

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
Université Abderrahmane Mira de Bejaïa  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
**Département de Biologie Physico-chimique**



جامعة بجاية  
Tasdawit n Bgayet  
Université de Béjaïa

# Mémoire de Master

**Filière :** Sciences Biologiques

**Option :** Pharmacotoxicologie

*Thème*

## Etude de l'activité antidiabétique des alcaloïdes nortropaniques de *Hyoscyamus albus*

**Présenté par :**

M<sup>r</sup>ABBAS MOUSSA Fakhredine

M<sup>r</sup> SAIDI Iles

**Composition du jury :**

**Présidente :** M<sup>me</sup>SEBAIHI. S

(MAA Université de Bejaia)

**Examineur:** M<sup>r</sup> BRIBI. N

(MCA Université de Bejaia)

**Promotrice :** M<sup>me</sup> BEDJOU. F

(Pr Université de Bejaia)

**Année Universitaire : 2017-2018**

## **Remerciement**

*On remercie DIEU tout puissant, qui a permis à chacun de nous de mener nos études à terme et ce travail à bien.*

*Tout d'abord on tient surtout à adresser nos plus vifs remerciements à notre promotrice **M<sup>me</sup> Bedjou fatiha**, Professeur qui nous a fait l'honneur de réaliser ce travail sous sa direction, pour sa grande patience, pour sa disponibilité et ses conseils judicieux.*

*On remercie également Notre Co-Promotrice **M<sup>lle</sup> Bourebaba Lynda**, Docteur à la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie à l'université de Béjaia de nous avoir supervisé et guidé tout au long de notre mémoire .*

*Nos remerciements vont également aux membres du jury, pour avoir accepté de juger notre travail : **M<sup>me</sup> Sebaihi**. pour l'honneur qu'elle nous fait d'avoir accepté de présider le jury.*

***Mr Bribi**. pour l'honneur qu'il nous fait d'examiner notre mémoire.*

*Merci au **Dr. OUKIL N.** pour nous avoir accueillie au sein de son laboratoire.*

*Au personnel de l'animalerie Notamment **SAIDA** pour son aide précieuse*

*On remercie Aussi **M<sup>lle</sup> Tabti.N**, de l'aide qu'elle nous a apporté.*

*On remercie toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*

*Un grand merci à tous.*

## *Dédicace*

*On dédie ce travail à nos **Parents** respectifs qu'ils trouvent ici toute  
notre gratitude*

*Pour leur soutien tout le long de nos études*

*A nos **Frères et Sœurs***

*À nos **Amis***

*A ceux qui nous ont tout donné sans rien en retour*

## SOMMAIRE

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

**Introduction** .....01

### PARTIE THEORIQUE

#### I SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

I. Métabolisme du glucose à jeun.....	02
I.1 Production du glucose endogène.....	02
I.1.1 Les tissus glucoformateurs.....	02
I.1.1.1 Glycogénolyse.....	02
I.1.1.2 Néoglucogenèse.....	03
I.1.2 Absorption des sucres par l'intestin grêle.....	03
I.1.3 Transporteurs du glucose.....	03
I.1.4 Utilisation du glucose.....	04
I.1.5 Synthèse et sécrétion de l'insuline.....	04
I.1.6 Régulation de la glycémie.....	05
I.2 Diabète.....	05
I.2.1 Définition.....	05
I.2.1.1 Le diabète de type 1 ou diabète insulino-dépendant.....	06
I.2.1.2 Le Diabète de type 2.....	06
I.2.2 diabète et génétique.....	06
I.2.2.1 Type 1.....	06
I.2.2.2 Type 2.....	07
I.3 L'hyperglycémie post prandiale.....	07
I.3.1 Physiopathologie de l'hyperglycémie post prandiale.....	07
I.4 Hémoglobine glyquée (HbA1c).....	08
I.5 Traitement du diabète type 2.....	08
I.6 Les solanacées.....	09
I.6.1 <i>Hyoscyamus albus</i> .....	10
I.6.2 Classification botanique de <i>Hyoscyamus albus</i> .....	10
I.6.3 Composition phytochimique de <i>Hyoscyamus albus</i> .....	11

I.6.4 Utilisation pharmacologique .....	11
I.7 Définition des calystégines .....	11
I.7.2 Propriétés biologiques .....	12
I.7.1 Structure des calystégines .....	12

## **PARTIE EXPERIMENTALE**

### **II MATERIEL ET METHODES**

II.1.. Matériel végétal .....	13
II.2- Méthodes .....	13
II.2.1- Préparation des extraits des graines de <i>Hyoscyamus albus</i> .....	13
II.2.1.2- Préparation de l'extrait brut .....	14
II.2.3- Purification des calystegines totales .....	14
II.2.3.1- Purification sur colonne échangeuse de cations amberlite 120b,H .....	14
II.2.3.2- Purification sur colonne dowex 1X2, CL .....	14
II.3 Activité antidiabétique in vitro des calystégines extraits de <i>H.albus</i> .....	14
II.3.1. inhibition de l' $\alpha$ -glucosidase .....	15
II.4 Effet sur l'absorption du glucose par la levure .....	16
II.5 Effet sur la glycosylation de l'hémoglobine .....	19

### **III RESULTATS ET DISCUSSION**

III.1 inhibition de l' $\alpha$ -glucosidase .....	22
III.2 Effet sur l'absorption du glucose par la levure .....	25
III.3 Effet sur la glycosylation de l'hémoglobine .....	28
<b>Conclusion et perspectives</b> .....	31
<b>Références bibliographiques</b> .....	33

### **Annexes**

## **Liste des abréviations**

**DPP-4** : dipeptidylpeptidase-4

**DT2** : Diabète type deux

**GC-MS** : Gaz Chromatography-Mass spectrometry

**GLP-1** : glucagon-like peptide-1

**GR** : Globule rouge

**HPLC** : Chromatographie en phase liquide à haute performance

**IC50** : Inhibitory concentration 50%

**P-NPG** : p-Nitrophenylglycerol

**PH** : Le potentiel hydrogène

**TBA** : tetra-buthylammonium hydroxide

**TCA** : acide trichloroacétique

Liste des figures

<b>Figure 01</b> : Production du glucose par glycolyse .....	02
<b>Figure 02</b> : Photo de <i>Hyoscyamus albus</i> .....	10
<b>Figure 03</b> : Structure des différentes calystégines.....	12
<b>Figure 04</b> : <i>Hyoscyamus albus</i> (Photo Originale).....	13
<b>Figure 05</b> : Les différentes étapes de la réalisation du test enzymatique.....	15
<b>Figure 06</b> : les étapes de la préparation de la levure .....	17
<b>Figure 07</b> : Schéma récapitulatif de l'inhibition par les calystégines de l'absorption du glucose par la levure.....	18
<b>Figure 08</b> : Protocole d'extraction de l'hémoglobine fraîche .....	19
<b>Figure 09</b> : Schéma récapitulatif du dosage du glucose .....	21
<b>Figure 10</b> : Evolution du pourcentage d'inhibition de l'alpha glucosidase par les calystégines de H.albus .....	22
<b>Figure 11</b> : Evolution du pourcentage d'inhibition de l'alpha glucosidase par la molécule standard : l'acarbose.....	22
<b>Figure 12</b> : effets des calystégines sur la glucosidase lysosomale du foie des mammifères ...	24
<b>Figure 13</b> : Histogramme comparatif des % d'inhibition de l'absorption du glucose (utilisé à 5 µg/ml dans la suspension de levure) par les calystégines et le métronidazole à différentes doses .....	25
<b>Figure 14</b> : Histogramme comparatif des % d'inhibition de l'absorption du glucose (utilisé à 10µg/ml dans la suspension de levure) par les calystégines et le métronidazole à différentes doses .....	26
<b>Figure 15</b> : Histogramme comparatif des % d'inhibition de l'absorption du glucose (utilisé à 25 µg/ml dans la suspension de levure) par les calystégines et le métronidazole à différentes doses .....	27
<b>Figure 16</b> : Comparaison de la structure de la calystégine et du glucose .....	28
<b>Figure 17</b> : Glycosylation de l'hémoglobine.....	29
<b>Figure 18</b> : activité inhibitrice de la Quercétine et de la calystegine .....	29

**Liste des tableaux**

<b>Tableau I :</b> Transporteurs du glucose.....	04
<b>Tableau II:</b> Traitement du diabète de type 2 (DT2).....	09
<b>Tableau III :</b> Composition phytochimique de <i>Hyoscyamus albus</i> .....	10



# *Introduction*

---

## **Introduction**

Le diabète sucré est une affection métabolique, caractérisée par une hyperglycémie chronique liée à une déficience, soit de la sécrétion de l'insuline, soit de l'action de l'insuline, soit des deux à la fois. Au cours de son évolution, le diabète peut engendrer de graves complications touchant le cœur, les vaisseaux, les yeux, les reins et les nerfs. Toutefois, un bon contrôle de la maladie peut permettre de réduire considérablement les risques de complications (**Fagot-Campagna et al., 2010**).

En Algérie, il représente un problème de santé publique. Sa prévalence se situerait entre 8 et 12 % selon différentes études épidémiologiques ; il y représente, par ailleurs, la quatrième cause de décès (**Chami et al., 2015**).

La médecine traditionnelle basée sur l'utilisation des plantes médicinales pour le traitement de nombreuses maladies, dont le diabète sucré, est une pratique ancestrale qui continue à être utilisée. Au cours de ces dix dernières années sa popularité n'a fait qu'augmenter. Les informations ethnobotaniques recueillies dans plusieurs régions du monde estiment que plus de 1123 espèces végétales, soit plus de 725 genres appartenant à 183 familles, sont utilisées pour leurs propriétés hypoglycémiantes et antihyperglycémiantes (**Bailey, 1989 ; Marles, 1995**).

*Hyoscyamus albus* est une plante médicinale qui appartient à la famille des solanacées connue pour ses effets bénéfiques (antinévralgique, antispasmodiques et analgésiques...) (**Begum et al., 2010**).

Notre travail s'inscrit dans le cadre de la recherche de nouvelles molécules antidiabétiques, à partir de *Hyoscyamus albus*, plante médicinale connue pour ses alcaloïdes nortropaniques, notamment les calystégines. A cet effet nous nous sommes fixé comme objectif de tester, in vitro, l'activité antidiabétique d'un extrait de cette plante riche en alcaloïdes nortropaniques, à travers trois expérimentations :

La première consiste à évaluer l'effet des calystégines sur l' $\alpha$  glucosidase.

Le deuxième test nous a permis d'évaluer l'inhibition de l'absorption du glucose sur un modèle in vitro, à savoir les cellules de levures.

Le troisième test a été effectué pour évaluer la capacité, de l'extrait alcaloïdique, à réduire la glycation au niveau de la molécule d'hémoglobine.

*Chapitre I*

*Synthèse bibliographique*

---

## I. Métabolisme du glucose à jeun :

A jeun le maintien, de la concentration plasmatique, du glucose est assuré par la production endogène de glucose. Cette concentration reste stable chez les sujets sains et égale à 5mmol/l. Tandis que chez les personnes diabétiques cette moyenne varie d'une personne à une autre.

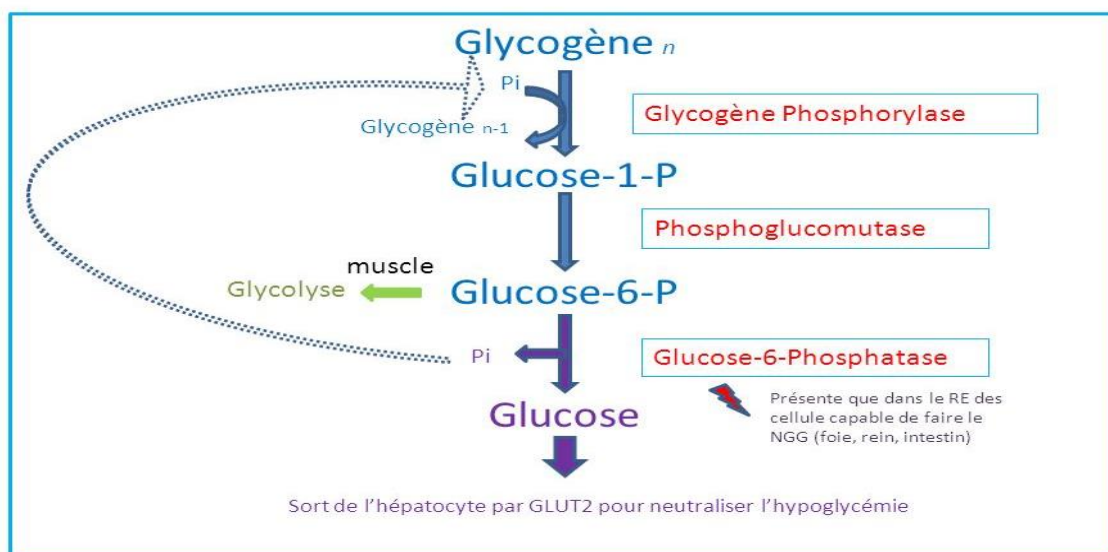
### I.1 Production endogène de glucose:

#### I.1.1 Les tissus glucoformateurs :

Les trois tissus glucoformateurs sont le foie, le rein et l'intestin, pour des sujets en bonne santé. La production endogène nette du glucose provient de la glycogénolyse et de la gluconéogenèse (wolever, 2008). Le foie est un organe très important dans l'homéostasie du glucose. Il assure ainsi la production de 85% de la production endogène de glucose (Mittelman, 1997). La production de glucose par le rein pourrait atteindre 20% (Ekberg, 1999). L'enzyme clé de production endogène, présente dans ces trois tissus, est la glucose-6-phosphatase qui transforme le glucose-6-phosphate en glucose qui sera ensuite libéré dans le sang. La glycogénolyse permet le maintien de la glycémie à court terme, quant à la néoglucogénèse elle intervient à long terme.

##### I.1.1.1 Glycogénolyse :

La glycogénolyse est la production de glucose à partir du glycogène. Deux enzymes interviennent dans la formation du glucose : la glycogène phosphorylase et la glucose-6-phosphatase (Stalman, 1987). (Figure N°1)



**Figure 1 : Production du glucose par glycogénolyse (Stalman, 1987).**

### **I.1.1.2 Néoglucogenèse :**

La néoglucogenèse se définit comme la production de glucose, à partir de précurseurs non glucidiques. Elle se met en place lorsque les réserves en glycogène sont insuffisantes. Ces précurseurs peuvent être le lactate, le pyruvate et certains acides aminés (**Genser, 2016**).

### **I.1.2 Absorption des sucres par l'intestin grêle**

L'intestin est une partie du tube digestif, chez les humains et les mammifères. Il est scindé en deux parties le gros intestin et l'intestin grêle. Ce dernier comprend trois segments successifs: le duodénum, le jéjunum puis l'iléon (**Genser, 2016**).

Dans un premier temps les polysaccharides seront dégradés en disaccharides, par l'amylase salivaire puis par l'amylase pancréatique. Les sucres sont ensuite pris en charge par les osidases.

Ils sont alors dégradés en monosaccharides qui sont les seuls capables de franchir la barrière intestinale

L'absorption des sucres (glucose, galactose et fructose) se déroule essentiellement dans le jéjunum à pH 6. Le glucose, le fructose et le galactose entrent dans la cellule intestinale grâce à des transporteurs spécifiques (**Genser, 2016**).

### **I.1.3 Transporteurs du glucose :**

Les transporteurs membranaires du glucose appartiennent à deux familles bien distinctes :

- les cotransporteurs glucose sodium (SGLT)
- les transporteurs facilitateurs (GLUT)

A ce jour 12 isoformes ont été caractérisés (GLUT 1... GLUT12) ces transporteurs diffèrent en termes de distribution cellulaire, de caractéristiques cinétiques et de spécificité relative aux hexoses transportés.

Les principales isoformes intervenant dans la régulation de l'homéostasie glucidique sont : GLUT1, GLUT2, GLUT3, GLUT4, GLUT5. Leurs caractéristiques sont décrites dans le tableau I (**Bell, 1990**).

**Tableau I : Transporteurs du glucose (Bell, 1990).**

Transporteur du glucose	Caractéristiques principales
GLUT1	Très largement répandu. Particulièrement abondant dans la membrane des hématies. Cellules endothéliales, cellules nerveuses, placenta, tissu adipeux.
GLUT2	Prédominant dans la membrane des cellules pancréatiques et dans les cellules hépatiques, transporte également fructose et galactose
GLUT3	Retrouvé principalement dans les neurones cérébraux et dans le muscle fœtal
GLUT4	Retrouvé dans les tissus cibles de l'insuline
GLUT5	Membrane luminale de l'entérocyte (transporteur du fructose). Muscles squelettiques et adipocytes

#### I.1.4 Utilisation du glucose

Suite à son absorption intestinale, environ 30 % du glucose absorbé est capté par le foie, lors du premier passage, et le reste du glucose atteint la circulation sanguine, pour être ensuite capté par les tissus périphériques dont il existe deux types:

Les tissus non insulino dépendants pour le glucose : ils ont une consommation régulière et continue en glucose (cerveau, rétine).

Les tissus insulino dépendants pour le glucose : principalement le foie le muscle squelettique et le tissu adipeux (Ekberg,1999 ).

#### I.1.5 Synthèse et sécrétion de l'insuline

L'insuline est sécrétée par les cellules  $\beta$  des ilots de Langerhans du pancréas, directement dans la veine porte en fonction du niveau glycémique.

Le gène de l'insuline code pour un ARNm qui permet de produire une pro hormone, la pro insuline, Cette dernière subit une étape de maturation dans l'appareil de Golgi, elle sera ensuite clivée pour donner deux hormones, le peptide C et l'insuline.

Le glucose agit comme régulateur de l'expression du gène de l'insuline et sur la dégradation du gène associé (Nazare, 2009).

### I.1.6 Régulation de la glycémie

Physiologiquement, la glycémie ne varie que dans des limites étroites: 4 à 5 mmol /L à l'état basal, 7 à 8 mmol /l après un repas. La régulation de la glycémie fait intervenir l'insuline et les hormones de contre-régulation tel que le glucagon.

Les principales hormones d'origine pancréatique sont au nombre de trois:

- l'insuline: synthétisée par les cellules  $\beta$ , qui est une hormone hypoglycémiant.
- le glucagon: synthétisé par les cellules  $\alpha$ , est une hormone hyperglycémiant.
- la somatostatine: synthétisée par les cellules  $\Delta$ , qui est aussi une hormone hyperglycémiant.

L'augmentation du niveau de glucose plasmatique déclenche la sécrétion d'insuline par les cellules  $\beta$  des îlots de Langerhans (**Drucker, 2007**).

La pénétration du glucose dans la cellule se fait par l'intermédiaire de 2 récepteurs spécifiques (**Drucker, 2007**) qui sont des protéines transmembranaires : les cotransporteurs de glucose sodium (SGLT) et les transporteurs facilitateurs (GLUT 1-4) qui sont repartis en deux sous groupes : Les GLUT 1-3 retrouvés au sein des différents organes dits insulino indépendants (principalement le foie, les reins, l'intestin, les cellules épithéliales et endothéliales et le cerveau), Le GLUT 4 qui est le transporteur stimulé par l'insuline, retrouvé au sein des tissus insulino dépendants, c'est à dire le muscle squelettique, le cœur et le tissu adipeux.

En présence d'insuline le GLUT 4, qui est stocké dans les vésicules, est redistribué par translocation vers les membranes cellulaires permettant la captation du glucose.

Suite à l'action de l'insuline, la glycémie peut descendre à la normale, c'est alors que le glucagon, synthétisé par les cellules A, stimule, au niveau hépatique, la glycogénolyse et surtout la néoglucogenèse, apte à résorber pendant plusieurs heures toute tendance hypoglycémique. (**Mizock, 1995 ; Van den Berghe, 2004**).

## I.2 Diabète

### I.2.1 Définition

Le diabète est une maladie métabolique qui rend le corps incapable d'utiliser correctement l'insuline, empêche le pancréas de synthétiser suffisamment d'insuline ou les deux à la fois.

Le diabète est un trouble de l'assimilation, de l'utilisation et du stockage des sucres apportés par l'alimentation. Cela se traduit par un taux de glucose dans le sang élevé: on parle d'hyperglycémie.

Les Glucides sont transformés en glucose. Le pancréas détecte l'augmentation de la glycémie. Les cellules bêta du pancréas, regroupées en amas appelés îlots de Langerhans, secrètent de l'insuline. Celle-ci permettra au glucose de pénétrer dans les cellules de l'organisme: muscles, tissus adipeux, et le foie où il va pouvoir être transformé et stocké. Ainsi la glycémie peut augmenter légèrement, puis revenir à un taux normal et le glucose va être converti en réserves et en énergie. Chez les personnes atteintes de diabète, ce système ne fonctionne pas (OMS, 1999).

### **I.2.1.1 Le diabète de type 1**

Ce type de diabète est une maladie que l'on appelle "auto-immune". La personne fabrique des anticorps qui ont la caractéristique d'attaquer ses propres cellules pancréatiques, en l'occurrence celles qui fabriquent de l'insuline.

Le résultat en est la destruction des îlots de Langerhans où se fabrique l'insuline. Lorsque 90% des îlots sont détruits, le diabète apparaît (OMS, 1999).

### **I.2.1.2 Le diabète de type 2**

Il est également appelé diabète non insulino dépendant. Dans ce cas le pancréas produit certes encore suffisamment d'insuline au début, mais celle-ci est sécrétée trop lentement et au mauvais moment et n'agit pas suffisamment à cause de l'excès pondéral (résistance à l'insuline) (OMS, 1999).

## **I.2.2 Diabète et génétique**

### **I.2.2.1 Type 1**

La susceptibilité pour la maladie est déterminée par des gènes à l'intérieur du système HLA. Chez l'homme, il s'agit surtout de marqueurs HLA classe II des sous-régions DR et DQ. Ainsi, plus de 90% des diabétiques de type 1 possèdent les marqueurs DR3 et/ou DR4. Les analyses de génétique moléculaire ont montré que les diabétiques DR4-positifs sont aussi porteurs de l'allèle DQ DQw8 (DQB1\*0302), tandis que chez les non-diabétiques DR4-positifs, ce gène est surtout associé avec le DQw7 (DQB1\*0301). A côté des haplotypes HLA favorisant la susceptibilité, le rapport entre la susceptibilité au diabète et les propriétés structurales des molécules DQ réside dans l'affinité de liaison des peptides qui sont présentés au système immunitaire par les molécules HLA (Spinas, 2001).



### I.2.2.2 Type 2

La maladie semble être une affection polygénique, induite par des déterminants génétiques qui perturbent le métabolisme énergétique aboutissant à une altération de la sécrétion et/ou de l'action de l'insuline. Les recherches portant sur les gènes candidats et le criblage du génome n'ont permis, jusqu'à présent, de trouver qu'une seule association localisée au niveau du gène de la calpaïne 10 dans la population américano-mexicaine. Le produit du gène TCF7L2 contient un facteur de transcription impliqué dans l'homéostasie glucidique (**Grant, 2006**).

### I.3 L'hyperglycémie postprandiale

L'hyperglycémie postprandiale est la conséquence directe d'une résorption rapide et importante des glucides alimentaires et/ou d'une inhibition imparfaite de la production hépatique de glucose après les repas.

La vitesse de résorption des glucoses, après les repas, est directement influencée par le type d'alimentation (index glycémique) et par la cinétique plus ou moins rapide de la vidange gastrique. L'hyperglycémie postprandiale contribue à aggraver le déséquilibre métabolique et participe, de façon non négligeable, à l'augmentation du taux d'hémoglobine glyquée (**Scheen, 2002**).

#### I.3.1 Physiopathologie de l'hyperglycémie post prandiale

Après l'ingestion d'un repas, le foie joue un rôle très important dans le maintien de la glycémie, chez le sujet normal. L'hyperglycémie postprandiale est limitée notamment, en raison des caractéristiques de l'insulinosécrétion et d'une excellente sensibilité des cellules hépatiques et musculaires à l'action de l'hormone (**Lefèbvre, 1999**). Ces deux actions aboutissent à une inhibition de la production de glucose par le foie, une stimulation de la synthèse de glycogène hépatique (**Paquot, 2000**), et à une stimulation de l'utilisation périphérique du glucose, essentiellement par les muscles squelettiques (**Lefèbvre, 1999**).

La sécrétion de glucagon, par les cellules A des îlots de Langerhans est connue pour stimuler la glycogénolyse et la gluconéogenèse hépatique Elle est inhibée par l'hyperglycémie post-prandiale (**Surmely, 1999**).

L'hyperglycémie post-prandiale, du patient diabétique, est avant tout la conséquence d'une inhibition imparfaite de la production hépatique de glucose après le repas (**Dinneen, 1992**). Cette anomalie s'explique par une insulinsation insuffisante, dans l'heure suivant le

repas, couplée à une résistance relative des hépatocytes à l'action de l'insuline (**Paquot, 2000**). De plus, il existe souvent, chez le patient diabétique, une hyperglucagonémie au moins relative. Compte tenu des effets du glucagon sur les voies métaboliques intrahépatiques l'hyperglucagonémie, imparfaitement inhibée par la prise d'un repas, contribue à un moindre freinage de la production de glucose, par le foie et accentue l'hyperglycémie post-prandiale (**Shah, 2000**).

#### **I.4 Hémoglobine glyquée (HbA1c)**

Le dosage de l'hémoglobine glyquée permet d'obtenir une estimation de la glycémie moyenne au cours des deux à trois derniers mois de suivi d'un patient. Sa valeur est généralement exprimée en pourcentage et permet la surveillance de l'équilibre glycémique des patients diabétiques. Un niveau supérieur ou égal à 6,5% d'HbA1c, déterminé par HPLC (chromatographie en phase liquide à haute performance), vient d'être récemment intégré au critère diagnostique du diabète par l'ADA (American diabetes association) (**American Diabetes Association, 2008**).

Utilisé depuis 30ans, le dosage de l'hémoglobine glyquée, est considéré comme un élément objectif du contrôle de l'équilibre glycémique du patient diabétique. Produit de la réaction, de condensation non enzymatique entre un NH<sub>2</sub> de la chaîne de la globine et la fonction aldéhyde d'un ose, l'hémoglobine glyquée est la cétoamine stable résultant de la fixation du glucose sur la valine N terminale des chaînes  $\beta$ .

Elle s'accumule dans les hématies, tout au long de leur vie (120 jours), et constitue un enregistrement de la glycémie durant la période de 4 à 8 semaines précédant le prélèvement (**Procopiou, 2006 ; Gillery, 2014**).

#### **I.5 Le traitement du diabète de type 2**

Au fil des années plusieurs traitements ont été élaborés, néanmoins on peut diviser les différents médicaments en plusieurs classes en fonction de divers paramètres :

- le mode d'action,
- la composition chimique ainsi que plusieurs autres facteurs

Le tableau II résume les différents traitements utilisés actuellement (**Scheen, 2007**). :

Tableau II : Les différents traitements du diabète de type 2

CLASSE	MODE D'ACTION
<b>Insulino sécrétagogues</b>	<p>-C'est une classe de médicaments qui permet la sécrétion d'insuline, on peut citer comme exemple les sulfamides hypoglycémiantes et les glinides (Scheen, 2007).</p> <p>-Les médicaments ciblant le glucagon-like peptide-1 (GLP-1) : (GLP-1) est une hormone intestinale sécrétée en réponse au repas mais très vite dégradée par une enzyme spécifique, la dipeptidylpeptidase-4 (DPP-4), elle sensibilise la cellule B des îlots de Langerhans du pancréas à l'hyperglycémie et facilite donc l'insulino sécrétion Le patient ayant un diabète de type 2 est caractérisé par un déficit de sécrétion du GLP (Scheen, 2007)</p>
<b>Insulino sensibilisateurs</b>	<p>-Cette classe de médicaments agit en améliorant la sensibilité de l'insuline, exemple : Metformine qui joue un rôle d'épargne insulinaire en diminuant la production hépatique de glucose et en améliorant la sensibilité musculaire à l'insuline (Scheen, 2005)</p>

### I.6 Phytothérapie du diabète

Depuis les temps anciens, le remède végétal a été largement utilisé pour aider à soigner le diabète ; plus de 1200 plantes différentes, ont été décrites comme un traitement traditionnel du diabète (Eddouks *et al.*, 2007). Parmi toutes les plantes testées *in vitro*, 80% sont potentiellement antidiabétiques (Oubré *et al.*, 1997). Dans d'autres cas, certaines plantes médicinales hypoglycémiantes induisent la régénération des cellules  $\beta$  pancréatiques (Kanter *et al.*, 2003).

## I.7 Les solanacées

La famille des solanacées, nommée les blêmes ou les tristes, en raison des feuilles qui ont un aspect tombant avec des couleurs assez ternes, est retrouvée dans les zones tempérées et froides dans le monde entier. Ce sont des arbustes parfois grimpants, avec des feuilles alternes, simples, entières ou dentées (spichiger et al., 2004). Les plantes de cette famille sont considérées comme étant toxiques, car elles sont riches en alcaloïdes tropaniques qui sont dotés d'activité hallucinogène et antispasmodique, notamment celles appartenant au genre *Atropa* (Goullé et al., 2004).

### I.7.1 *Hyoscyamus albus*

Parmi les diverses espèces de solanacées on retrouve *Hyoscyamus albus*, connue aussi sous le nom de jusquiame blanche. C'est une variété annuelle ou bisannuelle, pouvant atteindre 90cm de hauteur avec un port dressé et des feuilles de couleur vert clair, larges ovales, collantes de 5 à 10cm de long. Au printemps la floraison donne des fleurs de 1 à 3 Cm de long bilabiées, irrégulièrement lobées, de couleur vert pale (Goullé et al., 2004). Le fruit est une capsule fermée par un opercule, qui renferme des centaines de graines à surface réticulée (Hammiche et al., 2013). (Figure N°2 )



**Figure 2 :** Photo de *Hyoscyamus albus*

### I.7.2 Classification botanique de *Hyoscyamus albus* :

Le tableau III donne la classification botanique de *Hyoscyamus albus*.

**Tableau III** : Classification botanique de *Hyoscyamus albus* (Quézel et santa, 1963)

Rang taxonomique	Nomenclature
Règne	Plantae
Embranchement	Tracheophyta
Classe	Magnolipsida
Sous classe	Magnoliidae
Ordre	Solanales
Famille	Solanaceae
Genre	Hyoscyamus
Espèce	Hyoscyamus albus

### I.7.3 Composition phytochimique de *Hyoscyamus albus*.

La jusquiame blanche est utilisée en médecine traditionnelle car elle renferme de nombreux principes actifs. Elle est caractérisée, du point de vue phytochimique, par sa richesse en alcaloïdes (0.2 à 0.5 % dans la plante entière), en flavonoïdes, et en d'autres composants (Goullé et al., 2004).

### I.7.4 Utilisation pharmacologique

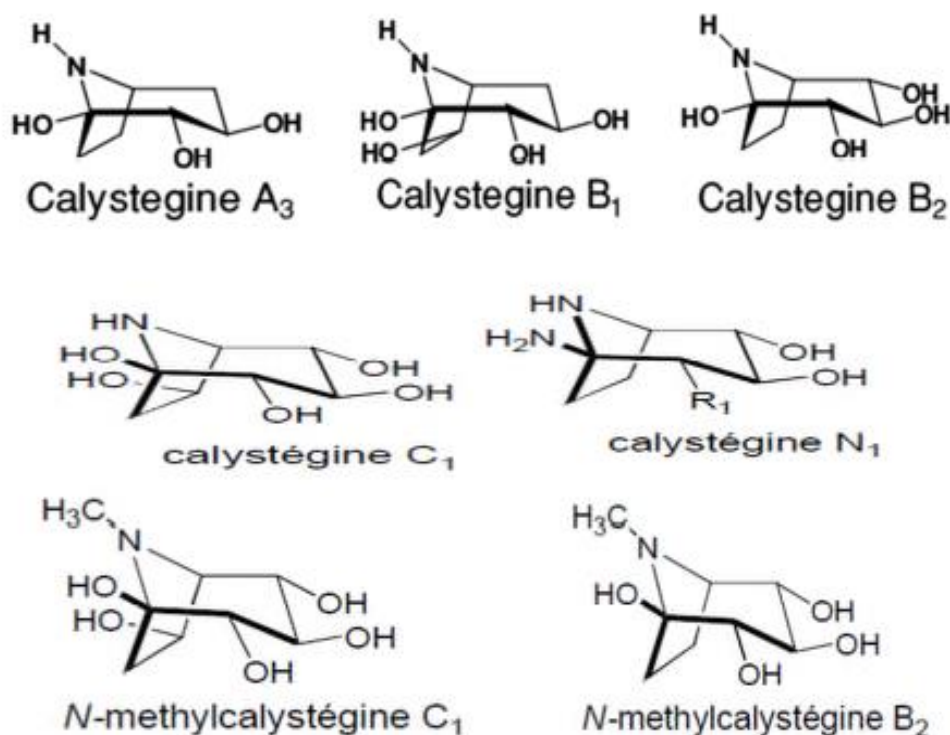
La jusquiame est utilisée pour ses propriétés médicinales depuis des millénaires. Elle est utilisée pour ses vertus thérapeutiques surtout en homéopathie (Goullé et al., 2004). Elle est employée en tant que sédatrice du système nerveux central, antinévralgique, dans la maladie de Parkinson et pour ses propriétés antispasmodiques ou analgésiques, anti-inflammatoire, antihelminthique, fébrifuge et anti-tumorale. L'action parasympholytique est faible tandis que la forte teneur en scopolamine amène une action narcotique et hallucinogène importante. La scopolamine fut utilisée pendant la deuxième guerre mondiale sous la forme d'un sérum de vérité (Begum et al., 2010).

## I.8 Définition des calystégines

Les calystégines sont des glycomimétiques (Asano *et al.*, 1997). Elles ont été détectées la première fois dans la belladone (*Atropa belladonna*). C'est en 1988 que les premières calystégines ont été isolées à partir d'extraits de racines de *Calystegia sepium*, ce qui est à l'origine de leur nom (Drager *et al.*, 1994 ; Biastoff et Drager, 2007;).

### I.8.1 Structure des calystégines :

Les premiers composés, isolés furent les calystégines A3, B1 et B2, alcaloïdes de type nortropane polyhydroxylés, possédant 3 ou 4 groupements hydroxyles dans des positions variées (Figure 3) La structure de 15 calystégines a été élucidée, 5 trihydroxynortropane (A3, A5-A8), 6 tétrahydroxyls (B1, B6), et 2 dérivés de pentahydroxyls (C1, C2) (Eich, 2008). (Figure N°3)



**Figure 3** : Structure des différentes calystégines (Eich, 2008).

### **I.8.2 Propriétés biologiques**

Les calystégines sont des molécules naturelles qui ont fait l'objet de beaucoup de recherches sur le plan des activités biochimiques et applications thérapeutiques (**Biastoff et Drager, 2007**). Les calystégines, comme les autres alcaloïdes monosaccharides mimétiques, inhibent les glycosidases grâce à la similitude des parties pyranes des substrats naturels (**Cordell, 2013**). Le mode d'inhibition des glycosidases est compétitif pour la plupart des alcaloïdes polyhydroxylés y compris les calystégines. La présence d'un groupement OH en C2, du squelette nortropane, est l'élément de structure minimal exigé pour l'inhibition (**Biastoff et Drager, 2007**). Selon Biastoff et Drager (2007), d'autres activités thérapeutiques pourraient être attribuées aux calystégines, à savoir L'effet antidiabétique et antiviral, l'activité répulsive vis-à-vis des insectes, l'activité nématocide.

## *Chapitre II*

### *Matériel et méthodes*

---

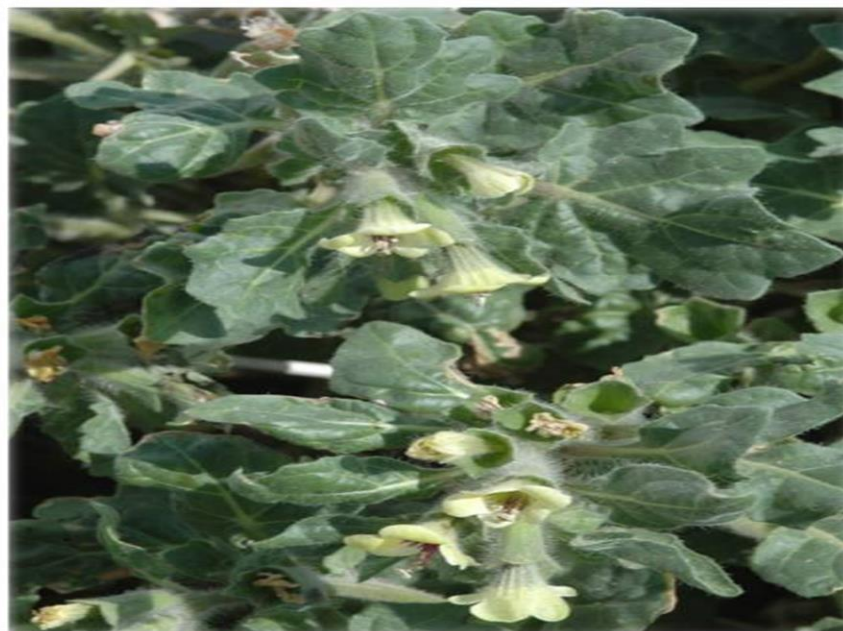


## II. Matériel et méthodes

### II.1-Matériel végétal

Les graines de *Hyoscyamus albus* ont été récoltées au mois d'aout 2016 dans la région d'Ihitoucen-Bouzguene, wilaya de Tizi-Ouzou, située à environ 80km de la wilaya de Bejaia, puis séchées à l'étuve pendant 48h à 40°C. Un broyage a ensuite été effectué (broyeur électrique) et la poudre obtenue a été stockée dans des bocaux en verre hermétiquement fermés et gardée à l'abri de la lumière et de l'humidité.

Un échantillon de la plante entière a été récolté, dans la même région, et identifié au niveau du laboratoire de physiologie végétale et d'écologie de l'université de Bejaïa en se référant à la flore algérienne de **Quezel et Santa (1963)**. (**Figure N°4**)



**Figure 04 :** *Hyoscyamus albus* (Photo originale) **Tizi ousou 2018.**

### II.2- Méthodes

#### II.2.1-Préparation des extraits des graines de *Hyoscyamus albus*

Lors de cette étude une extraction sélective avec un solvant organique a été entreprise selon la méthode de **Bekouche et al. (2001)**. Elle est basée sur le degré de solubilité des calystégines dans les solvants organiques.

### II.2.1.2- Préparation de l'extrait brut

Une quantité de 100g de poudre de graines de *Hyoscyamus albus*, délipidée par de l'éther de pétrole, a été soumise à trois macérations successives de 24h chacune, sous agitation. Les macérations ont été réalisées dans un mélange de méthanol/eau avec un rapport de (50/50 : v/v).

Après filtration, des trois macéras, à l'aide de papier filtre wattman, ces derniers ont été mis à évaporation dans une étuve à une température de 40°C pendant 24h.

### II.2.3-Purification des calystégines totales :

La purification des alcaloïdes nortropaniques, des graines de *Hyoscyamus albus* a été effectuée par chromatographie échangeuse d'ions de l'extrait brut préalablement préparé.

#### II.2.3.1-Purification sur colonne échangeuse de cations amberlite 120b,H<sup>+</sup>

Un volume de 0.5ml d'extrait brut a été déposé sur la colonne, après 1heure un lavage avec 200ml d'eau distillée a été effectué pour pouvoir éliminer les autres contaminants, et l'élution a été réalisée avec 150ml de NH<sub>4</sub>OH à 4N. L'éluat est mis à sécher à l'étuve pendant 24heures.

#### II.2.3.2-Purification sur colonne dowex 1X2, CL<sup>-</sup>

Un volume de 0.3ml d'extrait, obtenu à partir de la première purification est déposé sur la colonne, puis laissé échanger pendant 1heure. Comme les alcaloïdes d'intérêt sont des molécules hydrosolubles donc l'élution a été faite avec de l'eau distillée (150ml).

L'éluat, qui en résulte, a été filtré puis séché à l'étuve à 40°C pendant 24heures. Une fois séché, l'extrait d'alcaloïdes a été conservé au réfrigérateur à l'abri de la lumière et de l'humidité.

## II.3 Activité antidiabétique in-vitro des calystégines extraits de *H.albus*

### II.3.1. inhibition de l' $\alpha$ -glucosidase

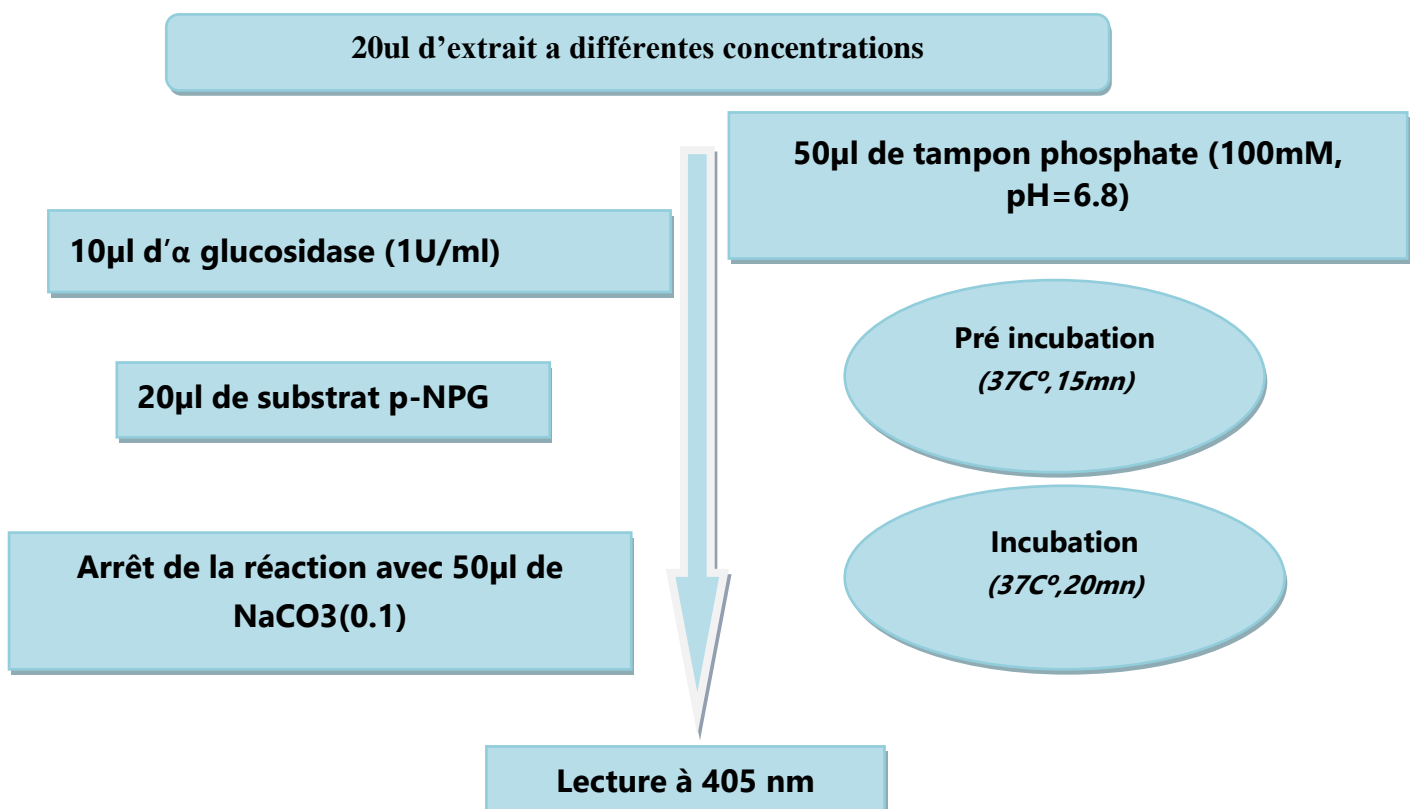
### ➤ Principe

Le principe consiste à mettre en contact, l'extrait brut de calystégines avec l' $\alpha$  glucosidase et son substrat et mesurer l'intensité de l'absorbance à 405nm, afin d'évaluer le degré d'inhibition de l'activité enzymatique par l'extrait de calystégines (Shai *et al.* 2011). Le standard utilisé est l'acarbose.

### ➤ Mode opératoire

Afin de déterminer le Pourcentage d'inhibition de L' $\alpha$ -glucosidase le protocole suivant est utilisé : 50 $\mu$ l de tampon phosphate (100mM, pH=6.8) et 10 $\mu$ l d'enzyme (1U/ml) sont introduits dans les puits d'une microplaque puis 20  $\mu$ l d'extrait, à différentes concentrations (10, 25, 50, 100ug/ml), y sont ajoutés.

La microplaque subit une pré-incubation à 37C° durant 15 min, puis 20  $\mu$ l de substrat p-NPG (5mM) y sont ajoutés. La microplaque est ensuite incubée pendant 20min a 37C°. Enfin la réaction est stoppée par l'ajout de 50  $\mu$ l de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (0.1M) et l'absorbance, reflétant l'activité enzymatique, est lue à 405nm (Shai *et al.* 2011). (Figure N°5)



**Figure 05** : Les différentes étapes de la réalisation du test enzymatique (Shai *et al.* 2011)

Le blanc est préparé de la même façon sauf que l'extrait est remplacé par l'eau distillée.

➤ **Expression des résultats**

Le pourcentage d'inhibition de l' $\alpha$ -glucosidase est calculé selon la formule suivante:

$$\% \text{ d'inhibition} = \left[ \frac{Ac - As}{Ac} \right] \times 100$$

Où :

As : absorbance de l'extrait ou du standard

Ac : Absorbance du contrôle

### II.3.2 Effet sur l'absorption du glucose par la levure :

➤ **Principe :**

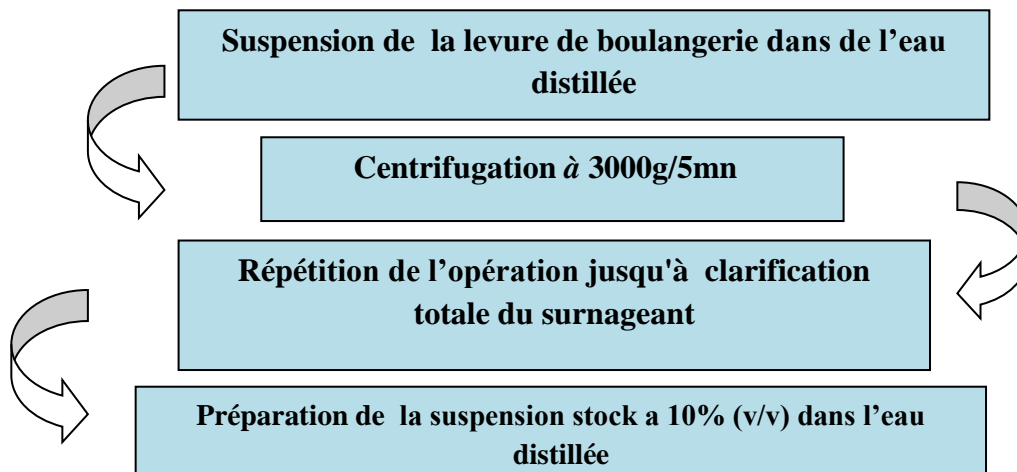
Les cultures de levure nécessitent le glucose comme nutriment organique, pour leur croissance, une fois utilisées, les molécules de cet hexose sont, pour un bon nombre d'entre-elles, immédiatement dégradées pour en extraire l'énergie soit par la respiration (processus aérobie), soit par la fermentation (processus anaérobie). Le choix de la levure, dans notre expérimentation, est un choix minutieux étant donné que les mécanismes de transport du glucose sont similaires à ceux rencontrés chez les humains.

Différentes concentrations de calystégines totales (25, 50, 100, 500  $\mu\text{g/ml}$ ) sont mises en contact avec la levure et le glucose, utilisé à différentes concentrations (5mM, 10M, 25mM). Ce test permettra de tester le pouvoir inhibiteur des calystégines sur l'absorption du glucose par la levure (Nair, 2013).

➤ **Mode opératoire :**

#### A). Préparation de la suspension de levure

La suspension de levure est préparée à 10% selon le protocole présenté dans la figure 06.



**Figure 06 :** les étapes de la préparation de la suspension de levure

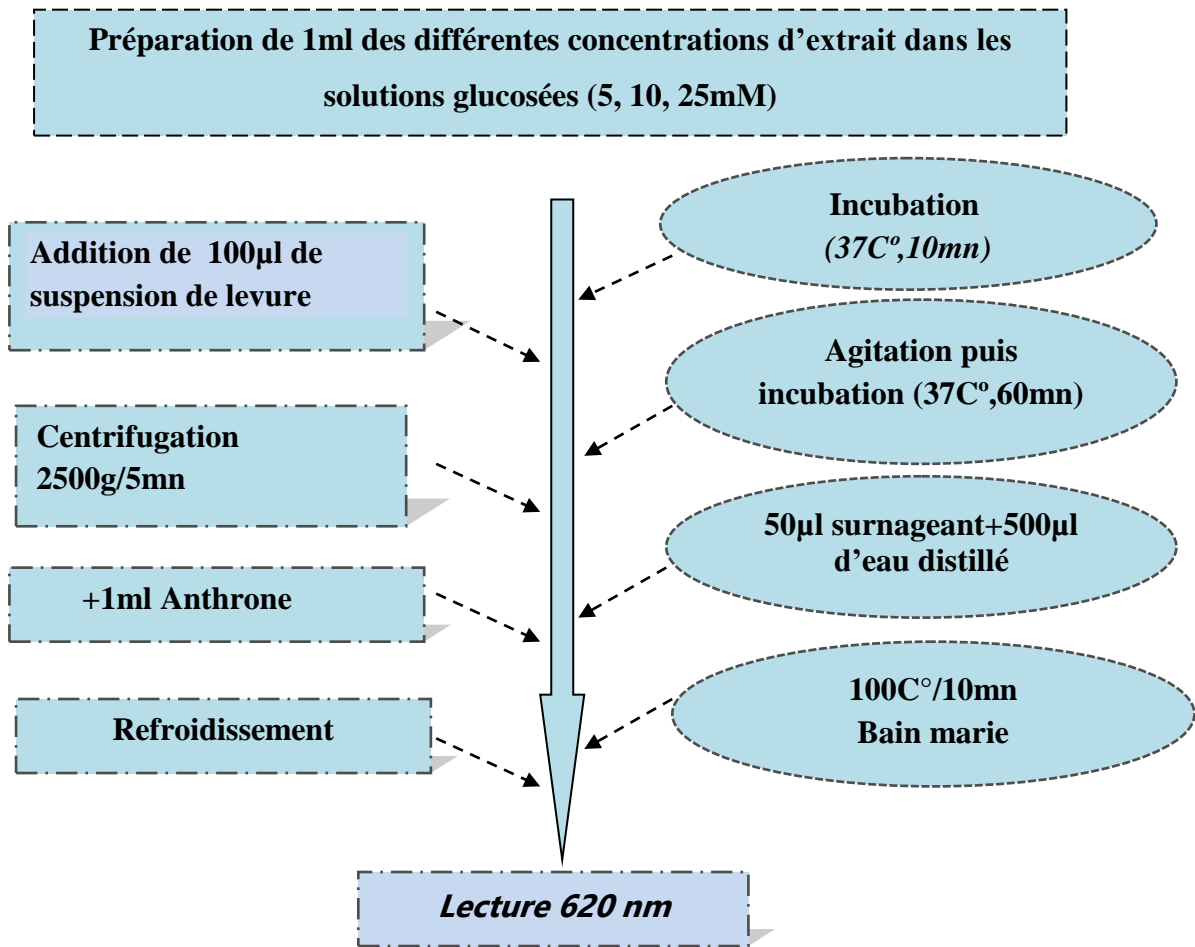
### **B) Absorption du glucose:**

Différentes concentrations d'extrait sont préparées dans des solutions glucosées (5, 10, 25 mM). L'ajout de 100µl de suspension de levure permettra d'amorcer la réaction grâce à une pré incubation de 1ml de ces solutions à 37C° pendant 10min. Le mélange est ensuite agité, incubé à 37C° pendant 60mn puis centrifugé à 2500g durant 5 minutes.

### **C) Dosage de glucose :**

Un volume de 50 µl de chaque surnageant est additionné de 500 µl d'eau distillée et 1ml de réactif d'antrone à 0.2%, préparé dans l'acide sulfurique à 94 %. Ce mélange est incubé par la suite pendant 10mn dans de l'eau bouillante (100C°). L'absorbance est lue à 620nm après refroidissement du mélange (**Kubrak et al. 2012**).

Une courbe d'étalonnage avec du glucose (0, 10, 20, 30, 40, 50, 60 µg/ml) est préparée dans les mêmes conditions expérimentales. Le metronidazole est utilisé comme standard à différentes concentrations (2, 4, 6, 8, 10 µg/ml). (**Figure N°07**)



**Figure07** : Schéma récapitulatif du protocole d'inhibition, par les calystégines, de l'absorption du glucose par la levure (Nair, 2013)

### ➤ Expression des résultats

Le pourcentage d'inhibition de l'absorption du glucose est calculé selon la formule suivante :

$$\% \text{ d'inhibition} = \left[ \frac{A_s - A_c}{A_s} \right] \times 100$$

Où :

$A_s$  : absorbance du standard ou de l'extrait

$A_c$  : absorbance du contrôle

### II.3.3 Effet sur la glycosylation de l'hémoglobine

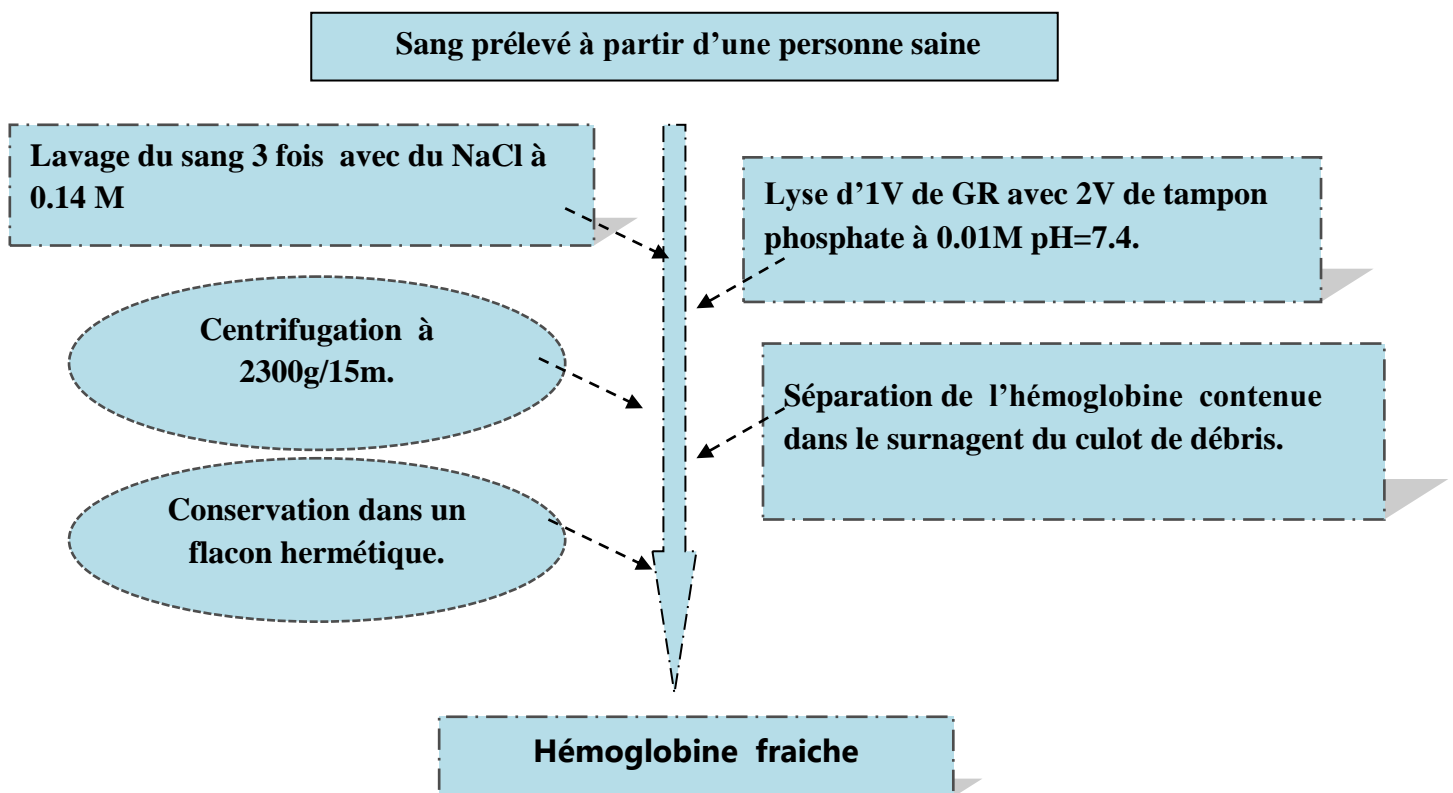
➤ **Principe :**

Le glucose (2%), l'hémoglobine (0,06%) et la gentamycine (0,02%) ont été préparées dans du tampon phosphate à 0,01 M, pH 7,4. 1 ml d'extrait de calystegines a été ajouté à la solution puis le mélange réactionnel est incubé à l'obscurité et à température ambiante pendant 24h, 48h et 72h. Le degré de glycosylation de l'hémoglobine est calculé par spectrophotométrie (lecture à 443nm).

➤ **Mode opératoire :**

**A) Extraction de l'hémoglobine :**

Le sang est lavé à trois reprises avec une solution saline de NaCl 0,14 M afin d'extraire l'hémoglobine débarrassée de toutes les impuretés. Les globules rouges sont ensuite lysés par un tampon phosphate à 0,01M et à pH 7,4. Les échantillons obtenus sont centrifugés à 2300 Rpm durant 15mn pour éliminer les débris cellulaires. L'hémoglobine, contenue dans le surnageant, est conservée dans un flacon hermétique à 4C°. (Nair, 2013). (Figure N°08)



**Figure 08 :** Protocole d'extraction de l'hémoglobine (Nair, 2013)

**B) Effet des calystegines sur la glycosylation de l'hémoglobine :**

Pour effectuer ce test on introduit 1ml d'hémoglobine dans un tube à essai puis on y ajoute 5ul d'antibiotique (gentamicine 0.2mg/ml) et 25ul d'extrait à différentes concentrations (250, 500, 1000 µg/ml). Le mélange est additionné d'1 ml de glucose à 2%, puis les tubes sont incubés à température ambiante et à l'abri de la lumière durant 24h, 48h, 72h. Trois lots de tubes sont préparés :

- Premier lot : hémoglobine+gentamicine+glucose (5, 10, 20 mg/ml).
- Deuxième lot : hémoglobine+gentamicine+ (250, 500, 1000ug/ml) d'extrait+ glucose a 2%.
- Troisième lot : hémoglobine+gentamicine+ (50, 100, 150ug/ml) quercétine (standard) + glucose a 2% .

Chaque test est réalisé en triplicata et trois séries des mêmes tests sont effectués afin de pouvoir faire le dosage à 24h, 48h et 72h (**Nair, 2013**).

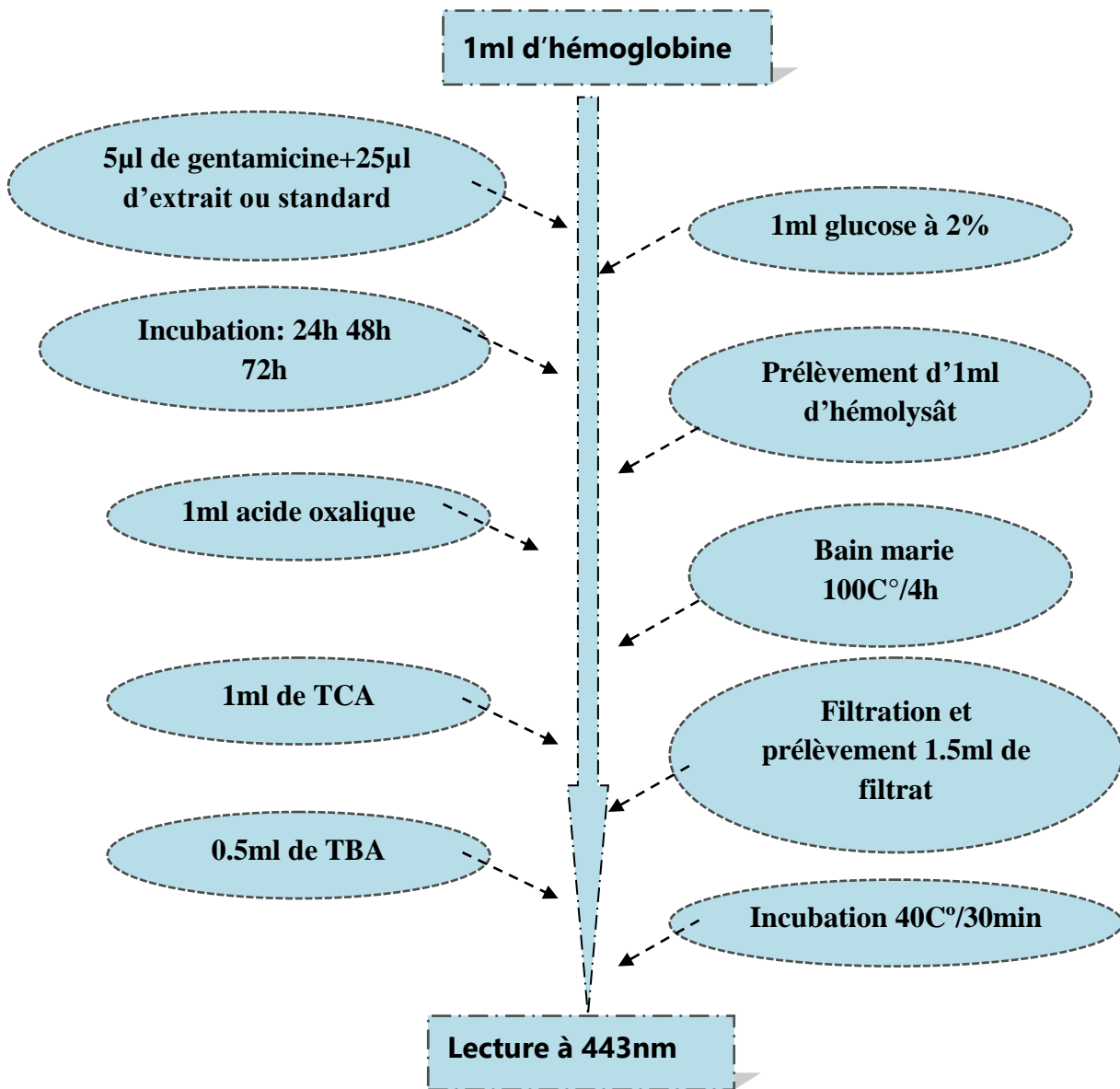
**C) Dosage de l'hémoglobine glyquée :**

Un volume de 1 ml d'hémolysât, préalablement incubé, est prélevé et additionné de 1ml d'acide oxalique. Le mélange est agité puis incubé au bain marie (100C°,4h). Après la période d'incubation et le refroidissement des tubes, 1ml d'hémolysât est prélevé et additionné de 1ml d'acide trichloracétique (TCA).

Après filtration un volume de 1,5ml est prélevé à partir du filtrat, puis 0,5ml de TBA sont additionné. Ce dernier mélange est incubé, à 40°C pendant 30 minutes, puis l'absorbance est lue à 443nm.

Les résultats sont exprimés en équivalent fructose, utilisant une courbe d'étalonnage réalisée avec différentes concentrations de fructose (**Parker, 1981**). (**Figure N°09**)





**Figure09** : Schéma récapitulatif du dosage du glucose (Parker, 1981)

- **Expression des résultats** : Le pourcentage d'hémoglobine glyquée est exprimé selon la relation suivante :

$$\% d' inhibition = \left[ \frac{As - Ac}{As} \right] \times 100$$

Où :

As : Absorbance de l'extrait ou du standard

Ac : absorbance du contrôle

## *Chapitre III*

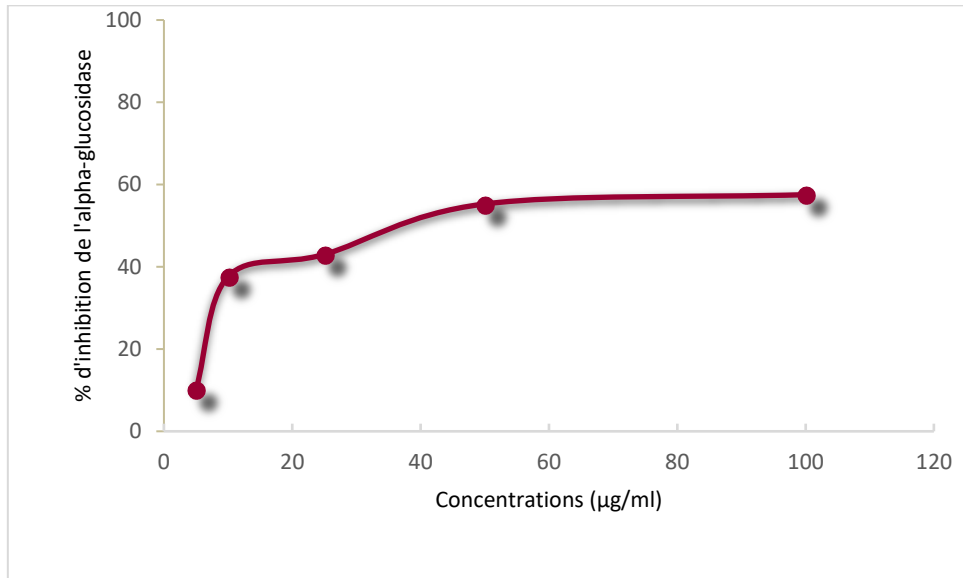
### *Résultats et discussion*

---

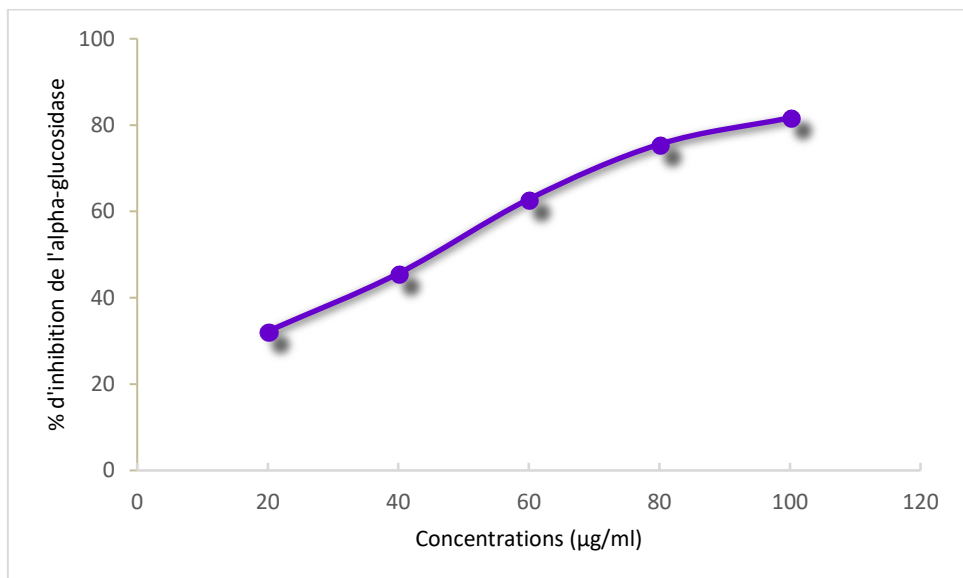
### III Résultats et discussion

#### II.1. Inhibition de l'alpha glucosidase par les calystégines de *Hyoscyamus albus* :

Les résultats du test d'inhibition de l'alpha glucosidase par les calystégines de *Hyoscyamus albus* sont présentés dans la figure N° 10 :



**Figure 10 :** Evolution du pourcentage d'inhibition de l'alpha glucosidase par les calystégines de *H. albus*



**Figure11 :** Evolution du pourcentage d'inhibition de l'alpha glucosidase par la molécule standard : l'acarbose

Nous remarquons, d'après les résultats présentés dans la figure N°10, que le pourcentage d'inhibition est proportionnel à la concentration de l'extrait.

Les calystégines, dérivés nortropaniques polyhydroxylés ont été identifiés pour la première fois dans les racines de *calystegia sepium* (convolvulaceae) mise en culture. En raison de leur analogie structurale avec des monosaccharides, ces alcaloïdes ou iminosucres ont déjà montré une activité inhibitrice spécifique de plusieurs glycosidases. Ils ont de ce fait suscité un intérêt particulier en thérapeutique à l'image d'autres alcaloïdes inhibiteurs de glycosidases (**Scholl et al. 2001**).

L'hyperglycémie postprandiale est considérée comme la principale cible pour le traitement du diabète sucré (**Van dijk et al. 2001**). Il est à présent admis que les alcaloïdes mimiques de sucres possèdent des effets inhibiteurs considérables envers différentes glycosidases par interaction spécifique avec les sites actifs de ces enzymes, en imitant leur substrat naturel correspondant (**Asano et al. 2000**). Ces enzymes sont souvent impliquées dans divers processus biologiques importants telle que l'absorption intestinale et le catabolisme lysosomiale des glycoconjugués (**Martinez-Montero et al. 2012**). Il est bien connu que la libération du glucose, résultante de l'hydrolyse des glucides, catalysée par certaines enzymes telles que la glucosidase dans le tube digestif, contribue largement à l'hyperglycémie chez les sujets diabétiques. L'inhibition de cette classe d'enzymes contribue à retarder l'absorption gastro intestinale des glucides alimentaires et le passage du glucose dans le flux sanguin, en limitant la dégradation d'oligosaccharides linéaires ou ramifiés (**Lee, 2012 ; Priscilla et al. 2014**).

L'affinité d'un inhibiteur pour une enzyme est donnée par la constante d'inhibition  $K_i$ , qui représente la concentration nécessaire pour inhiber l'enzyme. Ainsi, l'affinité d'un inhibiteur est d'autant plus grande que le  $K_i$  est petit.

Cette constante d'inhibition, exprimée en mole par litre, correspond aussi à la constante de dissociation du complexe enzyme-inhibiteur (**Cheng et al. 1973**).

**Tableau IV** : Effets des calystegines sur la glucosidase lysosomale du foie des mammifères (**Naoki,1997**)

Compound	IC <sub>50</sub> <sup>a</sup> and (KI, $\mu$ M)					
	$\beta$ -Glucosidase			$\alpha$ -Galactosidase		
	Bovine	Human	Rat	Bovine	Human	Rat
Calystegine A <sub>3</sub>	NI <sup>b</sup>	NI	90 (Ki, 24)	NI	410	NI
Calystegine B <sub>1</sub>	360 (Ki, 150)	50 (Ki, 10)	4.6 (Ki, 1.9)	NI	NI	NI
Calystegine B <sub>2</sub>	NI	NI	15 (Ki, 8.9)	270 (Ki, 72)	140 (Ki, 185)	21 (Ki, 4.8)
Calystegine C <sub>1</sub>	60 (Ki, 15)	3 (Ki, 1.5)	3.6 (Ki, 1)	NI	NI	NI

<sup>a</sup>Concentration giving 50% inhibition.

<sup>b</sup>Less than 50% at 1 mM.

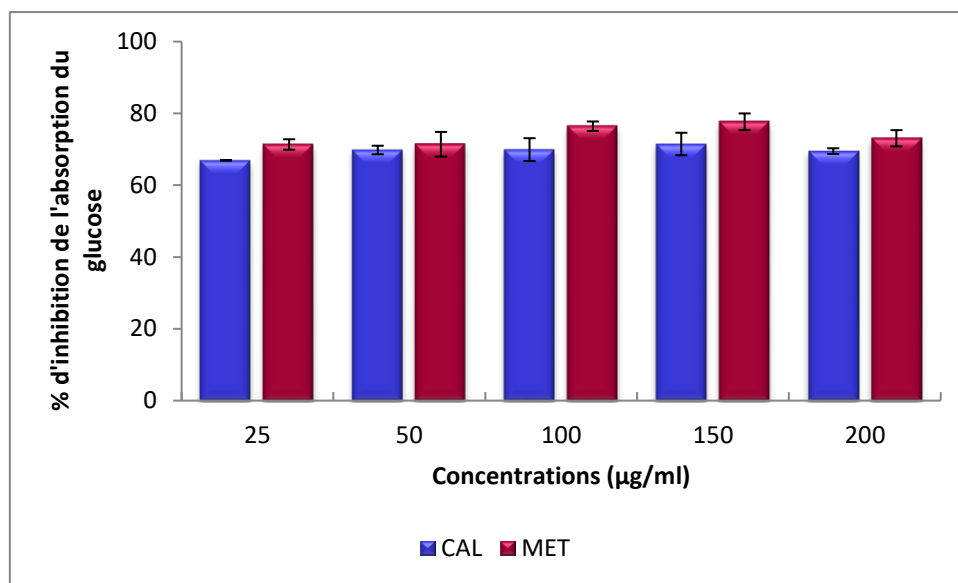
L'étude de Naoki (1997) (**figure N°12**) montre que l'activité des calystéginés varie d'un sous type à un autre, et les résultats changent en fonction de l'espèce (bovins, Homme, rat) et de l'enzyme ciblée ( $\beta$ -Glucosidase,  $\alpha$ -Galactosidase). Les résultats montrent que la calystéginé C1 a une activité très intéressante au niveau du foie de l'humain et des rats avec des valeurs de Ki de 1.5 et 1, respectivement. L'introduction d'un groupe hydroxyle au sein du C6 des calystéginés A3 et B2, pour donner B1 et C1, respectivement, améliore nettement l'inhibition de la  $\beta$  glucosidase lysosomiale chez les trois espèces (bovins, Homme, rat) ceci suggère que l'anneau de pyrrolidine hydroxylé est la clé structurelle déterminant l'inhibition de la  $\beta$  glucosidase (**Naoki et al. 1997**). Ces résultats, obtenus sur la  $\beta$  glucosidase, justifient notre recherche sur l'activité inhibitrice des calystéginés extraites à partir des graines de *Hyoscyamus albus*, sur l' $\alpha$  glucosidase et confirme ainsi l'hypothèse selon laquelle l'analogie structurelle des calystéginés avec le glucose joue un rôle primordial dans l'inhibition de cette enzyme.

D'autres études ont rapporté que les calystéginés peuvent fortement inhiber différentes glycosidases. Ainsi la Calystéginé B2 est un puissant inhibiteur compétitif des  $\beta$ -glucosidases et des  $\alpha$ -galactosidases, avec des valeurs de Ki 0.001mM et 0.0001mM respectivement, tandis que les calystéginés A3, B1, B4, C1 sont des inhibiteurs compétitifs de l' $\alpha$  glucosidase avec des valeurs de Ki de 20mM, 1.8mM, 7.3mM et 0.45mM respectivement (**Asano et al.**

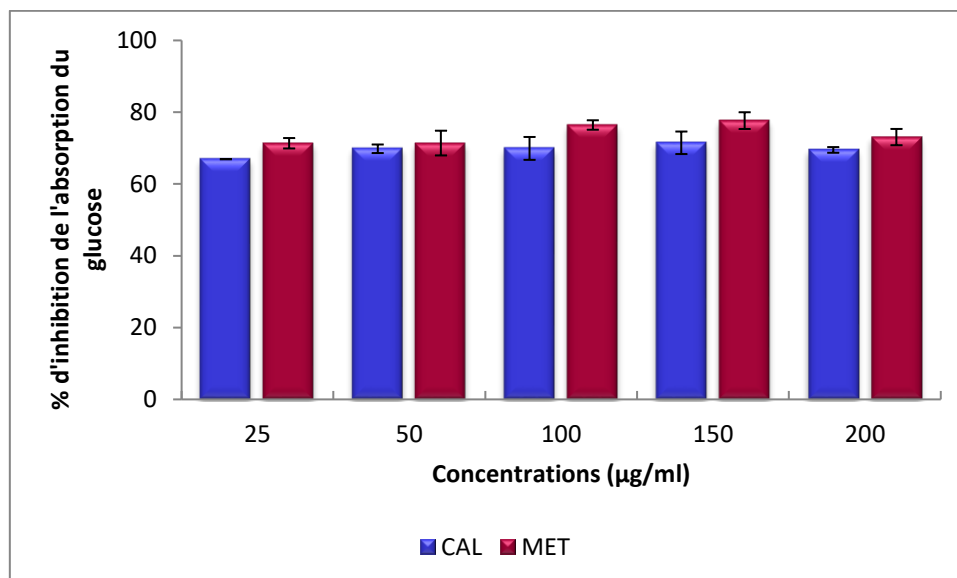
1997). Les résultats obtenus dans notre étude sont en concordance avec ceux trouvés par les auteurs précités.

### III.2 Inhibition de l'absorption du glucose :

Ce test a été réalisé sur une culture de levure, en présence de différentes concentrations de glucose. Différentes doses de calystégines, extraites à partir des graines de *Hyoscyamus albus* ont été testées pour évaluer leur pouvoir inhibiteur sur l'absorption du glucose par la suspension de levure. Les résultats sont présentés dans les figures N° 13, 14,15.



**Figure15 :** Histogramme comparatif des % d'inhibition de l'absorption du glucose (utilisé à 25 µg/ml dans la suspension de levure) par les calystégines et le métronidazole à différentes doses

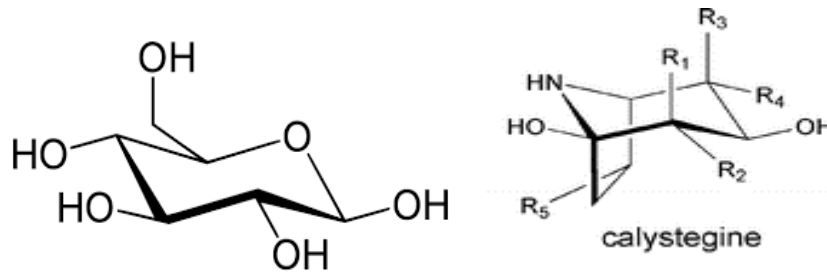


**Figure15 :** Histogramme comparatif des % d'inhibition de l'absorption du glucose (utilisé à 25 µg/ml dans la suspension de levure) par les calystégines et le métronidazole à différentes doses

A travers les résultats des trois Histogramme on peut déduire que l'extrait de calystegine possède une activité inhibitrice intéressante et cela dans les différentes solution glucosée et a des concentration très basse.

La levure a été choisie pour son caractère distinctif du système de transport du sucre. Des études ont montré que le transport du sucre, à travers la membrane cellulaire de la levure, se fait par diffusion facilitée, Par conséquent le transport du glucose se produit uniquement si la concentration intracellulaire en ce sucre est réduite (**Wenger, 2004**).

Plusieurs études (in vitro, in vivo) se sont axées sur l'activité inhibitrice de l'absorption du glucose par des extraits de différentes plantes médicinales. Les résultats diffèrent en fonction des composants de la plante étudiée. L'extrait méthanolique de *Grewia Hirsut* a induit une augmentation de 89%, de l'absorption de glucose par des cellules de levure, cet extrait pourrait donc exercer un effet hyperglycémiant (**Ahamed, 2009**). Les calystégines extraites à partir des graines de *Hyoscyamus albus* ont exercé un effet hypoglycémiant notable, même à faible concentration, comme constaté dans les résultats obtenus. L'analogie structurale de ces molécules avec le glucose joue un rôle essentiel dans l'activité antidiabétique, car celles -ci sont transportées à la place du glucose. (**Figure 16**)



**Figure16:** Comparaison de la structure de la calystégine et du glucose

Comme montré dans la figure 16 il y'a une grande similitude conformationnelle entre la molécule de glucose et la calystégine. La liaison de cette dernière au transporteur pourrait bloquer le passage du glucose par inhibition compétitive et empêcher son assimilation par la levure. On pourrait faire un parallèle avec les cellules intestinales au niveau desquelles se fait cette absorption et dire que les calystégines seraient éventuellement capables d'inhiber compétitivement cette assimilation. De telles stratégies pourraient être utilisées pour inhiber l'absorption des graisses et du cholestérol et le catabolisme des glucides complexes. Ces dernières seraient efficaces pour lutter contre l'obésité et le diabète (**Oran, 2006**). Des preuves expérimentales indiquent que le GLUT 2 apical ou luminal, facilitant le transport intestinal de glucose, est la voie majoritaire de l'absorption du glucose et donc une cible attrayante pour certains agents inhibiteurs d'origine végétale. Ainsi certains travaux, portant sur des flavonoïdes, ont montré une inhibition de l'absorption intestinale du glucose par ces molécules et suggèrent que la cible de cette inhibition pourrait être le transporteur GLUT 2. Cependant l'étude du mécanisme d'action montre qu'il s'agit d'une inhibition non compétitive (**Oran, 2006**), contrairement aux molécules de calystégines qui agissent selon un mécanisme compétitif à cause de leur analogie structurale avec le glucose (**Biastoff et Drager, 2007**).



### III.3 Effet sur la glycosylation de l'hémoglobine :

La glycation non enzymatique des protéines est un phénomène connu depuis plus de 40 ans. In vivo son intensité est essentiellement déterminée par la concentration de glucose dans le sang. Elle affecte toutes les protéines, particulièrement les protéines à demi-vie longue et notamment l'hémoglobine (Hb). L'hémoglobine glyquée correspond à l'ensemble des molécules d'hémoglobine modifiées par glycation non enzymatique. Elle est le reflet des glycémies moyennes des 120 jours (2 à 3 mois) précédents, correspondant à la durée de vie des globules rouges. Elle n'est ni un marqueur de dépistage, ni un marqueur diagnostique du diabète. Son utilisation est actuellement réservée à la surveillance du diabète. L'HbA<sub>1c</sub> est une hémoglobine glyquée formée par la fixation d'une molécule de glucose à l'extrémité N terminale d'au moins une chaîne bêta de l'HbA (fraction majeure des hémoglobines de l'adulte, caractérisée par une structure protéique constituée de deux chaînes alpha et de deux chaînes bêta globine). Elle est le paramètre de référence pour le suivi des patients diabétiques (Gillery, 1997). (Figure 17)

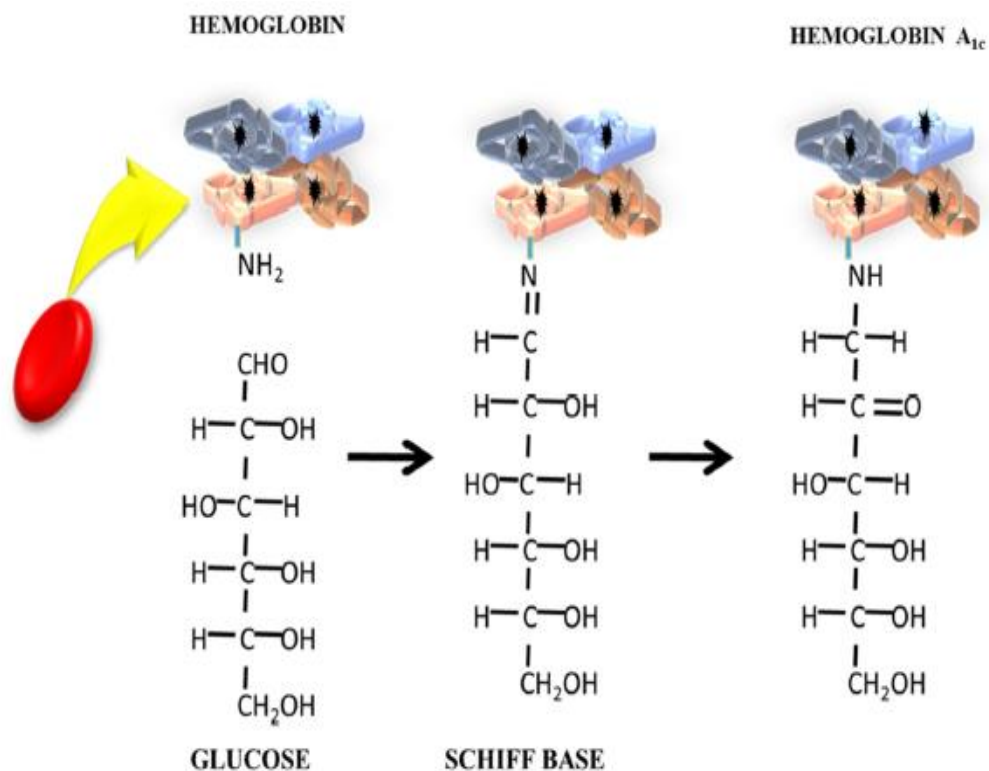
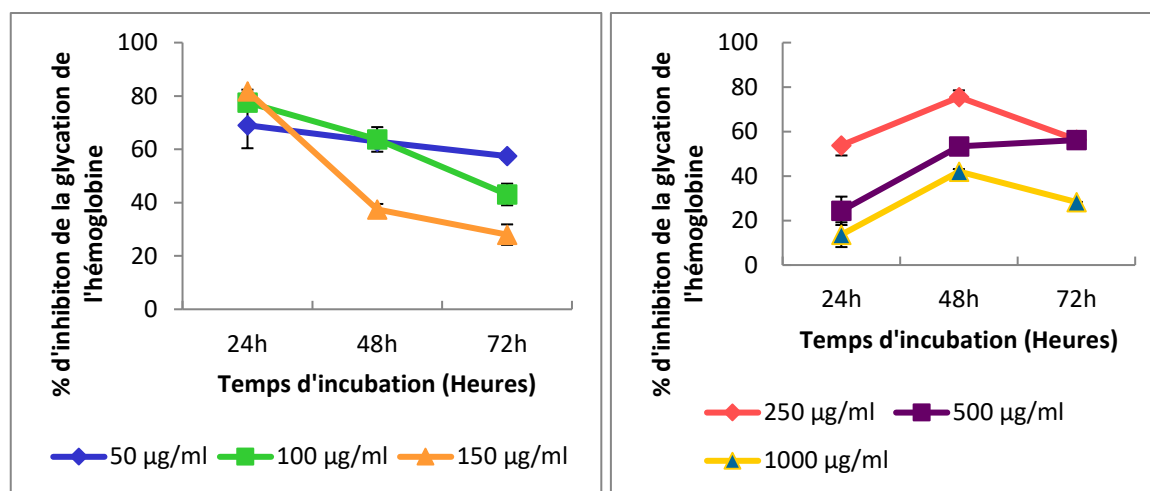


Figure 17: Glycosylation de l'hémoglobine



**Figure18 :** activité inhibitrice de la calystegine (250, 500, 1000 µg/ml) et de la Quercétine (50, 100, 150 µg/ml) a T24, T48, T72

D'autres travaux portant sur l'inhibition de la glycosylation de l'hémoglobine, par des extraits de plantes médicinales, ont été rapportés. L'extrait méthanolique des feuilles de *P. corymbosa* montre une excellente activité antidiabétique. Le pourcentage d'inhibition de la glycosylation, obtenu dans cette étude est dose dépendant, et atteint un maximum de 70%. (**Radhika, 2013**). On peut donc conclure que le pourcentage d'inhibition est presque équivalent à celui réalisé par les calystégines, seulement, dans le cas de notre extrait alcaloïdique, l'inhibition n'est pas proportionnelle à la concentration.

Un pourcentage d'inhibition de 70% a été retrouvé avec l'extrait de *Grewia hirsuta* à une concentration de 1000ug/ml (**Abirami, 2014**). Dans le cas de notre extrait cette activité inhibitrice a été obtenue avec une concentration de 250ug/ml, suggérant que les calystégines ont un fort pouvoir inhibiteur à plus faible concentration.

D'autres travaux portant sur l'inhibition de la glycosylation de l'hémoglobine, par des extraits de plantes médicinales, ont été rapportés. L'extrait méthanolique des feuilles de *P. corymbosa* montre une excellente activité antidiabétique. Le pourcentage d'inhibition de la glycosylation, obtenu dans cette étude est dose dépendant, et atteint un maximum de 70%. (**Radhika, 2013**). On peut donc conclure que le pourcentage d'inhibition est presque équivalent à celui réalisé par les calystégines, seulement, dans le cas de notre extrait alcaloïdique, l'inhibition n'est pas proportionnelle à la concentration.

Un pourcentage d'inhibition de 70% a été retrouvé avec l'extrait de *Grewia hirsuta* à une concentration de 1000ug/ml (**Abirami, 2014**). Dans le cas de notre extrait cette activité

inhibitrice a été obtenue avec une concentration de 250ug/ml, suggérant que les calystégines ont un fort pouvoir inhibiteur à plus faible concentration.

D'autres travaux portant sur l'inhibition de la glycosylation de l'hémoglobine, par des extraits de plantes médicinales, ont été rapportés. L'extrait méthanolique des feuilles de *P. corymbosa* montre une excellente activité antidiabétique. Le pourcentage d'inhibition de la glycosylation, obtenu dans cette étude est dose dépendant, et atteint un maximum de 70%. **(Radhika, 2013)**. On peut donc conclure que le pourcentage d'inhibition est presque équivalent à celui réalisé par les calystégines, seulement, dans le cas de notre extrait alcaloïdique, l'inhibition n'est pas proportionnelle à la concentration.

Un pourcentage d'inhibition de 70% a été retrouvé avec l'extrait de *Grewia hirsuta* à une concentration de 1000ug/ml **(Abirami, 2014)**. Dans le cas de notre extrait cette activité inhibitrice a été obtenue avec une concentration de 250ug/ml, suggérant que les calystégines ont un fort pouvoir inhibiteur à plus faible concentration.

D'autres travaux portant sur l'inhibition de la glycosylation de l'hémoglobine, par des extraits de plantes médicinales, ont été rapportés. L'extrait méthanolique des feuilles de *P. corymbosa* montre une excellente activité antidiabétique. Le pourcentage d'inhibition de la glycosylation, obtenu dans cette étude est dose dépendant, et atteint un maximum de 70%. **(Radhika, 2013)**. On peut donc conclure que le pourcentage d'inhibition est presque équivalent à celui réalisé par les calystégines, seulement, dans le cas de notre extrait alcaloïdique, l'inhibition n'est pas proportionnelle à la concentration.

Un pourcentage d'inhibition de 70% a été retrouvé avec l'extrait de *Grewia hirsuta* à une concentration de 1000ug/ml **(Abirami, 2014)**. Dans le cas de notre extrait cette activité inhibitrice a été obtenue avec une concentration de 250ug/ml, suggérant que les calystégines ont un fort pouvoir inhibiteur à plus faible concentration.

D'autres travaux portant sur l'inhibition de la glycosylation de l'hémoglobine, par des extraits de plantes médicinales, ont été rapportés. L'extrait méthanolique des feuilles de *P. corymbosa* montre une excellente activité antidiabétique. Le pourcentage d'inhibition de la glycosylation, obtenu dans cette étude est dose dépendant, et atteint un maximum de 70%. **(Radhika, 2013)**. On peut donc conclure que le pourcentage d'inhibition est presque équivalent à celui réalisé par les calystégines, seulement, dans le cas de notre extrait alcaloïdique, l'inhibition n'est pas proportionnelle à la concentration.

Un pourcentage d'inhibition de 70% a été retrouvé avec l'extrait de *Grewia hirsuta* à une concentration de 1000ug/ml (**Abirami, 2014**). Dans le cas de notre extrait cette activité inhibitrice a été obtenue avec une concentration de 250ug/ml, suggérant que les calystégines ont un fort pouvoir inhibiteur à plus faible concentration.

D'autres travaux portant sur l'inhibition de la glycosylation de l'hémoglobine, par des extraits de plantes médicinales, ont été rapportés. L'extrait méthanolique des feuilles de *P. corymbosa* montre une excellente activité antidiabétique. Le pourcentage d'inhibition de la glycosylation, obtenu dans cette étude est dose dépendant, et atteint un maximum de 70%. (**Radhika, 2013**). On peut donc conclure que le pourcentage d'inhibition est presque équivalent à celui réalisé par les calystégines, seulement, dans le cas de notre extrait alcaloïdique, l'inhibition n'est pas proportionnelle à la concentration.

Un pourcentage d'inhibition de 70% a été retrouvé avec l'extrait de *Grewia hirsuta* à une concentration de 1000ug/ml (**Abirami, 2014**). Dans le cas de notre extrait cette activité inhibitrice a été obtenue avec une concentration de 250ug/ml, suggérant que les calystégines ont un fort pouvoir inhibiteur à plus faible concentration.

## *Conclusion et perspective*

---

## **Conclusion**

Le diabète est une pathologie complexe qui expose à de nombreuses complications aux mécanismes intriqués. Il est aussi un facteur de risque cardiovasculaire.

À défaut de prévenir le diabète lui-même, il importe d'en prévenir les complications par un contrôle métabolique optimisé précoce, par une surveillance standardisée et par une stratégie multi-interventionnelle prenant en compte les méfaits liés à la glycémie et le contexte cardiométabolique.

Dans ce travail nous avons testé l'activité antidiabétique *in vitro* des calystégines, extraites à partir des graines de *Hyoscyamus albus*. Les résultats obtenus ont montré que cet extrait possède un véritable effet antihypérglycémique.

L'effet de l'extrait sur l' $\alpha$  glucosidase a montré une activité inhibitrice de cette enzyme élevée et ce à différentes concentrations. L'IC<sub>50</sub>, enregistrée dans ce cas est de 29.35  $\mu$ g/ml, celle-ci est inférieure à l'IC<sub>50</sub> du standard.

L'activité inhibitrice des calystégines, au niveau des transporteurs de glucose de la levure, a été très appréciable néanmoins d'autres expérimentations, utilisant un autre modèle d'étude, seront nécessaires pour la confirmation de ces résultats.

Un effet inhibiteur important a également été noté sur la glycosylation de l'hémoglobine, phénomène qui pourrait avoir de lourdes conséquences sur la santé du patient diabétique. L'extrait nortropanique a donné un pourcentage d'inhibition, de cette glycosylation, supérieur à 75 %.

Dans la perspective de valoriser ces résultats, très prometteurs, plusieurs travaux peuvent être envisagés, dans le but d'affiner l'expérimentation déjà menée.

Il serait intéressant de faire des investigations plus approfondies pour élucider les mécanismes d'action mis en jeu et par lesquels les extraits agissent sur l'hyperglycémie.

Une étude visant l'identification et la purification des composés, de cet extrait, serait également nécessaire afin de les tester séparément. Ceci nous permettra de connaître les plus actifs, d'entre eux qui pourraient éventuellement permettre la mise au point de médicaments antidiabétiques naturels.

Des études *in vivo* concernant l'évolution de la sécrétion d'insuline, en présence des calystégines, seraient également intéressantes et pourraient démontrer le pouvoir insulino-sécréteur des calystégines.

# *Bibliographie*

---



---

**Bibliographie**

**A**

**Abirami, N., Atarajan, B. et Sagadevan, E. (2014).** Phytochemical investigation and in vitro Evaluation of hypoglycemic Potential of *Grewia Hirsuta*. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*,5(1):76 – 83.

**Ahamed, B.M., Venkatarangaiah, K. et Kumaraswamy, H. (2009).** In vivo wound healing activity of the methanolic extract and its isolated constituent, gulonic acid  $\gamma$ -lactone, obtained from *Grewia tiliaefolia*. *Planta Medica*, 75 (5): 478-482.

**American Diabetes Association. (2008).** Standards of medical care in diabetes-.*Diabetes Care*, 31(1): 12–54.

**Asano, N., Kato, A., Miyauchi, M., Kizu, H., Tomimori, T., Matsui, K., Nash, R. et Molyneux, R. (1997).** Specific  $\alpha$ -galactosidase inhibitors, N-methylcalystegines Structure/activity relationships of calystegines from *Lycium chinense*. *European Journal of Biochemistry*, 248 :296-303.

**Asano, N., Nash, R.J., Molyneux, R.J. et Fleet, G.W.J. (2000).** Sugar-mimic glycosidase inhibitors : natural occurrence,biological activity and prospects for therapeutic application. *Tetrahedron : Asymmetry*,11 : 1645-1680.

**B**

**Bailey, C.J. et Day, C. (1989).** Traditional plants medicines as treatment for diabetes. *Diabetes Care*; 12: 553-564.

**Begum, S., Saxena, B., Goyal, M., Ranjan, R., Joshi, V., Rao, C., Krishnamurthy, S. et Sahai, M. ( 2010).** Study of anti-inflammatory, analgesic and antipyretic activities of seeds of *Hyoscyamus niger* and isolation of a new coumarinolignan. *Fitoterapia*,81 : 178–184.

**Bekkouche, K., Daali, Y., Cherkaoui, S., Veuthey, J.L. et Christen, P. (2001).** Calystegine.in some solanaceous species. *Phytochemistry*,58: 455-462.

**Bell, G.I., Kayano, T., Buse, J.B., Burant, C.F., Takeda, J., Lin, D., Fukumoto, H. et Seino, S. (1990).** Molecular biology of mammalian glucose transporters. *Diabetes Care*, 13:198-208.

**Biastoff, S. et Drager, B. (2007).** Calystegines. In : *The alkaloids : Chemistry and biology*. Cordell, G. Academic Press, 49-102.

### C

**Chami, M., Zemmour, L., Midoun, N. et Belhadj, M. (2015).** Diabète sucré du sujet âgé : la première enquête algérienne. *Épidémiologie, coûts et organisation des soins*, (9) : 210-215.

**Cheng, Y., Prusoff, WH. (1973).** Relationship between the inhibition constant (K<sub>1</sub>) and the concentration of inhibitor which causes 50 per cent inhibition (I<sub>50</sub>) of an enzymatic reaction ., *Biochemical Pharmacology*, vol. 22, n° 23., p. 3099–3108.

**Cordell, G. (2013).** Fifty years of alkaloid biosynthesis in Phytochemistry. *Phytochemistry*, 91 : 29–51.

### D

**Dinneen, S., Gerich, J. et Rizza, R. (1992).** Carbohydrate metabolism in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *The New England Journal of Medicine*, 327: 707-713.

**Drager, B., Funck, C., Hrhler, A., Mrachatz, G., Nahrstedt, A., Portsteffen, A., Schaal, A. et Schmidt, R. (1994).** Calystegines as a new group of tropane alkaloids in Solanaceae. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 38 : 235-240.

**Drucker, DJ. (2007).** The role of gut hormones in glucose homeostasis. *Journal of Clinical Investigation*, 117: 24-32.

### E

**Eddouks, M., Ouahidi, M.L., Farid, A., Moufid, A., Khalidi, A. et Lemhadri, A. (2007).** L'utilisation des plantes médicinales dans le traitement du diabète au Maroc. *Phytothérapie*, 5 : 194-203.

**Eich, E. (2008).** Solanaceae and Convolvulaceae : secondary metabolites. Berlin : *Handbook*. 637.

**Ekberk. (1999).** contribution by kidney and liver to glucose production in the postabsorptive state and after 60h of fasting. *Diabete*, 48(2): 292-298.

## F

**Fagot-Campagna, A. et al.(2010).** Prévalence et incidence du diabète, et mortalité liée au diabète en France – Synthèse épidémiologique. Institut de veille sanitaire : 1-11.

## G

**Genser, L., Poitou, C., Brot-Laroche, É., Rousset, M., Vaillant, J.C., Clément, K., Thenet, S. et Leturque, A.(2016).** Alteration of intestinal permeability: the missing link between gut microbiota modifications and inflammation in obesity? . *Médecine/sciences (Paris)*, 32(5) :461-469.

**Gillery, P., Vassault, A., Kindermans, C. et Robert J. (1997).** Hémoglobinesglyquées, Cahier de formation biologie medicale e n° 8: Hémoglobines glyquées et lipides. Bioforma, Paris, :11-38.

**Gillery, P.(2014).** Assays of HbA1c and Amadori products in human biology. *Annales pharmaceutiques françaises*,72: 330–6.

**Goullé, J., Pépin, G., Dumestre Toulet, V. et Lacroix, C. (2004).** Botanique, chimie et toxicologie des solanacées hallucinogènes : belladone, datura, jusquiame, mandragore. *Annales de Toxicologie Analytique*,16(1) : 22-35.

**Grant, S., Thorleifsson, G., Reynisdittir, I. et al. (2006).** Variant of transcription factor 7-like 2 (TCF7L2) gene confers risk of type 2 diabetes. *Nature Genetics*; 38: 320-323.

## H

**Hammiche,V .,Merad, R. et Azzouz, M. (2013).** Solanacées In : plante toxique a usage medicinal du pourtour mediteraneen. Paris : *Edition Springer*. P 237-259

## K

**Kanter, M., Meral, I., Yener, Z., Ozbec, H. et Demir, H. (2003).** Partial regeneration /Proliferation of the  $\beta$  cells in the islets of Langerhans by *Nigella sativa* L. instreptozotocin-induced diabetic rats. *Tohoko Journal of Experimental Medecine*, 201(4): 213-219.

**Kubrak, O.I., Rovenko, B.M., Husak, V.V., Storey, J.M., Storey, K.B. et Lushchak,**

**V.I. (2012).** Nickel induces hyperglycemia and glycogenolysis and affects the antioxidant system in liver and white muscle of gold fish *Carassius auratus* L. *Ecotoxicology and*

*Environmental Safety*, **80**: 231-237.

## L

**Lee, SH., Park, M.H., Heo, S.J., Kang, S.M., Ko, S.C., Han, J.S. et. Jeon, y.j. (2012).** Dieckol isolated from *Ecklonia cava* inhibits  $\alpha$ -glucosidase and  $\alpha$ -amylase in vitro and alleviates postprandial hyperglycemia in streptozotocin-induced diabetic mice. *Food and chemical Toxicology*, 48: 2633-2637. .

**Lefèbvre, PJ. et Scheen AJ.(1999).** Glucose metabolism and the postprandial state. *Journal of Clinical Investigation*, (29) : 1-6.

## M

**Marles, RJ. et Farnsworth, NR. (1995).** Antidiabetic plants and their active constituents. *Phytomedicine*, 2: 13-189.

**Martinez-Montero, S., Fernandez, S., sanghvi, Y.S., Chattopadhyaya, J., Ganesan, M., Ramesh, N.G., Gotor, V. et Ferrero, M.(2012).** Design and Divergent synthesis of Aza Nucleosides from chiral Imino sugar. *Journal of Organic Chemmistry*, 77 : 4671-4678.

**Mittelman, S.D. et al .,(1997).** indirect effect of insuline to suppress endogenous glucose production is dominant, with hyperglucagonemia . *The journal of clinical investigation*, (12) : 3121-3130.

**Mizock BA. (1995).** Alterations in carbohydrate metabolism during stress: a review of the literature. *The American Journal of Medicine*. 98: 75-84.

**N**

**Nair, S., Kavrekar, V. et Mishra, A. (2013).** Evaluation of In Vitro Antidiabetic Activity of Selected Plant Extracts. *Inter. International Journal of Pharmaceutical Science Invention*, 2: 2319 - 6718.

**Naoki, A., Atsushi, K., Katsuhiko, M., Alison, A. Watson<sup>1</sup>, Robert J. Nash<sup>1</sup>, Russell J. M. Lucy, H., Joanna, T. et Bryan, W. (1997).** The effects of calystegines isolated from edible fruits and vegetables on mammalian liver glycosidases. *Glycobiology*, 7 (8):1085-1088.

**Nazare, J., Normand, S., Oste Triantafyllou, A, et al. (2008).** Modulation of the postprandial phase by beta-glucan in overweight subjects: effects on glucose and insulin kinetics. *Molecular Nutrition and Food Research*, 53: 361–369.

**O**

**Oran, K., Peter, E., Shenglin, C., Christopher, P., Michael, K. et Mark, L. (2006).** Inhibition of the intestinal glucose transporter GLUT2 by flavonoids, *The FASEB Journal* .

**Organisation mondiale de la santé. (1999).** Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications . Report of a WHO consultation (PDF) Geneva, 66.

**Oubré, A.Y., Carlson, T.J., King, S.R. et Reaven, G.M. (1997).** From plant to patient: an ethnomedical approach to the identification of new drugs for the treatment of NIDDM. *Diabetologia*, 40: 614-617.

**P**

**Parker, K.M., England, J.D., Da Costa, J., Hess, R.L. et Goldstein, D.E. (1981).** Improved Colorimetric Assay for Glycosylated Hemoglobin. *Clinical Chemistry*, 27: 669 – 672.

**Paquot, N., Schneiter, P. et Lefèbvre, P-J. et al. (2000).** Assessment of postprandial hepatic glycogen synthesis from uridine diphosphoglucose kinetics in obese and lean non-diabetic subjects. *International Journal of Obesity*, 24 : 1297-1302.

**Priscilla, D., Suresh, A., Kumar, V. et Thiruumurugan, K. (2014).** Aringenin inhibits  $\alpha$ -glucosidase activity : A promising strategy for the regulation of postprandial hyperglycemia

in high fat diet fer streptozotocin induced diabetic rats. *Chemico Biological interactions*, 210 :77-85.

**Procopiou, M. (2006).** HbA1c: review and recent developments. *Revue Médicale Suisse*; 2: 1473, 1479.

## Q

**Quezèl, P. et Santa, S. (1963).** Nouvelle flore d'Algérie et des régions désertiques méridionales. *Edition du centre national de la recherche scientifique, Paris*, 1170.

## R

**Radhika, S., Senthil- KUMAR, R., Sindhu, S., Sagadevan, E., et Arumugam, P. (2013).** Phytochemical investigation and evaluation of antihyperglycemic potential of *prema corymbosa*. *International Journal Of Pharmacy and pharmaceutical Science*, 4.

## S

**Scheen, N., Paquot , B. et Jandrain , P.J .(2002).** Physiopathologie, conséquences cliniques et approches diététiques. *Revue Medicale du Liège*, 57 (3): 138-141.

**Scheen, A-J. et Paquot, N. (2005).** Les insulinosensibilisateurs. *Revue Medicale du Liège*,60: 409-413.

**Scheen ,A-J. (2007).** L'étude ADOPT : quel antidiabétique oral initier chez le patient diabétique de type 2. *Revue Medicale du Liège*, 62 :48-52.

**Scholl,Y., Hoke, D.et Drager,B (2001).** Calystegines in *Calystegia sepium* derive from the tropane alkaloid pathway. *Phytochemistry*, 58 : 883-889.

**Shah ,P., Vella, A., Basu, A. et al.( 2000).** Lack of suppression of glucagon contributes to postprandial hyperglycemia in subjects with type 2 diabetes mellitus. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, **85**, 4053-3059.

**Shai, L.J., Magano, S.R., Lebelo, S.L. et Mogale, A.M. (2011).**Inhibitory effects of five medicinal plants on rat alpha-glucosidase: Comparison with their effects on yeast alpha glucosidase. *Journal of Medecinals Plant Research*, **5**: 2863-2867.

**Spichiger,R.E., Savolainen, V.V., Figeat, M. et Jeanmonod,D.(2004).**Botanique systematique des plantes a fleurs , une approche phylogenetique nouvelle des angiosperme des regions tempéré et tropicales. Ed 3 : 316.

**Spinas, R. (2001)** Diabète sucré Diagnostic, classification et pathogenèse Forum Med Suisse ,20.

**Stalmans,W.et Mvumbi,L.(1987).** Contrôle of glycogene synthesis in health and disease. *Diabete/Metabolisme review*, 3(1) 127-161.

**Surmely, J-F., Schneiter,P., Henry S, et al.(1999).** Effects ofglucagon in the control of endogenous glucose production in man. *Nutrition*, 15: 267-273.

## V

**Van den Berghe, G. (2004).** How does blood glucose control with insulin save lives in intensive care. *Journal of Clinical Investigation*,114:1187-1195.

**Van dijk,j.w., Manders,R.J.F., Hartgene, F., Stehouwer, C.D., Praet, S.F.E and Van Loon, L.J.C(2001).** Postprandiale hyperglycemia is highly prevalent throughout the day u=in type 2 diabetes patients. *Diabete research and clinical practice*,93 : 31-37

## W

**Wagner, H. et Blatt, S. (2004).** Plant drug analysis-A thin layer chromatography atlas, 2nd Ed., New Delhi: Thompson Press Ltd.

**Wolever, T. et al. (2008).** Measuring the glycemic index of foods :interlaboratory study . *The American journal of clinical nutrition*, 87(1): 247S-257S.



# *Annexe*

---

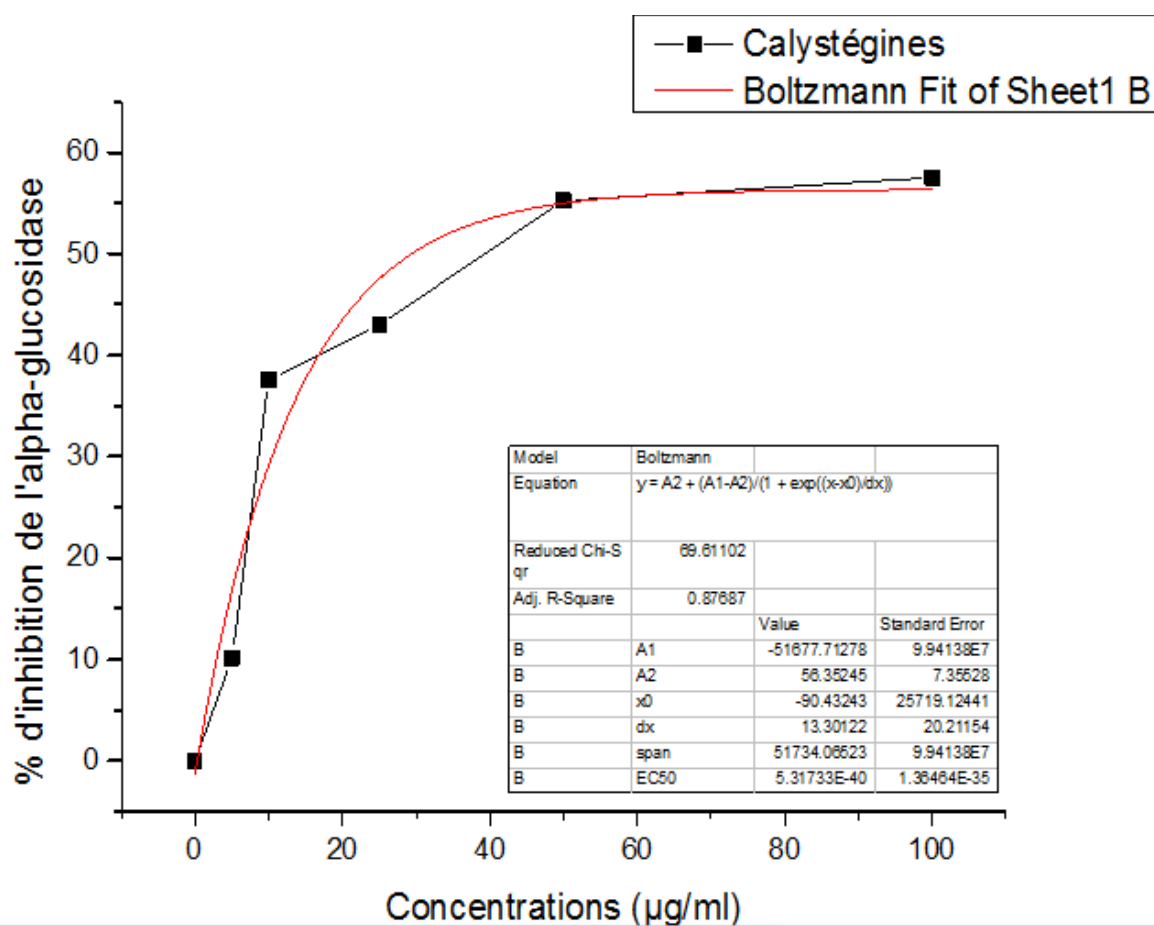
## **Annexe 1 : Matériel et produits utilisés**

### **1- Appareillage :**

- Ampoule à décanter.
- Bain-marie MEMMERT
- Balance de précision : BP 310P.
- Balance de précision BP 310P
- Barreaux magnétiques.
- Béchers.
- Broyeur.
- Burette.
- Centrifugeuse.
- Entonnoir.
- Eprouvettes graduées.
- Erlenmeyer.
- Etuve : BINDER BD 53.
- Fioles.
- Hotte.
- Micropipette.
- pH mètre : WTWPH 422.
- Pipette.
- Spatule métallique.
- Spectrophotomètre UV- Visible SHIMADZU 1240.
- Tubes à essai.
- Verre de montre.

**2-Produit chimique utilisés :**

- Acide oxalique.
- Acide sulfurique.
- CCl<sub>4</sub>
- Ferricyanure de potassium
- Fructose.
- Glucose
- Hcl
- KCN
- Méthanol
- Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>
- Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>
- NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>
- NaHCO<sub>3</sub>
- Nacl
- NaOH
- TBA
- TCA



**Annexe1** : Calcul de la concentration inhibitrice 50% (IC<sub>50</sub>) de l'extrait de calystégines

## **Glossaire**

**Calpaïnes** : Les calpaïnes sont des protéases à cystéine, non-lysosomiales, dont l'activité, de type papaïne, est dépendante du calcium. Ces enzymes sont responsables de la protéolyse neutre calcium-dépendante

**Hallucinogène** : est une substance chimique psychotrope qui induit des hallucinations, soit, aux doses usuelles, des altérations des perceptions, de la cohérence de la pensée et de la régularité de l'humeur, mais sans causer de confusion mentale persistante ou de troubles de la mémoire

**Homéopathie** : c'est une pratique pseudo-scientifique de médecine alternative inventée par Samuel Hahnemann en 1796. Le principe de fabrication des médicaments homéopathiques est de diluer des substances qui, si elles étaient concentrées, provoqueraient des symptômes similaires à ceux du patient. Mais en raison des dilutions extrêmes utilisées, les remèdes homéopathiques sont dépourvus de principes actifs

**Névralgie** : Une névralgie définit la présence de douleurs sur le trajet d'un nerf. Ces douleurs peuvent être permanentes, ou survenir par déclenchement brutal, soit spontané, soit provoqué par un mouvement ou l'appui sur une zone.

## Résumé

Les calystegines sont des molécules dérivant des alcaloïdes tropaniques. Ce sont des imminosucres exhibant un effet inhibiteur significatif sur plusieurs glycosidases et représentent aujourd'hui une perspective innovante dans le criblage de nouveaux principes actifs antidiabétiques.

Dans la présente étude, les calystégines de *Hyoscyamus albus* (solanaceae) ont été extraites par chromatographie échangeuse d'ion puis testées in vitro pour leur activité antidiabétique. A cet effet trois tests ont été réalisés, l'inhibition de l'activité de la glucosidase alpha, l'inhibition de l'absorption du glucose au niveau de transporteurs, en choisissant la levure comme modèle et enfin l'inhibition de la glycosylation de l'hémoglobine.

Les résultats du test enzymatique ont montré que les calystégines ont la capacité d'inhiber les  $\alpha$  glucosidases à plus de 57% avec une  $IC_{50}$  de 29.35  $\mu\text{g/ml}$ . L'inhibition de l'absorption du glucose a atteint les 73% à 25 $\mu\text{g/ml}$  de glucose. L'activité inhibitrice maximale de l'extrait sur la glycosylation de l'hémoglobine a dépassé 75%.

Les résultats obtenus montrent que les calystegines ont un effet antidiabétique et pourraient éventuellement servir à la synthèse de nouveaux médicaments pour traiter cette maladie.

**Mots-clés :** *Hyoscyamus albus*, Calystegines,  $\alpha$  glucosidase, Hémoglobine, diabète

## Abstract

Calystegines are molecules derived from tropanic alkaloids. They are imminosugars exhibiting a significant inhibitory effect on several glycosidases and represent today an innovative perspective in the screening of new antidiabetic active ingredients.

In this study, *Hyoscyamus albus* calystegins (solanaceae) were extracted by ion exchange chromatography and then tested in vitro for their antidiabetic activity. For this purpose three tests were carried out, the inhibition of the activity of the glucosidase alpha, the inhibition of the absorption of glucose at the level of transporters, by choosing the yeast as a model and finally the inhibition of the glycosylation of hemoglobin.

The results of the enzymatic test showed that calystegins have the capacity to inhibit  $\alpha$ -glucosidases to more than 57% with an  $IC_{50}$  of 29.35  $\mu\text{g} / \text{ml}$ . Inhibition of glucose uptake reached 73% at 25 $\mu\text{g} / \text{ml}$  glucose. The maximal inhibitory activity of the glycosylation extract of hemoglobin exceeded 75%.

The results obtained show that calystegins have an antidiabetic effect and could possibly be used for the synthesis of new drugs to treat this disease.

**Keys words :** *Hyoscyamus albus*, Calystegins,  $\alpha$  glucosidase, Hemoglobine, diabetes

## ملخص

الكالستجنات هي جزيئات مستمدة من قلويدات التروبيان. هم هي سكاريات مناعية تظهر تأثير كابح كبير على عدة غلوكوزدات وتمثل اليوم وجهة نظر مبتكرة في فحص المكونات النشطة.

في هذه الدراسة، تم استخراج الكالستجنات من هيوسيوميس البيس بواسطة كروماتوغرافيا التبادل الأيوني ثم اختبارها في المختبر لنشاطها المضاد لمرض السكر. لهذا الغرض تم إجراء ثلاثة اختبارات، تثبيط نشاط الغلوكوسيداز ألفا، تثبيط امتصاص الجلوكوز على مستوى الناقلات، عن طريق اختيار الخميرة كنموذج وأخيرًا تثبيط الارتباط بالجليكوزيل الهيموغلوبين.

أظهرت نتائج الاختبارات الأنزيمية أن الكالستجنات لديهم القدرة على تثبيط الغلوكوزداز ألفا إلى أكثر من 57% نتائج تثبيط امتصاص الجلوكوز عن طريق الخمائر هي أكثر 73% تجاوز النشاط المثبط لمستخلص الجليكوزيل من الهيموجلوبين 75%. تظهر النتائج التي تم الحصول عليها الكالستجنات لها تأثير مضاد لمرض السكر ويمكن أن تستخدم لتوليف ادوية جديدة لعلاج هذا المرض.

**الكلمات الرئيسية :** الكالستجنات، هيوسيوميس البيس، الغلوكوزداز ألفا، الهيموجلوبين.