibre entre la synthèse des TAG (lipogénèse) et leur dégradation (lipolyse) pour répondre aux besoins physiologiques. Les acides gras peuvent provenir de deux sources, les lipides alimentaires (exogènes) ou la génération à partir du glucose, via l'intermédiaire métabolique acétyl-CoA (Griffin, 2013).

L'accumulation de graisse est déterminée par l'équilibre entre la lipogénèse et la lipolyse/oxydation des acides gras. La lipogénèse est stimulée par une alimentation riche en glucides, par l'insuline, les facteurs de transcriptions comme SREBP1(*sterol regulatory element-binding protein-1*) et le PPAR  $\gamma$  (*peroxisome proliferator activated receptor gamma*). Alors qu'elle est inhibée par les acides gras polyinsaturés et par le jeûne. Ces effets sont en partie liés par des hormones qui inhibent (hormone de croissance, leptine) ou stimulent (insuline) la lipogénèse (Kersten, 2001; Elia *et al.*, 2015);

Comme c'est le cas pour le métabolisme des glucides, l'insuline est un régulateur clé de la biologie du tissu adipeux blanc, contrôlant non seulement la lipogenèse mais aussi le taux de lipolyse et l'efflux des acides gras non estérifiés (NEFA). Son action sur la lipogenèse se fait par l'activation du facteur de transcription SREBP1 via la phosphorylation dépendante de la MAP-kinase (Gathercole, Morgan and Tomlinson, 2013). L'insuline peut également supprimer la lipolyse par phosphorylation de la sous-unité régulatrice de la protéine phosphatase-1 (PP-1), qui une fois activé déphosphoryle rapidement et désactive la lipoprotéine lipase, diminuant ainsi le taux lipolytique (Frühbeck *et al.*, 2014).

L'hormone de croissance (GH) réduit la lipogenèse dans le tissu adipeux, entraînant une perte importante de masse grasse. Ces effets sont liés par de multiples mécanismes. La GH diminue la sensibilité à l'insuline, empêchant ainsi la livraison du substrat lipogénique dans la cellule. Cet effet semble être provoqué par l'expression induite par la GH suppresseur de la signalisation des cytokines-1, qui interagit avec le récepteur de l'insuline et empêche l'activation en aval de la PKB (Frühbeck *et al.*, 2014).

La leptine limite le stockage des graisses, en inhibant la lipogenèse dans le foie et le tissu adipeux (Ramsay, 2003). Le mécanisme sous-jacent semble être une régulation négative induite de SREBP1, entraînant une diminution de l'expression de l'acide gras synthase (FAS) et de l'acétyl-CoA carboxylase (ACC) (Frühbeck *et al.*, 2014).

## **II- Diabète :**

### **1. Généralité :**

Le diabète est un groupe de maladies métaboliques caractérisé par une glycémie élevée sur une période prolongée (Wu *et al.*, 2014). Cela peut être dû à des défauts de sécrétion d'insuline, à des lésions des cellules  $\beta$  pancréatiques ou à une résistance aux actions périphérique de l'insuline (Kharroubi, 2015). Le mode de vie sédentaire est fortement associé au diabète et peut être la principale raison de l'augmentation continue du nombre de patients diabétiques dans le monde (Lim et al., 2020). On distinguera principalement deux types, le diabète de type 1 et le diabète de type 2 ;

Le diabète de type 1 (T1DM) est un trouble de l'homéostasie du glucose caractérisé par la destruction auto-immune des cellules bêta productrices d'insuline qui entraîne une carence en insuline et une hyperglycémie qui en résulte (Gregory et al., 2013). Une combinaison de

facteurs génétiques tels que la surexpression de molécules de la classe des antigènes leucocytaires humains (HLA) telles que DR4, DQ8 et DQ2 et de facteurs environnementaux tels qu'une infection virale, des toxines ou certains facteurs alimentaires a été impliqués comme déclencheurs de l'auto-immunité, entraînant la destruction des cellules  $\beta$  pancréatiques et le diabète de type 1 qui en résulte (Giwa *et al.*, 2020).

Le diabète de type 2 (DT2) n'est pas associé à une perte de production d'insuline mais à une réduction de l'action de l'insuline sur les organes cibles. Cette baisse d'action insulinémique est identifiée sous l'appellation insulino-résistance. Les cellules endocrines situées dans les îlots de Langerhans du pancréas sécrèteront suffisamment d'insuline pour corriger au mieux la glycémie. Après certain temps, il sera incapable de continuer la montée accrue de la glycémie. Il ne produira alors pas suffisamment d'insuline pour maintenir le taux de la glycémie normal. A ce terme, une insulinopénie et une destruction  $\beta$  pancréatique s'installent (Scheen, Paquot and Lefebvre, 2005).

## **2. Physiopathologie du diabète de type 2 :**

Le Diabète de type 2 est le plus répandu, soit environ 90% des formes diagnostiquées de diabète. L'étiologie de la maladie est due à l'association de deux principales composantes: la résistance des tissus à l'action de l'insuline ou l'insulinorésistance (IR), généralement acquise par un mode de vie dit moderne, et une anomalie de l'insulinosécrétion, majoritairement acquise par hérédité, qui provoque l'incapacité des cellules  $\beta$  des îlots de Langerhans à compenser l'insulinorésistance en augmentant la sécrétion d'insuline ( Monnier L, 2014).

A l'état physiologique, la fonction métabolique principale de l'insuline est de réguler le métabolisme du glucose en stimulant l'absorption du glucose par le muscle squelettique et le tissu adipeux déclenche la synthèse du glycogène dans le muscle squelettique, inhibe la production de glucose hépatique. Également, l'insuline stimule la lipogenèse et le transport des acides aminés tout en réduisant la lipolyse dans les cellules.

Le phénomène de résistance à l'insuline est une situation physiologique par laquelle l'interaction de l'insuline avec son récepteur ne parvient pas à déclencher correctement les événements de signalisation et métaboliques (Balcerczyk et al.,2017). Par conséquent il se caractérise par une faible capacité d'absorption de glucose et une augmentation de la synthèse hépatique du glucose (principalement à jeun), une faible absorption du glucose et de la synthèse du glycogène, et un flux des acides gras qui augmentent les triglycérides et diminuent le HDL-c (Kahn, 2001).



Les lipides sont également un facteur caractéristique de l'insulinorésistance. Plusieurs études ont identifié l'action des acides gras libres dans l'insulinorésistance musculaire et hépatique. Les acides gras libres abaissent la captation musculaire du glucose et induit une élévation de sa production par le foie. Au niveau des cellules adipocytaires, l'insuline devient incapable à inhiber la lipolyse et déclenche une élévation des acides gras libres, stimulent la néoglucogenèse, la synthèse des triglycérides et la production glucosée hépatique. Les acides gras libres sont donc utilisés par les muscles, où ils réduisent l'absorption et le métabolisme du glucose, et par le pancréas, où ils modifient l'insulinosécrétion ( Monnier L, 2014).

### **3. Complications du diabète de type 2 :**

L'hyperglycémie chronique entraîne des complications microvasculaires dans la rétine, le glomérule rénal et le nerf périphérique. L'hyperglycémie associée à la dyslipidémie est associée à une maladie macrovasculaire athéroscléreuse accélérée qui affecte les artères qui irriguent le cœur, le cerveau et les membres inférieurs en sang. Par conséquent, les patients diabétiques ont un risque plus élevé d'infarctus du myocarde, d'accident vasculaire cérébral et d'amputation des membres (Brownlee, 2005). En outre, l'hyperglycémie et la résistance à l'insuline pourraient avoir un impact sur la pathogenèse des complications macro vasculaires en raison de l'augmentation du produit final de glycation avancée (AGE), de la voie des polyols, de l'activation des isoformes PKC et de la voie des hexosamines (Brownlee, 2001).

La voie des polyols convertit le glucose en fructose par sa réduction en sorbitol, qui est ensuite oxydé en fructose ; le sorbitol ne traverse pas la membrane cellulaire, ce qui entraîne des dommages osmotiques intracellulaires. En revanche, l'activation de la voie des polyols diminue la concentration des nucléotides pyrimidiques NADP<sup>+</sup> et NAD<sup>+</sup>. La synthèse réduite du glutathion (GSH) nécessite du NADPH, ainsi une diminution de celui-ci induirait un stress oxydatif (Brownlee, 2001). Les AGE sont l'union covalente entre un sucre réduit et un groupe amino libre de protéines, de lipides et d'acides nucléiques. La glycation entraîne une altération de la structure et de la fonction des biomolécules modifiées (Brownlee, 2001; Bettiga *et al.*, 2019).

L'hyperglycémie active les isoformes PKC suite à la ligature aux récepteurs AGE et à l'augmentation de la voie des polyols. L'activation des isoformes de la PKC induit des anomalies du flux sanguin rétinien et rénales. L'activation de la PKC induit également l'expression du facteur de croissance de l'endothélium vasculaire (VEGF) dans le muscle lisse vasculaire

conduisant à la pathogenèse de la néovascularisation et de la dysfonction endothéliale dans le diabète (Brownlee, 2001)

Le dysfonctionnement glomérulaire induit par le diabète, tel que l'hyperfiltration glomérulaire et l'albuminurie, est également lié par l'activation de la PKC (King and Kikkawa, 2018). L'excès de glucose intracellulaire passe dans la voie de l'hexosamine et augmente les niveaux d'uridine diphospho-N acétylglucosamine qui modifie davantage les protéines pour former des glycoprotéines liées par O (Buse, 2006). L'augmentation de la O-GlcNAcylation est directement liée à la toxicité induite par l'hyperglycémie et est liée à d'autres processus, par ex. signalisation redox, apoptose, autophagie et dégradation des protéines (M.a. and Hart, 2013; Zheng *et al.*, 2016).

### **III- Stress oxydatif et diabète de type 2 :**

#### **1. Stress oxydant :**

Le stress oxydatif se produit dans l'organisme lorsque la production d'espèce d'oxygène oxygéné (EOA) dépasse la capacité des espèces antioxydantes. Les radicaux libres ne sont pas toujours un synonyme de toxicité. En fait, certains sont des médiateurs des mécanismes physiologiques, ce n'est que lorsque les systèmes de défense sont dépassés et ne suffisent plus à neutraliser la surproduction de ces espèces que la toxicité apparaît. La surproduction des EOA devient pathologique en activant l'expression de gènes codants pour des cytokines pro-inflammatoires ou des protéines d'adhésion.

D'autres l'état instable des EOA vis-à-vis des substrats biologiques provoque des modifications oxydatives délétères potentiellement impliquées dans le développement des pathologies. Parmi les principales cibles biologiques des EOA ; l'Acide désoxyribonucléique (ADN), les protéines, les lipides membranaires et les lipoprotéines (J. Halenget al., 2007).

#### **2. Le stress oxydatif et l'insulinorésistance :**

L'insulinorésistance (IR) est un événement précoce dans l'apparition du diabète et on pense qu'il précède le développement du DT2 de 10 à 15 ans (Johnson and Olefsky, 2013). Dans des conditions d'IR, les cellules sensibles à l'insuline ne répondent pas à l'insuline, ce qui entraîne une réduction de l'absorption du glucose et donc une réduction du stockage local du glucose

sous forme de glycogène et de triglycérides (TG) dans les cellules musculaires et adipeuses, respectivement (Fargion *et al.*, 2005; Samuel and Shulman, 2012).

Le stress oxydatif (SO) a été reconnue comme un mécanisme clé impliqué dans l'induction de l'IR (Hurrell and Hsu, 2017). En contradiction avec les implications des ROS dans la pathogenèse du diabète qui ont été largement étudiées, les ROS produites en réponse au métabolisme du glucose sont également considérées comme un second messenger dans la signalisation de l'insuline induite par le glucose (Pi *et al.*, 2007).

Le mécanisme moléculaire par lequel le stress oxydatif provoque l'IR implique l'activation de plusieurs cascades de sérine kinases telles que la kinase N-terminale c-Jun (JNK), la protéine kinase activée par les mitogènes (p38MAPK) et la kinase régulée par le signal extracellulaire (ERK) (Rains and Jain, 2011). Il a été rapporté que JNK, une voie de signalisation sérine / thréonine kinase sensible au stress, augmente la phosphorylation de la sérine de IRS-1 et accélère la dégradation de IRS-1, suivie d'une voie de signalisation de l'insuline altérée (**Figure 1.**) dans les cellules (Feng *et al.*, 2020; Gao *et al.*, 2010).

L'accumulation des lipides et l'augmentation des ROS dans le foie provoquent l'activation de PKC $\epsilon$  et de JNK, ce qui entraîne une inhibition de la signalisation de l'insuline. Une activité Akt réduite par des réductions de l'activité de la protéine kinase 1 dépendante du 3-phosphoinositide (PDK1) entraîne l'activation de la glycogène synthase kinase-3 $\beta$  (GSK3 $\beta$ ) et la réduction de la synthèse de glycogène stimulée par l'insuline grâce à une activité réduite de la glycogène synthase (GS). L'activité Akt réduite favorise également la translocation de la protéine Forkhead box O1 (FOXO1) vers le noyau en raison d'une phosphorylation réduite et augmente l'expression des protéines gluconéogéniques pyruvate carboxylase (PC), phosphoénolpyruvate carboxykinase (PEPCK) et glucose-6-phosphatase (G6Pase) (Perry *et al.*, 2014).

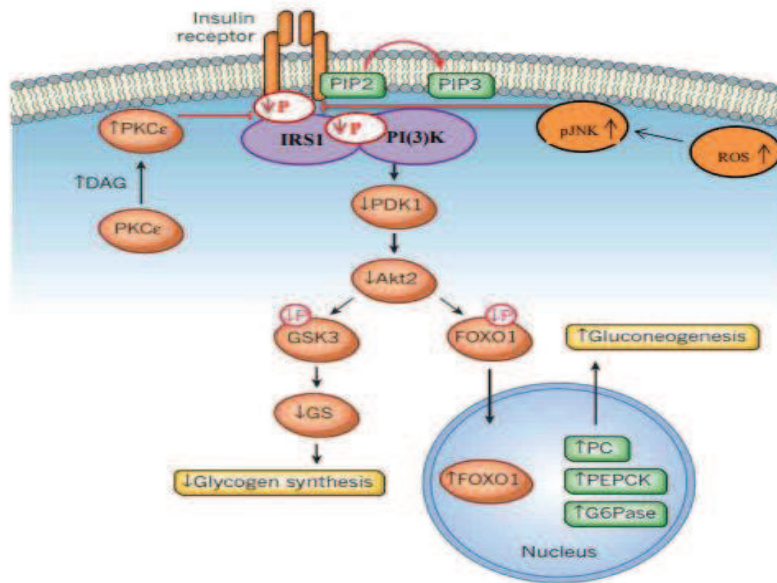


Figure 1: Mécanisme moléculaire de l'IR induite par les acides gras et l'hyperglycémie (Perry et al., 2014).

#### IV- Les enzymes digestives et le diabète :

Les nutriments sont une source d'énergie, pour le bon fonctionnement de l'organisme. Ils couvrent les dépenses quotidiennes et assurent le renouvellement cellulaire et protéique. Les grandes classes des nutriments sont : les glucides ou hydrates de carbone, les protéines, et les lipides. En effet, les principaux nutriments se trouvent dans l'alimentation sous forme de macromolécules complexe qui doit être décomposé en micromolécules pour être absorbées par l'organisme.

##### 1- Hydrolyse, absorption et transport du glucose :

La digestion des glucides complexes commence par l' $\alpha$ -amylase, qui dégrade les liaisons  $\beta$  1-4 glucosidiques en oligosaccharides et disaccharides. L' $\alpha$ -glucosidase clive les disaccharides en monosaccharides facilement absorbables. Par la suite, les glucides, réduits en monosaccharides par la digestion, vont être absorbés au niveau des entérocytes via les transporteurs SGLT1 (transporteurs glucose sodium dépendant 1) et sortent des entérocytes pour passer dans la circulation sanguine (système porte) par un mécanisme de diffusion facilitée, indépendant du sodium via les transporteurs GLUT2 (Glucose transportor 2) (Figure 3) (Lecleire, 2008).

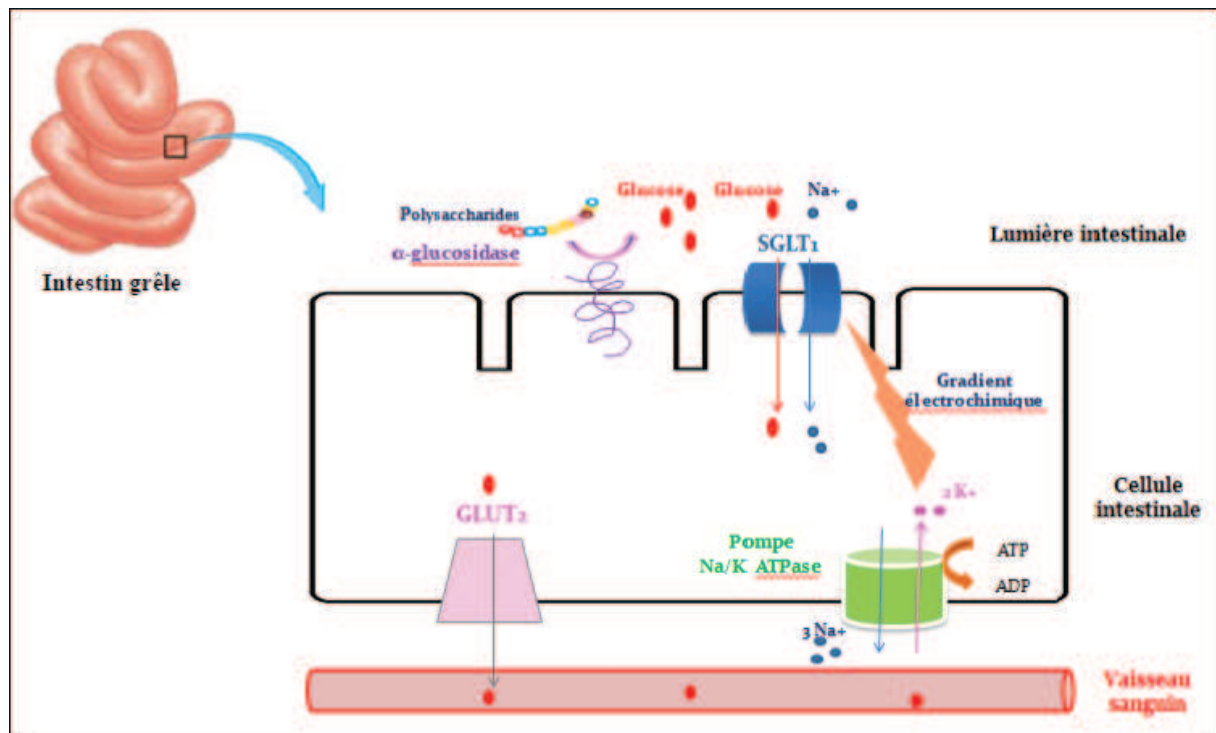


Figure 2: Voies intestinales responsables de l'hydrolyse et l'absorption du glucose.

## 2- Hydrolyse, absorption et transport des lipides :

La digestion et l'absorption des lipides est beaucoup complexes que celles des glucides et des protéines, en raison du caractère hydrophobe des lipides. La digestion des lipides commence par la mastication et l'humidification avec la salive et poursuit au niveau gastrique avec l'émulsification des triglycérides par les sels biliaires, qui consistent à disperser sous forme de gouttelette lipidique. La prochaine étape de la digestion des lipides est l'hydrolyse des TG dans la lumière intestinale par la lipase. Les produits de l'hydrolyse des TG (acide gras et monoglycérols), produisent des complexes hydrosolubles avec les sels biliaires nommés micelles (étape de solubilisation des lipides). Dans les milieux hydrophiles, les micelles assurent le passage des composés lipophiles vers la bordure en brosse par phénomène d'endocytose. Les entérocytes permettent la synthèse des triglycérides à partir des acides gras libres et des monoglycérides. Ces triglycérides nouvellement formés sont conditionnés sous forme de chylomicron. Le chylomicron est une lipoprotéine qui transporte les lipides dans le corps humain et est transportée vers les adipocytes stockant les graisses via le système lymphatique (Figure 3) (Bonora and A.DeFronzo, 2018).

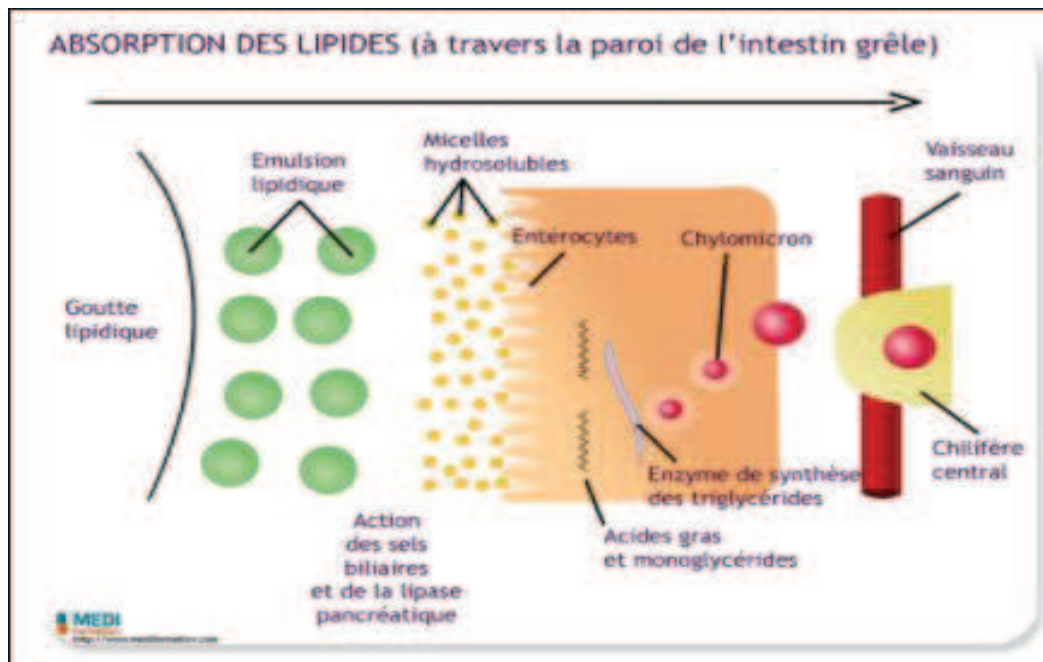


Figure 3: Voies intestinales responsables de l'hydrolyse et l'absorption des lipides (Bonora and A.DeFronzo, 2018).

## 2- L'état postprandial :

L'état postprandial est un état dynamique qui résulte de la prise et de la digestion du repas. Au cours des heures qui suivent un repas, il varie de 4 à 5 heures, selon le type de nutriments qu'il contient (glucides, lipides ou protéines). Dans les conditions physiologiques, l'état postprandial est maintenu par un système de régulation de la glycémie et de la régulation de la lipidémie. Par conséquent, l'état postprandial reste constant (Cohen and Marles, 2008).

Chez les diabétiques, l'expression des transporteurs des glucides (SGLT1 et GLUT2) (Fedorak *et al.*, 1991) et les transporteurs des lipides principalement les chylomicrons et VLDL augmentent (Vors *et al.*, 2014). Ce qui entraîne une absorption accrue de glucose et /ou de lipide alimentaire après les repas, par conséquent une élévation importante de la phase postprandiale.

L'état postprandial est désormais reconnu comme des facteurs de risque pour plusieurs maladies telles que les maladies cardio-métaboliques. De même, des données scientifiques indiquent que les complications diabétiques sont les causes principales de l'état postprandial non contrôlé (Shim *et al.*, 2003).

Les approches pharmacologiques actuellement développées ont pour cible les anomalies métaboliques rencontrées dans le diabète de type 2. A ce jour, il y a disponibilité des médicaments qui agissent sur les cellules bêta (sulfonylurées hypoglycémiantes, glinides); sur

la production hépatique de glucose (metformine); sur la digestion des glucides (inhibiteurs des  $\alpha$ -glucosidases intestinales: acarbose).

#### **V- Traitement du diabète de type 2 :**

L'objectif du traitement antidiabétique est d'obtenir un contrôle glycémique optimal, et ainsi de prévenir ou de retarder la progression des complications (Chaudhury *et al.*, 2017). Idéalement, le traitement antidiabétique devrait également aider le patient à éviter les épisodes d'hyper ou d'hypoglycémie prononcée. Les médicaments antidiabétiques actuels comprennent les biguanides, les sulfonylurées, les méglitinides, les thiazolidinediones (TZD), les inhibiteurs de la dipeptidyl peptidase 4 (DPP-4), les analogues du GLP-1 (également appelés incrétines), les inhibiteurs du cotransporteur sodium-glucose (SGLT2) et les inhibiteurs de l' $\alpha$ -glucosidase (Kerru *et al.*, 2018).

Les sulfonylurées augmentent la sécrétion d'insuline en bloquant les canaux K-ATP dans les cellules  $\beta$  pancréatiques. Les sulfonylurées de première génération (par exemple, le chlorpropamide, le tolazamide et le tolbutamide) ont une longue demi-vie, un risque plus élevé d'hypoglycémie et un début d'action plus lent, par rapport à la deuxième génération (par exemple, le glipizide, le glimépiride et le glibenclamide) (Seino, 2012; Chaudhury *et al.*, 2017).

Méglitinides, par ex. le répaglinide et le natéglinide, sont des sécrétagogues non sulfonylurées, qui se lient au récepteur de la sulfonylurée dans les cellules  $\beta$ , mais plus faiblement que la sulfonylurée, entraînant un effet de libération d'insuline à courte durée d'action (Guardado-Mendoza *et al.*, 2013).

La metformine est un biguanide qui active la protéine kinase activée par l'adénosine monophosphate (AMPK) dans le foie pour induire l'absorption hépatique du glucose et inhiber la gluconéogenèse. En outre, la substance a un faible effet sur l'absorption du glucose dans le muscle squelettique par l'activation de l'AMPK. La metformine confère un faible risque d'hypoglycémie et de faibles probabilités de prise de poids (Viollet *et al.*, 2012).

Les incrétines exercent des effets antidiabétiques par plusieurs mécanismes, à savoir la stimulation de la sécrétion d'insuline glucose-dépendante, la suppression de la sécrétion de glucagon, le ralentissement de la vidange gastrique et la réduction de l'appétit, induisant ainsi une perte de poids. Les mimétiques de l'incrétine comprennent deux types de médicaments, les agonistes des récepteurs du GLP-1 et les inhibiteurs de la DPP-4. Les agonistes actuels des

récepteurs GLP-1 sont par ex. exénatide et liraglutide. Les inhibiteurs de la dipeptidyl peptidase 4 (DPP-4) comprennent la sitagliptine, la saxagliptine, la vildagliptine, la linagliptine et lalogliptine (Kawanami *et al.*, 2016). Leur mode d'action est d'augmenter le GLP-1 endogène en inhibant la dégradation de l'hormone par l'enzyme DPP-4 (Chikara *et al.*, 2018; Kerru *et al.*, 2018).

Les inhibiteurs du co-transporteur sodium-glucose (inhibiteurs du SGLT2) abaissent la glycémie en bloquant la réabsorption du glucose à partir de l'urine primaire dans le tubule rénal proximal. Les inhibiteurs du SGLT2 disponibles sont la canagliflozine, la dapagliflozine et l'empagliflozine. Il a également été démontré que ces médicaments réduisent le risque des maladies cardiovasculaires (Kerru *et al.*, 2018; Chikara *et al.*, 2018; Yabe *et al.*, 2017).

Les inhibiteurs d'alpha-glucosidase entrent en compétition et inhibent de manière réversible les alpha-glucosidases intestinales. L'acarbose prolonge le temps de digestion des glucides et réduit ainsi le taux d'absorption du glucose (Hedrington and Davis, 2019).

## **VI-Plantes médicinales et diabète :**

Depuis longtemps, les plantes médicinales ont fourni à la pharmacie des médicaments très efficaces. Actuellement plusieurs travaux menés dans le domaine de l'ethnopharmacologie, montrent que les plantes utilisées en phytothérapie et qui ont été testées sont souvent efficaces dans les modèles pharmacologiques (Gurib-Fakim, 2006).

Au Maroc, de nombreuses plantes médicinales sont utilisées en médecine populaire pour soigner différentes maladies. Il y a plusieurs dizaines d'espèces botaniques largement utilisées pour le traitement du diabète. Certains d'entre eux sont maintenant connus bien par la communauté scientifique (Bnouham *et al.*, 2002).

### **1-Mécanisme d'action des plantes antidiabétiques :**

Suite à des études pharmacologiques, une très grande variété de mécanisme impliquée dans la baisse du taux de glucose dans le sang a été rapportée. Cette multiplicité des classes chimiques des constituants hypoglycémiantes provenant des plantes peut agir par différents mécanismes (Jarald *et al.*, 2008). Cependant, certaines plantes ont une action sur les enzymes hépatiques en stimulant la glycogénogenèse et ou l'inhibition de la glycogénolyse. D'autres ont une action sur le pancréas par stimulation de la sécrétion d'insuline à partir des cellules bêta et où induisent également leur régénération ou par action par l'apport d'éléments nécessaires ( $\text{Cu}^{++}$ ,  $\text{Mg}^{++}$ ,  $\text{Ca}^{++}$ )



au fonctionnement des cellules bêta, et également la revitalisation et ou l'hyperplasie des cellules. D'autres encore agissent par l'inhibition des transporteurs du glucose au niveau de la barrière intestinale limitant ainsi l'absorption intestinale du glucose, ou par stimulation de la captation du glucose par les adipocytes ou les cellules musculaires ou par diminution de la sécrétion du glucagon en induisant une diminution de l'absorption intestinale du glucose et ou une réduction de l'utilisation périphérique du glucose (Singh and Kochhar, 2012).

## **2- Les plantes médicinales et la toxicité**

La toxicité est le potentiel des molécules nocives pour l'homme et l'animal. Cet effet peut endommager les cellules, les organes ou tout le corps. Les détériorations puissantes associées à la phytothérapie peut être dues soit à des effets toxiques intrinsèques des plantes, ou à des effets extrinsèques, par contamination, identification incorrecte des plantes ou interactions avec des substances à base des plantes ou d'autres produits pharmaceutiques (Veerappan *et al.*, 2007).

Les plantes jouent un rôle important dans la planification de la santé dans le monde, en particulier dans les pays en développement. Les consommateurs du monde entier croient généralement que les médicaments à base des plantes sont toujours sûrs parce qu'ils sont naturels. Alors que les preuves montrent que ce n'est pas le cas (George, 2011).

Les plantes contiennent divers composés, dont certains sont complexes. Les produits végétaux comme les mucilages, les polysaccharides et les tanins régulent et modifient l'activité de tous les composés bioactifs. Des données ont montré que l'action des extraits des plantes entières ne peut pas être imitée en administrant des composés isolés et purifiés des plantes. Par conséquent, les effets néfastes des végétaux doivent stimuler la vigilance. (Mirlesse and Lebon, 2003).

## **VII- Etude botanique de *Euphorbia resinifera*, *Echinops spinosus* et *Erodium guttatum* :**

### **1. Etude botanique de *Euphorbia resinifera* :**

#### **1.1 Classification :**

La classification de l'espèce *Euphorbia resinifera* L. est décrite dans le tableau 1 :

<b>Règne</b>	<b>Plantae</b>
<b>Embranchement</b>	Tracheophytes
<b>Classe</b>	Magnoliopsida
<b>Ordre</b>	Euphorbiales
<b>Famille</b>	Euphorbiaceae
<b>Genre</b>	<i>Euphorbia</i>
<b>Espèce</b>	<i>E. resinifera</i> L.

Tableau 1: Classification de l'espèce *Euphorbia resinifera* L.

Nom vernaculaire : Zeggoum

### 1.2 Description :

*E. resinifera* forme des touffes compactes et densément ramifiées et des coussins de plusieurs mètres de diamètre et jusqu'à 1,50 m de hauteur. Les branches dressées, quadrangulaires, sillonnées à l'état jeune, deviennent subconcaves avec l'âge, lisses, de couleur vert. Les angles légèrement dentés portent de petits boucliers d'épines triangulaires autrement séparés, avec des épines brunâtres appariées, de 5 à 10 mm de long et, lorsqu'ils sont jeunes. Les sommets des branches sont généralement dépourvus de feuilles, mais parfois sur les jeunes pousses apicales, on peut voir de petites feuilles rudimentaires (1–2 mm), bientôt caduques. Les cymes axillaires à trois cyathes, sur de courts pédoncules, s'élèvent souvent au-dessus de l'apex des branches. Cinq à six glandes cyathiales, un peu charnues, elliptiques, se recouvrant sur les bords, présentent une couleur jaune doré brillant. Capsules lisses, de 4 × 7 mm, sur de courts pédoncules (4–8 mm). Graines cordiformes, d'environ 2,5 mm de diamètre, à pelage grisâtre finement écailleux. La saison de floraison est de mai à Août (Lawant and Winthagen, 2001).



Figure 4 : *Euphorbia resinifera* L.

### 1.3 Distribution géographique :

*Euphorbia resinifera* est une espèce endémique du Maroc avec une aire de répartition principale située au centre du pays, dans la chaîne montagneuse du Moyen Atlas (région du Tadla-Azilal) (Terrab *et al.*, 2022). Elle est relativement abondant dans la partie occidentale des monts du Moyen Atlas, à environ 10 km au SE, S et SW du village berbère de Beni-Mellal. Une deuxième population se trouve dans la partie centrale des monts du Grand (Haut) Atlas, autour du village de Demnate, en particulier sur les collines de netifa (Entifa). Dans la partie ouest de cette chaîne de montagnes, au sud du col de Tiznit on trouve également de plus petites populations. Une quatrième population existe à environ 160 km au Sud du dernier site mentionné, sur la crête de l'Anti-Atlas, juste au SE du Jebel. Lekst (ou Lkst ou Kest), sur le col Tizin- Tarakatine, juste à l'est du village de Tafraout (Lawant and Winthagen, 2001).

### 1.4 Utilisations traditionnelles :

Cette espèce est endémique du Maroc où elle n'est présente que dans les régions d'Azilal et Beni Mellal. Au Maroc et en Algérie, la plante est utilisée pour traiter de nombreuses maladies telles que le cancer, les rhumatismes, les kystes et les morsures de serpent. Le miel et la poudre des graines de la plante est utilisés traditionnellement pour traiter les troubles métaboliques, digestives, circulatoires, Maladies respiratoires (grippe, asthme, allergie...), maladies du système reproducteur, angine.

La Poudre de parties aériennes séchées mélangée à du miel est utilisée pour traiter le goitre. Le latex est utilisé pour les intoxications, les inflammations cutanées, morsures de serpent et piqûres de scorpion.

La tige sans latex est utilisée pour traiter le cancer du sein, le kyste et le cancer de l'appareil génital féminin (Abderrazak El Alami et al., 2020). L'infusion de *E. resinifera* est utilisée contre la paralysie, abortif et comme antidiabétique (Belhaj *et al.*, 2020).

### 1.5 Activités biologiques d'*E. resinifera* :

Les études pharmacologiques ont montré que la partie aérienne d'*E. resinifera* présente des effets antibactérienne, antifongique et antioxydante. Le latex de la plante a démontré une activité anticancéreuse, cytotoxique et antiparasitaire. Les racines présentent également des effets antioxydants et antimicrobiennes. Le miel de la plante présente une activité antimicrobienne, antibactérienne et antifongique. (Abderrazak El Alami et al., 2020; Chakir *et al.*, 2011).

Selon l'étude de Talbaoui *et al.*, (2020), les extraits au dichlorométhane et au méthanol d'*E. resinifera* ont montré des effets anticancéreux intéressants contre les lignées cellulaires Vero. De plus, les extraits d'*E. resinifera* ont montré une faible activité antibactérienne contre *Rhodococcus sp* GK1 (diamètre d'inhibition d'environ 15 mm à une concentration de 50 µg/mL). D'autres études visant à évaluer l'activité antibactérienne du miel d'*E. resinifera* contre *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus in vitro*, également ils ont examiné la présence d'antibiotiques dans le miel à l'aide d'un test de dépistage : Evidence Investigator TM, les résultats de l'étude ont démontré que tous les échantillons de miel ont inhibé la croissance des bactéries aux dilutions à 50 % (v/v) et dans tous les échantillons, aucun résidu d'antibiotique n'a été détecté. Les auteurs ont conclu que l'activité antibactérienne du miel pourrait être due à la nature osmotique élevée, un pH bas, sa teneur de composés phénoliques et de peroxyde d'hydrogène ainsi qu'à sa teneur en méthylglyoxal (Benjamaa *et al.*, 2020). L'activité antibactérienne des extraits racinaires d'*E. resinifera* a montré que l'extrait d'EtOAc était le plus efficace (avec des CMI de 1,0 à 1,5 mg/ml et des MBC de 1,5 à 2,0 mg/ml), suivi par l'EtOH, le CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> et l'extrait acétone. En outre, la bactérie *S. typhimurium* s'est avéré être l'espèce la plus résistante, avec des CMI de 1,5 à 2,0 mg/ml et des MBC de 2,0 à 2,5 mg/ml. *E. coli* était le plus sensible, avec des CMI de 1,0 à 1,5 mg/mg et des MBC de 1,5 à 2,0 mg/ml.

L'étude de l'activité antioxydante par la méthode DPPH a montré que l'extrait d'EtOAc a exprimé la plus forte activité (IC<sub>50</sub> = 18,20 µg/ml), tandis que l'acétone et l'EtOH et l'extrait de dichlorométhane ont montré des activités modérées (IC<sub>50</sub> = 98,44, 65,01 et 122,15 µg/ml, respectivement) (Hanane et al., 2014).

Badaoui et ses collaborateurs ont examiné les effets anxiolytiques et antidépresseurs du latex d'*E. resinifera* chez la souris. L'étude a révélé que l'extrait aqueux d'*E. resinifera* a montré des effets bénéfiques sur l'anxiété et la dépression dans la privation chronique et le stress d'isolement. Ces effets pourraient être attribués à des interactions avec les récepteurs GABAergiques, adrénérgiques, sérotoninergiques et dopaminergiques (Badaoui *et al.*, 2022).

## 2. Etude botanique d'*Echinops spinosus* :

### 2.1 Classification :

La classification de l'espèce *Echinops spinosus* L. est décrite dans le tableau 2 :

<b>Règne</b>	<b>Végétale</b>
<b>Embranchement</b>	Spermaphytes
<b>Classe</b>	Dicotylédones
<b>Ordre</b>	Astérales
<b>Famille</b>	Astéracées
<b>Genre</b>	<i>Echinops</i>
<b>Espèce</b>	<i>E. spinosus</i> L.

Tableau 2 : Classification de l'espèce *Echinops spinosus* L.

Nom vernaculaire : Tasekra

### 2.2 Description de *Echinops spinosus* :

C'est une plante herbacée vivace atteignant 1 m et plus, à tiges dressées brunâtres à rougeâtres, à quelques feuilles longues de 10 à 15 cm, poilues, arachnoïdes, et à très longues épines. L'inflorescence est souvent un globe hémisphérique unique atteignant 5 cm de diamètre pendant la période de floraison. Il est entouré de nombreuses longues épines. Les petites fleurs hermaphrodites qui composent la tête dense sont tubulaires, virant du vert au blanc et au jaunâtre en pleine floraison. Les fruits sont de petits akènes surmontés d'écailles membraneuses pour faciliter la dispersion (Boullard 2001b; Bouzabata et al., 2018).



Figure 5: Photo d'*Echinops spinosus* L.

### 2.3 Répartition géographique :

Il est originaire du Sud-Est de l'Europe (Sicile, Pouilles, Grèce, Albanie et Balkans occidentaux), distribué en Afrique du Nord et de l'Asie du Sud-Ouest jusqu'à l'Iran. Au Maroc il est réparti dans toutes les divisions géographiques du Maroc (Maroc Saharien, Atlas Saharien, Anti Atlas, Atlas, Atlas moyen, Maroc Atlantique moyen, Nord Atlantique, plateaux orientaux, montagnes orientales, côté Méditerranéen et Rif (Fennane and Ejdali, 2016; Bouzabata *et al.*, 2022).

### 2.4 Utilisations traditionnelles :

L'*Echinops spinosus* renferme de l'Echinopsine, stimulant le système nerveux, et contribue donc à la circulation sanguine, grâce à la présence de dérivés de l'apigénol et du chrysoériol. Elle est connue depuis longtemps comme un tonique nerveux.

Les capitules de Tasekra sont utilisés en Afrique pour faciliter l'accouchement et l'expulsion du placenta.

Les racines de la plante sont utilisées au Maroc pour les troubles hépatiques et les soins post-partum, désinfectant, hypoglycémiant, apéritif, contre le froid, et la douleur, les coliques néphrétiques, et diurétique.

En Algérie, la perfusion est utilisée comme antidiabétique, contre les infections des voies urinaires, inflammation des reins et circulation sanguine. Agent hygiénique employé pour des raisons gynécologiques (Bouzabata *et al.*, 2018).

## 2.5 Activités biologiques d'*E. spinosus* :

L'extrait hexanique d'*E. spinosus* a montré une activité antibactérienne avec des valeurs de CMI inférieures à 125 µg/mL contre différentes souches bactériennes (*Bacillus amyloliquefaciens*, *Micrococcus luteus*, *Bacillus subtilis* et *Salmonella enteric*) (Bouattour *et al.*, 2016).

Les extraits d'éthanol et d'acétate d'éthyle ont montré un effet antimicrobien contre les bactéries Gram-positives et Gram-négatives.

L'extrait d'acétate éthyl et d'éthanol ont montré une valeur MIC respectivement de  $20 \pm 0.5$  µg/mL;  $21 \pm 0.5$  µg/mL. Ces résultats indiquent que les racines d'*E. spinosus* peuvent être considérées comme une nouvelle source d'huile comestible ayant des avantages pour la santé et des propriétés nutritives (Khedher *et al.*, 2018).

Dans une seule étude expérimentale, l'effet termicide de huit thiophènes (1, 2, 5, 10, 18, 23, 31 et 39) isolés de *E. spinosus* ont été évalué sur *Coptotermes formosanus*. Les auteurs ont indiqué que tous les thiophènes ont montré une activité termicide et une mortalité de 100 % a été observée après application de 5-(3-butène-1-ynyl) -2,2-bithiophène (1) et de 2"-terthiophène (2) pendant 9 jours à 2 % et 1 % (p/p), respectivement. Cependant, les concentrations exactes des composés n'ont pas été mentionnées (Bitew and Hymete, 2019).

L'étude de Gheffour *et al.*, (2018) ont démontré que *E. spinosus* possède une activité antihémolytique très importante. Les extraits d'acétate d'éthyle et n-butanol de la partie aérienne présentent une très faible activité hémolytique qui ne dépasse pas 5% d'hémolyse, et les extraits à l'acétate d'éthyle et au n-butanol des racines ont montré une activité qui atteint respectivement 35 et 40% par rapport à l'hémolyse totale.

L'extrait méthanolique d'*E. spinosous* (250mg/kg) a montré un effet néphroprotecteur sur la néphrotoxicité induite par le paracétamol acétaminophène (N-acétyl-p-aminophénol (APAP)) chez les rats. *E. spinosus* a amélioré l'intégrité structurelle de la membrane cellulaire et amélioré les changements histopathologiques ainsi que les perturbations biochimiques (Hegazy *et al.*, 2018).

Les extraits d'*E. spinosus* (acétate d'éthyl, chloroforme, éthanol et hexane) ont montré des effets antioxydants potentiels en utilisant le test DPPH. L'extrait hexanique a montré le meilleur pouvoir inhibitrice (Khedher, Moussaoui and Salem, 2014).

### 3. Etude botanique de *E. guttatum* :

#### 3.1 Classification :

La classification de l'espèce *Erodium guttatum* L. est décrite dans le tableau 3 :

<b>Règne</b>	<b>Plantae</b>
<b>Embranchement</b>	Tracheophytes
<b>Classe</b>	Magnoliopsida
<b>Ordre</b>	Geraniales
<b>Famille</b>	Geraniaceae
<b>Genre</b>	<i>Erodium</i>
<b>Espèce</b>	<i>Erodium guttatum</i> L.

Tableau 3: Classification de l'espèce *Erodium guttatum* L.

Nom vernaculaire : Wedmi

#### 3.2 Description et caractéristique de *Erodium guttatum* :

Herbe 10-35 cm, vivace, caulescente ; souche ligneuse, ramifiée, tiges ascendantes, tomenteuses, poils courts non glanduleliferos, apprimés. Feuilles sub-arrondies à triangulaires-ovales, sublobées à pinnatipartites, cordiformes, à poils non glandulaires, un peu grossières, glauques ; segments principaux 3-5, crénelés ou dentés ; feuilles basales avec lame de 0,5-2 \* 0,6-3,2 cm ; stipules de 1,8-5 mm, triangulaires-lancéolées, poilues sur la face adaxiale, ciliées, vertes, inflorescence à (2) 3-5 fleurs, axillaires ; bractées 3-6, 1,8-3,7 mm, libres, ou certaines soudées à la base, marge scarieuse, à poils non glandulaires apprimés. Sépales 7,5-9,5 \* 3-4,5 mm -9,5-15 \* 4,5-7 mm dans le fruit, avec des poils non glandulaires appliqués, denses, sur la face abaxiale ; mucron 0,9-1,8 mm -1,2-2,1 mm dans le fruit. Pétales 9,2-12,5 \* 5-7,8 mm. Toutes semblables, du rose au violet clair, en général toutes avec une macula foncée et homogène à la base, les supérieures sans poils épais en forme de doigt et brillants sur leur face adaxiale, sans poils globuleux vers une heure. Nectaires de couleur violet foncé à brun. Staminodia 1,5-2,8 \* 0,5-0,9 mm, violet, cilié. Etamines à filaments de 3,2-5,2 \* 0,9-1,1 mm, progressivement élargies à la base - parfois avec deux dents à la base - violettes, poilues dans la partie médiane ; auteras d'une couleur pourpre foncé ; pollen rouge orangé. Stigmates de couleur violet foncé ou noir. Fruits 70-95 mm ; méricarpe 7,5-11 mm, de couleur cireuse jaunâtre, à lunules brunes d'où naissent les champignons ; fovéole peu marquée, striée



longitudinalement, avec un sillon infrafovéolaire peu profond ; bord avec des fibres soyeuses courtes et longues. 1 graine par méricarpe, 4,5-5,3 \* 0,8-1,1 mm(Navarro, 2009).



Figure 6: *Erodium guttatum* L.

### 3.3 Distribution géographique :

*Erodium* est probablement originaire d'Asie, elle est composée d'environ 74 espèces, réparties sur tous les continents à l'exception de l'Antarctique (Alarcón *et al.*, 2012). Très répandu dans la région méditerranéenne autour de 63 espèces alors que d'autres régions ne contiennent que quelques espèces indigènes comme l'Amérique du Nord, l'Amérique du Sud et l'Australie (Fiz *et al.*, 2007).

L'espèce *E. guttatum* est présente dans le Sud-Est de l'Espagne (Fiz *et al.*, 2006), les montagnes de Tlemcen (Algérie) (Lyubenova *et al.*, 2012); et la région Jerada-Figuig (Maroc Oriental)(Ben El Mostafa *et al.*, 2001).

### 3.4 Utilisations traditionnelles :

Les espèces d'*Erodium* sont utilisées en médecine traditionnelle pour traiter diverses maladies telles que les hémorragies, les troubles dermatologiques, gastro-intestinaux, l'indigestion et les maladies inflammatoires, le diabète, la constipation, l'eczéma et comme agent carminatif, astringent et antiseptique(Fecka and Cisowski, 2002). Les feuilles d'*Erodium* ont été utilisées

pour la préparation de salades, d'omelettes, de sandwiches, de sauces et de soupes et de certains produits alimentaires (Munekata *et al.*, 2019).

### **3.5 Activités biologiques :**

Il a été rapporté que l'extrait hydro-méthanolique d'*E. guttatum* qui pousse en Tunisie contenait des niveaux élevés de polyphénols ( $124 \pm 6$  mg EAG/g d'Extrait), flavonoïdes ( $52 \pm 2.3$  mg ER/g) et tanins ( $20 \pm 0.5$  mg EC/g). Dans le même travail, l'extrait hydro-méthanolique montre une activité antioxydante estimée par une  $IC_{50}$  de  $56,9 \mu\text{g/mL}$ , cet effet était plus faible par rapport au standard vitamine C. De plus, *E. guttatum* possède une activité antimicrobienne élevée contre *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Serratia marcescens*, *Enterococcus aerogenes* et *Pseudomonas aeruginosa* (Hamza *et al.*, 2018).

L'étude de Naceiri Mrabti *et al.*, (2021) a montré que l'extrait aqueux et méthanolique de la partie aérienne d'*E. guttatum* présentent des activités antioxydantes et antibactériennes remarquables (CMI comprise entre 6,25 et 100 mg/mL pour l'extrait aqueux et entre 3,12 et 100 mg/mL pour l'extrait méthanolique). De plus, nos résultats ont montré que l'extrait aqueux d'*E. guttatum* ne présentait pas de toxicité. Par conséquent, les auteurs ont conclu que *E. guttatum* pourrait être une bonne source pour l'identification de médicaments antioxydants et antibactériens.

**Deuxième partie :**  
**Etude expérimentale**

---

**Etude phytochimique et antioxydante *in vitro* des extraits  
des plantes *E. resinifera*, *E. spinosus* et *E. guttatum***

---

Cette première partie d'expérimentation est consacré à la quantification des métabolites secondaires des plantes *E. resinifera*, *E. spinosus* et *E. guttatum* par le dosage phytochimique des différents extraits, suivi par une étude *in vitro* de l'activité antioxydante des trois plantes par quatre méthodes différentes (DPPH, ABTS, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> et xanthine oxydase). Et la dernière section a été consacré à l'identification des composés chimiques des extraits à l'aide de la technique ESI-HRMS.

## **I- Matériel et méthodes :**

### **1. Matériel végétal :**

Les racines fraîches d'*E. guttatum* ont été récoltées en février 2018 dans la région du Nord-Est d'Oujda, Maroc. L'espèce a été identifié par le professeur botaniste Mohammed Fennan, et déposée sous le Numéro RAB 110970 au département botanique et écologique végétal de l'Institut Scientifique de Rabat.

Les racines d'*E. spinosus* ont été récoltées dans la région d'Oujda, au Maroc. La plante collectée a été déposée sous le numéro HUMPOM 10051 à l'herbier de l'Université Mohammed I., Oujda (Maroc).

La partie aérienne d'*E. resinifera* a été récolté dans les régions de Beni-Mellal, Maroc. Le spécimen d'*E. resinifera* a été déposé sous le numéro HUMPOM 10052 à l'herbier de l'Université Mohammed Premier Oujda, (Maroc).

Les racines (*E. guttatum* et d'*E. spinosus*) et la partie aérienne (*E. resinifera*) ont été séchées à l'ombre à température ambiante puis broyée à l'aide d'un broyeur et le broyat de chaque plante a été stocké dans un endroit sec et à l'abri de l'humidité et de la lumière jusqu'à leurs utilisations.

### **2. Préparation des extraits**

#### **2.1 Préparation de l'extrait aqueux**

Pour la préparation de l'extrait aqueux, 30 g du matériel végétal a été mélangé avec 300 mL d'eau distillée est soumise à une infusion pendant 1 heure et laissés refroidir. Par la suite, le mélange a été filtré et le filtrat obtenu a été évaporé sous vide à 50°C à l'aide d'un évaporateur rotatif. L'extrait obtenu a été congelé puis lyophilisé pour éliminer les traces d'eau.

## **2.2 Préparation de l'extrait éthanolique**

Pour la préparation de l'extrait éthanolique, une quantité de 30 g de matière végétale a été macérée avec 300 ml d'éthanol pendant 48 heures sous agitation mécanique. L'extrait a été filtré et évaporé à l'aide d'un évaporateur rotatif à 40°C.

## **3. Calcul de rendement**

Le rendement en pourcentage (%), est défini comme étant le rapport entre la masse d'extrait et celle de la plante sèche en poudre. Il est calculé par la formule suivante :

$$\text{Rdt (\%)} = (P1 - P2 / P3) \times 100$$

P1 : poids de la bouteille après lyophilisation ;

P2 : poids de la bouteille vide ;

P3 : poids de la matière végétale de départ (30g).

## **4. Dosage phytochimique**

### **4.1 Dosage des polyphénols totaux**

#### **- Principe :**

La quantification des polyphénols totaux est réalisée par une méthode à base de Folin Ciocalteu (Lister, E et Wilson 2001). Ce dernier est constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique ( $\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$ ) et d'acide phosphomolybdique ( $\text{H}_3\text{PMO}_{12}\text{O}_{40}$ ) ; lors de l'oxydation des phénols, il est réduit en un mélange d'oxyde bleu de tungstène et de molybdène. La coloration produite est proportionnelle à la quantité de polyphénols présente dans les extraits végétaux (Boizot et al., 2006).

#### **- Mode opératoire :**

Une prise de 0.5 mL de chaque extrait à concentration de 1 mg/mL est mélangée avec 2,5 mL de réactif de Folin-Ciocalteu (10 fois dilué dans l'eau distillé). Le mélange réactionnel est agité vigoureusement, puis 4mL de carbonate de sodium  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  7,5% (m/v) sont ajoutés afin de favoriser un milieu alcalin pour démarrer la réaction d'oxydoréduction. Le mélange est incubé dans un bain-marie à 45°C pendant 30min.

L'intensité de la coloration bleue produite a été mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre à la longueur d'onde 765nm.

Une gamme d'étalon est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant l'acide gallique comme contrôle positif à différentes concentrations finales ; 1.95, 3.9, 7.81, 15.625, 31.25 µg/mL, et les résultats sont exprimés en milligramme d'équivalent d'acide gallique par un gramme d'extrait (mg EAG/ 1g Ex).

#### **4.2 Dosage des flavonoïdes :**

##### **- Principe :**

La quantification de contenu flavonoïque a été estimée par la méthode colorimétrique au trichlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ) et la soude ( $\text{NaOH}$ ). Le trichlorure d'aluminium forme un complexe chromophore jaune avec les flavonoïdes et la soude forme un complexe rose qui absorbe dans le visible à 512nm (Dewanto et al., 2002).

##### **-Mode opératoire :**

1 mL de chaque extrait à concentration de 1mg/mL a été mélangé avec 7.4 mL d'eau distillé. Par la suite 0,3 mL de la solution de Nitrite de sodium  $\text{NaNO}_2$  5% (m/v) a été ajoutée. Après incubation de 5 min à température ambiante, un mélange de 0,3 mL de Trichlorure d'aluminium  $\text{AlCl}_3$  a été ajoutée, suivi par une 2<sup>ème</sup> incubation pendant 6 min. Ensuite, 1mL d'hydroxyde de sodium  $\text{NaOH}$  (1M) a été ajoutée. Puis l'ensemble a été incubé à l'ombre à la température ambiante pendant 30 min. Les absorbances ont été mesurées immédiatement à une longueur d'onde égale à 510 nm. Une gamme d'étalon a été réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant la Rutine comme contrôle positif à différentes concentrations finales (50, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400 µg/mL) et les résultats sont exprimés en milligramme d'équivalent d'acide gallique par un gramme d'extrait (mg ER/ 1g Ex).

#### **5. Activité antioxydante *in vitro* :**

Quatre tests ont été utilisés pour évaluer la capacité antioxydant *in vitro* de chacune de nos extraits, il s'agit du pouvoir piègeur du radical DPPH<sup>+</sup>, pouvoir piègeur du radical cationique ABTS<sup>+</sup>, la réduction du radical peroxyde d'hydrogène  $\text{H}_2\text{O}_2$  et l'inhibition du xanthine oxydase. Cette étape a pour but de déceler l'extrait à forte activité antioxydant.

##### **5.1 Piégeage du radical libre DPPH**

##### **- Principe :**

Le DPPH (2,2-Diphényl-1-picrylhydrazyl) est un radical libre stable de couleur violette intense. En présence des piègeurs de radicaux libres, le DPPH (2,2-Diphényl-1-picrylhydrazyl) de couleur violette se réduit en DPPHH (2,2 Diphényle-1-picryl-hydrazine) de couleur jaune. Le DPPH possède un électron non apparié sur un atome d'azote. Lorsqu'il est mélangé avec une substance qui peut donner un hydrogène, alors cette réaction de lieu à la forme réduite DPPHH avec perte de la couleur violette est apparition d'une couleur jaune pâle. La mesure de l'efficacité d'un antioxydant en mesurant la diminution de la coloration violette par spectrophotométrie à 517nm (Huang et al., 2011).

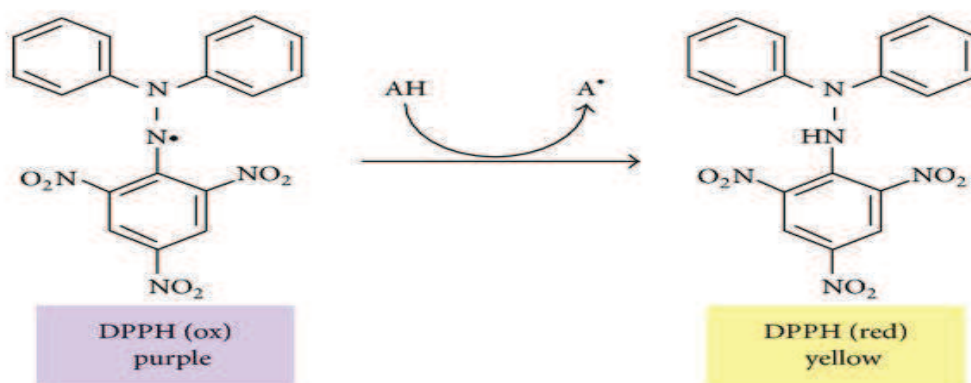


Figure 7: La réduction du radicale libre DPPH

**- Mode opératoire :**

Une solution de DPPH est préparée au moins 2 heures à l'avance car la solubilisation est difficile et elle ne se conserve pas plus de 4-5 jours à -5°C et à l'obscurité. Brièvement, dans des tubes, 2.5 mL de chaque extrait a été testé est mélangé avec 0.5 mL de solution méthanolique de DPPH, avec agitation vigoureuse pendant 10 secondes. Après incubation à l'abri de la lumière et à température ambiante pendant 30 min, la lecture du changement de couleur a été effectuée par la mesure de l'absorbance à la longueur d'onde 517nm. Le Butylhydroxytoluène (BHT) a été utilisé comme antioxydants standards (contrôle positif). Le pourcentage de l'activité anti radicalaire est calculé selon la formule suivante :

$$I \% = [(Abs_{\text{Control négatif}} - Abs_{\text{Echantillon}}) / Abs_{\text{Control négatif}}] \times 100$$

Où :

I % : Pourcentage de l'activité anti-radicalaire ;

Abs Echantillon : Absorbance de l'échantillon ;



Abs Control négatif : Absorbance du control négatif (solution de DPPH seulement) ;

Le contrôle négatif est composé de la solution de DPPH dans le méthanol seul.

L'activité antioxydante de nos extraits est exprimée en  $IC_{50}$ , ce paramètre désigne comme étant la concentration de l'antioxydant qui cause l'inhibition de 50% de l'activité de DPPH. Les valeurs  $IC_{50}$  ont été déterminées à l'aide du logiciel Graph Pad Prism 6.

## 5.2 Test de l'ABTS

### - Principe :

La méthode de radicale ABTS est l'un des tests les plus utilisés pour la détermination de la concentration des radicaux libres. Il est basé sur la neutralisation de radicale cationique  $ABTS^+$  de coloration bleu vert en le transformant en ABTS incolore. Le radical préformé  $ABTS^+$  est généré en présence d'ion persulfate. En présence d'un antioxydant, le passage du radical  $ABTS^+$  à la forme non radicalaire s'accompagne par le piégeage et la disparition de la coloration bleu vert intense qui peut être suivie à une longueur d'onde de 734 nm.

Une comparaison est faite à un antioxydant de référence : le Trolox (acide 6-hydroxy-2, 5, 7, 8, tétraméthylchroman-2carboxylique), dont la structure moléculaire cyclique est similaire à celle de la vitamine E.

### - Mode opératoire :

Le test ABTS est effectué selon la méthode décrite par Tuberoso et al., (2013). Deux solutions ont été préparées : une solution d'ABTS (2mM) et une solution de persulfate de potassium (70mM). Le radical cationique  $ABTS^+$  est généré en mélangeant 10mL de la solution d'ABTS dans  $H_2O$  et 100 $\mu$ L de la solution de persulfate de potassium. Le tout est conservé à l'abri de la lumière et à la température ambiante pendant 16h avant utilisation. La solution obtenue est diluée avec le méthanol pour obtenir une absorbance de 0,70 à 734 nm. 200  $\mu$ L de chaque extrait à une concentration de 1mg/mL ont été mélangés avec 2mL de la solution d'ABTS diluée, et laisser réagir pendant 1 min. tous les échantillons ont été réalisés en triplicat. Après l'absorbance du radical  $ABTS^+$  est mesurée à 734 nm.

Le Trolox est utilisé comme standard et les résultats finaux sont exprimés en milligramme d'équivalent de Trolox par gramme d'extrait en utilisant l'équation de la courbe d'étalonnage de Trolox (0,48 ; 0,95 ; 1,42 ; 1,90 ; 2,85 ; 3,80 ; 4,76 $\mu$ g/mL) avec  $Y = -0,09982x + 0,5394$  ;  $R = -0,9934$ .

### 5.3 Test de piégeage de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

#### - Principe

Le peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) est une petite molécule relativement stable qui diffuse facilement et donc, comme d'autres petites molécules (Ca<sup>2+</sup>, le diacylglycérol ou l'AMPc). Il est généré par deux mécanismes généraux : dismutation enzymatique ou chimique des ions superoxydes et par l'action de certaines oxydases via une réduction à deux électrons de l'oxygène. C'est l'une des méthodes les plus courantes pour évaluer la capacité du piégeage de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> est basée sur l'absorption de cette molécule dans UV (Rojkind *et al.*, 2002).

#### - Mode opératoire

L'activité de piégeage de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a été déterminée par la méthode de Muruhan *et al.*, (2013). Une solution de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (40 mmol/L) a été préparée dans le tampon phosphate (pH 7,4). La concentration de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a été déterminée par spectrophotométrie à partir de l'absorption à 230 nm. Cependant, 1mL de l'extrait ou du standard (acide ascorbique) à différentes concentrations a été ajouté à une solution de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (0,6 mL, 40 mmol/L). Après 10 min d'incubation, l'absorbance de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a été déterminée à 230nm contre le témoin contenant un tampon phosphate sans H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Le pourcentage de piégeage de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> de l'extrait et de l'acide ascorbique a été calculé à l'aide de l'équation suivante :

$$\% = [(A_0 - A_1) / A_0] \times 100,$$

Où A<sub>0</sub> se réfère à l'absorbance du contrôle et A<sub>1</sub> se réfère à l'absorbance en présence de l'échantillon ou du standard.

### 5.4 Xanthine oxydase :

L'inhibition de la xanthine oxydase (xo) a été déterminée par Umamaheswari *et al.*, (2007). Brièvement, 1 mL de l'extrait ou standard (Allopurinol) a été mélangé avec 1,9 mL de tampon phosphate (pH 7,5), 0,1 mL de solution enzymatique (0,2 unité/mL) et 1,0 mL de solution de xanthine 0,5 mM. Le mélange réactionnel a été incubé pendant 15 minutes à 25 ° C. Ensuite, la réaction enzymatique a été arrêtée avec 1 ml de HCl 1M et l'absorbance du mélange réactionnel a été mesurée à 295 nm. Le pourcentage d'inhibition de XO a été calculé comme suit :

$$I (\%) = [((A_c - A_{cb}) - (A_s - A_{sb})) / (A_c - A_{cb})) \times 100],$$

Où  $A_c$  se réfère à l'absorbance de contrôle (enzyme et tampon) ;

$A_{cb}$  se réfère à l'absorbance de blanc témoin (tampon sans enzyme) ;

$A_s$  se réfère à l'absorbance de l'échantillon (enzyme et inhibiteur) ;

$A_{sb}$  est l'absorbance du blanc d'échantillon (inhibiteur sans enzyme).

## 6. Analyse chimique par ESI-HRMS

L'analyse HRMS a été réalisée par spectrométrie de masse (MS) à ionisation (ESI). Les extraits ont été dissous à une concentration finale de 1-2 pmol/ $\mu$ L dans du méthanol. Les composés ont été mesurés en mode négatif et positif par balayage de masse complète ( $m/z$  50 à 1000) à l'aide d'un spectromètre de masse Thermo Scientific Orbitrap Exactive équipé d'une source d'ionisation à électrospray chauffée (HESI-II). Les réglages des paramètres de l'instrument sont les suivants : gaz gaine 10 en mode positif et 20 en mode négatif (unités arbitraires), tension de pulvérisation 3,5 kV en mode positif (3 kV en négatif), température capillaire 275°C. Les spectres de masse ont été collectés à une résolution de 100 000. Le traitement des données a été réalisé à l'aide des logiciels associés Xcalibur 2.2 et Exactive 1.1.

## II-Résultats :

### 1. Rendement d'extraction :

Le rendement d'extraction est le rapport de la quantité des substances naturelles extraites par l'action extractive d'un solvant à la quantité de ces substances contenues dans la matière végétale. Il dépend de plusieurs paramètres tels que : le solvant, la température, le temps d'extraction et la composition de l'échantillon.

Les rendements des extraits aqueux et éthanolique de *E. resinifera*, *E. spinosus* et *E. guttatum* ont donné les résultats suivants :

Tableau 4: Rendements des extraits d'*E. resinifera*, *E. spinosus* et *E. guttatum*.

	<i>Euphorbia resinifera</i>		<i>Echinops spinosus</i>		<i>Erodium guttatum</i>	
	E. aqueux	E. éthanol	E. aqueux	E. éthanol	E. aqueux	E. éthanol
Rendement (%)	10,21	6,87	9,54	8,1	20,58	12,65

Nous avons constaté que les racines de *E. guttatum* ont donné le meilleur rendement en extrait sec. En outre, Cette différence de rendement entre les extraits des plantes peut s'expliquer par la composition chimique qui diffère d'un extrait à l'autre.

## 2. Dosage phytochimique des extraits :

### 2.1 Dosage des polyphénols totaux :

Le dosage des polyphénols est effectué par le réactif de Folin Ciocalteu en se référant à l'acide gallique. L'analyse quantitative des phénols totaux est déterminée à partir de l'équation de régression linéaire de la courbe d'étalonnage ( $y = 0,0104 x + 0,0204$ ) exprimé en mg équivalent d'acide gallique (mg EAG/g E) (Annexe).

Le test révèle que les extraits éthanoliques de *E. guttatum*, *E. spinosus* et *E. resinifera* sont plus riche en polyphénols totaux avec une teneur respectivement de  $348,1 \pm 2,3$  mg EAG/gE ;  $77,01 \pm 2,25$  mg EAG/gE ;  $99 \pm 0,56$  mg EAG/gE que celle des extraits aqueux ( $248,17 \pm 1,81$  mg EAG/gE ;  $34 \pm 0,58$  mg EAG/gE;  $89,3 \pm 0,42$  EAG/gE). Également, nous avons constaté que les extraits de la plante *E. guttatum* présente des teneurs en polyphénols totaux relativement plus élevée que celle donné par les extraits d'*E. resinifera* et *E. spinosus* (Tableau 5).

Tableau 5 : Teneurs en polyphénols totaux des extraits aqueux et éthanoliques d'*E. resinifera*, *E. spinosus* et *E. guttatum*.

	<i>E. resinifera</i>		<i>E. spinosus</i>		<i>E. guttatum</i>	
	Aqueux	Ethanol	Aqueux	Ethanol	Aqueux	Ethanol
Polyphénols totaux (mg EAG/gE)	$89,3 \pm 0,42$	$99 \pm 0,56$	$34 \pm 0,58$	$77,01 \pm 2,25$	$248,17 \pm 1,81$	$348,1 \pm 2,3$

mg GAE/g d'extrait : mg équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait

### 2.2 Dosage des flavonoïdes totaux :

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé par la méthode de trichlorure d'aluminium ( $AlCl_3$ ), la teneur en flavonoïdes est exprimée en milligramme d'équivalent de Rutine par 1gramme de l'extrait (mg ER/ g de l'extrait).

La quantité des flavonoïdes dans nos extraits a été déterminée à partir de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage (Annexe).

Les résultats ont montré que les teneurs en flavonoïdes est plus marquante dans les extraits d'*E. guttatum*. En effet, nous avons remarqué une teneur plus élevée dans l'extrait aqueux d'*E.*

*guttatum* avec une valeur de  $315,5 \pm 4,50$  mg ER/gE, que celle obtenus par les extraits aqueux d'*E. spinosus* et d'*E. resinifera* qui possèdent des teneurs respectivement de  $10,33 \pm 4,2$  mg ER/gE et  $35,24 \pm 0,89$  ER/gE.

Pour les extraits éthanoliques, la concentration la plus élevée en flavonoïdes a été retrouvés dans l'extrait éthanolique d'*E. spinosus* avec  $544,3 \pm 26,33$  ER/gE suivi de l'extrait éthanolique d'*E. guttatum*  $417,5 \pm 1,42$  ER/gE et enfin l'extrait éthanolique *E. resinifera*  $55,22 \pm 0,17$  ER/gE.

Tableau 6: Teneurs en flavonoïdes totaux des extraits aqueux et éthanoliques d'*E. resinifera*, *E. spinosus* et *E. guttatum*.

	<i>E. resinifera</i>		<i>E. spinosus</i>		<i>E. guttatum</i>	
	Aqueux	Ethanol	Aqueux	Ethanol	Aqueux	Ethanol
Flavonoïdes (mg ER/gE)	$35,24 \pm 0,89$	$55,22 \pm 0,17$	$10,33 \pm 4,2$	$544,3 \pm 26,33$	$315,5 \pm 4,5$	$417,5 \pm 1,42$

mg ER/g extrait : mg d'équivalent Rutine par gramme d'extrait

### 3. Activité antioxydante *in vitro* :

Les résultats du pouvoir antioxydant des extraits aqueux et éthanolique d'*E. resinifera*, *E. spinosus* et d'*E. guttatum* par les méthodes, DPPH, ABTS, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> et Xanthine oxydase sont résumés dans le Tableau 7.

Le radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle est un radical libre, par un antioxydant peut être suivie par spectrométrie UV- visible, en mesurant la diminution de l'absorbance à 517 nm provoquées par la présence de l'extrait. Le DPPH est initialement violet, se décolore lorsqu'on lui associe avec un proton. Cette décoloration est représentative de la capacité des composés à piéger ces radicaux libres indépendamment de toutes activités enzymatiques. Les résultats obtenus montrent que chaque extrait testé possède un pouvoir anti-radicalaire intéressant. En effet, en comparant les valeurs de l'IC<sub>50</sub>, on observe que les extraits éthanoliques des trois plantes ont une activité significativement plus élevée que les extraits aqueux. En outre, les extraits d'*E. guttatum* ont une activité antiradicalaire plus puissant que les extraits d'*E. spinosus* et *E. resinifera*.

Également, les extraits ont été évalués sur le radical cationique ABTS. Les résultats ont montré que *E. guttatum* a une activité antioxydante meilleure que celle de *E. spinosus* et *E. resinifera*. En effet, l'extrait aqueux et éthanolique d'*E. guttatum* présentait une activité avec des valeurs inhibitrices de  $218,52 \pm 1,34$  mg ET/g extrait ;  $189,13 \pm 1,41$  mg ET/g extrait, respectivement. Pour l'extrait aqueux et éthanolique d'*E. spinosus* est de  $38,13 \pm 1,76$  mg ET/g extrait ;  $75,11 \pm$

0,34 mg ET/g extrait, respectivement. Tandis que *E. resinifera* a montré une activité avec des valeurs de  $86,6 \pm 1,23$  ET/g extrait pour l'extrait aqueux et  $111,4 \pm 2,64$  mg ET/g extrait, pour l'extrait éthanolique.

Les effets de piégeage des extraits d'*E. guttatum*, *E. spinosus*, *E. resinifera* et de l'acide ascorbique sur les radicaux  $H_2O_2$  exprimés par  $IC_{50}$  sont illustrés dans le Tableau 7. Cependant, les résultats obtenus ont montré que l'extrait aqueux d'*E. guttatum* a présenté le meilleur effet antioxydant, en comparant les valeurs d' $IC_{50}$ , l'extrait aqueux ( $IC_{50} : 4,65 \pm 0,7 \mu\text{g/mL}$ ) a présenté une activité qui est significativement ( $P < 0,05$ ) supérieure à celle de l'acide ascorbique ( $IC_{50} : 5,98 \pm 0,47 \mu\text{g/mL}$ ). En outre, si nous classons nos extraits selon la puissance de piégeage du peroxyde d'hydrogène  $H_2O_2$  par rapport à l'acide ascorbique, nous obtiendrons l'ordre suivant : Extrait éthanol d'*E. guttatum* ; Extrait aqueux d'*E. guttatum* ; Extrait éthanol d'*E. spinosus* ; Extrait aqueux d'*E. spinosus* ; Extrait éthanol d'*E. resinifera* ; Extrait aqueux d'*E. resinifera*.

La propriété inhibitrice de la xanthine oxydase des extraits de *E. resinifera*, *E. spinosus* et de *E. guttatum* est présentée dans le Tableau 7. Les résultats ont révélé que les extraits testés inhibaient l'activité de la xanthine oxydase. En outre, les extraits éthanoliques d'*E. resinifera* et de *E. spinosus* ont présenté une activité inhibitrice supérieur aux extraits aqueux. De même, les valeurs d' $IC_{50}$  nous ont montré que l'extrait aqueux et éthanolique d'*E. guttatum* ont un effet presque similaire puisque aucune différence significative n'a été observée entre les deux extraits.

Tableau 7 : Activité antioxydante par les méthodes DPPH, ABTS,  $H_2O_2$  et xanthine oxydase (XO) des extraits d'*E. resinifera*, *E. spinosus* et *E. guttatum*.

		DPPH <sup>(1)</sup>	ABTS <sup>(2)</sup>	$H_2O_2$ <sup>(1)</sup>	Xanthine oxydase <sup>(1)</sup>
<i>E. resinifera</i>	Aqueux	$149 \pm 1,55$	$86,6 \pm 1,23$	$224,6 \pm 0,7$	$69,83 \pm 1$
	Ethanol	$53,81 \pm 1,83$	$111,4 \pm 2,64$	$98,15 \pm 0,68$	$10,26 \pm 0,6$
<i>E. spinosus</i>	Aqueux	$25 \pm 10,69$	$38,13 \pm 1,76$	$36,04 \pm 1,65$	$20,14 \pm 1,28$
	Ethanol	$13 \pm 0,25$	$75,11 \pm 0,34$	$28,2 \pm 2,87$	$16,83 \pm 0,72$
<i>E. guttatum</i>	Aqueux	$7 \pm 3,78$	$218,52 \pm 1,34$	$4,65 \pm 0,7$	$7,83 \pm 1,21$
	Ethanol	$4 \pm 1,24$	$189,13 \pm 1,41$	$5,21 \pm 0,68$	$7,80 \pm 1,5$
BHT		$3,28 \pm 0,79$	-	-	-
Acide ascorbique		-	-	$5,98 \pm 0,47$	-
Allopurinol		-	-	-	$0,78 \pm 0,01$

<sup>(1)</sup>  $IC_{50}$  :  $\mu\text{g/mL}$

<sup>(2)</sup> mg TE/g extrait : mg équivalent Trolox par gramme d'extrait

#### 4. Analyse chimique par ESI-HRMS :

Les composés identifiés par l'analyse ESI-HRMS sont résumés dans le tableau ci-dessous. La sélectivité des HRMS ainsi que les formules moléculaires, les valeurs d'insaturation RDB (Rings and Double Bond Equivalents) et la précision de la masse. L'analyse directe par ionisation par électrospray (ESI) en mode négatif et positif en balayage de masse complète (m/z 50 à 1000 amu) a identifié 7 composés résumés comme suit : Acide Shikimique, Rottlerine, Rugulosine, Procyanidine C1 à m/z respectivement de (174 ; 516 ; 542 et 866) sont identifiés dans EGA. Alors que l'Acide Vanillique à m/z ; 168 est détectée dans EGE. Tandis que l'Acide gallique à m/z; 170 et Catéchine (m/z; 290) est identifié dans EGA et EGE.

Tableau 8 : Analyse par ESI-HRMS de l'extrait aqueux et éthanolique d'*E. guttatum*.

m/z	Nom	Formule	RDB equiv
170	Acide gallique	C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> O <sub>5</sub>	5.5
290	Catéchine	C <sub>15</sub> H <sub>14</sub> O <sub>6</sub>	9.5
516	Rottlerine	C <sub>30</sub> H <sub>28</sub> O <sub>8</sub>	17.5
866	Procyanidine C1	C <sub>45</sub> H <sub>38</sub> O <sub>18</sub>	27.5
174	Acide shikimique	C <sub>7</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub>	3.5
542	Rugulosine	C <sub>30</sub> H <sub>22</sub> O <sub>10</sub>	19.5
168	Acide vanillique	C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> O <sub>4</sub>	5.5

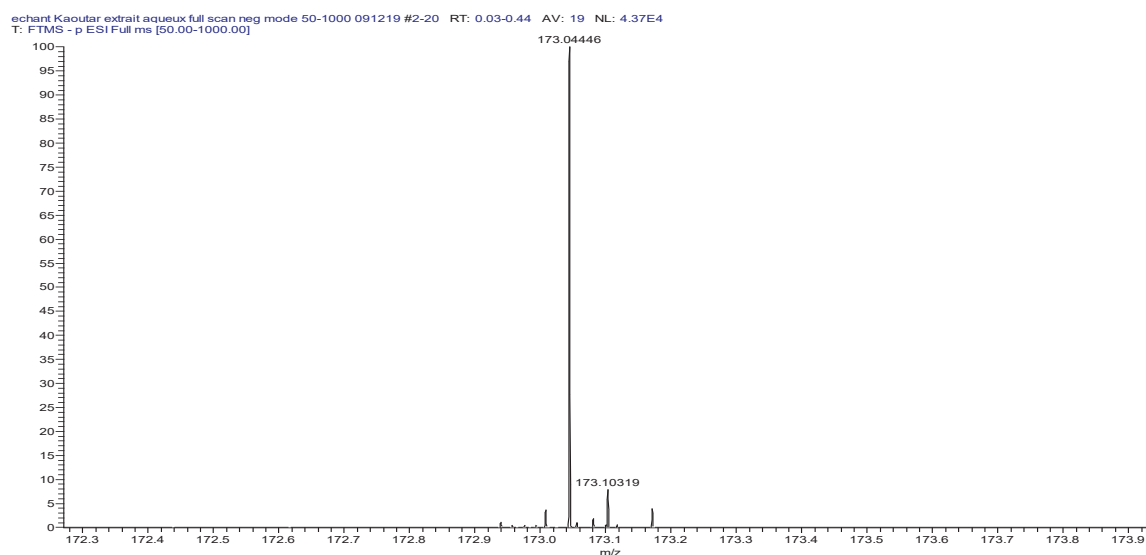


Figure 8: Spectre de masse obtenu en mode négatif pour l'acide shikimique.

### III. Discussion :

Dans ce chapitre l'analyse phytochimique révèle la richesse des trois plantes testées (*E. resinifera*, *E. spinosus* et *E. guttatum*) en polyphénols et flavonoïdes. On compare les extraits aqueux et éthanolique des plantes, on constate que les extraits d'*E. guttatum* est les plus riche en polyphénols, en particulier l'extrait éthanolique qui contient la teneur la plus élevé en polyphénols totaux  $348,1 \pm 2,3$  mg de EAG/g d'extrait. Cette différence due certainement à la polarité de chaque solvant pour entraîner les composés phénoliques. Pour le dosage des flavonoïdes, nous avons trouvés que l'extrait éthanolique de *E. spinosus* possèdent la teneur la plus élevé  $544,3 \pm 26,33$  mg ER/g suivi de l'extrait éthanolique de *E. guttatum* qui présente une teneur de  $417,5 \pm 1,42$  mg ER/g. Alors que pour les extraits aqueux, nous avons remarqué que *E. guttatum* est la plus riche en flavonoïdes. En comparaison avec des travaux similaires, les composés phénoliques totaux et les flavonoïdes d'*E. guttatum* dans cette étude étaient plus élevés que ceux obtenus de la même espèce d'autres régions avec un TPC de  $142,03 \pm 0,81$  mg EAG/g et un TFC de  $68,25 \pm 0,42$  mg QE/g dans l'étude de Naceiri Mrabti *et al.*, (2021), une TPC de  $124 \pm 76$  mg EAG/g et un TFC de  $52 \pm 2,3$  mg QE/g d'extrait dans l'étude de Hamza *et al.*, (2018). Ces résultats obtenus peuvent être influencés par plusieurs facteurs tels que le type d'extraction, le solvant utilisé, le temps d'extraction, la température d'extraction, l'environnement, et la période de récolte (Peter *et al.*, 2021).

Les différents extraits des trois plantes ont été étudiés pour leur capacité antioxydante à l'aide de quatre tests complémentaires : DPPH, ABTS, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> et xanthine oxydase. Les résultats du test DPPH ont montré une activité dose-dépendante qui peut être évaluée par la détermination des valeurs IC<sub>50</sub>. De faibles valeurs d'IC<sub>50</sub> indiquent une activité antioxydante importante. Les différents extraits des plantes ont montré une activité antioxydante considérable, en particulier l'extrait éthanol et aqueux d'*E. guttatum* avec (IC<sub>50</sub> =  $4 \pm 1,24$  µg/mL;  $7 \pm 3,78$  µg/mL), respectivement. L'activité antioxydante de ces extraits est restée inférieure à celles du BHT (IC<sub>50</sub>=  $3,28 \pm 0,79$  µg/mL) utilisés comme témoins positifs. Ces mêmes extraits d'*E. guttatum* ont développé une activité antioxydante importante dans le test ABTS, avec une corrélation avec l'activité antioxydante montrée dans le test DPPH. L'extrait aqueux d'*E. guttatum* a montré la capacité antioxydante la plus élevée ( $218,52 \pm 1,34$  mg TE/g d'extrait) par rapport à l'extrait éthanol ( $189,13 \pm 1,41$  mg TE/g d'extrait). De plus, dans le test de piégeage de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, le pouvoir inhibiteur le plus élevé a également été observé dans les extraits d'*E. guttatum*. Également, les résultats de l'activité inhibitrice de la xanthine oxydase ont montré que les deux extraits d'*E. guttatum* présentent les plus grandes activités potentielles d'inhibition contre la xanthine



oxydase. Dans ces tests, *E. guttatum* a révélé des effets antioxydants intéressants avec des différences mineures entre les deux extraits testés et les différentes méthodes utilisées pour étudier l'activité antioxydante. Les extraits d'*E. guttatum* ont montré l'activité antioxydante la plus élevée par rapport aux études rapportées de Hamza sur la même espèce (Hamza *et al.*, 2018). L'activité antioxydante des extraits pourrait s'expliquer par la présence de charges importantes de composés phénoliques comme les polyphénols et les flavonoïdes. Le mode d'action des antioxydants vis-à-vis des radicaux est notamment lié au groupement hydroxyle responsable de cette action. On peut voir que cette activité anti-radicalaire de l'extrait éthanolique d'*E. guttatum* est due à leur richesse en substance à groupement hydroxyle (Mensor *et al.*, 2001). De plus, les composés bioactifs présents dans les plantes sont des donneurs d'électrons, ils contribuent à accélérer la conversion de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en H<sub>2</sub>O. De plus, cette variation mineure entre les différentes méthodes antioxydantes peut être due au mode d'action intrinsèque des réactions antioxydantes, ou à certains facteurs à savoir la stéréosélectivité des radicaux et la solubilité des composants antioxydants (Yahyaoui *et al.*, 2018). En effet, de nombreuses études ont rapporté précédemment que les composés phénoliques possèdent des propriétés antioxydantes remarquables dans les systèmes *in vitro* et *in vivo* (Granato *et al.*, 2018; Pang *et al.*, 2018; Cooper, Doucet and Pratt, 2007), et la corrélation entre les substances phénoliques et les antioxydants effets a été établi dans plusieurs études antérieures (Cai *et al.*, 2004; Djeridane *et al.*, 2006). Par conséquent, ces résultats obtenus nous ont poussé à l'étude de la composition phytochimique de *E. guttatum* par l'analyse ESI-HRMS.

L'analyse chimique par ESI-HRMS nous a permis d'identifier certains composés bioactifs comme l'acide shikimique, la rottlerine, la rugulosine, la procyanidine C1 et l'acide vanillique. En outre, plusieurs études scientifiques démontrent le pouvoir antioxydant et anti-diabétique des ressources naturelles (P *et al.*, 2011). Par exemple, l'acide shikimique est un métabolite intermédiaire synthétisé à partir du tryptophane qui induit des effets anabolisants spécifiques sur les os, diminue le stress oxydatif et exerce sa capacité à réduire l'expression des gènes antioxydants dans la rétine diabétique des rats. En outre, réduit la formation de produits finaux de glycation avancée dérivés du glucose (Al-Malki, 2019). L'acide gallique a des effets antihyperglycémiques, antilipides peroxydatifs et antioxydants ; il régule la fonction mitochondriale via l'activation du récepteur alpha activé par les proliférateurs de peroxysomes coactivator1 alpha (PGC1 alpha) et augmente la translocation de GLUT4 et l'activité d'absorption du glucose de manière indépendante. Ainsi, l'acide gallique prévient les dommages causés par le stress oxydatif dans l'état diabétique (Manish Pal, Avneet and Siddhraj, 2018). La

catéchine maintient un faible taux d'hémoglobine A (1c) chez les diabétiques de type 2, améliore le taux de glucokinase, de glucose-6 phosphatase, de glycogène synthase et de glycogène phosphorylase, diminue le taux de cholestérol et de triglycérides et induit la restauration de la structure de l'artère paroi et flux sanguin cérébral (Ganeshpurkar and Saluja, 2020). Et de nombreuses études ont également rapporté l'effet anti-diabétique de l'acide vanillique (Sharma *et al.*, 2020; Ingole *et al.*, 2021).

---

**Etude de l'activité antihyperglycémique et  
antihyperlipidique des extraits des plantes *E. resinifera*, *E.  
spinosus* et *E. guttatum***

---

La deuxième partie de ce travail est consacré à l'étude de l'activité antihyperglycémique et antihyperlipidique postprandiale des extraits des plantes en évaluant *in vitro* leurs effets sur les enzymes clés des glucides ( $\alpha$ -amylase et  $\alpha$ -glucosidase) et l'enzyme digestive des lipides (lipase), et *in vivo* par le test de tolérance orale à l'amidon (OSTT), puis l'absorption intestinale du glucose *in situ* aux extraits présentant le pouvoir antihyperglycémique postprandiale le plus important *in vitro et in vivo*.

## I- Matériel et méthodes :

### 1. Activité antihyperglycémique *in vitro* :

#### 1.1 Test d'inhibition de $\alpha$ -amylase :

L'activité inhibitrice de  $\alpha$ -amylase des différentes concentrations des extraits a été déterminée. L'inhibition de l' $\alpha$ -amylase a été évaluée par la méthode amidon-iodé décrite par Chakrabarti et al., (2014) avec certaines modifications. Brièvement, 250  $\mu$ L de l'échantillon ou de l'acarbose et mélangés avec 100  $\mu$ L de la solution de tampon phosphate (20 mM, pH 6,9) contenant l'enzyme  $\alpha$ -amylase. Le mélange a été incubé à 37 °C pendant 10 min, puis 600  $\mu$ L de substrat d'amidon (1 %) a été ajouté et le mélange réactionnel a été réincubé à 37 °C pendant 10 min. A la fin de la réaction, 250  $\mu$ L de la solution HCl et 100  $\mu$ L d'iode ont été ajoutés. L'absorbance a été déterminée par spectrophotomètre à 630 nm. Les résultats ont été calculés en pourcentage selon la formule suivante :

$$\text{Inhibition (\%)}: (1 - (A_{\text{échantillon}}/A_{\text{contrôle}})) \times 100,$$

#### 1.2 Test inhibition de $\alpha$ -glucosidase:

Le pouvoir inhibitrice d' $\alpha$ -glucosidase des différentes concentrations des extraits a été déterminée en utilisant le substrat  $p$ -nitrophényl- $\alpha$ -D-glucopyranoside ( $p$ NPG), qui est hydrolysé par  $\alpha$ -glucosidase pour libérer  $p$ -nitrophényl (un agent coloré qui peut être surveillé à 405 nm). L'inhibition de l' $\alpha$ -glucosidase a été évaluée par la méthode décrite par Kee et al., (2013) avec une certaine modification. Brièvement, un mélange de 150  $\mu$ L de l'échantillon ou de l'acarbose et 100  $\mu$ L de tampon de phosphate de sodium 0,1 M (pH = 6,7) contenant la solution d'enzyme  $\alpha$ -glucosidase (0,1 U / mL) a été incubé à 37 °C pendant 10 min. Après la pré-incubation, on a ajouté 200  $\mu$ L de solution de  $p$ NPG 1 mM dans du tampon phosphate de sodium 0,1 M. Les mélanges réactionnels ont été incubés à 37 °C pendant 30 min. Après incubation, on a ajouté 1 mL  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (0,1M) et on a mesuré par spectrophotomètre à l'absorbance à 405 nm. Le pourcentage d'inhibition a été calculé selon la formule suivante :

$$I (\%) = [((A_c - A_{cb}) - (A_s - A_{sb})) / (A_c - A_{cb})] \times 100,$$

Où  $A_c$  se réfère à l'absorbance de contrôle (enzyme et tampon) ;

$A_{cb}$  se réfère à l'absorbance de blanc témoin (tampon sans enzyme) ;

$A_s$  se réfère à l'absorbance de l'échantillon (enzyme et inhibiteur) ;

$A_{sb}$  est l'absorbance du blanc d'échantillon (inhibiteur sans enzyme).

En outre, les valeurs  $IC_{50}$  (Concentration d'inhibiteur nécessaire pour inhiber 50% de l'enzyme Activité) ont été déterminées à l'aide du logiciel GraphPad Prism 6.

## 2. Activité antihyperlipidique :

### 2.1 Test de lipase:

Le test d'inhibition de la lipase a été évalué par la méthode Hu *et al.*, (2015) avec quelques modifications. L'orlistat a été utilisé comme composé de référence. Brièvement, 150 $\mu$ L de l'échantillon ou de l'orlistat ont été mélangés avec 500 $\mu$ L de l'enzyme lipase (2U) dissoute dans du tampon Tris-HCl (1mM, pH8), le mélange réactionnel a été incubé pendant 30 minutes à 37°C, puis 450  $\mu$ L de substrat de butyrate-4-nitrophényle (1 mM) a été ajouté puis réincubé pendant 30 minutes à 37°C. L'absorbance a été mesurée à 405 nm. Le pourcentage d'inhibition de la lipase a été calculé par la formule suivante :

$$\text{Inhibition (\%)}: (1 - (A_{\text{échantillon}} / A_{\text{contrôle}})) \times 100,$$

## 3. Activité antihyperglycémique *in-vivo* et *in situ* :

### 3.1 Protocole expérimentale :

Des rats Wistar mâles et femelles pesant 150-250 g ont été utilisés dans les expériences. Les animaux étaient gardés dans des cages à la faculté de médecine et de pharmacie de Rabat. Ils ont été gardés dans des conditions standard et nourris avec un régime alimentaire standard et de l'eau.

### 3.2 Test de tolérance orale à l'amidon (OSTT) :

Dans cette étude expérimentale, l'effet antidiabétique des différents extraits des plantes ont été évalués selon le protocole décrit par Beejmohun *et al.*, (2014). Les rats ont été divisés en huit groupes composés chacun de cinq rats ( $n=6$ ). Les animaux ont été mis à jeun pendant 18 h avec

accès libre à l'eau. Le groupe contrôle a reçu le véhicule (l'eau distillée) ; le groupe contrôle positif a reçu de l'acarbose à 50mg/kg et six autres groupes ont été traités avec l'extrait aqueux et éthanolique d'*E. resinifera*, *E. spinosus* et *E.guttatum* à 150mg/kg par gavage (p.o). Trente minutes plus tard, tous les animaux ont été chargés d'amidon par voie orale à une dose de 2,5 mg/kg. Le sang a été prélevé de la veine caudale avant (t = 0) et à 30, 60, 90 et 120 min après l'administration d'amidon.

### **3.3 Test de perfusion intestinale *in situ* :**

L'étude de l'absorption intestinale *in situ* est réalisée selon le protocole décrit par F.Ponz et al.,(2002) Afin d'évaluer l'effet des extraits d'*E guttatum* (aqueux et éthanolique) sur l'absorption du glucose au niveau du segment jéjunal chez des rats normaux, à jeun depuis 36 h et anesthésiés par injection intramusculaire avec du pentobarbital sodique (50 mg/kg). Les trois extraits à la dose de 200 mg/kg ont été ajoutés à la solution physiologique de (g/L : 7,37 NaCl, 0,2 KCl, 0,065 NaOH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>.2H<sub>2</sub>O, 0,213 MgCl<sub>2</sub>, 6H<sub>2</sub>O, 0,6 NaHCO<sub>3</sub> et 1,02 CaCl<sub>2</sub> et 1 g de glucose, à pH 7,5. Le segment jéjunal (10 cm) a été perfusé avec une pompe péristaltique à 0,53 ml/min pendant 1 heure.

Quatre groupes de rats Wistar pesant (150-250 g) ont été utilisés : un groupe témoin positif perfusé avec la solution de perfusion ; un groupe témoin négatif a reçu la solution contenant l'inhibiteur standard de D-glucose (Phlorozine 0,1 mM) et les deux autres groupes ont reçu la solution des deux extraits. Le perfusat a été recueilli et la concentration en glucose a été mesurée à l'aide d'un kit commercial (glucose oxydase peroxydase, SGM Italia) et la longueur du segment perfusé a été mesurée et la quantité de glucose absorbée a été exprimée en (mg/10 cm/h).

### **Analyse statistique**

Les données ont été présentées sous forme de moyenne  $\pm$  erreur standard. La signification statistique a été analysée par l'analyse de variance (ANOVA), et la comparaison multiple par le test de Tukey. La signification a été établie à  $p \leq 0.05$ . L'analyse a été réalisée avec le logiciel Graph Pad Prism 6.

## **II. Résultats :**

### **1. Activité antihyperglycémique et antihyperlipidique *in vitro***

#### **1.1 Activité inhibitrice de $\alpha$ -amylase et de $\alpha$ -glucosidase et lipase *in vitro***

Les extraits d'*E. resinifera*, *E. spinosus* et *E. guttatum* ont été testés pour leur effet inhibiteur sur l' $\alpha$ -amylase,  $\alpha$ -glucosidase et lipase *in vitro*.

Les six extraits ont été examinés à différentes concentrations sur les trois enzymes et ils ont été comparés à la molécule de référence acarbose. Les résultats ont révélé que les extraits des trois plantes testées inhibaient l'activité de l' $\alpha$ -amylase. En outre, tous les extraits ont montré une activité, moins que celle du composé de référence acarbose ( $44,75 \pm 0,54 \mu\text{g/mL}$ ). De même, l'activité inhibitrice des extraits de *E. resinifera* été plus puissante que celle des extraits d'*E. spinosus* et *E. guttatum*.

Ainsi, les extraits des plantes et l'acarbose ont montré une activité inhibitrice significative ( $P < 0,05$ ) sur l'enzyme  $\alpha$ -glucosidase. Les extraits aqueux et éthanolique de *E. guttatum* ont montré une meilleure activité que celle des extraits d'*E. spinosus* et *E. resinifera*, avec une  $IC_{50}$  de  $4,88 \pm 1,42 \mu\text{g/mL}$  et  $8,62 \pm 0,90 \mu\text{g/mL}$ , respectivement, et significativement plus puissant que la molécule d'acarbose ( $P < 0,05$ ) avec une  $IC_{50}$  de  $18,01 \pm 2,00 \mu\text{g/mL}$ .

Sur la même voie, les extraits des trois plantes ont présenté un effet inhibiteur sur l'enzyme lipase, mais pourtant moins que le composé de référence l'orlistat ( $IC_{50} = 12,55 \pm 4,17 \mu\text{g/mL}$ ). Les extraits éthanoliques des trois plantes testées ont montré un effet inhibiteur plus puissant que celle des extraits aqueux.

Tableau 9: Valeurs  $IC_{50}$  des extraits de *E. resinifera*, *E. spinosus* et *E. guttatum* sur l'inhibition de l' $\alpha$ -amylase,  $\alpha$ -glucosidase et lipase.

		$IC_{50}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )		
		$\alpha$ -amylase	$\alpha$ - glucosidase	Lipase
<i>E. resinifera</i>	Aqueux	$119,7 \pm 2,15^g$	$121,4 \pm 1,88^e$	$25,3 \pm 1,53^e$
	Ethanol	$102 \pm 3,63^f$	$56,6 \pm 1,12^d$	$13,7 \pm 3,03^a$
<i>E. spinosus</i>	Aqueux	$668,8 \pm 1,45^e$	$19,68 \pm 0,46^a$	$24,96 \pm 1,52^d$
	Ethanol	$371 \pm 0,62^d$	$18,6 \pm 1,2^a$	$10,44 \pm 1,08^a$
<i>E. guttatum</i>	Aqueux	$781,30 \pm 0,54^c$	$4,88 \pm 1,42^c$	$84,7 \pm 1,45^c$
	Ethanol	$479,20 \pm 0,81^b$	$8,62 \pm 0,90^b$	$31,6 \pm 3,18^b$
Acarbose		$44,75 \pm 0,54^a$	$18,01 \pm 2,00^a$	-
Orlistat		-	-	$12,55 \pm 4,17^a$

Les valeurs sont des moyennes  $\pm$  erreur standard ( $n = 3$ ). Les valeurs dans la même colonne et catégorie ne partageant pas une lettre commune diffèrent significativement à  $p < 0,05$ .

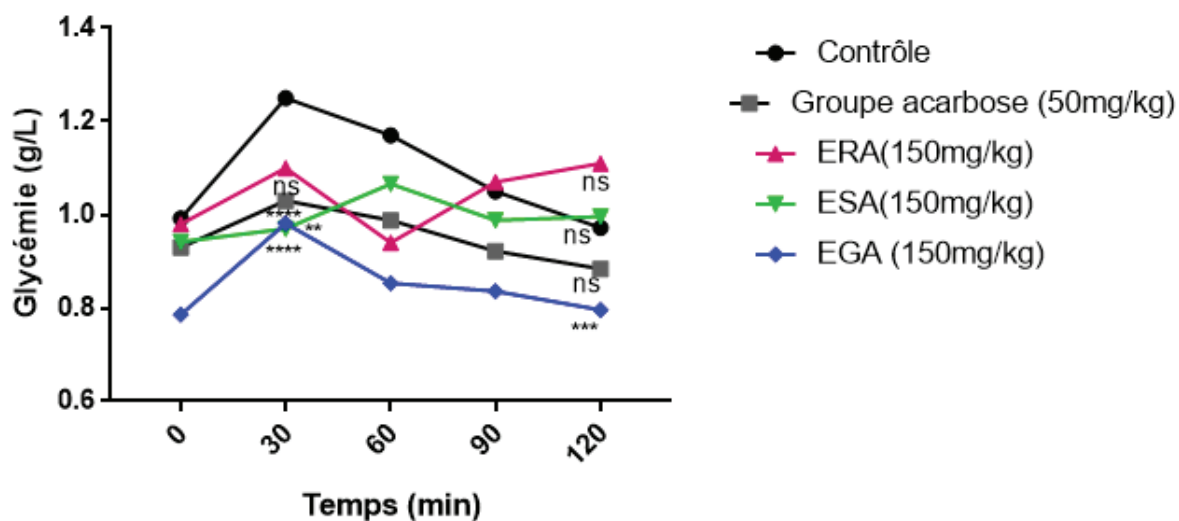
## 2. Activité antihyperglycémique *in vivo* et *in situ* :

### 2.1 Test de tolérance a l'amidon (OSTT) :

L'administration orale des extraits aqueux et éthanoliques des trois plantes (*E. resinifera*, *E. spinosus* et *E. guttatum*) à la dose  $150\text{mg/kg}$  améliorent la tolérance à l'amidon chez les rats normaux.

Le test de tolérance à l'amidon (OSTT) a révélé que la glycémie atteignait son niveau maximal 30 min après la charge en amidon dans tous les groupes avant et après les traitements (Figure 8). L'acarbose (50 mg/kg) a inhibé l'hyperglycémie postprandiale pendant 2 heures après la surcharge en amidon à 60 min (0,98 g/L), 90 min (0,92 g/L) et 120 min (0,88 g/L) par rapport au contrôle négatif. De même, l'administration orale des ERA, ESA et EGA (150 mg/kg) après la surcharge en amidon ont significativement réduit l'hyperglycémie à 60 min à des valeurs respectivement de 0,94 g/L; 1,06g/L et 0,85g/L. Également, ERE, ESE et EGE ont diminué l'hyperglycémie postprandiale après 60 min par rapport au contrôle négatif. Alors qu'à 120 min de la surcharge en amidon, une augmentation de la glycémie moyenne est observée chez les groupes traités par ERA, ESA et ERE.

La comparaison de l'effet antihyperglycémique postprandiale des trois plantes montre que les extraits de *E. guttatum* améliore significativement la tolérance au glucose par rapport aux extraits de *E. resinifera* et *E. spinosus*, rendant ainsi la différence significative ( $p < 0.001$ ) par rapport au contrôle négatif.





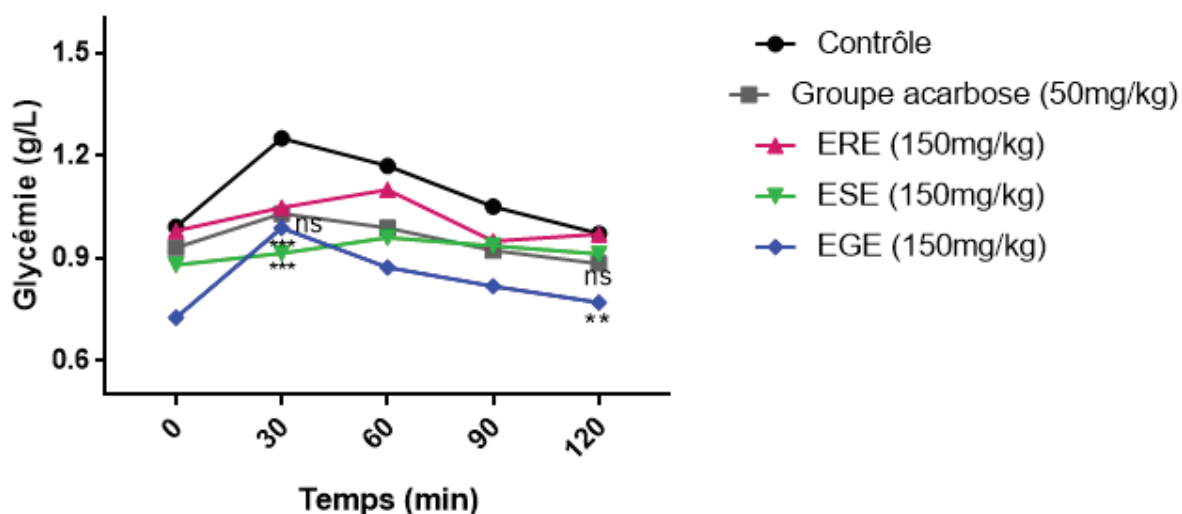


Figure 9: L'effet des extraits d'*E. resinifera*, *E. soinosus* et *E. guttatum* sur les taux plasmatiques de glucose après surcharge d'amidon chez des rats normaux. Les valeurs sont des moyennes  $\pm$  SD (n = 6). \*\*p < 0.01 ; \*\*\*p < 0,001 ; \*\*\*\*p < 0.0001.

## 2.2 Test absorption intestinal *in situ*:

L'absorption intestinale du glucose est évaluée par la perfusion *in situ* du jéjunum de rats normaux par une solution physiologique glucosée. Les valeurs obtenues sont exprimées en mg de glucose absorbé par 10 cm d'intestin perfusée par 1 heure de perfusion.

Le groupe des témoins a un taux d'absorption du glucose de 19,4 mg/10 cm/h. L'ajout de EGA (200mg/kg) à la solution physiologique glucosée, induisent une inhibition significative ( $p < 0,01$ ) de la quantité moyenne de glucose absorbé au niveau jéjunal (12,08 mg/10 cm/h). D'autre, l'ajout de EGE à raison de 200mg/kg du poids corporelle de l'animal perfusé, provoque une diminution significative ( $p < 0,001$ ) du glucose absorbé au niveau jéjunal (10,12mg/10cm/h) par rapport au groupe des témoins (Figure 9).

La phlorzine (0.1 mM) induit une inhibition significative ( $p < 0,001$ ) de la quantité moyenne de glucose absorbé au niveau jéjunal (8,6 mg/10 cm/h.) par rapport à la valeur moyenne observé chez le groupe des témoins.

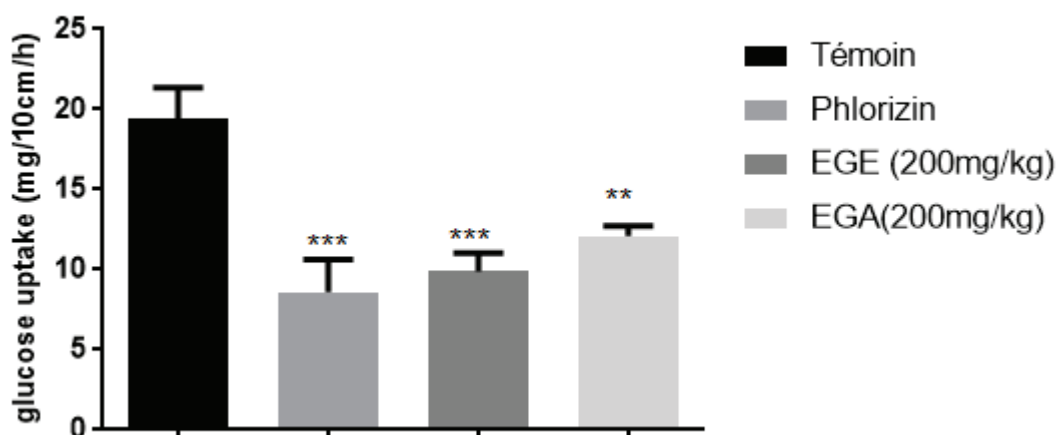


Figure 10: : Effet des extraits d'*E. guttatum* sur l'absorption intestinale du glucose par perfusion du segment jéjunal des rats avec la solution de perfusion contenant du glucose (1g/L) et les extraits à la dose (200 mg/kg). Les données sont des moyennes  $\pm$  erreur standard.

### III. Discussion :

L'hyperglycémie est une condition d'élévation anormale du taux de glucose dans le sang et une étiologie du diabète de type 2 (DT2) ; une maladie causée par la résistance à l'insuline. L'acarbose et l'orlistat sont des médicaments thérapeutiques utilisés pour réduire l'hyperglycémie l'hyperlipidémie chez les patients atteints de DT2, mais plusieurs effets indésirables sont observés lors d'une utilisation à long terme (Oboh *et al.*, 2016). L' $\alpha$ -amylase pancréatique et l' $\alpha$ -glucosidase intestinal sont les principales enzymes digestives impliquées dans le catabolisme des polysaccharides en molécule de glucose facilement absorbable (Yuan *et al.*, 2018). D'autre, la lipase pancréatique est un enzyme spécifique des lipides, il décompose les triglycérides en acides gras libres et en glycérol.

La capacité des extraits d'*E. resinifera*, *E. spinosus* et *E. guttatum* à inhiber l' $\alpha$ -amylase, l' $\alpha$ -glucosidase et la lipase été testés. En effet, les trois enzymes ont été significativement inhibés par les trois plantes ; *E. resinifera* a montré le meilleur effet inhibiteur sur l' $\alpha$ -amylase, alors que *E. guttatum* a présenté l'activité inhibitrice la plus intéressante de l' $\alpha$ -glucosidase. Et pour la lipase, *E. spinosus* a montré l'effet inhibiteur la plus importante par rapport à *E. guttatum* et *E. resinifera*. Les différents composés phénoliques ont été identifiés pour leur capacité à inhiber l'enzyme  $\alpha$ -amylase et  $\alpha$ -glucosidase grâce à leur action de liaison aux protéines (Shobana, Sreerama and Malleshi, 2009). D'autre part, les ressources naturelles peuvent également inhiber la lipase pancréatique responsable de la dégradation des triglycérides en bloquant physiquement

l'interaction entre le triacylglycérol (en phase huileuse) et l'enzyme (en phase aqueuse) à l'interface eau-huile empêchant la lipase d'accéder au substrat. La liaison du substrat et de l'inhibiteur, empêchant le substrat de pénétrer dans le site actif de la lipase, peut être possible (Chater *et al.*, 2016). Ces résultats nous ont orienté d'évaluer l'activité anti hyperglycémique postprandiale des trois plantes à l'aide du test de tolérance orale à l'amidon chez des rats normales. En fait, nous avons trouvé que les extraits de *E. guttatum* réduisent significativement l'hyperglycémie postprandiale par rapport aux extraits d'*E. spinosus* et *E. resinifera*. Cet effet peut être lié à l'inhibition des enzymes digestives du fait que l'effet des extraits de *E. guttatum* est statistiquement comparable avec celui de l'acarbose. D'autre part, l'effet anti hyperglycémiant postprandial de *E. guttatum* apparaît plus efficace, *in vivo*, que, *in vitro*. Pour compléter cette étude du mécanisme d'action, l'effet des extraits de *E. guttatum* sur l'absorption intestinale du glucose, *in situ*, chez le rat normal a été testés. Les résultats de cette étude montrent que *E. guttatum* inhibe significativement l'absorption intestinale du glucose, en particulier l'extrait éthanolique. Cette activité puissante observée, pourrait être expliquée par l'inhibition de la dégradation des polysaccharides en glucose par les enzymes clés et également l'inhibition de l'absorption intestinale du glucose libéré, par l'intermédiaire des transporteurs intestinaux SGLT1 et/ou GLUT2.

---

**Evaluation de l'effet antioxydant et antidiabétique *in vivo*  
des extraits aqueux et éthanolique de la plante *E. guttatum***

---

Ce chapitre concerne à l'évaluation *in vivo* l'effet antidiabétique et antioxydante des extraits montrant le meilleur effet antihyperglycémique postprandiale *in vitro* et *in vivo*. L'activité antidiabétique sera étudiée sur un modèle des souris rendus diabétiques par un régime riche en graisse et streptozotocine (HFD-STZ) pour déterminer les paramètres physiologiques, la variation de la glycémie à jeun et l'aspect histologique du pancréas. Le profil oxydatif des souris diabétiques sera évalué par le dosage des enzymes antioxydant (SOD et CAT) et le marqueur du stress oxydatif tels que le malondialdéhyde (MDA).

## **I. Matériel et méthodes :**

### **1. Activité antidiabétique *in vivo* :**

#### **1.1 Développement du diabète de type 2 :**

L'effet antidiabétique des extraits d'*E.guttatum* a été étudié chez des souris hyperglycémiques induites par un régime riche en graisse (HFD). En effet, après 15 jours d'hébergement, à l'exclusion d'un témoin normal avec une alimentation normale, d'autres souris ont été nourries avec une alimentation riche en graisses. Le régime alimentaire a été préparé quotidiennement comme décrit par (Pallavi et al., 2017). Il se compose des glucides de régime standard 30%, de protéines 18%, de matières grasses 50% et de sel et de vitamines 2%.

Après 4 semaines, les souris ont reçu une injection intrapéritonéale de 100 mg/kg de streptozotocine dissoute dans une solution tampon citrate (0,1 M, pH 4,5). Après cinq jours, des échantillons de sang ont été prélevés dans la veine caudale des souris.

Les souris avec une glycémie à jeun supérieure à 126mg/dL ont été considérées comme DT2 et sont incluses dans l'étude.

#### **1.2 Evaluation des effets antidiabétiques :**

Après induction du diabète, les trente souris diabétiques ont été réparties en différents groupes : Groupe diabétique non traité (témoin négatif) ; Groupe diabétique traité par metformine à une dose de 300 mg/kg (témoin positif) (Naceiri Mrabti *et al.*, 2017); et deux autres groupes diabétiques ont été traités avec les extraits aqueux et éthanolique à une dose de 200 mg/kg. Le groupe normal (non diabétiques) a été autorisé à accéder librement à un régime alimentaire normal et traité avec une solution saline.

La glycémie à jeun des souris a été mesurée chaque semaine pendant un mois de traitement à l'aide d'un glucomètre.

### 1.3 Evolution du poids corporel :

Pour déterminer l'influence de nos extraits sur le poids et la croissance des souris, nous avons suivi l'évolution du poids corporel, des souris témoins et traitées, périodiquement tout au long de l'expérimentation.

Le poids corporel est mesuré à l'aide d'une balance en gramme (g) et les variations du poids corporel des souris par rapport au 1er jour sont exprimées en pourcentage (%) et calculé selon la formule suivante :

$$\text{Variation du poids corporel (\%)} = (PJ - PJ0) \times 100 / PJ0$$

PJ0 : poids corporel au 1er jour

PJ : poids corporel au jour J.

### 1.4 Détermination des paramètres hématologiques et biochimiques :

Après 30 jours de traitement, des échantillons de sang ont été prélevés au niveau de la veine jugulaire en utilisant des tubes capillaires contenant de l'acide éthylène diamine tétra-acétique (EDTA) (anticoagulant). Les paramètres hématologiques suivants ont été examinés : hémoglobine totale (HGB), rouge (RBC) et blanche (WBC) et plaquettes comptées à l'aide d'un analyseur entièrement automatisé. (Architecte c8000, Clinical Chemistry System, Chicago, IL, ÉTATS-UNIS). Les taux sériques d'aspartate aminotransférase (AST), d'alanine aminotransférase (ALT), d'urée, de créatinine, de cholestérol, de triacylglycérols (TG), de lipoprotéines de haute densité (HDL), de lipoprotéines de basse densité (LDL) ont été également déterminés.

## 2. Activité antioxydante *in vivo* :

### 2.1 Préparation des homogénats :

A la fin du traitement, nous avons extrait les organes (foie, rein et pancréas) pour le dosage des marqueurs du stress oxydatif. Au début, nous coupons et broyons les organes avec un tampon phosphate à 10 % (0,05 M, pH 7,4). Par la suite, l'homogénat est centrifugé à 10 000 rpm pendant 10 min à 4°C. Et à la fin, on recueille le surnageant et on le stocke à -20°C sous forme d'aliquote pour le dosage des paramètres de stress oxydatif.

### 2.2 Dosage du malondialdéhyde (MDA) :

Le MDA est l'un des produits terminaux formés lors de la décomposition des acides gras polyinsaturés par les radicaux libres. Pour cela, le dosage du malondialdéhyde repose sur la mesure en milieu acide et chaud du complexe MDA-TBA (Ohkawa, Ohishi and Yagi, 1979).

Brièvement, 100 µL de l'homogénat ou MDA ont été mélangés avec 300 µL d'acide thiobarbiturique 0,6% et 700 µL d'acide phosphorique 1%, par la suite le mélange réactionnel a été chauffé à 95°C pendant 30 min. Après refroidissement, 2 mL de n-butanol ont été ajoutés, puis centrifugés à 3000 rpm pendant 10 minutes. L'absorbance du complexe MDA-TBA a été déterminée par spectrophotométrie à 535 nm.

### **2.3 Dosage du superoxyde dismutase (SOD) :**

La superoxyde dismutase (SOD) est l'un des enzymes des premières lignes de défense contre les radicaux libres. Ils disproportionnent l'anion superoxyde en peroxyde d'hydrogène et en oxygène.

Le dosage est effectué par la méthode de Beauchamp and Fridovich, (1971). Pour cela, un mélange réactionnel contenait 50 mM de tampon phosphate (pH 7,2), 0,25% triton x-100, 10 mM EDTA (pH 8), 120 mM L-méthionine, 0,75 mM NBT, à la fin 10 µM de riboflavine a été ajouté pour initier la réaction.

La réaction a été réalisée à 25°C sous une lampe de 15W pendant 10 min pour induire la photo-réaction de la riboflavine et de l'O<sub>2</sub>. L'absorption est mesurée à 560 nm, l'activité SOD (superoxyde dismutase) est calculée selon l'équation suivante :

$$\% \text{ d'inhibition} = (\text{Un blanc} - \text{Un échantillon} / \text{Un blanc}) \times 100$$

L'unité SOD est la quantité d'enzyme qui provoquerait une inhibition de 50 % de la réduction de NBT).

### **2.4 Dosage de la catalase (CAT) :**

L'activité catalase a été déterminée par la méthode (Aebi, 1984), mesurant la disparition du peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). L'activité catalytique a été exprimée en µmol de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> par minute et par mg de protéine. Pour cela, 780 µL de tampon phosphate (100 mM : pH 7,5) a été mélangé avec 20 µL d'homogénat. Ensuite, la réaction a été initiée en ajoutant 200 µL de peroxyde d'hydrogène H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (500 mM). La diminution de la densité optique due à la décomposition du peroxyde d'hydrogène a été mesurée après 1 min contre un témoin blanc à 240 nm.

### 3. Etude histologique :

Les procédures histologiques ont été réalisées comme décrit par Mota Da Silva *et al.*, (2015). Après le sacrifice, le pancréas été excisé de l'animal, rincés dans une solution saline à 0,9 %. Les morceaux de tissu ont été fixés dans du paraformaldéhyde à 10 % pour l'histologie de la paraffine et traités dans l'inclusion de paraffine selon le protocole standard. Des sections de chaque tissu ont été colorées avec de l'hématoxyline et de l'éosine, et observées pour d'éventuels dommages histopathologiques.

## II. Résultats :

### 1. Activité antidiabétique *in vivo* :

#### 1.1 Mesure de glycémie à jeun :

L'effet des extraits d'*E. guttatum* et de la metformine sur la variation de la glycémie chez les souris diabétiques est résumé dans le tableau 10. En effet au début de traitement (jour 1), une différence significative de la glycémie a été observée entre les groupes diabétiques traités par les extraits, la metformine, et le groupe diabétique non traité avec le groupe normal ( $P < 0,05$ ). Alors qu'il n'y avait pas de différence significative entre les groupes diabétiques traités par les extraits et la metformine avec le groupe diabétique non traité ( $P > 0,05$ ). Après 30 jours, la glycémie des animaux traités par les extraits d'*E. guttatum* et de la metformine ont diminué significativement par rapport au groupe diabétique non traité ( $P < 0,05$ ). De même, les valeurs de glycémie chez les souris diabétiques traitées avec la metformine, l'EGE, l'EGA est inférieur à celle des souris normales.

Tableau 10: Effet des extraits d'*E. guttatum* sur la glycémie à jeun chez les souris rendues diabétiques par HFD-STZ.

Taux de glycémie à jeun (mg/dL)		
	1 <sup>ère</sup> jour	30 <sup>ème</sup> jour
Témoin normal	94,54±15,32 <sup>d</sup>	110,42±21,09 <sup>d</sup>
Témoin diabétique (STZ-HFD)	239,75±26,42 <sup>c</sup>	295,1±12,38 <sup>c</sup>
Diabétique+ Metformine (300mg/kg)	253,17±29,47 <sup>b</sup>	104,67±4,08 <sup>b,d</sup>
Diabétique +EGA (200mg/kg)	250,33±11,23 <sup>a,b,c</sup>	102,41±4,22 <sup>a</sup>
Diabétique+ EGE (200mg/kg)	253±29,3 <sup>a</sup>	100,15±29,14 <sup>a,b,d</sup>

Les valeurs dans la même colonne et catégorie ne partageant pas une lettre commune diffèrent significativement à  $p < 0,05$ . EGA : extrait aqueux d'*E. guttatum* ; EGE : extrait éthanolique d'*E. guttatum*.



### 1.2 Effet sur le poids :

L'évolution du poids corporel de tous les groupes des souris est présentée dans le tableau 11. Au début, il y avait une différence significative entre les souris diabétiques traitées avec les extraits, la metformine et les souris diabétiques non traitées avec les souris normales ( $P < 0,05$ ). En effet, les souris diabétiques non traitées ont pris du poids (2,41 %), tandis que les souris traitées à la metformine ont perdu du poids corporel (3,27 %). Alors que les souris diabétiques traitées avec EGA et EGE ont également subi une perte de poids corporel. De plus, il y avait une différence significative entre les souris diabétiques traitées avec EGA et les souris diabétiques non traitées avec les souris diabétiques traitées par la metformine ( $P < 0,05$ ). De même, il n'y avait pas de différence significative entre les souris diabétiques traitées avec EGA et les souris diabétiques non traitées ( $P > 0,05$ ).

Tableau 11: Effet des extraits d'*E. guttatum* sur le poids corporel chez des souris rendues diabétiques par HFD-STZ.

Poids corporel (g)		
	Poids initial	Poids final
Témoin normal	25,11±4,18 <sup>d</sup>	29,53±1,02 <sup>d</sup>
Témoin diabétique (STZ-HFD)	35,23±1,87 <sup>c</sup>	36,08±3,18 <sup>c</sup>
Diabétique+ Metformine (300mg/kg)	33,3±2,07 <sup>b,c</sup>	32,21±0,7 <sup>b,c,d</sup>
Diabétique +EGA (200mg/kg)	35,12±1,49 <sup>a,b,c</sup>	34,3±1,11 <sup>a</sup>
Diabétique+ EGE (200mg/kg)	34,75±1,83 <sup>a,b,c</sup>	33,32±1,2 <sup>a,b,c,d</sup>

Les valeurs dans la même colonne et catégorie ne partageant pas une lettre commune diffèrent significativement à  $p < 0,05$ . EGA : extrait aqueux d'*E. guttatum* ; EGE : extrait éthanolique d'*E. guttatum*.

### 1.3 Effet sur les paramètres hématologiques et biochimiques :

Les résultats de l'effet des extraits d'*E. guttatum* sur les fonctions physiologiques ont été examinés sur les paramètres hématologiques et biochimiques (Tableau 12). En effet, pour l'hémoglobine et les plaquettes il n'y a avait pas une différence significative entre les groupes étudiés ( $P > 0,05$ ). De plus, il y avait une différence significative entre les souris diabétiques traitées avec les extraits et la metformine et les souris diabétiques non traitées ( $P < 0,05$ ). De plus, le nombre des globules blancs chez les souris diabétiques traitées avec les deux extraits est plus élevé que chez les souris normales ( $P < 0,05$ ).

Également, le taux du cholestérol, TG et LDL est diminué chez les souris diabétiques traitées avec l'EGA, EGE et la metformine par rapport aux souris diabétiques non traitées. Alors que le niveau de bon cholestérol HDL a augmenté chez les souris diabétiques traitées avec EGA, EGE et Metformine. De plus, pour les HDL, il n'y avait pas une différence significative entre les

souris diabétiques traitées avec les extraits et les souris diabétiques traitées avec la metformine et les souris normales ( $P > 0,05$ ). Alors que pour les LDL, il y avait une différence significative entre les souris diabétiques traitées avec les extraits, la metformine, les souris diabétiques non traitées avec les souris normales ( $P < 0,05$ ).

En ce qui concerne le profil hépatique, le taux d'ALT chez les souris diabétiques traitées avec les extraits est inférieur par rapport aux souris diabétiques traitées avec la metformine. De plus, il n'y avait pas de différence significative entre les groupes pour l'ALT ( $P > 0,05$ ). Ainsi, les souris diabétiques non traitées représentent le taux le plus élevé d'AST. De même, le niveau d'AST chez les souris diabétiques traitées avec la metformine est statistiquement similaire à celle des souris normales ( $P > 0,05$ ).

Pour le profil rénal, le taux de créatinine chez les souris normales et les souris diabétiques traitées avec les extraits et la metformine sont quasiment égaux ( $P > 0,05$ ). De plus, le niveau d'urée chez les souris diabétiques traitées avec les extraits et la metformine est inférieur à celui des souris normales ainsi que des souris diabétiques non traitées. Ainsi, il y avait une différence significative entre les souris diabétiques traitées avec les extraits et la metformine et les souris diabétiques non traité ( $P < 0,05$ ).

Tableau 12: Effets des extraits d'*E. guttatum* sur les paramètres hématologiques et biochimiques chez les souris rendues diabétiques par HFD-STZ.

	Témoin normal	Témoin diabétique (STZ-HFD)	Diabétique +Metformine (300mg/kg)	Diabétique+ EGA (200mg/kg)	Diabétique +EGE (200mg/kg)
<b>Hématologie</b>					
WBC ( $10^{-3}/\mu\text{L}$ )	4,23±0,89 <sup>d</sup>	21,31±3,69 <sup>c</sup>	10,43±5,43 <sup>b</sup>	9,22±1,89 <sup>a,b</sup>	7,33±2,1 <sup>a,b,d</sup>
RBC ( $10^{-6}/\mu\text{L}$ )	6,87±0,02 <sup>d</sup>	8,36±0,59 <sup>c,d</sup>	7,84±0,21 <sup>b,d</sup>	9,90±0,97 <sup>a</sup>	9,18±0,65 <sup>a,b,d</sup>
HGB (g/dL)	11,25±0,49 <sup>a</sup>	14,32±1,27 <sup>a</sup>	12,93±0,98 <sup>a</sup>	14,22±1,35 <sup>a</sup>	13,07±0,66 <sup>a</sup>
PLT ( $10^{-3}/\mu\text{L}$ )	508,00±89,7 <sup>a</sup>	516,75±93,11 <sup>a</sup>	534,3±51,18 <sup>a</sup>	766,3±339,9 <sup>a</sup>	750±232,1 <sup>a</sup>
<b>Profil lipidique</b>					
Cholestérol(g/L)	0,7±0,01 <sup>d</sup>	3,48±0,25 <sup>c</sup>	0,46±0,17 <sup>b,d</sup>	1±0,56 <sup>a</sup>	1,15±0,16 <sup>a,b,d</sup>
TG (g/L)	0,83±0,31 <sup>a</sup>	2,3±0,26 <sup>a</sup>	0,41±0,16 <sup>a</sup>	1,77±0,83 <sup>a</sup>	1,59±0,66 <sup>a</sup>
HDL (mMol/L)	0,36±0,06 <sup>a</sup>	0,14±0,04 <sup>c</sup>	0,21±0,05 <sup>b</sup>	0,49±0,15 <sup>a</sup>	0,46±0,08 <sup>a</sup>
LDL (g/L)	0,01±0,001 <sup>a,d</sup>	0,26±0,05 <sup>a,c</sup>	0,21±0,09 <sup>a,b,c,d</sup>	0,06±0,01 <sup>a,d</sup>	0,14±0,01 <sup>a</sup>
<b>Fonction hépatique</b>					
AST (UI/L)	121,65±5,28 <sup>d</sup>	266,17±13,44 <sup>b</sup>	118,33±33,26 <sup>c,d</sup>	176,5±51,61 <sup>a,d</sup>	218,5±13,43 <sup>a,b,c</sup>
ALT (UI/L)	39,27±3,6 <sup>a</sup>	127,67±12,5 <sup>a</sup>	84,66±17,62 <sup>a</sup>	55,33±25,0 <sup>a</sup>	61,5±29,8 <sup>a</sup>
<b>Fonction rénale</b>					
Urée (g/L)	0,59±0,07 <sup>a</sup>	0,62±0,12 <sup>a</sup>	0,43±0,09 <sup>a</sup>	0,34±0,11 <sup>a</sup>	0,35±0,08 <sup>a</sup>
Créatinine(mg/L)	3,78±0,27 <sup>d</sup>	7,70±1,49 <sup>b</sup>	4,18±0,22 <sup>c</sup>	3,30±0,28 <sup>a,d,c</sup>	3,43±0,41 <sup>a,d,c</sup>

Les valeurs dans la même colonne et catégorie ne partageant pas une lettre commune diffèrent significativement à  $p < 0,05$ . EGA : extrait aqueux d'*E. guttatum* ; EGE : extrait éthanolique d'*E. guttatum*.

## 2. Activité antioxydante *in vivo* :

### 2.1 La peroxydation lipidique :

L'effet des extraits de *E. guttatum* sur la variation du MDA dans les tissus hépatique, rénale et pancréatique chez les souris rendus diabétique par HFD- STZ est résumée dans le Tableau 13. Nous avons constaté une élévation du MDA dans le foie, reins et pancréas des souris diabétiques non traités ( $0,961 \pm 0,07$  nM/ g de foie ;  $0,813 \pm 0,08$  nM/ g de foie ;  $0,861 \pm 0,09$  nM/ g de foie) respectivement par rapport au groupe témoin non diabétique ( $0,36 \pm 0,03$  nM/g de foie ;  $0,24 \pm 0,02$  nM/ g de foie ;  $0,402 \pm 0,02$  nM/ g de foie). De même, les extraits d'*E. guttatum* ont réduit les niveaux de MDA par rapport au groupe témoin (non diabétique). Le groupe diabétique traité par l'extrait éthanolique a montré une meilleure réduction de MDA. En outre, dans le foie et les reins, il avait une différence significative entre le groupe traité par l'extrait éthanolique ( $0,216 \pm 0,03$  nM/g de foie ;  $0,251 \pm 0,04$  nM/g de rein) et le groupe traité par la metformine ( $0,55 \pm 0,06$  nM/g de foie ;  $0,42 \pm 0,03$  nM/g de rein) ( $p < 0,05$ ). Le groupe témoin (non diabétique) était significativement inférieur au groupe traité par la metformine ( $p < 0,05$ ) au niveau du foie et des reins.

Tableau 13: Taux de malondialdéhyde (MDA) dans le foie, reins et le pancréas chez des souris diabétiques traitées avec les extraits d'*E. guttatum* (200mg/kg) et de metformine (300mg/kg) (nM/g tissu).

	EGA	EGE	DT	ND	DTM
Foie	$0,259 \pm 0,03^{a,c}$	$0,216 \pm 0,03^a$	$0,961 \pm 0,07^b$	$0,36 \pm 0,03^c$	$0,55 \pm 0,06^d$
Rein	$0,325 \pm 0,05^{e,f,g}$	$0,251 \pm 0,04^e$	$0,813 \pm 0,08^h$	$0,24 \pm 0,02^f$	$0,42 \pm 0,03^g$
Pancréas	$0,211 \pm 0,01^i$	$0,209 \pm 0,02^i$	$0,861 \pm 0,09^j$	$0,402 \pm 0,02^{i,k}$	$0,410 \pm 0,04^k$

Les valeurs dans la même colonne et catégorie ne partageant pas une lettre commune diffèrent significativement à  $p < 0,05$ . EGA : extrait aqueux d'*E. guttatum* ; EGE : extrait éthanolique d'*E. guttatum*. DT : groupe diabétique ; ND : groupe non diabétique ; DTM : groupe des diabétiques traités à la metformine.

### 2.2 Activité de superoxyde dismutase (SOD) et catalase (CAT) :

Les extraits d'*E. guttatum* ont amélioré la production des enzymes antioxydantes *in vivo*. Les résultats de l'activité enzymatique SOD et catalase sont résumés dans les Tableaux 14 et 15.

Nous avons constaté dans les deux tests que les groupes des souris traités par l'extrait éthanolique a montré une meilleure sécrétion des enzymes SOD et CAT.

Également, nous avons remarqué une meilleure augmentation de la sécrétion de SOD des groupes des souris diabétiques traités par l'extrait éthanolique et la metformine par rapport au groupe témoins normaux ( $P < 0,05$ ). De même, l'activité enzymatique de la SOD sur les tissus hépatiques, rénaux et pancréatique a été diminué significativement chez les souris diabétiques non traités par rapport à celle mesurée chez les souris normaux ( $P < 0,05$ ). D'autre, les souris diabétiques traités par l'extrait éthanolique et aqueux ont provoqué une augmentation du taux de SOD dans les reins et pancréas. En effet, pour l'extrait éthanolique ( $799 \pm 8,38$  unité/g de rein ;  $616,3 \pm 1,44$  unité/g de pancréas) et pour l'extrait aqueux ( $768,2 \pm 3,1$  unité/g de rein ;  $565,9 \pm 1,92$  unité/g de pancréas).

Tableau 14: Taux de superoxyde dismutase (SOD) dans le foie, les reins et le pancréas chez des souris diabétiques traitées avec les extraits d'*E. guttatum* (200 mg/kg) et de metformine (300 mg/kg) (unité/g de tissu).

	EGA	EGE	DT	ND	DTM
Foie	$638,7 \pm 6,21^a$	$702,5 \pm 0,95^b$	$532,3 \pm 2,86^c$	$732,2 \pm 11,7^d$	$904,3 \pm 7,8^e$
Rein	$768,2 \pm 3,1^f$	$799 \pm 8,38^g$	$420,5 \pm 10,2^h$	$830,0 \pm 3,06^i$	$832,1 \pm 9,2^j$
Pancréas	$565,9 \pm 1,92^k$	$616,3 \pm 1,44^l$	$480,2 \pm 22,5^m$	$540,6 \pm 12,5^n$	$724,2 \pm 6,3^o$

Les valeurs dans la même colonne et catégorie ne partageant pas une lettre commune diffèrent significativement à  $p < 0,05$ . EGA : extrait aqueux d'*E. guttatum* ; EGE : extrait éthanolique d'*E. guttatum*. DT : groupe diabétique ; ND : groupe non diabétique ; DTM : groupe des diabétiques traités à la metformine.

En outre, dans les trois organes (Foie, Rein et pancréas) le taux du CAT a été augmenté chez les groupes des souris diabétiques traités par l'extrait aqueux et éthanolique. De même, le traitement des souris diabétiques par les extraits d'*E. guttatum* a provoqué une augmentation du taux de CAT par rapport aux groupes des souris traités par la metformine ( $p < 0,05$ ). Ainsi, il n'y avait pas de différence significative entre le groupe témoin normaux (non diabétique) et le groupe traité par la metformine ( $p < 0,05$ ). De même, il n'y avait pas de différence significative

entre les groupes des souris diabétiques traité par l'extrait aqueux ( $0,43 \pm 0,05$  U/mg de protéine) et par l'extrait éthanolique de  $0,46 \pm 0,11$  U/mg de protéine ( $p > 0,05$ ) dans le foie.

Tableau 15: Niveau de l'enzyme antioxydante Catalase (CAT) dans le foie, les reins et le pancréas chez des souris diabétiques traitées avec des extraits d'*E. guttatum* (200mg/kg) et de metformine (300mg/kg) (protéine U/mg).

	EGA	EGE	DT	ND	DTM
Foie	$0,43 \pm 0,05$	$0,46 \pm 0,11$	$0,18 \pm 0,06$	$0,48 \pm 0,04$	$0,47 \pm 0,04$
Rein	$0,46 \pm 0,02$	$0,49 \pm 0,02$	$0,14 \pm 0,03$	$0,56 \pm 0,02$	$0,5 \pm 0,06$
Pancréas	$0,51 \pm 0,02$	$0,54 \pm 0,03$	$0,17 \pm 0,08$	$0,43 \pm 0,04$	$0,42 \pm 0,02$

Les valeurs sont les moyennes  $\pm$  SEM (n=6).  $P > 0,05$ , Non significatif. EGA : extrait aqueux d'*E. guttatum* ; EGE : extrait éthanolique d'*E. guttatum*. DT : groupe diabétique ; ND : groupe non diabétique ; DTM : groupe des diabétiques traités à la metformine.

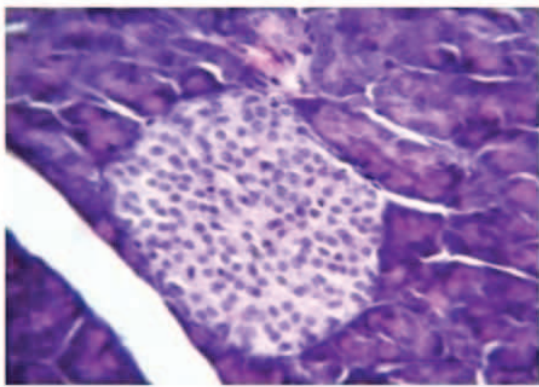
### 3. Etude histologique :

L'analyse des coupes histologiques des pancréas prélevés des différents groupes des souris à la fin du traitement est présentée dans la figure 10. Le pancréas des souris témoins normaux a montré un aspect histologique normal, l'îlot de Langerhans était normal et présentait un nombre normal de noyaux de cellules et uniformément répartis dans l'îlot et espacés les uns des autres par des cytoplasmes et des bordures de cellules indistinctes, homogènes et amorphes (Figure 10.A).

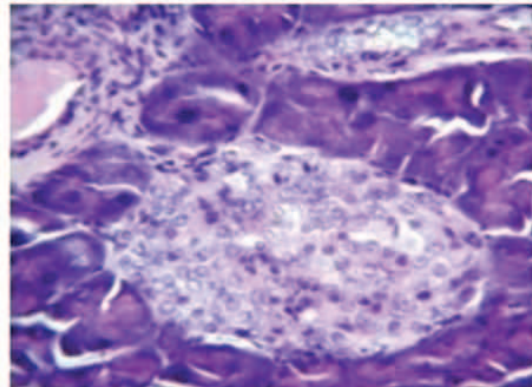
Le pancréas des souris diabétiques non traités (Figure 10.B) a montré une architecture et une structure histologique normale, alors que les îlots de Langerhans ont présenté une hypercellularité et une distribution cellulaire désorganisée avec des cellules disposées et emballées sous forme d'agrégats cellulaires en particulier à la périphérie des îlots. Les noyaux cellulaires avec une taille relativement accrue et présentaient un aspect clair et vacuolaire.

Le pancréas des souris traités par la metformine, montre un aspect histologique normal. Les îlots de Langerhans ont des changements presque similaires à ceux décrits pour le pancréas des souris diabétiques non traitées (Figure 10.C).

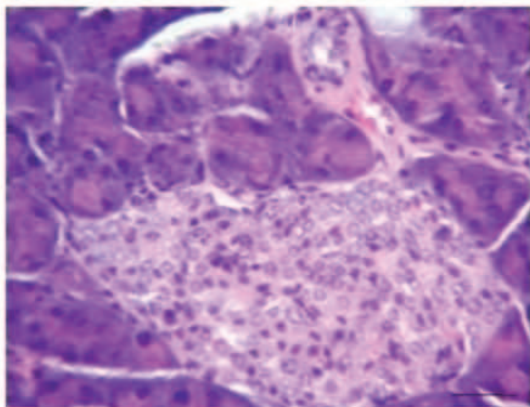
Également, le pancréas des souris diabétiques traités par l'extrait aqueux (200mg/kg) comme celui du témoin normal a montré un aspect histologique normal, les îlots de Langerhans étaient également normaux, avec un nombre normal de cellules uniformément réparties dans l'îlot et espacées les unes des autres par un cytoplasme et des bordures de cellules indistinctes, homogènes et amorphes (Figure 10.D). Le pancréas des souris diabétiques traités par l'extrait éthanolique (200mg/kg) a montré également un aspect histologique normal mais des îlots hyperplasiques (Figure 10.E).



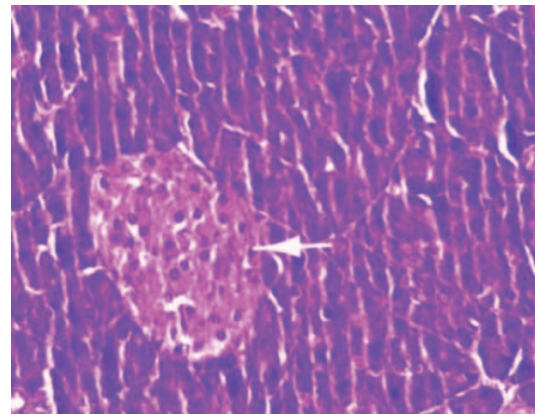
(A)



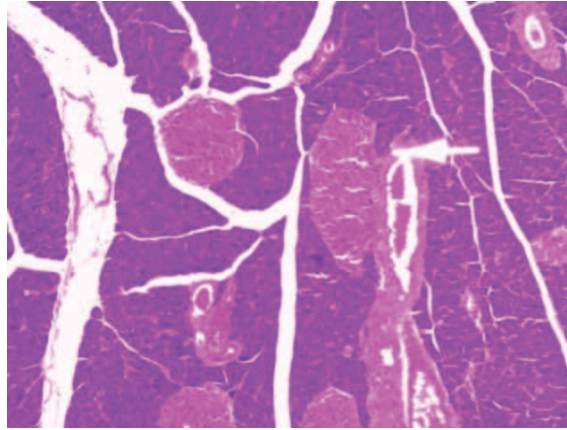
(B)



(C)



(D)



(E)

Figure 11: Photomicrographies des coupes histologiques du pancréas des souris normales (A), des souris diabétiques non traités (B), des souris diabétiques traités par la metformine (C), des souris diabétiques traités par l'extrait aqueux d'*E. guttatum* (D), des souris diabétiques traités par l'extrait éthanolique d'*E. guttatum* (E).

### III. Discussion :

Plusieurs études ont rapporté une augmentation de l'incidence du diabète de type 2 dans le monde entier ; cette augmentation est généralement associée au mode de vie et à la sédentarité. Cependant, la défaillance métabolique entraîne le développement des complications diabétiques, notamment l'athérosclérose et les troubles cardiovasculaires. L'un des modèles des souris diabétiques les plus courants est celui induit par HFD-STZ, le modèle présente des caractéristiques métaboliques comparables au diabète de type 2 humain (Bansal *et al.*, 2012).

Dans ce chapitre, l'induction du diabète de type 2 a été réalisées par un régime riche en graisse et par injection du STZ. En fait, des études antérieures ont montré que les souris nourries avec un régime riche en graisses développaient une résistance à l'insuline en fonction du pourcentage de graisse accumulée (Gheibi, Kashfi and Ghasemi, 2017). Srinivasan *et al.*, (2005) ont également révélé que des souris nourries avec un régime riche en graisses pendant seulement 2 semaines entraînaient une augmentation significative du poids corporel, ainsi que des niveaux de glucose sanguin, de lipoprotéines et d'insuline. De manière constante, dans cette étude, les souris ayant reçu un régime riche en graisses présentaient un poids corporel et une glycémie. Comme 4 semaines de HFD administré n'ont pas induit de résistance évidente à l'insuline, l'identification de symptômes clairs chez les souris diabétiques était nécessaire afin d'étudier l'effet inhibiteur de *E. guttatum*. La combinaison d'un régime riche en graisses avec une injection de streptozotocine (STZ) chez les souris a donc été mise en place pour induire un

diabète de type 2 au stade avancé (Guo *et al.*, 2018). La STZ, spécifiquement dans les cellules bêta du pancréas, génère des espèces réactives de l'oxygène et des espèces azotées et cause des dommages à l'ADN entraînant un dysfonctionnement des cellules bêta, une diminution de la biosynthèse et de la sécrétion d'insuline (Szkudelski, 2001; Skovsø, 2014). Les souris témoins diabétiques présentaient une hyperglycémie et une hyperlipidémie significatives par rapport aux souris normales.

L'administration quotidienne des extraits d'*E. guttatum* aux souris diabétiques empêchent l'évolution de la glycémie à jeun. Le mécanisme possible qu'à *E. guttatum* provoque son effet hypoglycémique chez les souris diabétiques peut être en améliorant la sensibilité à l'insuline grâce à son action au PPAR $\gamma$ . Il peut augmenter l'absorption et l'utilisation du glucose dans les organes périphériques et diminuer la gluconéogenèse dans le foie en augmentant les transporteurs de glucose 1 et 4, en abaissant les acides gras libres et en remodelant le tissu adipeux (Smith, 2001). La perte du poids pourrait être expliqué par l'activité hypolipémiante d'*E. guttatum*.

En outre, l'analyse biochimique à indiquer une augmentation du taux du triglycérides (TG) et cholestérol chez les souris diabétiques témoin. Ces effets observés chez les souris HFD + STZ (100 mg/kg) peut être due à une absorption et à une formation accrue de triglycérides sous forme de chylomicrons provenant d'un régime riche en graisses exogènes et d'une diminution d'absorption de TG dans les tissus périphériques. D'autre part l'insulinémie entraîne l'incapacité d'activer la lipoprotéine lipase, provoquant hypertriglycéridémie et hypercholestérolémie (Veerapur *et al.*, 2010). Nos résultats obtenus sur ce modèle sont conformes à d'autres études menés sur le diabète de type 2. Dans le diabète de type 2, une inflammation chronique de faible intensité du tissu adipeux entraîne une résistance à l'insuline, une altération de la tolérance au glucose et une élévation des acides gras libres dans la circulation sanguine (Shoelson, Lee and Goldfine, 2006). Les acides gras libres contribuent alors à la perte de sensibilité à l'insuline (Sears and Perry, 2015). Le palmitate, produit de lipolyse insensible au tissu adipeux, peut induire une résistance à l'insuline dans les muscles, le foie et les cellules adipeuses en activant la voie TLR, la protéine kinase, c-Jun et NF- $\kappa$ B (Gauthier and Ruderman, 2010).

Le traitement par l'extrait aqueux et éthanolique d'*E. guttatum* ont restauré les changements anormaux des taux ASAT, ALAT, créatinine et Urée chez les souris diabétiques. Les lésions hépatocellulaires provoquent la libération de ces enzymes dans la circulation. L'augmentation



des taux sériques d'AST montre des lésions hépatiques similaires à l'hépatite virale, à l'infarctus, et les dommages musculaires. L'ALT, qui assure la conversion de l'alanine en pyruvate et en glutamate, est spécifique du foie et constitue un indicateur approprié des lésions hépatiques. Des niveaux accrus de ces enzymes sont un indicateur d'infiltration cellulaire et de perturbation fonctionnelle des membranes des cellules hépatiques (Lawhorn, 1978). De plus, l'augmentation des marqueurs rénaux est un indicateur du développement de la néphropathie diabétique, provoquant une diurèse osmotique et une réduction du volume de liquide extracellulaire (Wang *et al.*, 2013). Nos résultats montrent que le traitement des souris diabétiques avec les extraits d'*E. guttatum* (200mg/kg) réduit les taux sériques et protège contre les lésions hépatiques et rénales causées par HFD-STZ. La restauration des taux sériques à leurs niveaux pourrait être due à la présence des flavonoïdes dans les extraits d'*E. guttatum* qui seraient des agents hépatoprotecteurs et néphroprotecteurs.

L'extrait aqueux et éthanolique d'*E. guttatum* ont également été testés pour leurs activité antioxydante *in vivo* à l'aide des trois dosages (MDA, SOD et GSH), et nous avons trouvé que ces deux extraits ont pu diminuer le taux de MDA dans le foie, reins et pancréas des souris diabétiques, en particulier l'extrait éthanolique ( $0.216 \pm 0.03$  nM/gramme de foie ;  $0.251 \pm 0.04$  nM/gramme de reins et  $0.209 \pm 0.02$  nM/gramme de pancréas). En effet, La peroxydation lipidique est développée par la génération de radicaux libres qui produisent à leur tour des produits finaux tels que le malondialdéhyde (Ghani *et al.*, 2017). Lors d'un stress oxydatif, le taux des produits finaux de peroxydation tels que les aldéhydes augmente, et la production de ce biomarqueur est utilisée dans la mesure du stress oxydatif (Alam, Bristi and Rafiquzzaman, 2013). Ainsi, Plusieurs modes d'action de la peroxydation lipidique ont été rapportés dans la littérature (Farmer and Mueller, 2013; Butterfield *et al.*, 2002). Ces résultats obtenus sont similaires à des études antérieures, démontrant l'effet inhibiteur de la peroxydation lipidique des différents extraits végétaux (Ironi *et al.*, 2016; Abdul, A. and Mohammed, 2016). De même, il a été rapporté que cette activité peut être attribuée à la teneur en phénol qui est en corrélation avec leurs structures chimiques. Aussi, nous avons remarqué que les extraits d'*E. guttatum* ont stimulé la sécrétion des enzymes antioxydants (SOD et CAT), en particulier l'extrait éthanolique. La superoxyde dismutase (SOD) est l'une des enzymes importantes du système de défense antioxydant enzymatique. Il élimine en convertissant les anions superoxydes en peroxyde d'hydrogène, réduisant ainsi la toxicité causée par les espèces réactives de l'oxygène (Eliza *et al.*, 2010; Yao *et al.*, 2005). D'autre, la catalase est une autre

enzyme antioxydante qui catalyse le peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène, protégeant les tissus des effets délétères des radicaux hydroxyles.

De plus, il a été rapporté dans plusieurs études que les plantes médicinales peuvent restaurer et activer le contenu en enzymes antioxydantes chez les animaux rendus diabétiques par la streptozotocine (Naceiri Mrabti *et al.*, 2017; Bouabid *et al.*, 2020).

En ce qui concerne l'étude histopathologique, les coupes histologiques du pancréas des souris diabétiques non traitées révèle un hyper cellularité et répartition inégale des cellules au îlots de Langerhans. Le traitement par la metformine, bien qu'il soit associé à une glycémie normale, n'a pas permis de restaurer l'architecture histologique normale des îlots de Langerhans. Les coupes histologiques du pancréas des souris diabétiques traités par l'extrait aqueux sont comme celui du témoin normal. Alors que le traitement avec l'extrait éthanolique d'*E. guttatum* a montré une légère amélioration au niveau cellulaire. Cependant, nos résultats montrant que *E. guttatum* a un effet protecteur de la structure et la fonction des cellules  $\beta$  de Langerhans et amélioré l'architecture histologique des îlots de Langerhans. Cet effet protecteur des îlots observé pourrait être dû à l'amélioration de l'activité des enzymes pancréatiques, qui jouent un rôle clé dans le mécanisme de défense contre les dommages du pancréas causé par les radicaux libres (Jayachandran *et al.*, 2018). Cette plante a présenté un effet antidiabétique par la régénération des îlots pancréatiques et la sécrétion d'insuline a partir cellules bêta intactes des îlots de Langerhans (Hamden *et al.*, 2011).

---

**Etude de la toxicité aigüe et subaigüe des extraits aqueux  
et éthanoliques des plantes chez la souris.**

---

Les études toxicologiques fournissent des informations sur les risques pour la santé que peut entraîner une exposition unique ou répétée durant une période de temps relativement limitée. Dans cette partie, la toxicité des plantes est mesurée par l'évaluation de sa toxicité aiguë à dose unique, c'est une méthode reproductible, utilise très peu d'animaux, permet de classer les substances par ordre de toxicité de façon similaire ainsi il permet de déterminer la dose létale (DL<sub>50</sub>) qui représente la dose qui tue 50% d'une population testée est utilisée pour apprécier la toxicité de la plante, et par la toxicité subaigüe à doses répétées qui peuvent s'effectuer après avoir obtenu des informations préliminaires sur la toxicité à partir d'essais de toxicité aiguë. Ainsi, pour la toxicité subaigüe ou chronique, les modifications histologiques sont les indicateurs les plus pertinents.

## **I. Matériel et méthodes :**

### **1. Animaux :**

Des souris albinos suisses femelles pesant 20 à 30 g ont été utilisé dans cette étude. Les animaux ont été maintenus à une température ambiante de 25 °C et un cycle lumière/obscurité de 12 heures dans des cages à la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Rabat. Ils avaient un accès libre à l'eau et à l'alimentation normale durant toute l'expérimentation.

### **2. Test de la toxicité aiguë chez la souris :**

La toxicité aiguë par voie orale a été réalisé selon la méthode décrite dans la ligne directrice de l'organisation pour les essais économiques des produits chimiques (OECD 423, 2001).

La toxicité des extraits d'*E. resinifera*, *E. spinosus* et *E. guttatum* a été évaluée sur des souris femelles d'un poids comprise entre 20 à 30 g. Ces souris sont gardées à jeunes 14 h avant le test et 2 h après l'administration orale de nos extraits. Les animaux ont été divisés en sept lots de quatre souris chacun et ont reçu par voie orale les différents extraits à une dose unique 2000mg/kg. Par la suite les animaux ont été observé durant 14 jours afin de noter le comportement de l'animal, les signes de toxicité éventuelle et le nombre de décès due aux extraits.

### **3. Test de la toxicité subaigüe :**

L'étude de toxicité subaigüe par voie orale a été menée conformément aux lignes directrices de l'Organisation de coopération et de développement économiques (OECD 407, 2008). Trente-deux animaux ont été répartis au hasard en quatre groupes de huit animaux chacun. Groupe I-témoin, a reçu l'eau distillée (véhicule) pendant 28 jours. Le groupe II, III et IV ont reçu par voie orale a une dose de 200 mg/kg les extraits aqueux, éthanolique et méthanolique d'*E.*

*guttatum* une fois par jour pendant 28 jours consécutifs. Le poids corporel a été enregistré une fois par semaine tout au long de la période d'étude.

#### **4. Détermination des paramètres hématologiques et biochimiques :**

À la fin de la période expérimentale, Les échantillons de sang ont été obtenus de la veine caudale en utilisant des tubes héparinés pour les études hématologiques et des tubes non hépariné à partir duquel le sérum a été isolé par centrifugation à 3000 tr/min pendant 10 minutes et utilisé pour les estimations biochimiques. Les paramètres hématologiques à savoir l'hémoglobine totale (HGB), rouge (RBC) et blanche (WBC) et plaquettes comptées à l'aide d'un analyseur entièrement automatisé. (Architecte c8000, Clinical Chemistry System, Chicago, IL, ÉTATS-UNIS). Les taux sériques d'aspartate aminotransférase (AST), d'alanine aminotransférase (ALT), d'urée, de créatinine, de cholestérol, de triacylglycérols (TG), de lipoprotéines de haute densité (HDL), de lipoprotéines de basse densité (LDL) ont été également déterminés.

#### **5. Etude histologique :**

Les procédures histologiques est détaillée dans la partie précédente.

## **II. Résultats :**

### **1. Test de toxicité aigüe chez la souris :**

L'administration orale des extraits aqueux et éthanolique d'*E. resinifera*, *E. spinosus* et *E. guttatum* à la dose de 2 g/kg n'ont montré aucune mortalité chez les souris traitées. Ainsi, Le traitement par chaque extrait n'a pas induit une perte de poids et aucun trouble comportementale ou moteur n'a été enregistrée durant les 14 jours d'observation. Par conséquent, la DL<sub>50</sub> des trois plantes est supérieure à 2000 mg/kg.

### **2. Test de toxicité subaigüe chez la souris :**

#### **2.1 Poids corporels :**

Les groupes des souris traités par les deux extraits d'*E. guttatum* a la dose 200 mg/kg, n'ont enregistré aucune modification significative ( $p > 0,05$ ) du gain de poids corporel par rapport au groupe témoin (**Tableau 16**).

Tableau 16: Effets de l'administration orale subaiguë des extraits d'*E. guttatum* sur le poids corporel des souris avec une dose de 200 mg/kg.

Extraits	Dose d'extrait mg/kg	Poids corporel (g)		
		Poids initial (1er jour)	Poids final (28 ème jour)	Différence
Extrait aqueux	200 mg/kg	29,5± 1,67	31,47± 2,74	+1,97
Extrait éthanolique	200 mg/kg	30,12± 1,41	32,19± 2,15	+2,07
Groupe contrôle	L'eau distillé	25,75 ± 1,18	27,43 ± 1,32	+1,68

Les données sont exprimées en moyenne ± SD, (n = 8). P>0,05, Non significatif.

## 2.2 Poids des organes :

Les résultats du poids des organes sont présentés dans le tableau 17. En effet, l'analyse macroscopique de l'organe cible (foie, rein et pancréas) des souris traitées par les extraits d'*E. guttatum* n'ont montré aucun changement significatif de couleur et de texture par rapport au groupe témoin.

Tableau 17: Effet de l'administration orale subaiguë des d'*E. guttatum* sur le poids des organes chez les souris albinos suisses.

	Témoin	Extrait aqueux	Extrait éthanol
Foie	1,63± 0,09	1,62± 0,13	1,46± 0,21
Rein	0,37± 0,04	0,43± 0,09	0,35± 0,12
Pancréas	0,098± 0,06	0,092± 0,02	0,072±0,02

Les données sont exprimées en moyenne ± SD, (n = 8). P>0,05, Non significatif.

## 2.3 L'analyse hématologique :

Les résultats hématologiques sont résumés dans le tableau 18. Les animaux traités par l'extrait aqueux et éthanolique d'*E. guttatum* présentaient des taux élevés en globules blanc (WBC), globules rouges (RBC), plaquettes (PLT), lymphocytes (LYMPH), monocytes (MONO), basophiles (BASO) et neutrophiles (NEUT) par rapport au témoin. De même, les paramètres hématologiques (RBC, HGB, PLT, LYMPH, MONO, BASO et NEUT) n'ont indiqué aucune changement significative (p> 0,05) dans aucun des groupes traités par rapport au groupe témoin.

Tableau 18: Effet de l'administration orale subaiguë des extraits d'*E. guttatum* sur les paramètres hématologiques chez des souris albinos suisses.

	<b>Témoin</b>	<b>E. aqueux</b>	<b>E. éthanol</b>
<b>WBC10<sup>3</sup>/uL</b>	4,18±0,34	11,26±4,33*	8,05±0,36
<b>RBC10<sup>6</sup>/uL</b>	8,42±1,01	8,81±1,01	8,36±1,58
<b>HGB g/L</b>	12±1,55	12,82±1,33	12,63±2,22
<b>PLT 10<sup>3</sup>/uL</b>	944±11,33	1034±316,4	1030,3±244,3
<b>LYMPH10<sup>3</sup>/uL</b>	3,66±0,39	9,32±3,88	5,81±0,78
<b>MONO10<sup>3</sup>/uL</b>	0,025±0,02	0,155±0,02	0,12±0,028
<b>BASO10<sup>3</sup>/uL</b>	0,01±0,00	0,035±0,03	0,013±0,005
<b>NEUT 10<sup>3</sup>/uL</b>	0,48±0,02	1,72±0,74	2,08±1,11

WBC : Globule blanc, RBC : Globule rouge, HGB : Hémoglobine ; PLT : Plaquette, LYMPH : Lymphocyte, MO : Monocyte, BASO : Basophile, NEUT ; Neutrophile. Les données sont exprimées en moyenne ± SD, (n = 8). P>0,05, Non significatif.

#### **2.4 L'analyse biochimique :**

Les résultats du dosage biochimique sont présentés dans le tableau 19. L'administration orale quotidienne des extraits d'*E. guttatum* aux souris de tous les groupes ont provoqué une légère augmentation du cholestérol et des lipoprotéines de faible densité (LDL) par rapport aux souris du groupe témoin.

Concernant les taux d'aspartate aminotransférase (ASAT), il y avait une diminution non significative observée dans le groupe des souris traités avec l'extrait aqueux par rapport au groupe témoin. Alors qu'il avait une augmentation des niveaux d'ASAT dans le groupe des souris traitées avec l'extrait éthanolique. De même, les niveaux d'alanine aminotransférase (ALAT) du groupe des souris témoin et du groupe des souris traités avec l'extrait aqueux sont égaux.

Concernant les niveaux d'urées, il y avait une diminution non significative dans tous les groupes des souris traités avec les deux extraits d'*E. guttatum* par rapport aux souris témoins. Alors que pour le taux de créatinine, il y avait une augmentation dans le groupe des souris traités avec l'extrait éthanolique et une diminution dans le groupe des souris traités avec l'extrait aqueux.

Tableau 19: Effet de l'administration orale subaiguë des extraits de *E. guttatum* sur les paramètres biochimiques chez des souris suisses.

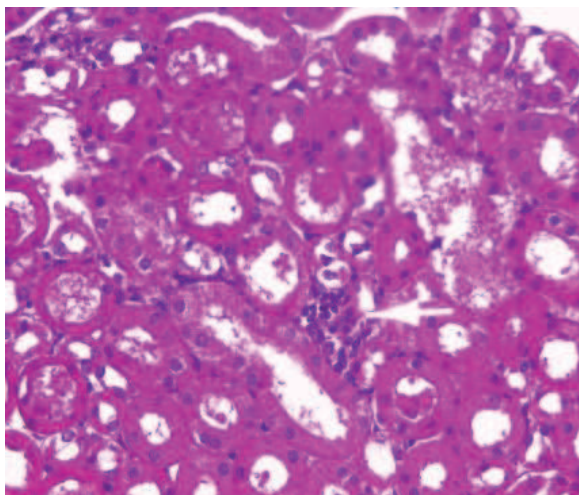
	Témoin	E. aqueux	E. éthanol
CHOL.T (G/L)	0,70± 0,01	1,00 ± 0,56	1,15± 0,16
TRIG (G/L)	0,83±0,30	1,77± 0,83	1,59± 0,66
LDL (G/L)	0,013±0,00	0,06± 0,01	0,14± 0,01
HDL (MMOL/L)	0,36±0,06	0,49± 0,15	0,46± 0,08
AST (UI/L)	184,2± 30,9	176,5± 51,6	218,5± 13,4
ALT (UI/L)	42,0± 11,74	55,3± 25,0	61,5± 29,8
CREAT (mG/L)	3,78± 0,27	3,3± 0,28	3,43± 0,41
UREE (G/L)	0,59± 0,07	0,34± 0,11	0,35± 0,08
GLU (G/L)	1,51± 0,23	1,49± 0,17	1,13± 0,14

Les données sont exprimées en moyenne ± SD, (n = 8). P>0,05, Non significatif.

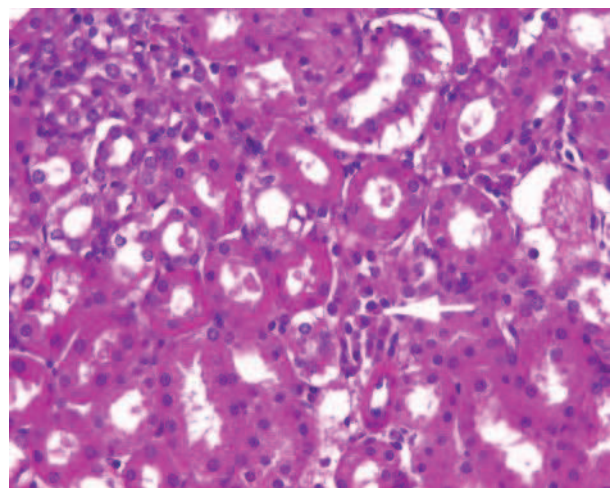
### 2.5 Etude histologique :

Des examens histopathologiques ont été effectués sur le rein, le foie et le pancréas des souris traités par l'extrait aqueux et éthanolique d'*E. guttatum* à la dose de 200mg/kg. Ainsi une histologie normale a été effectués.

Une histologie normale des reins de souris (glomérules, tubules et interstitium) a été trouvée dans le groupe témoin (Figure 11 (a)). Les souris traitées avec l'extrait aqueux (200mg/kg) de *E. guttatum* ont montré qu'une inflammation interstitielle minime (Figure 11(b)). Ces observations corroborent les résultats des analyses sériques. L'histologie des coupes de rein des souris traitées avec l'extrait éthanolique ont montré des modifications mineures ou légères, dont une inflammation interstitielle focale et des plasmocytes (Figure 11 (c)).

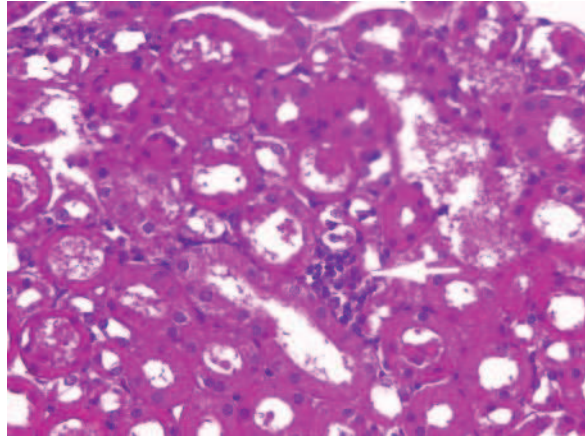


(a)



(b)

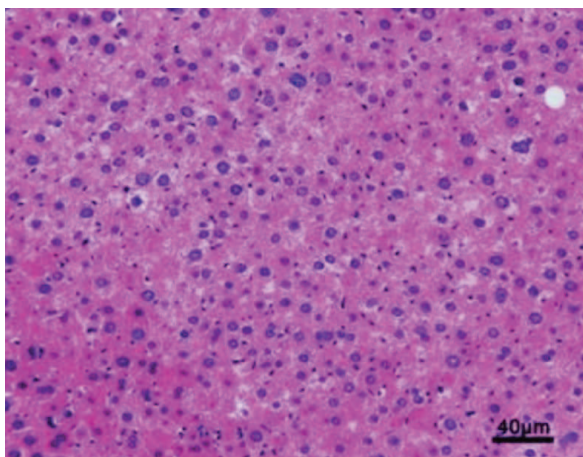




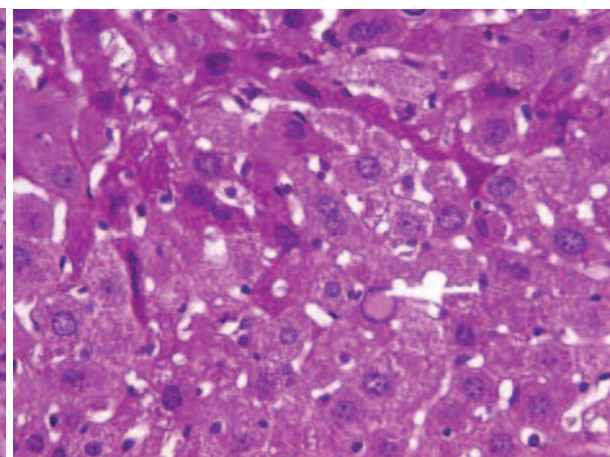
(c)

Figure 12: Effet des extraits d'*E. guttatum* sur l'histologie rénale chez la souris. Les coupes histologiques ont été visualisées par coloration à l'hématoxyline et à l'éosine (H et E) et observées au microscope optique (OPTIKA Microscopes, Italie) avec un grossissement  $\times 40$ . (a) Souris témoins, (b) souris traitées avec l'extrait aqueux d'*E. guttatum* (200 mg/kg), (c) souris traitées avec l'extrait éthanolique d'*E. guttatum*.

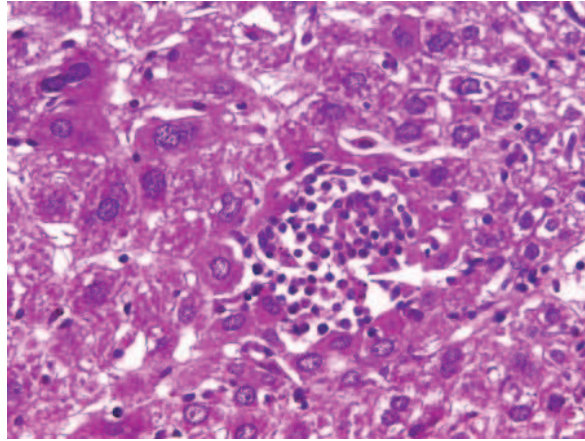
L'histologie des coupes de foie des souris témoins a montré une architecture hépatocellulaire normale ainsi que des cellules hépatiques bien conservées et des veines centrales visibles et aucune anomalie histologique (Figure 12(a)). Les coupes de foie prélevées des groupes traité avec l'extrait aqueux (200 mg/kg) ont montré certains changements histologiques, tels qu'une inflammation intralobulaire autour des veines centro-lobulaire (VCL) et une dégénérescence hydropique cytoplasmique des hépatocytes (Figure 12 (b)). En revanche, l'administration subaigue de l'extrait éthanolique a provoqué une inflammation intra lobulaire minimale, une dégénérescence hydropique du cytoplasme, montrant des cellules binucléées et un noyau un peu volumineux et des pigments noirâtres (Figure 12(c)).



(a)



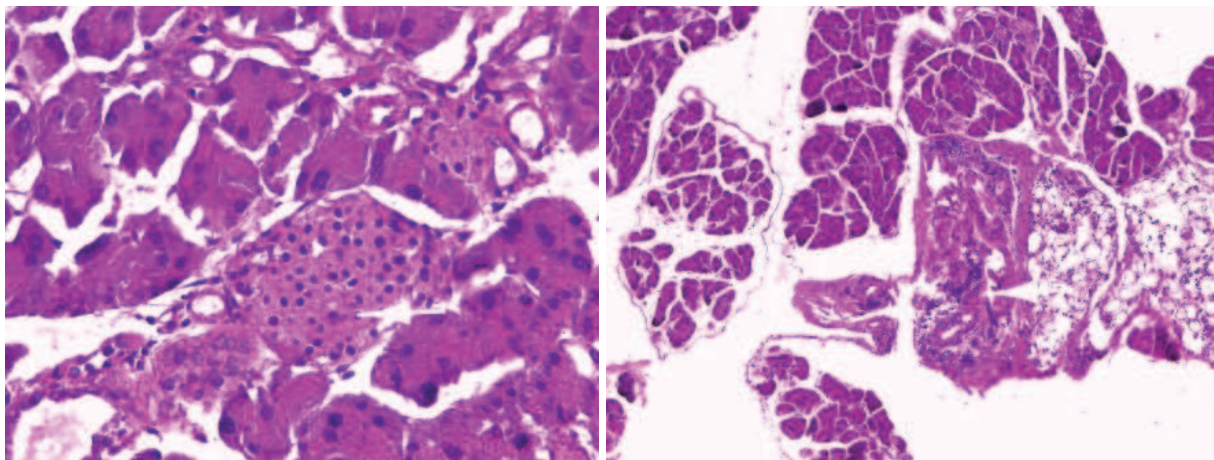
(b)



(c)

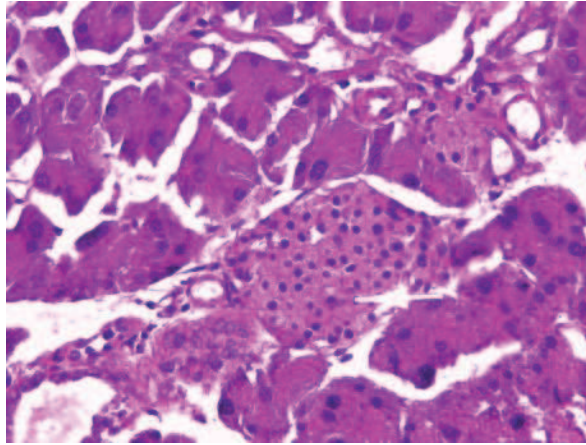
Figure 13: Histopathologie du foie. Les coupes histologiques ont été visualisées par coloration à l'hématoxyline et à l'éosine (H et E) et observées au microscope optique (OPTIKA Microscopes, Italie) avec un grossissement  $\times 40$ . (a) Souris témoins, (b) souris traitées avec l'extrait aqueux d'*E. guttatum* (200 mg/kg), et (c) souris traitées avec l'extrait éthanolique d'*E. guttatum*.

Le pancréas des souris normale a montré des acini pancréatiques (PA) présentant un aspect histologique normal et des espaces inter-acini et interlobulaires normaux (Figure 13(a)). L'histologie des coupes de pancréas des souris traitées avec l'extrait aqueux (200mg/kg) n'a montré qu'une inflammation intra pancréatique (Figure 13 (b)). Également, les coupes de pancréas des souris traitées avec l'extrait éthanolique n'a indiqué qu'une inflammation minimale de type intra lobulaire focale (Figure 13 (c)).



(a)

(b)



(c)

Figure 14: Histopathologie du pancréas. Les coupes histologiques ont été visualisées par coloration à l'hématoxyline et à l'éosine (H et E) et observées au microscope optique (OPTIKA Microscopes, Italie) avec un grossissement  $\times 40$ . (a) Souris témoins, (b) souris traitées avec l'extrait aqueux d'*E. guttatum* (200 mg/kg), et (c) souris traitées avec l'extrait éthanolique d'*E. guttatum*.

### III. Discussion :

Actuellement, les plantes médicinales sont connues par leurs effets pharmacologiques, on sait moins de chose sur la toxicité potentielle de leurs substances biologiquement actives (Célia et al., 2017; Benrahou et al., 2022). L'étude de la toxicité aiguë examine les effets néfastes qui se provoquent dans un court terme après administration d'une dose unique d'un produit testée. Ces essais se fait généralement sur des rongeurs et se réalise au début du développement d'un nouveau substance afin de donner des informations sur sa toxicité (Yang *et al.*, 2019). La présente étude montre que l'extrait aqueux et éthanolique d'*E. guttatum* ne modifie pas le comportement général et ne provoque pas la mort des souris jusqu'à la dose 2000mg/kg. D'après la classification de l'OCDE, la  $DL_{50}$  étant supérieure à 2 g/Kg, cette plante peut être considérée comme ne présentant pas de toxicité aiguë.

Les tests de toxicité à dose répétée fournissent des informations sur les effets toxiques, l'identification des organes cibles, les effets sur la physiologie animale, l'hématologie, le profil biochimique et l'histopathologie. Ces tests sont exigés par les agences réglementaires pour caractériser le potentiel toxicologique de toute substance (OECD, 2008). Dans cette étude, lors d'une exposition subaiguë, aucun décès et aucun signe clinique d'effets toxiques locaux ou systémiques n'ont été observés.

Les changements de poids corporel ont été utilisés comme un indicateur important pour évaluer les effets indésirables des produits (Vahalia et al., 2011; El Hilaly et al., 2004). Dans notre étude, il y a eu une augmentation normale progressive du poids corporel moyen des groupes traités comme du groupe témoin. De plus, la différence de gain de poids entre le groupe témoin et les groupes traités par les extraits à la dose de 200 mg/kg était statistiquement non significative. Cela indique que les extraits n'ont pas affecté l'appétit ni d'effets indésirables sur la croissance des animaux. Selon Raina et al., (2015), les poids des organes sont des marqueurs de l'état de bien-être pathologique et physiologique des animaux. Lorsque des produits à base des plantes sont ingérés, ils peuvent être toxiques pour les organes vitaux comme les reins, le foie et le pancréas en raison de leurs divers rôles dans le corps humain. Sur la base des résultats des poids des organes, il n'y a eu pas eu de changement significatif du poids des organes vitaux (foie, reins et pancréas) des deux groupes traités par rapport au groupe témoin. Des études antérieures ont montré que les paramètres hématologiques étaient très sensibles et pouvaient être utilisés comme indicateurs fiables pour déterminer l'intrusion de substances toxiques (Rahman, 2001). L'anémie consécutive à l'administration d'un produit peut causer une hémolyse et/ou à une inhibition de l'hématopoïèse par les composants bioactifs de l'extrait, ainsi qu'à une diminution des paramètres hématologiques (Wu et al., 2018). En outre, le sang est le principal véhicule responsable de la distribution des nutriments et des substances étrangers dans l'organisme. C'est pour cela, les constituants du sang tels que les érythrocytes, les leucocytes, les plaquettes et l'hémoglobine sont exposés à des doses élevées des toxines (Mukinda and Syce, 2007; Li et al., 2010). L'administration subaiguë des extraits d'*E. guttatum* a provoqué une élévation des globules blancs, plaquette, lymphocytes, monocytes, basophile et neutrophile dans les deux groupes. Ces résultats suggèrent que *E. guttatum* contient des molécules bioactives qui ont un pouvoir amplificateur de la réponse immunitaire en augmentant le nombre des globules blancs (Atsamo et al., 2011). Les résultats n'ont pas montré un changement significatif dans le taux des globules rouges et d'hémoglobine. Cela indique que les extraits peuvent ne pas contenir des substances toxiques susceptible de provoquer une anémie ou d'autres anomalies. Les fonctions hépatique et rénale sont cruciales, l'une étant utilisée pour le métabolisme de l'ingestion et l'autre pour l'excrétion des déchets, respectivement (Kimbonguila et al., 2019). Pour évaluer la toxicité de tout nouveau composé, il est indispensable de connaître l'état de ces deux organes vitaux, qui peut être vérifié par estimation biochimique (Sureshkumar et al., 2018). Dans cette étude, des tests de la fonction hépatique et de la fonction rénale ont été réalisés. Les résultats obtenus ont montré une légère augmentation non significative des taux de cholestérol total, triglycérides, de LDL et de HDL chez les souris

traitées avec les deux extraits d'*E. guttatum* à la dose 200mg/kg. De plus, Une élévation des niveaux de TG, LDL et de cholestérol peut entraîner un dysfonctionnement métabolique hépatique (Nassir *et al.*, 2015). En revanche, les taux sériques d'ASAT et d'ALAT chez les souris traitées avec l'extrait aqueux étaient statistiquement inférieurs par rapport au témoin. En effet, l'élévation anormale des enzymes hépatiques (ALT et AST) est liée à des lésions hépatiques ou à une altération du flux biliaire. L'ALT est une enzyme spécifique de foie, se libère dans le sang lorsqu'une cellule est endommagée ou lésée. L'AST est une enzyme qui se trouve principalement dans les globules rouges, les muscles cardiaques, squelettiques et les reins (Adewale *et al.*, 2016; Ozer *et al.*, 2008). En outre, une étude réalisée sur la partie aérienne d'*E. guttatum* a montré qu'à fortes doses (2000mg/kg et 5000mg/kg) l'extrait aqueux n'entraînait aucune modification des taux de paramètres biochimiques tels que l'aspartate aminotransférase (AST), l'alanine aminotransférase (ALT), l'urée, la créatinine, le cholestérol, les triglycérides et la glycémie, par rapport au groupe témoin (Naceiri Mrabti *et al.*, 2021). Ces données confirment que l'extrait aqueux d'*E. guttatum* a un effet hépato protecteur et néphroprotecteur.

La fonction rénale peut être évaluée par des modifications de la créatinine, urée et de glucose, et des augmentations de ces paramètres indiquent des lésions et une altération du mécanisme de filtration rénale (Wasan *et al.*, 2001; Taghizadeh *et al.*, 2017). Dans notre étude, le taux de créatinine chez les souris traitées avec l'extrait aqueux et éthanolique sont restées dans les intervalles de normalités. Les valeurs moyennes de l'urée et de glucose ont été faible dans les deux groupes traités par rapport au témoin. Ces résultats indiquent que *E. guttatum* n'a pas d'effet négatif mais semble plutôt avoir un effet protecteur sur le rein. Selon les résultats biochimiques, il était raisonnable de supposer que l'administration subaiguë peuvent provoquer une légère toxicité pour les organes vitaux. Les photomicrographies des coupes de foie, rein et pancréas des souris traités par voie orale avec les extraits d'*E. guttatum* à la dose de 200 mg/kg pendant 28 jours ont montré des changements histologiques tels qu'un foyer inflammatoire mononucléé intra lobulaire et autour des veines centro-lobulaire (VCL), une dégénérescence hydropique cytoplasmique des hépatocytes, des cellules binucléées et un noyau un peu volumineux, une lésion glomérulaire, une inflammation interstitielle, des plasmocytes dans l'interstitium et une inflammation intra pancréatique. Aussi les pigments noirâtres n'ont été observée que dans le groupe traité avec l'extrait éthanolique. A la lumière de cet écart entre les résultats biochimiques et histologiques de foie, on peut dire que l'extrait éthanolique présente une hépatotoxicité. Par conséquent des études sur les constituants de l'extrait éthanolique d'*E. guttatum* sont nécessaires pour identifier les composés responsables de la toxicité de foie.

---

## **Conclusion générale et perspectives**

---

Dans l'ensemble, les résultats obtenus dans cette présente étude réalisées *in vitro*, *in situ* et *in vivo* chez les souris et les rats normaux et diabétiques montrent que les extraits aqueux et éthanoliques des plantes *E. resinifera*, *E. spinosus* et *E. guttatum* peuvent améliorer l'homéostasie glucidique et lipidique en abaissant l'hyperglycémie et l'hyperlipémie postprandiale, la glycémie à jeun, favorisant ainsi à l'atténuation des marqueurs du stress oxydant qui aggrave le diabète de type 2.

Globalement, l'évaluation du contenu des composés phénoliques totaux en adoptant la méthode de Folin-ciocalteau révèle la présence des quantités importantes en polyphénols dans les extraits aqueux et éthanoliques des trois plantes, en particulier la plante *E. guttatum*. De même nous avons dosé les flavonoïdes par la méthode d' $\text{AlCl}_3$  qui nous mène à conclure que ces extraits contiennent des concentrations importantes en flavonoïdes. En outre, les extraits éthanoliques des plantes *E. spinosus* et *E. guttatum* présentent la teneur la plus élevée en flavonoïdes. Le profil antiradicalaire et antioxydant des différents extraits est déterminé *in vitro* par différentes méthodes qui sont l'activité antiradicalaire du DPPH, la capacité inhibitrice du radical ABTS, le piégeage du peroxyde d'hydrogène  $\text{H}_2\text{O}_2$  et l'inhibition de l'enzyme xanthine oxydase. Avec le test DPPH et ABTS nous avons trouvé que les extraits des trois plantes possèdent un effet antiradicalaire, et elle s'est avéré que la meilleure activité est obtenue avec les extraits de la plante *E. guttatum*. Ces deux mêmes extraits ont le pouvoir à piéger le peroxyde d'hydrogène et à inhiber l'activité enzymatique de l'enzyme xanthine oxydase qui présente une source de production des radicaux superoxydes et de peroxyde. De même, nous avons évalué *in vitro* l'effet antihyperglycémique et antihyperlipidique postprandiale, respectivement sur les enzymes  $\alpha$ -amylase,  $\alpha$ -glucosidase et lipase et *in vivo* l'effet antihyperglycémique postprandiale en utilisant le test de tolérance à l'amidon. Nos résultats ont montré que les extraits possèdent un effet inhibitrice efficace contre les enzymes clés. En effet, *E. resinifera* a montré l'activité inhibitrice la plus importante de l'enzyme  $\alpha$ -amylase, alors que les deux extraits d'*E. guttatum* été la plus active dans l'inhibition de l'enzyme  $\alpha$ -glucosidase et bien que pour l'enzyme lipase il s'est révélé que les extraits éthanoliques des trois plantes possèdent un effet inhibiteur qui est considérablement supérieure a celle des extraits aqueux. D'autre part, les différents extraits ont atténué le pic hyperglycémique (à 60min après la surcharge en amidon) chez les rats normaux, nous avons noté que les extraits d'*E. guttatum* ont atténué fortement l'hyperglycémie postprandiale que les extraits des plantes *E. resinifera* et *E. spinosus*. Ces résultats nous ont orientés dans le choix des extraits d'*E. guttatum* pour étudier leurs mécanismes d'action à l'aide du test d'absorption intestinale du glucose *in situ* pour vérifier si ces effets est dû en partie à

l'inhibition de l'absorption intestinale du D-glucose, ainsi pour évaluer leurs effets sur le marqueur du stress oxydant MDA et les enzymes antioxydant (CAT et SOD), les paramètres physiologiques (biochimiques et hématologiques) chez un modèle des souris rendues diabétiques par HFD-STZ. En effet, le test de l'absorption intestinale du glucose *in situ* montrent que les extraits inhibent de manière significative l'absorption du D- glucose au niveau de la partie jéjunale de l'intestin. Cette propriété antihyperglycémiant des extraits peut appuyer l'hypothèse de l'inhibition des enzymes clés et ou le blocage des transporteurs du glucose SGLT1 et GLUT2. En outre, l'hyperglycémie observé chez les souris diabétiques est significativement corrigée après l'administration orale des extraits de la plante *E. guttatum* (200mg/kg) et la metformine. Des études ont montré que le diabète favorise l'inflammation, ceci par l'activation des médiateurs pro-inflammatoire. Ces dernières déclenche l'activation et la migration des cellules immunitaires vers les sites d'inflammation. Le traitement des souris diabétiques HFD-STZ par les extraits et la metformine ont atténué légèrement l'augmentation du taux des globules blancs, globules rouges, hémoglobines, plaquettes et des lymphocytes par rapport au groupe diabétique contrôle. En effet, ces résultats suggèrent que les extraits peut présenter aussi un effet anti-inflammatoire. En ce qui concerne le bilan lipidique, les extraits ont réduit légèrement l'augmentation du taux du cholestérol total et du LDL chez les souris diabétiques. Ces effets antihyperlipidique peut être rendu à l'activation du récepteur nucléaire PPAR qui permet le stockage des lipides et a l'inhibition de la lipoprotéine lipase qui digère les TG en acide gras et en glycérol.

Le foie et les reins sont parmi les principaux organes impliqués dans la régulation des voies métaboliques. Le diabète provoque aussi des altérations au niveau des cellules hépatique et rénales, en augmentant le taux des transaminases ASAT et ALAT et des biomarqueurs rénaux tels que l'urée et la créatinine provoquent une insuffisance hépatique et rénale. Ces anomalies induites par l'agent diabétogène est significativement corrigée par l'administration des extraits à la dose de 200mg/kg, en diminuant légèrement le taux d'ASAT, ALAT au niveau du foie et atténuant significativement le taux de la créatinine et l'urée chez les souris. Ces résultats suggèrent que les extraits d'*E. guttatum* ont un effet protecteur sur les fonctions rénales.

Le diabète est accompagné aussi par l'augmentation de la production des radicaux libres et par la diminution des enzymes antioxydants (SOD et CAT). Dans cette étude, le traitement des souris diabétiques par les extraits et la metformine ont diminué significativement le taux du marqueur de stress oxydant MDA au niveau du foie, rein et pancréas chez les souris et ont augmenté la production des enzymes antioxydants. En effet, ces quantifications *in vivo* ont



montré des résultats pertinents, qui serait impliqué dans la protection des cellules pancréatiques, hépatiques et rénales des souris contre le stress oxydatif induite par STZ-HFD. Enfin, les résultats de test de la toxicité aigüe montrent que les extraits des trois plantes ne sont pas toxiques, même à la dose de 2g/kg, ils n'ont induit aucun signe de toxicité ni de mortalité durant toute la période de surveillance. En outre, l'administration orale des extraits d'*E. guutatum* (200mg/kg) à long terme (28 jours) a montré certains changements histologiques au niveau du foie tels qu'une inflammation intra-lobulaire et une dégénérescence hydropique cytoplasmique des hépatocytes. En conclusion, les extraits aqueux et éthanoliques des plantes *E. resinifera*, *E. spinosus* et *E. guttatum* ont des effets sur le piégeage des radicaux libres, ainsi que sur l'hyperglycémie et l'hyperlipémie postprandiale. Le traitement par les extraits d'*E. guttatum* ont permis la protection de l'architecture des cellules pancréatiques béta contre les dommages induite par les espèces réactives de l'oxygène et ont amélioré le métabolisme glucidique et lipidique chez les souris.

Pour nos perspectives, on envisage d'identifier les composés majoritaires et minoritaires des extraits, et tester la molécule active sur un modèle animal pour obtenir une vue plus approfondie sur leur mécanisme d'action. D'autre, effectuer d'autres tests (*ex-vivo*, *in vitro* et *in vivo*) afin d'explorer les voies métaboliques possibles impliqués dans la captation et l'utilisation des glucides et des lipides contribuant au maintien de l'équilibre homéostatique.

Également, il serait intéressant de poursuivre des expérimentations sur la toxicité en vue de bien vérifié et confirmé l'innocuité de ces extraits.

A vu de ces résultats nous proposons aussi d'étudier l'effet synergique de ces trois plantes testées.

## Références:

- Abderrazak EL ALAMI, Abderrazak FATTAH, Rachida Aboufatima, A. C. (2020) 'Ethnopharmacological Survey of Euphorbia resinifera in the Atlas Mountains of Azilal- Beni Mellal, Morocco', *International Journal of Pharma Sciences and Research*, 11(10), pp. 240–245.
- Abdul, H. T., A., K. M. and Mohammed, I. (2016) 'In vivo antioxidant and lipid peroxidation effect of various extracts from aerial parts of Chomelia asiatica (Linn) in rat fed with high fat diet', *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 10(38), pp. 810–816. doi: 10.5897/ajpp2016.4673.
- Adewale, O. B. *et al.* (2016) 'Evaluation of acute and subacute toxicity of aqueous extract of Crassocephalum rubens leaves in rats', *Journal of Ethnopharmacology*, 188, pp. 153–158. doi: 10.1016/j.jep.2016.05.003.
- Aebi, H. (1984) 'Catalase in Vitro', *Methods in Enzymology*, 105(C), pp. 121–126. doi: 10.1016/S0076-6879(84)05016-3.
- Ahmed, A. M. (2002) 'History of diabetes mellitus', *Saudi Medical Journal*, 23(4), pp. 373–378. doi: 10.4093/kcd.2009.10.3.176.
- Al-Malki, A. L. (2019) 'Shikimic acid from Artemisia absinthium inhibits protein glycation in diabetic rats', *International Journal of Biological Macromolecules*, 122, pp. 1212–1216. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2018.09.072.
- Alam, M. N., Bristi, N. J. and Rafiquzzaman, M. (2013) 'Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity', *Saudi Pharmaceutical Journal*, 21(2), pp. 143–152. doi: 10.1016/j.jsps.2012.05.002.
- Alarcón, M. *et al.* (2012) 'Genetic diversity of mountain plants: Two migration episodes of Mediterranean Erodium (Geraniaceae)', *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 63(3), pp. 866–876. doi: 10.1016/j.ympev.2012.02.031.
- Asmat Ullah, Abad Khan, I. K. (2016) 'Diabetes mellitus and oxidative stress-- A concise review', *Saudi Pharmaceutical*, 24, pp. 547–553.
- Atsamo, A. D. *et al.* (2011) 'Acute and subchronic oral toxicity assessment of the aqueous extract from the stem bark of Erythrina senegalensis DC (Fabaceae) in rodents', *Journal of Ethnopharmacology*, 134(3), pp. 697–702. doi: 10.1016/j.jep.2011.01.023.

- Badaoui, M. *et al.* (2022) ‘Antianxiety and antidepressant effects of aqueous latex extract of *Euphorbia resinifera*’, *Bangladesh Journal of Pharmacology*, 17(2), pp. 32–41. doi: 10.3329/bjp.v17i2.59258.
- Balcerzyk, Aneta and Chriett, Sabrina and Pirola, L. (2017) ‘Insulin action, insulin resistance, and their link to histone acetylation’, *Handbook of nutrition, diet, and epigenetics*, V. Patel and V. Preedy, Editors, Springer International Publishing: Cham, pp. 1–22.
- Bansal, P. *et al.* (2012) ‘Antidiabetic, antihyperlipidemic and antioxidant effects of the flavonoid rich fraction of *Pilea microphylla* (L.) in high fat diet/streptozotocin-induced diabetes in mice’, *Experimental and Toxicologic Pathology*, 64(6), pp. 651–658. doi: 10.1016/j.etp.2010.12.009.
- Beauchamp, C. and Fridovich, I. (1971) ‘Superoxide dismutase: Improved assays and an assay applicable to acrylamide gels’, *Analytical Biochemistry*, 44(1), pp. 276–287. doi: 10.1016/0003-2697(71)90370-8.
- Beejmohun, V. *et al.* (2014) ‘Acute effect of Ceylon cinnamon extract on postprandial glycemia: Alpha-amylase inhibition, starch tolerance test in rats, and randomized crossover clinical trial in healthy volunteers’, *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 14(1), pp. 1–11. doi: 10.1186/1472-6882-14-351.
- Belhaj, S. *et al.* (2020) ‘Ethnopharmacological and ethnobotanical study of medicinal plants in the high atlas central, Morocco’, *Ethnobotany Research and Applications*, 20, pp. 1–40. doi: 10.32859/era.20.18.1-40.
- Benjamaa, R. *et al.* (2020) ‘Relationship among antibiotic residues and antibacterial activity of the endemic spurge honey (*Euphorbia Resinifera* o. Berg) from morocco’, *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 32(11), pp. 795–807. doi: 10.9755/ejfa.2020.v32.i11.2190.
- Benrahou, K., Doudach, L. and Guourrami, O. El (2022) ‘Acute toxicity , phenol content , antioxidant and postprandial anti-diabetic activity of *Echinops spinosus* extracts’, *International Journal of Secondary Metabolite*, 9(1), pp. 91–102.
- Bettiga, A. *et al.* (2019) ‘The modern western diet rich in advanced glycation end-products (AGEs): An overview of its impact on obesity and early progression of renal pathology’, *Nutrients*, 11(8). doi: 10.3390/nu11081748.
- Bitew, H. and Hymete, A. (2019) ‘The genus *Echinops*: Phytochemistry and biological

activities: A review', *Frontiers in Pharmacology*, 10(November), pp. 1–29. doi: 10.3389/fphar.2019.01234.

Bnouham, M. *et al.* (2002) 'Medicinal plants used in the treatment of diabetes in Morocco', *Internation journal of Diabetes & Metabolism*, 10(April), pp. 33–50.

Boizot, Nathalie and Charpentier, J.-P. (2006) 'Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier', *Le Cahier des Techniques de l'INRA, Numéro spécial 2006: Méthodes et outils pour l'observation et l'évaluation des milieux forestiers, prairiaux et aquatiques*, p. 79\_82.

Bonora, E. and A.DeFronzo, R. (2018) *Diabetes. Epidemiology, Genetics, Pathogenesis, Diagnosis, Prevention, and Treatment*, Springer.

Bouabid, K. *et al.* (2020) 'Phytochemical investigation, in vitro and in vivo antioxidant properties of aqueous and organic extracts of toxic plant: *Atractylis gummifera* L.', *Journal of Ethnopharmacology*, 253(February). doi: 10.1016/j.jep.2020.112640.

Bouattour, E. *et al.* (2016) 'Hexane Extract of *Echinops spinosissimus* Turra subsp. *spinosus* from Tunisia: A Potential Source of Acetylated Sterols – Investigation of its Biological Activities', *Chemistry and Biodiversity*, 13(12), pp. 1674–1684. doi: 10.1002/cbdv.201600118.

Boullard, B. (2001) *Plantes médicinales du monde: croyances et réalités*. De Boeck Secundair.

Bouzabata, A. *et al.* (2022) 'HR-LC-ESI-Orbitrap-MS-Based Metabolic Profiling Coupled with Chemometrics for the Discrimination of Different *Echinops spinosus* Organs and Evaluation of Their Antioxidant Activity', *Antioxidants*, 11(3). doi: 10.3390/antiox11030453.

Bouzabata, A., Mahomoodally, F. and Tuberoso, C. (2018) 'Ethnopharmacognosy of *Echinops spinosus* L. in North Africa : a mini review', *JOURNAL OF COMPLEMENTARY MEDICINE RESEARCH*, 8(1), pp. 40–52.

Brownlee, M. (2001) 'Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications', *Nature*, 414, pp. 813--820.

Brownlee, M. (2005) 'The pathobiology of diabetic complications: A unifying mechanism', *Diabetes*, 54(6), pp. 1615–1625. doi: 10.2337/diabetes.54.6.1615.

Buse, M. G. (2006) 'Hexosamines, insulin resistance, and the complications of diabetes:

Current status', *American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism*, 290(1). doi: 10.1152/ajpendo.00329.2005.

Butterfield, D. A. *et al.* (2002) 'Nutritional approaches to combat oxidative stress in Alzheimer's disease', *Journal of Nutritional Biochemistry*, 13(8), pp. 444–461. doi: 10.1016/S0955-2863(02)00205-X.

Cai, Y. *et al.* (2004) 'Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer', *Life Sciences*, 74, pp. 2157–2184. doi: 10.1016/j.lfs.2003.09.047.

Célia, O. *et al.* (2017) 'Toxicité aigue et subaigue des extraits méthaloniques d'*Inula viscosa* L. (*Dittrichia viscosa* L.)', *Revue Agrobiologia*, 7(2), pp. 562–573.

Chakir, A. *et al.* (2011) 'Physicochemical properties of some honeys produced from different plants in Morocco', *Arabian Journal of Chemistry*, 9, pp. S946–S954. doi: 10.1016/j.arabjc.2011.10.013.

Chakrabarti, R. *et al.* (2014) 'Screening of nine herbal plants for in vitro  $\alpha$ -amylase inhibition', *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 7(4), pp. 84–89.

Chater, P. I. *et al.* (2016) 'Inhibitory activity of extracts of Hebridean brown seaweeds on lipase activity', *Journal of Applied Phycology*, 28(2), pp. 1303–1313. doi: 10.1007/s10811-015-0619-0.

Chaudhury, A. *et al.* (2017) 'Clinical Review of Antidiabetic Drugs: Implications for Type 2 Diabetes Mellitus Management', *Frontiers in Endocrinology*, 8(January). doi: 10.3389/fendo.2017.00006.

Chikara, G. *et al.* (2018) 'A Narrative Review of Potential Future Antidiabetic Drugs: Should We Expect More?', *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 33(2), pp. 121–131. doi: 10.1007/s12291-017-0668-z.

Chikezie, P. C., Ojiako, O. A. and Ogbuji, A. C. (2015) 'Oxidative stress in diabetes mellitus', *International Journal of Biological Chemistry*, 9(3), pp. 92–109. doi: 10.3923/ijbc.2015.92.109.

Cohen, N. and Marles, L. (2008) 'Type 2 diabetes', *Australian Doctor*, (20/JUNE), pp. 29–36.

COLETTE, Claude and Monnier, L. (2014) *Diabétologie*. Elsevier Masson.

- Cooper, D., Doucet, L. and Pratt, M. (2007) 'Phenolic compounds and antioxidant properties of arabinoxylan hydrolyzates from defatted rice bran', *Journal of Organizational Behavior*, 28(3), pp. 303–325. doi: 10.1002/j.
- Development, O. for E. C. and (2008) 'Test No. 407: repeated dose 28-day oral toxicity study in rodents'. OECD Publishing.
- Dewanto, Veronica et Wu, Xianzhong et Liu, R. H. (2002) 'Le maïs sucré transformé a une activité antioxydante plus élevée', *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, pp. 4959--4964.
- Djeridane, A. *et al.* (2006) 'Antioxidant activity of some algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds', *Food Chemistry*, 97(4), pp. 654–660. doi: 10.1016/j.foodchem.2005.04.028.
- Ben El Mostafa, S., Haloui, B. and Berrichi, A. (2001) 'Contribution à l'étude de la végétation steppique du Maroc oriental: Transect Jerrada - Figuig.', *Acta Botanica Malacitana*, 26, pp. 295–301. doi: 10.24310/abm.v26i0.7439.
- Elia, I. *et al.* (2015) 'Organ-Specific Cancer Metabolism and Its Potential for Therapy Ilaria: Adipokines and the Endocrine Role of Adipose Tissues', *Handbook of Experimental Pharmacology*, (January), pp. 251–263. doi: 10.1007/164.
- Eliza, J., Daisy, P. and Ignacimuthu, S. (2010) 'Antioxidant activity of costunolide and eremanthin isolated from *Costus speciosus* (Koen ex. Retz) Sm', *Chemico-Biological Interactions*, 188(3), pp. 467–472. doi: 10.1016/j.cbi.2010.08.002.
- Ennane, M. F. and Ejdali, M. R. (2016) 'Aromatic and medicinal plants of Morocco : Richness , diversity and threats Plantes aromatiques et médicinales du Maroc : Richesse , diversité et menaces', *Bulletin de l'Institut Scientifique, Rabat*, 38, pp. 27–42.
- F.Ponz, A. Ilundain and M, L. (1979) 'Method for successive absorptions with intestinal perfusion in vivo', *REVISTA ESPANOLA DE FISILOGIA*, 35, pp. 97–104.
- Fargion, S. *et al.* (2005) 'Iron and insulin resistance', *Alimentary Pharmacology and Therapeutics, Supplement*, 22(2), pp. 61–63. doi: 10.1111/j.1365-2036.2005.02599.x.
- Farmer, E. E. and Mueller, M. J. (2013) 'ROS-mediated lipid peroxidation and RES-activated signaling', *Annual Review of Plant Biology*, 64(February), pp. 429–450. doi: 10.1146/annurev-arplant-050312-120132.

- Fecka, I. and Cisowski, W. (2002) 'TLC determination of tannins and flavonoids in extracts from some erodium species using chemically modified stationary phases', *Journal of Planar Chromatography - Modern TLC*, 15(6), pp. 429–432. doi: 10.1556/JPC.15.2002.6.7.
- Fedorak, R. N. *et al.* (1991) 'Altered glucose carrier expression: Mechanism of intestinal adaptation during streptozocin-induced diabetes in rats', *American Journal of Physiology - Gastrointestinal and Liver Physiology*, 261(4 24-4). doi: 10.1152/ajpgi.1991.261.4.g585.
- Feng, J. *et al.* (2020) 'The role of JNK signaling pathway in obesity-driven insulin resistance', *Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy*, 13, pp. 1399–1406. doi: 10.2147/DMSO.S236127.
- Fiz, O. *et al.* (2006) 'Phylogenetic relationships and evolution in *Erodium* (Geraniaceae) based on trnL-trnF sequences', *Systematic Botany*, 31(4), pp. 739–763. doi: 10.1600/036364406779695906.
- Fiz, O. *et al.* (2007) 'Phylogenetic Relationships and Evolution in *Erodium* (Geraniaceae) based on trnL-trnF Sequences', *Systematic Botany*, 31(4), pp. 739–763. doi: 10.1600/036364406779695906.
- Frühbeck, G. *et al.* (2014) *Regulation of adipocyte lipolysis*, *Nutrition Research Reviews*. doi: 10.1017/S095442241400002X.
- Ganeshpurkar, A. and Saluja, A. (2020) 'The pharmacological potential of catechin', *Indian Journal of Biochemistry and Biophysics*, 57(5), pp. 505–511.
- Gao, D. *et al.* (2010) 'The effects of palmitate on hepatic insulin resistance are mediated by NADPH oxidase 3-derived reactive oxygen species through JNK and p38 MAPK pathways', *Journal of Biological Chemistry*, 285(39), pp. 29965–29973. doi: 10.1074/jbc.M110.128694.
- Gathercole, L. L., Morgan, S. A. and Tomlinson, J. W. (2013) *Hormonal Regulation of Lipogenesis*. 1st edn, *Vitamins and Hormones*. 1st edn. Elsevier Inc. doi: 10.1016/B978-0-12-407766-9.00001-8.
- Gauthier, M. S. and Ruderman, N. B. (2010) 'Adipose tissue inflammation and insulin resistance: All obese humans are not created equal', *Biochemical Journal*, 430(2), pp. 1–4. doi: 10.1042/BJ20101062.
- George, P. (2011) 'Concerns regarding the safety and toxicity of medicinal plants - An overview', *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 1(6), pp. 40–44.

Gerich, J. E. (2000) 'Physiology of glucose homeostasis', *Diabetes, Obesity and Metabolism*, 2(6), pp. 345–350. doi: 10.1046/j.1463-1326.2000.00085.x.

Ghani, M. A. *et al.* (2017) 'Measurement of antioxidant activity with the thiobarbituric acid reactive substances assay', *Food Chemistry*, 230, pp. 195–207. doi: 10.1016/j.foodchem.2017.02.127.

Gheffour Kamila, Boucherit Kebir, Boucherit Otmani Zahia, A. R. (2018) 'In Vitro Antihemolytic Activity of Echinops spinosus Tannins Extracts against Human Erythrocytes', *Asian Journal of Pharmaceutics*, 12, p. S1032.

Gheibi, S., Kashfi, K. and Ghasemi, A. (2017) 'A practical guide for induction of type-2 diabetes in rat: Incorporating a high-fat diet and streptozotocin', *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 95(24), pp. 605–613. doi: 10.1016/j.biopha.2017.08.098.

Giwa, A. M. *et al.* (2020) 'Current understandings of the pathogenesis of type 1 diabetes: Genetics to environment', *World Journal of Diabetes*, 11(1), pp. 13–25. doi: 10.4239/wjd.v11.i1.13.

Granato, D. *et al.* (2018) 'Antioxidant activity, total phenolics and flavonoids contents: Should we ban in vitro screening methods?', *Food Chemistry*, 264(March), pp. 471–475. doi: 10.1016/j.foodchem.2018.04.012.

Gregory, J. M., Moore, D. J. and Simmons, J. H. (2013) 'Type 1 diabetes mellitus', *Pediatrics in Review*, 34(5), pp. 203–215. doi: 10.1542/pir.34-5-203.

Griffin, B. A. (2013) 'Lipid metabolism', *Surgery (United Kingdom)*, 31(6), pp. 267–272. doi: 10.1016/j.mpsur.2013.04.006.

Guardado-Mendoza, R. *et al.* (2013) 'The role of nateglinide and repaglinide, derivatives of meglitinide, in the treatment of type 2 diabetes mellitus', *Archives of Medical Science*, 9(5), pp. 936–943. doi: 10.5114/aoms.2013.34991.

Guo, X. xuan *et al.* (2018) 'Stability of a type 2 diabetes rat model induced by high-fat diet feeding with low-dose streptozotocin injection', *Journal of Zhejiang University: Science B*, 19(7), pp. 559–569. doi: 10.1631/jzus.B1700254.

Gurib-Fakim, A. (2006) 'Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of tomorrow', *Molecular Aspects of Medicine*, 27(1), pp. 1–93. doi: 10.1016/j.mam.2005.07.008.



Hamden, K. *et al.* (2011) 'Inhibitory potential of omega-3 fatty and fenugreek essential oil on key enzymes of carbohydrate-digestion and hypertension in diabetes rats', *Lipids in Health and Disease*, 10, pp. 1–10. doi: 10.1186/1476-511X-10-226.

Hamza, G. *et al.* (2018) 'Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities data of three plants from Tunisia region: *Erodium glaucophyllum*, *Erodium hirtum* and *Erodium guttatum*', *Data in Brief*, 19, pp. 2352–2355. doi: 10.1016/j.dib.2018.07.005.

Hanane, F., Abdellah, E.-C. and Abdeslam, L. (2014) 'In vitro antioxidant and antibacterial activity of the root extract of *Euphorbia resinifera*', *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 2(5), pp. 161–163. Available at: <https://www.researchgate.net/publication/335827965>.

Hedrington, M. S. and Davis, S. N. (2019) 'Considerations when using alpha-glucosidase inhibitors in the treatment of type 2 diabetes', *Expert Opinion on Pharmacotherapy*, 20(18), pp. 2229–2235. doi: 10.1080/14656566.2019.1672660.

Hegazy, M. G. A. *et al.* (2018) 'Biological activity of *Echinops spinosus* on inhibition of paracetamol-induced renal inflammation', *Biochemistry and Cell Biology*, 97(2), pp. 176–186. doi: 10.1139/bcb-2018-0212.

El Hilaly, J., Israili, Z. H. and Lyoussi, B. (2004) 'Acute and chronic toxicological studies of *Ajuga iva* in experimental animals', *Journal of Ethnopharmacology*, 91(1), pp. 43–50. doi: 10.1016/j.jep.2003.11.009.

Huang, Bo et Ke, Haibin et He, Jingsheng et Ban, Xiaoquan et Zeng, Hong et Wang, Y. (2011) 'Les extraits de *Halenia elliptica* présentent des propriétés antioxydantes in vitro et in vivo', *Toxicologie alimentaire et chimique*, 49, pp. 185–190.

Hurre, S. and Hsu, W. H. (2017) 'The etiology of oxidative stress in insulin resistance', *Biomedical Journal*, 40(5), pp. 257–262. doi: 10.1016/j.bj.2017.06.007.

Ingole, A. *et al.* (2021) 'A Review of the Pharmacological Characteristics of Vanillic Acid', *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, 11(2-S), pp. 200–204. doi: 10.22270/jddt.v11i2-s.4823.

Irondi, E. A. *et al.* (2016) 'Phenolics extract of *Tetrapleura tetraptera* fruit inhibits xanthine oxidase and Fe<sup>2+</sup>-induced lipid peroxidation in the kidney, liver, and lungs tissues of rats in vitro', *Food Science and Human Wellness*, 5(1), pp. 17–23. doi: 10.1016/j.fshw.2015.11.001.

J. Haleng, J. Pincemail, J.O. Defraigne, c. cHarlier, J. P. cHaPelle (2007) 'Le stress oxydant', *Rev Med Liege*, 62 : 10(1), pp. 628–638.

Jarald, Edwin et Joshi, Siddaheeswar Balakrishnan et Jain, D. C. (2008) 'Diabetes Vs médicaments à base de plantes', *Revue iranienne de pharmacologie et de thérapeutique*, 7, pp. 97–0.

Jayachandran, M. *et al.* (2018) 'Isoquercetin ameliorates hyperglycemia and regulates key enzymes of glucose metabolism via insulin signaling pathway in streptozotocin-induced diabetic rats', *European Journal of Pharmacology*, 829, pp. 112–120. doi: 10.1016/j.ejphar.2018.04.015.

Johnson, A. M. F. and Olefsky, J. M. (2013) 'The origins and drivers of insulin resistance', *Cell*, 152(4), pp. 673–684. doi: 10.1016/j.cell.2013.01.041.

Kahn, S. E. (2001) 'Clinical, review 135: The importance of  $\beta$ -cell failure in the development and progression of type 2 diabetes', *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 86(9), pp. 4047–4058. doi: 10.1210/jc.86.9.4047.

Kawanami, D. *et al.* (2016) 'Incretin-based therapies for diabetic complications: Basic mechanisms and clinical evidence', *International Journal of Molecular Sciences*, 17(8). doi: 10.3390/ijms17081223.

Kee, K. T. *et al.* (2013) 'Screening culinary herbs for antioxidant and  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activities', *International Journal of Food Science and Technology*, 48(9), pp. 1884–1891. doi: 10.1111/ijfs.12166.

Kerru, N. *et al.* (2018) 'Current anti-diabetic agents and their molecular targets: A review', *European Journal of Medicinal Chemistry*, 152, pp. 436–488. doi: 10.1016/j.ejmech.2018.04.061.

Kersten, S. (2001) 'Mechanisms of nutritional and hormonal regulation of lipogenesis', *EMBO Reports*, 2(4), pp. 282–286. doi: 10.1093/embo-reports/kve071.

Kharroubi, A. T. (2015) 'Diabetes mellitus: The epidemic of the century', *World Journal of Diabetes*, 6(6), p. 850. doi: 10.4239/wjd.v6.i6.850.

Khedher, O. *et al.* (2021) 'Phenolic profile (HPLC-UV) analysis and biological activities of two organic extracts from *Echinops spinosissimus* Turra roots growing in Tunisia', *Natural Product Research*, 35(24), pp. 5786–5793. doi: 10.1080/14786419.2020.1837812.

- Khedher, O., Moussaoui, Y. and Salem, R. Ben (2014) 'Solvent effects on phenolic contents and antioxidant activities of the Echinops Spinus and the Limoniastrum Monopetalum', *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, 5(2), pp. 66–76.
- Kimbonguila, A. *et al.* (2019) 'Effect of Physical Treatment on the Physicochemical, Rheological and Functional Properties of Yam Meal of the Cultivar "Ngumvu" From Dioscorea Alata L. of Congo', *International Journal of Recent Scientific Research*, 10(October), pp. 30693–30695. doi: 10.24327/IJRSR.
- King, G. L. and Kikkawa, R. (2018) 'Amelioration of accelerated diabetic mesangial expansion by treatment with a PKC  $\square$  inhibitor in diabetic db / db mice , a rodent model for type 2', *The Faseb Journal*, pp. 439–447.
- Kooti, W. *et al.* (2016) 'The role of medicinal plants in the treatment of diabetes: a systematic review', *Electronic physician*, 8(January), pp. 1832–1842.
- Lawant, P. and Winthagen, D. (2001) 'Euphorbia resinifera portrayed in a manuscript herbal nearly fifteen hundred years ago ', *Bradleya*, 19(19), pp. 3–14. doi: 10.25223/brad.n19.2001.a3.
- Lawhorn, R. B. D. and G. T. (1978) 'Serum enzymes as indicators of chemically induced liver damage', *Drug and Chemical Toxicology*, 22(3), pp. 71–77.
- Lecleire, S. (2008) 'Digestion and absorption of nutrients', *Cahiers de Nutrition et de Dietetique*, 43(1), pp. 45–50. doi: 10.1016/S0007-9960(08)70279-7.
- Li, X. *et al.* (2010) 'Acute and subacute toxicity of ethanol extracts from Salvia przewalskii Maxim in rodents', *Journal of Ethnopharmacology*, 131(1), pp. 110–115. doi: 10.1016/j.jep.2010.06.012.
- Lim, M. A. and Pranata, R. (2020) 'The Danger of Sedentary Lifestyle in Diabetic and Obese People During the COVID-19 Pandemic', *Clinical Medicine Insights: Endocrinology and Diabetes*, 13(May), pp. 7–8. doi: 10.1177/1179551420964487.
- Lister, E et Wilson, P. (2001) 'Mesure des composés phénoliques totaux et dosage ABTS de l'activité antioxydante (communication personnelle)', *Crop Research Institute, Lincoln, Nouvelle-Zélande*, pp. 235–239.
- Lyubenova, M., Dineva, S. and Karadjova, I. (2012) 'Ecologia Balkanica', *International Scientific Research Journal of Ecology*, 4(2), p. 51.

- M.a., J. and Hart, G. W. (2013) 'Protein O-GlcNAcylation in diabetes and diabetic complications', *Expert Review of Proteomics*, 10(4), pp. 365–380. doi: 10.1586/14789450.2013.820536.
- Manish Pal, S., Avneet, G. and Siddhraj, S. S. (2018) 'Gallic Acid: Pharmacological Promising Lead Molecule: A Review', Available online on [www.ijppr.com](http://www.ijppr.com) *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, 10(4), pp. 132–138. doi: 10.25258/phyto.10.4.2.
- Mensor, L. L. *et al.* (2001) 'Screening of Brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method . Phytother Res Screening of Brazilian Plant Extracts for Antioxidant Activity by the Use of DPPH Free', *Phytotherapy Research*, 130, pp. 127–130.
- Mirlesse, V. and Lebon, P. (2003) 'RAPPEL DE LA TOXICITE DE QUELQUES PLANTES', *Toxicologie*, pp. 49–53.
- Mota Da Silva, L. *et al.* (2015) 'Evidence of gastric ulcer healing activity of *Maytenus robusta* Reissek: In vitro and in vivo studies', *Journal of Ethnopharmacology*, 175, pp. 75–85. doi: 10.1016/j.jep.2015.09.006.
- Mukinda, J. T. and Syce, J. A. (2007) 'Acute and chronic toxicity of the aqueous extract of *Artemisia afra* in rodents', *Journal of Ethnopharmacology*, 112(1), pp. 138–144. doi: 10.1016/j.jep.2007.02.011.
- Munekata, P. E. S. *et al.* (2019) 'Ethnopharmacology, phytochemistry and biological activity of *Erodium* species: A review', *Food Research International*, 126(September), p. 108659. doi: 10.1016/j.foodres.2019.108659.
- Muruhan, S., Selvaraj, S. and Viswanathan, P. K. (2013) 'In vitro antioxidant activities of *Solanum surattense* leaf extract', *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 3(1), pp. 28–34. doi: 10.1016/S2221-1691(13)60019-2.
- Naceiri Mrabti, H. *et al.* (2017) 'Arbutus unedo L aqueous extract is associated with in vitro and in vivo antioxidant activity', *Journal of Materials and Environmental Science*, 8(1), pp. 217–224.
- NACEIRI MRABTI, H. *et al.* (2021) 'Phenolic content, antibacterial, antioxidant, and toxicological investigations of *Erodium guttatum* (Geraniaceae) collected from the Northeast of Morocco', *Turkish Journal of Botany*, 45(SI-2), pp. 739–749. doi: 10.3906/bot-2107-29.
- Nassir, F. *et al.* (2015) 'Pathogenesis and Prevention of Hepatic Steatosis', *Gastroenterology*

& *Hepatology*, 11(3), pp. 167–175.

Navarro, C. (2009) 'CXXIII. GERANIACEAE', *Erodium*, pp. 316–372.

Oboh, G. *et al.* (2016) 'Influence of gallic acid on  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase inhibitory properties of acarbose', *Journal of Food and Drug Analysis*, 24(3), pp. 627–634. doi: 10.1016/j.jfda.2016.03.003.

OCDE423 (2001) 'Ligne directrice de l'ocde pour les essais de produits chimiques'.

Oecd (2008) 'Repeated Dose 28-Day Oral Toxicity Study in Rodents (OECD TG 407)', pp. 477–490. doi: 10.1787/9789264304741-22-en.

Ohkawa, H., Ohishi, N. and Yagi, K. (1979) 'Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction', *Analytical Biochemistry*, 95(2), pp. 351–358. doi: 10.1016/0003-2697(79)90738-3.

Ozer, J. *et al.* (2008) 'The current state of serum biomarkers of hepatotoxicity', *Toxicology*, 245(3), pp. 194–205. doi: 10.1016/j.tox.2007.11.021.

P, S. *et al.* (2011) 'Potent  $\alpha$ -amylase inhibitory activity of Indian Ayurvedic medicinal plants', *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 11. doi: 10.1186/1472-6882-11-5.

Pallavi Shantkumar Kanthe, Bheemshetty S Patil, Shrilaxmi C Bagali, R Chandramouli Reddy, Manjunatha R Aithala, and K. K. Das (2017) 'Protective effects of Ethanolic Extract of *Emblica officinalis* (amla) on Cardiovascular Pathophysiology of Rats, Fed with High Fat Diet', *J Clin Diagn Res*, 11, p. 9.

Pang, Y. *et al.* (2018) 'Bound phenolic compounds and antioxidant properties of whole grain and bran of white, red and black rice', *Food Chemistry*, 240(July 2017), pp. 212–221. doi: 10.1016/j.foodchem.2017.07.095.

Perry, Rachel J and Samuel, Varman T and Petersen, Kitt F and Shulman, G. I. (2014) 'The role of hepatic lipids in hepatic insulin resistance and type 2 diabetes', *Nature*, 510, pp. 84--91.

Peter, E. L. *et al.* (2021) 'Total polyphenols and antihyperglycemic activity of aqueous fruits extract of *Abelmoschus esculentus*: Modeling and optimization of extraction conditions', *PLoS ONE*, 16(4 April), pp. 1–16. doi: 10.1371/journal.pone.0250405.

Pi, J. *et al.* (2007) 'Reactive oxygen species as a signal in glucose-stimulated insulin secretion', *Diabetes*, 56(7), pp. 1783–1791. doi: 10.2337/db06-1601.

- Rahman, M. F. (2001) 'Effects of Vepacide (*Azadirachta indica*) on aspartate and alanine aminotransferase profiles in a subchronic study with rats', *Human and Experimental Toxicology*, 20(5), pp. 243–249. doi: 10.1191/096032701678227730.
- Raina, P. *et al.* (2015) 'Evaluation of subacute toxicity of methanolic/aqueous preparation of aerial parts of *O. sanctum* in Wistar rats: Clinical, haematological, biochemical and histopathological studies', *Journal of Ethnopharmacology*, 175, pp. 509–517. doi: 10.1016/j.jep.2015.10.015.
- Rains, J. L. and Jain, S. K. (2011) 'Oxidative stress, insulin signaling, and diabetes', *Free Radical Biology and Medicine*, 50(5), pp. 567–575. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2010.12.006.
- Rojkind, M. *et al.* (2002) 'Cellular and Molecular Life Sciences Role of hydrogen peroxide and oxidative stress', *Cellular and molecular life sciences : CMLS*, 59, pp. 1872–1891.
- Samuel, V. T. and Shulman, G. I. (2012) 'Mechanisms for insulin resistance: Common threads and missing links', *Cell*, 148(5), pp. 852–871. doi: 10.1016/j.cell.2012.02.017.
- Santé, O. M. de la (2013) 'Rapport Mondial', *Organisation Mondiale de la Santé*, pp. 19–71. Available at: [www.idf.org/diabetesatlas](http://www.idf.org/diabetesatlas).
- Sayre, L. M., Perry, G. and Smith, M. A. (2008) 'Oxidative stress and neurotoxicity', *Chemical Research in Toxicology*, 21(1), pp. 172–188. doi: 10.1021/tx700210j.
- Scheen, A., Paquot, N. and Lefebvre, P. J. (2005) 'Étiologie Et Physiopathologie Du Diabète De Type 2', *Endocrinologie-Nutrition*, 1941(5), pp. 11–22. doi: 10.1016/s1155-1941(07)46586-6.
- Sears, B. and Perry, M. (2015) 'The role of fatty acids in insulin resistance', *Lipids in Health and Disease*, 14(1), pp. 1–9. doi: 10.1186/s12944-015-0123-1.
- Seino, S. (2012) 'Cell signalling in insulin secretion: The molecular targets of ATP, cAMP and sulfonylurea', *Diabetologia*, 55(8), pp. 2096–2108. doi: 10.1007/s00125-012-2562-9.
- Sharma, N. *et al.* (2020) 'An overview of therapeutic effects of vanillic acid', *Plant Archives*, 20, pp. 3053–3059.
- Shim, Y. J. *et al.* (2003) 'Inhibitory effect of aqueous extract from the gall of *Rhus chinensis* on alpha-glucosidase activity and postprandial blood glucose', *Journal of Ethnopharmacology*, 85(2–3), pp. 283–287. doi: 10.1016/S0378-8741(02)00370-7.

- Shobana, S., Sreerama, Y. N. and Malleshi, N. G. (2009) 'Composition and enzyme inhibitory properties of finger millet (*Eleusine coracana* L.) seed coat phenolics: Mode of inhibition of  $\alpha$ -glucosidase and pancreatic amylase', *Food Chemistry*, 115(4), pp. 1268–1273. doi: 10.1016/j.foodchem.2009.01.042.
- Shoelson, S. E., Lee, J. and Goldfine, A. B. (2006) 'Inflammation and insulin resistance', *Journal of Clinical Investigation*, 116(7), pp. 1793–1801. doi: 10.1172/JCI29069.
- Singh, U., Singh, S. and Kochhar, A. (2012) 'Therapeutic potential of antidiabetic nutraceuticals', *Phytopharmacology*, 2(1), pp. 144–169.
- Skovsø, S. (2014) 'Modeling type 2 diabetes in rats using high fat diet and streptozotocin', *Journal of Diabetes Investigation*, 5(4), pp. 349–358. doi: 10.1111/jdi.12235.
- Smith, U. (2001) 'Pioglitazone: mechanism of action.', *International journal of clinical practice. Supplement*, pp. 13--18.
- Srinivasan, K. *et al.* (2005) 'Combination of high-fat diet-fed and low-dose streptozotocin-treated rat: A model for type 2 diabetes and pharmacological screening', *Pharmacological Research*, 52(4), pp. 313–320. doi: 10.1016/j.phrs.2005.05.004.
- Sureshkumar, D. *et al.* (2018) 'Toxicological evaluation of a saponin-rich standardized extract of fenugreek seeds (FenuSMART®): Acute, sub-chronic and genotoxicity studies', *Toxicology Reports*, 5(October), pp. 1060–1068. doi: 10.1016/j.toxrep.2018.10.008.
- Szkudelski, T. (2001) 'The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas', *Physiological Research*, 50(6), pp. 537–546.
- Taghizadeh, M. *et al.* (2017) 'Sub-chronic oral toxicity of *Cuminum cyminum* L.'s essential oil in female Wistar rats', *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 88, pp. 138–143. doi: 10.1016/j.yrtph.2017.06.007.
- Talbaoui, A. *et al.* (2020) 'Chemical composition, in vitro cytotoxic, and antibacterial activities of moroccan medicinal plants *Euphorbia resinifera* and *Marrubium vulgare*', *Biointerface Research in Applied Chemistry*, 10(6), pp. 7343–7355. doi: 10.33263/BRIAC106.73437355.
- Terrab, A. *et al.* (2022) 'A palynological and geographical characterization of labeled resin spurge honey: *Euphorbia resinifera*', *Palynology*, 46(1), pp. 1–10. doi: 10.1080/01916122.2021.1933639.

Tuberoso, Carlo Ignazio Giovanni et Boban, Mladen et Bifulco, Ersilia et Budimir, Danijela et Pirisi, F. M. (2013) 'La capacité antioxydante et les propriétés vasodilatatrices des aliments méditerranéens: le cas du vin Cannonau, de la liqueur de baies de myrte et du miel de fraise', *Chimie alimentaire*, 140, pp. 686–691.

Vahalia, M. K. *et al.* (2011) 'Chronic Toxicity Study For Tamra Bhasma (A Generic Ayurvedic Mineral Formulation) in Laboratory Animals', *Recent Research in Science and Technology*, 3(11), pp. 2076–5061. Available at: <https://updatepublishing.com/journal/index.php/rrst/article/view/834>.

Veerappan, A. *et al.* (2007) 'Acute and subacute toxicity studies of Aegle marmelos Corr., an Indian medicinal plant', *Phytomedicine*, 14(2–3), pp. 209–215. doi: 10.1016/j.phymed.2006.05.004.

Veerapur, V. P. *et al.* (2010) 'Antidiabetic effect of Dodonaea viscosa aerial parts in high fat diet and low dose streptozotocin-induced type 2 diabetic rats: A mechanistic approach', *Pharmaceutical Biology*, 48(10), pp. 1137–1148. doi: 10.3109/13880200903527736.

Viollet, B. *et al.* (2012) 'Cellular and molecular mechanisms of metformin: An overview', *Clinical Science*, 122(6), pp. 253–270. doi: 10.1042/CS20110386.

Vors, C. *et al.* (2014) 'Intérêt de la phase postprandiale pour la santé de l'Homme', *Obesite*, 9(1), pp. 31–41. doi: 10.1007/s11690-013-0410-9.

Wadkar, K. *et al.* (2008) 'Anti-diabetic potential and Indian medicinal plants. J Herb Med Toxicol', *Journal of Herbal Medicine and Toxicology*, 2(1), pp. 45–50. Available at: <https://www.researchgate.net/publication/267717367>.

Wang, Q. *et al.* (2013) 'Antihyperglycemic, antihyperlipidemic and antioxidant effects of ethanol and aqueous extracts of Cyclocarya paliurus leaves in type 2 diabetic rats', *Journal of Ethnopharmacology*, 150(3), pp. 1119–1127. doi: 10.1016/j.jep.2013.10.040.

Wasan, K. M. *et al.* (2001) 'Assessing plasma lipid levels, body weight, and hepatic and renal toxicity following chronic oral administration of a water soluble phytosterol compound, FM-VP4, to gerbils', *Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 4(3), pp. 228–234.

Wu, Y. *et al.* (2014) 'Risk factors contributing to type 2 diabetes and recent advances in the treatment and prevention', *International journal of medical sciences*, 11(11), pp. 1185–1200. doi: 10.7150/ijms.10001.



- Wu, Z. *et al.* (2018) 'Acute and subchronic toxicities of the ethanol and hot-water extracts from Chinese sumac (*Rhus chinensis* Mill.) fruits by oral administration in rats', *Food and Chemical Toxicology*, 119(June), pp. 14–23. doi: 10.1016/j.fct.2018.06.009.
- Yabe, D. *et al.* (2017) 'Sodium glucose co-transporter 2 inhibitor luseogliflozin in the management of type 2 diabetes: a drug safety evaluation', *Expert Opinion on Drug Safety*, 16(10), pp. 1211–1218. doi: 10.1080/14740338.2017.1359252.
- Yahyaoui, A. *et al.* (2018) 'Chemical analysis of essential oil from *Echinops spinosus* L. roots: Antimicrobial and antioxidant activities', *Revue Roumaine de Chimie*, 63(3), pp. 199–204.
- Yang, M. *et al.* (2019) 'Acute and subacute toxicity evaluation of ethanol extract from aerial parts of *Epigynum auritum* in mice', *Food and Chemical Toxicology*, 131(January), p. 110534. doi: 10.1016/j.fct.2019.05.042.
- Yao, D. *et al.* (2005) 'Fatty acid-mediated intracellular iron translocation: A synergistic mechanism of oxidative injury', *Free Radical Biology and Medicine*, 39(10), pp. 1385–1398. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2005.07.015.
- Yuan, Y. *et al.* (2018) 'Microwave assisted extraction of phenolic compounds from four economic brown macroalgae species and evaluation of their antioxidant activities and inhibitory effects on  $\alpha$ -amylase,  $\alpha$ -glucosidase, pancreatic lipase and tyrosinase', *Food Research International*, 113(May), pp. 288–297. doi: 10.1016/j.foodres.2018.07.021.
- Zheng, H. *et al.* (2016) 'Protein Modifications as Manifestations of Hyperglycemic Glucotoxicity in Diabetes and Its Complications', *Biochemistry Insights*, 9, p. BCI.S36141. doi: 10.4137/bci.s36141.

## Résumé

**Titre :** Etude Pharmacologique et Toxicologique des Plantes *Euphorbia resinifera* L., *Echinops spinosus* L., et *Erodium guttatum* L. du Maroc

**Auteur :** Kaoutar Benrahou

Ce présent travail s'inscrit à l'évaluation de l'effet antioxydant, antihyperglycémique, antihyperlipidique et toxicologique des extraits aqueux et éthanolique d'*E. resinifera*, *E. spinosus* et *E. guttatum* en utilisant différents modèles animaux. Les résultats ont montré la richesse des extraits en polyphénols, en particulier *E. guttatum*. L'activité antioxydante *in vitro* a montré que les extraits présentent un effet antioxydant avec meilleur effet obtenu avec les extraits d'*E. guttatum*. Dans un deuxième temps, les différents extraits des plantes ont été également évalués *in vitro* sur les enzymes clés, et *in vivo* à l'aide du test de tolérance à l'amidon (OSTT) chez le rat normal. Nos résultats révèlent que les extraits ont un effet inhibiteur sur les enzymes clés. Le test de tolérance orale à l'amidon a montré que les extraits d'*E. guttatum* sont les plus puissants inhibiteurs de l'hyperglycémie postprandiale après la surcharge en amidon. Par la suite, nous nous sommes intéressés à l'étude du mécanisme d'action des extraits d'*E. guttatum* en utilisant le test d'absorption intestinale du D-glucose. Nos résultats montrent que les extraits diminuent significativement l'absorption intestinale du glucose. L'activité antidiabétique et antioxydante *in vivo* des extraits d'*Erodium* montrent qu'ils réduisent la glycémie et ajustent certains paramètres biochimiques des souris diabétiques. De même, les extraits ont montré une augmentation de la sécrétion des enzymes antioxydants (SOD et CAT) et un retour à la normale de niveau du MDA. La toxicité aiguë montre que les extraits ne sont pas toxiques et l'administration subaiguë des extraits ont ajusté les paramètres physiologiques. L'étude histologique a montré quelques modifications histopathologiques au niveau du foie.

**Mots clés :** *Erodium guttatum*, *Euphorbia resinifera*, *Echinops spinosus*, Hyperglycémique, Hyperlipidique, Antioxydant, Toxicité.

## Abstract:

**Title:** Pharmacological and Toxicological Study of the Plants *Euphorbia resinifera* L., *Echinops spinosus* L., and *Erodium guttatum* L. du Maroc

**Author:** Kaoutar Benrahou

This present work is part of the evaluation of the antioxidant, antihyperglycemic, antihyperlipidic and toxicological effect of aqueous and ethanolic extracts of *E. resinifera*, *E. spinosus* and *E. guttatum* using different animal models. The results showed the richness of the extracts in polyphenols, in particular *E. guttatum*. The *in vitro* antioxidant activity showed that the extracts show an antioxidant effect with better effect obtained with the extracts of *E. guttatum*. Secondly, the different plant extracts were also evaluated *in vitro* on key enzymes, and *in vivo* using the starch tolerance test (OSTT) in normal rats. Our results reveal that the extracts have an inhibitory effect on key enzymes. The oral starch tolerance test showed that the extracts of *E. guttatum* are the most potent inhibitors of postprandial hyperglycemia after starch overload. Subsequently, we were interested in studying the mechanism of action of extracts of *E. guttatum* using the intestinal D-glucose absorption test. Our results show that the extracts significantly decrease the intestinal absorption of glucose. The *in vivo* antidiabetic and antioxidant activity of *Erodium* extracts show that they reduce blood sugar and adjust certain biochemical parameters of diabetic mice. Similarly, the extracts showed an increase in the secretion of antioxidant enzymes (SOD and CAT) and a return to normal levels of MDA. Acute toxicity shows that the extracts are not toxic and the subacute administration of the extracts adjusted the physiological parameters. The histological study showed some histopathological changes in the liver.

**Key words:** *Erodium guttatum*, *Euphorbia resinifera*, *Echinops spinosus*, Hyperglycemic, Hyperlipidic Antioxidant, Toxicity.

## المخلص

**العنوان:** دراسة دوائية وسمية للنباتات *Erodium* و *Echinops spinosus L*, *Euphorbia resinifera L*, *E. guttatum* من المغرب

**المؤلفة:** كوثر بن رحو

هذا العمل الحالي هو جزء من تقييم التأثير المضاد للأكسدة والخافض لنسبة السكر في الدم، ومضاد للدهون والسمية للمستخلصات المائية والإيثانولية ل *E. resinifera*، *E. spinosus* و *E. guttatum* باستخدام نماذج حيوانية مختلفة. كشفت نتائجنا عن ثراء المستخلصات في البوليفينول، وخاصة *E. guttatum*. أظهر نشاط مضادات الأكسدة في المختبر أن المستخلصات تظهر تأثيرًا مضادًا للأكسدة مع تأثير أفضل تم الحصول عليه من مستخلصات *E. guttatum*. ثانيًا، تم أيضا تقييم المستخلصات النباتية المختلفة في المختبر على الإنزيمات الرئيسية، وفي الجسم الحي باستخدام اختبار تحمل النشا (OSTT) في الفئران العادية. تكشف نتائجنا أن المستخلصات لها تأثير مثبط على الإنزيمات الرئيسية. أظهر اختبار تحمل النشا الفموي أن *E. guttatum* هي أقوى مثبطات ارتفاع السكر في الدم بعد الأكل بعد فرط النشا. بعد ذلك، كنا مهتمين بدراسة آلية عمل مستخلصات *E. guttatum* باستخدام اختبار امتصاص الأمعاء D-glucose. تظهر نتائجنا أن المستخلصات تقلل بشكل كبير من امتصاص الأمعاء للجلكوز. يظهر النشاط المضاد لمرض السكر ومضادات الأكسدة في الجسم الحي لمستخلصات *E. guttatum* أنها تقلل من نسبة السكر في الدم وتعديل بعض المعايير الكيميائية الحيوية للفئران المصابة بداء السكري. وبالمثل، أظهرت المستخلصات زيادة في إفراز الإنزيمات المضادة للأكسدة (SOD و CAT) والعودة إلى المستويات الطبيعية من MDA. تظهر السمية الحادة أن المستخلصات ليست سامة. بالإضافة إلى ذلك، فإن إعطاء المستخلصات تحت الحاد يعدل المعلمات الفسيولوجية. أظهرت الدراسة النسيجية بعض التغيرات النسيجية المرضية في الكبد.

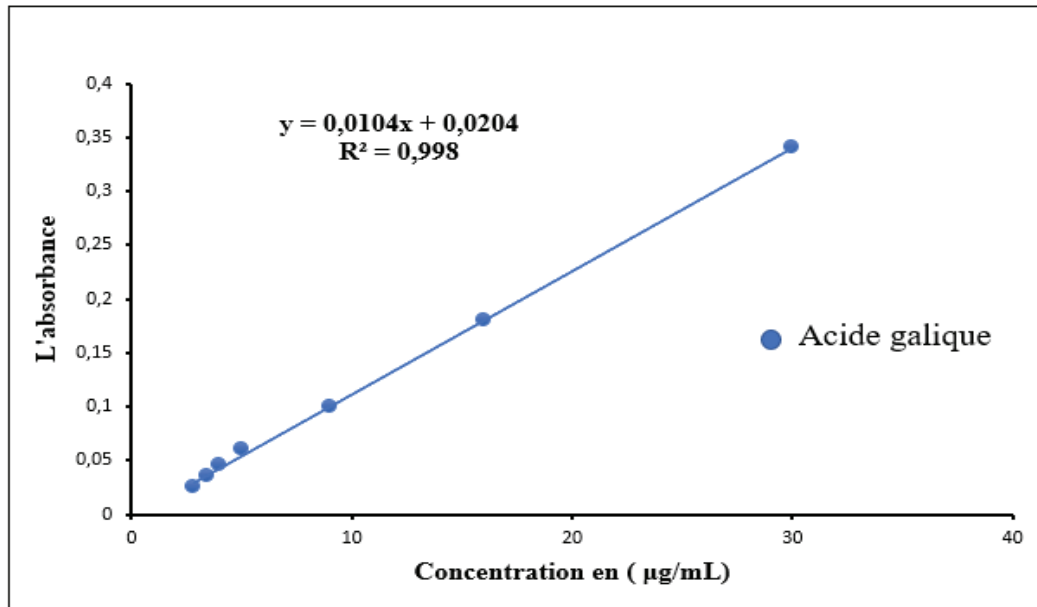
**الكلمات المفتاحية:** *Erodium guttatum* ، *Euphorbia resinifera* ، *Echinops spinosus* ، ارتفاع السكر في الدم ، فرط الدهون ، مضادات الأكسدة ، السمية.

---

# Annexes

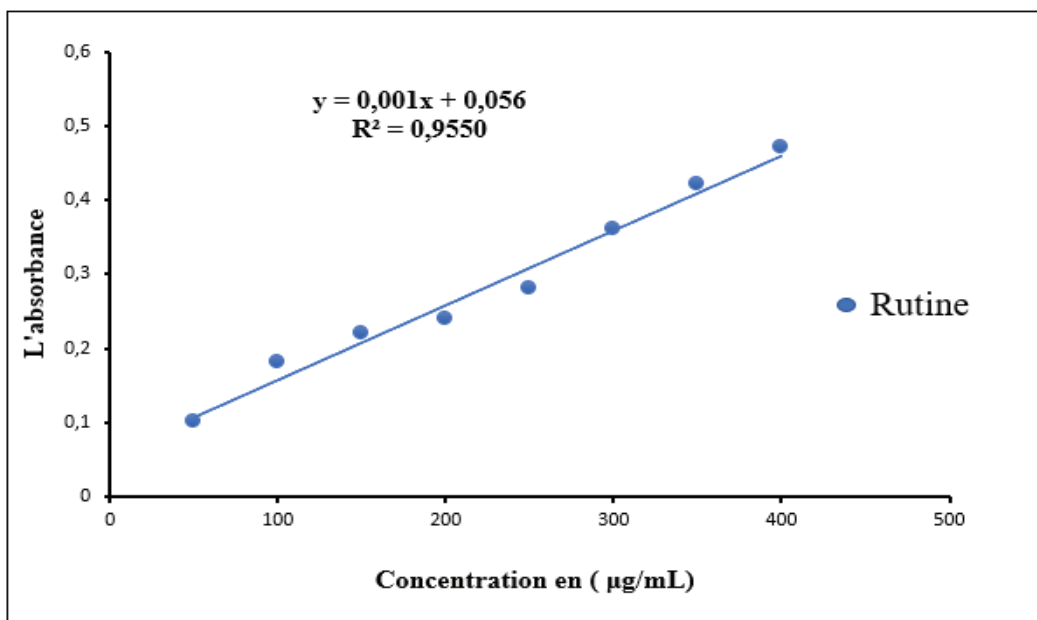
---

### Annexe 1: Courbe de l'étalonnage de l'acide gallique



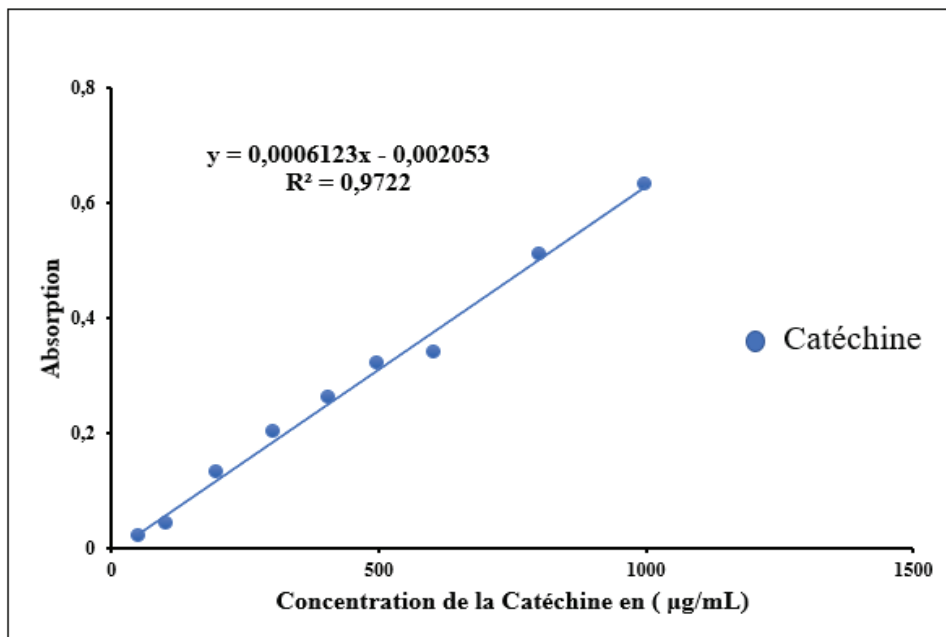
Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux dans les extraits d'*E. guttatum*

### Annexe 2: Courbe de l'étalonnage de la Rutine



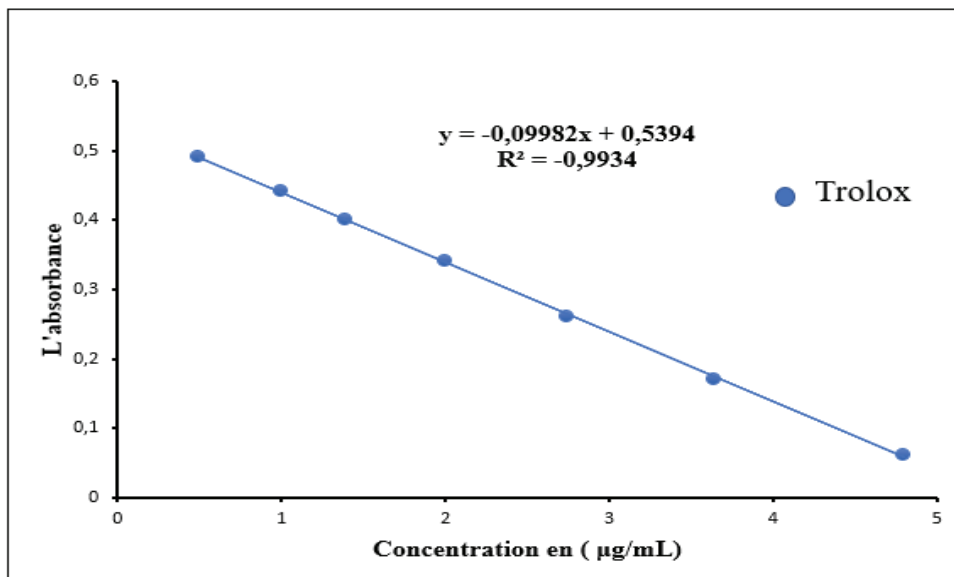
Courbe d'étalonnage de la Rutine pour le dosage des flavonoïdes dans les extraits d'*E. guttatum*

**Annexe 3:** Courbe de l'étalonnage de la Catéchine



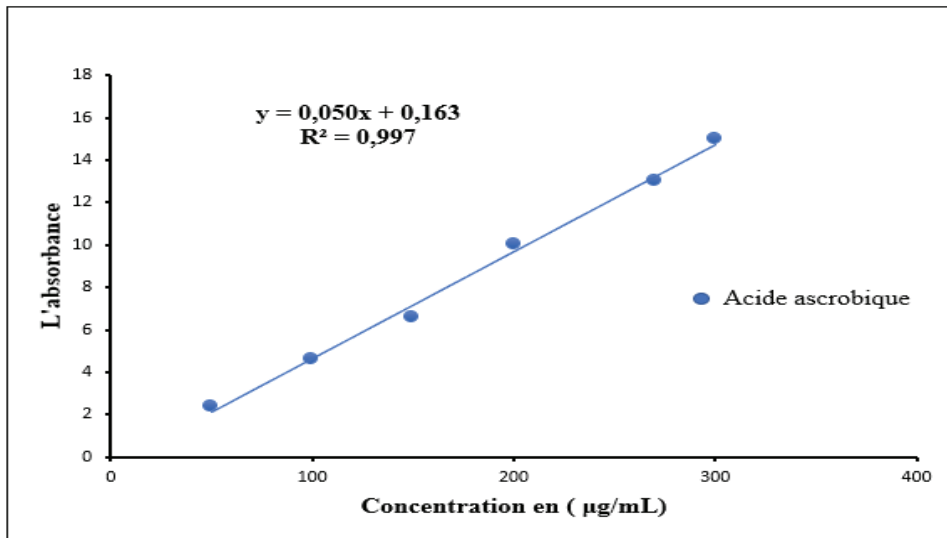
Courbe d'étalonnage de la Catéchine pour le dosage des tanins dans les extraits d'*E. guttatum*

**Annexe 4:** Courbe de l'étalonnage du Trolox



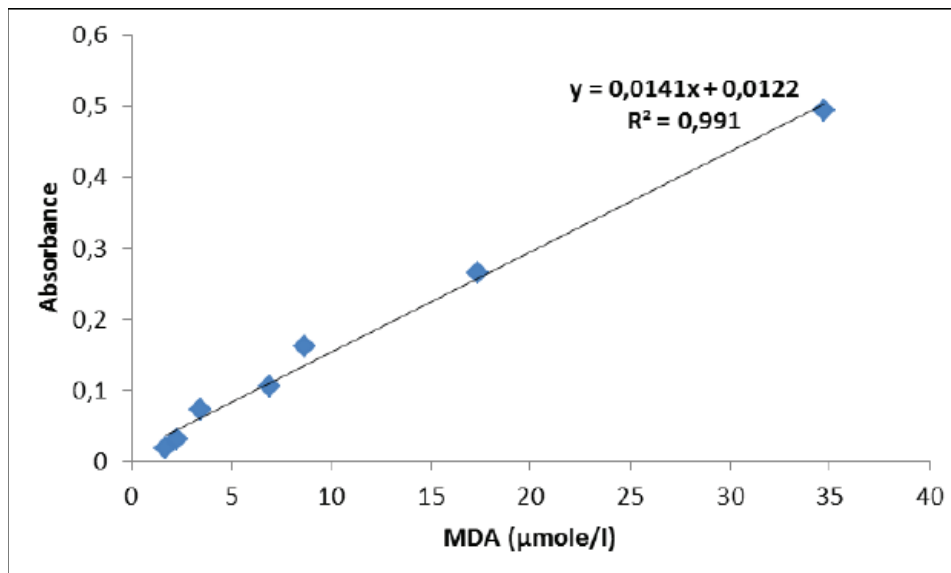
Courbe d'étalonnage du Trolox (ABTS), utilisé pour l'évaluation du pouvoir antioxydante des extraits d'*E. guttatum*

**Annexe 5:** Courbe de l'étalonnage de l'acide ascorbique



Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique (FRAP), utilisé pour l'évaluation du potentiel réducteur des extraits d'*E. guttatum*

**Annexe 6:** Courbe d'étalonnage pour le dosage du Malondialdéhyde phosphate (MDA)



Courbe d'étalonnage pour le dosage du MDA dans le foie, pancréas et les reins des différents groupes de souris traités par les extraits d'*E. guttatum*



## Résumé

Ce présent travail s'inscrit à l'évaluation de l'effet antioxydant, antihyperglycémique, antihyperlipidique et toxicologique des extraits aqueux et éthanolique d'*E. resinifera*, *E. spinosus* et *E. guttatum* en utilisant différents modèles animaux. Les résultats ont montré la richesse des extraits en polyphénols, en particulier *E. guttatum*. L'activité antioxydante *in vitro* a montré que les extraits présentent un effet antioxydant avec meilleur effet obtenu avec les extraits d'*E. guttatum*. Dans un deuxième temps, les différents extraits ont été également évalués *in vitro* sur les enzymes clés, et *in vivo* à l'aide du test de tolérance à l'amidon (OSTT) chez le rat normal. Nos résultats révèlent que les extraits ont un effet inhibiteur sur les enzymes clés. Le test de tolérance orale à l'amidon a montré que les extraits d'*E. guttatum* sont les plus puissants inhibiteurs de l'hyperglycémie postprandiale après la surcharge en amidon. Par la suite, nous nous sommes intéressés à l'étude du mécanisme d'action des extraits d'*E. guttatum* en utilisant le test d'absorption intestinale du glucose. Nos résultats montrent que les extraits diminuent significativement l'absorption intestinale du glucose. L'activité antidiabétique et antioxydante *in vivo* des extraits d'*Erodium* montrent qu'ils réduisent la glycémie et ajustent certains paramètres biochimiques des souris diabétiques. De même, les extraits ont montré une augmentation de la sécrétion des enzymes antioxydants (SOD et CAT) et un retour à la normale de niveau du MDA. La toxicité aiguë montre que les extraits ne sont pas toxiques et l'administration subaiguë des extraits ont ajusté les paramètres physiologiques. L'étude histologique a montré quelques modifications histopathologiques au niveau du foie.

**Mots clés :** *Erodium guttatum*, *Euphorbia resinifera*, *Echinops spinosus*, Hyperglycémique, Hyperlipidique, Antioxydant, Toxicité.

## Abstract :

This present work is part of the evaluation of the antioxidant, antihyperglycemic, antihyperlipidic and toxicological effect of aqueous and ethanolic extracts of *E. resinifera*, *E. spinosus* and *E. guttatum* using different animal models. The results showed the richness of the extracts in polyphenols, in particular *E. guttatum*. The *in vitro* antioxidant activity showed that the extracts show an antioxidant effect with better effect obtained with the extracts of *E. guttatum*. Secondly, the different plant extracts were also evaluated *in vitro* on key enzymes, and *in vivo* using the starch tolerance test (OSTT) in normal rats. Our results reveal that the extracts have an inhibitory effect on key enzymes. The oral starch tolerance test showed that the extracts of *E. guttatum* are the most potent inhibitors of postprandial hyperglycemia after starch overload. Subsequently, we were interested in studying the mechanism of action of extracts of *E. guttatum* using the intestinal glucose absorption test. Our results show that the extracts significantly decrease the intestinal absorption of glucose. The *in vivo* antidiabetic and antioxidant activity of *Erodium* extracts show that they reduce blood sugar and adjust certain biochemical parameters of diabetic mice. Similarly, the extracts showed an increase in the secretion of antioxidant enzymes (SOD and CAT) and a return to normal levels of MDA. Acute toxicity shows that the extracts are not toxic and the subacute administration of the extracts adjusted the physiological parameters. The histological study showed some histopathological changes in the liver

**Key words:** *Erodium guttatum*, *Euphorbia resinifera*, *Echinops spinosus*, Hyperglycemic, Hyperlipidic Antioxidant, Toxicity.

**Structure de recherche :** Equipe de Recherche des Analyses Biopharmaceutiques et Toxicologiques, Laboratoire de Pharmacologie et Toxicologie, Faculté de Médecine et de Pharmacie de Rabat, Maroc.