



République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université ABDERRAHMANE MIRA-Bejaia

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie Physico-chimique

# Mémoire de Master

Filière : Biologie

Option: Pharmacologie Moléculaire

Thème:

Evaluation de l'activité anti-hyperglycémiant  
des alcaloïdes de *Fumaria capreolata*

Réalisé par :

AZZOUG Rachida

KHELLAF Lamia

Membres de jury :

|  |       |         |
|--|-------|---------|
| <b>Président :</b> Mr BASLI. A         | M.A.A | U.A.M.B |
| <b>Promoteur :</b> Mr BRIBI. N         | M.A.A | U.A.M.B |
| <b>Co-promoteur :</b> Mr BELMOUHOU. M. | M.A.B | U.M.C   |
| <b>Examineur :</b> Mr BOUGUEZZA. Y     | M.A.A | U.A.M.B |
| <b>Examineur :</b> Mr TACHERFIOU. M    | M.A.B | U.A.M.B |

2012-2013

## Remerciements

Tous d'abord nous remercions **DIEU** tous puissant de nous avoir donné la force et la patience de pouvoir mener ce modeste travail à terme.

Nous adressons nos remerciements à notre promoteur, **Mr BRIBI.N** maitre-assistant à l'université de Bejaïa, et à notre co-promoteur, **Mr BELMOUHOU.B.M** maitre-assistant à l'université de Constantine, pour avoir accepté de nous encadrer, pour toute l'attention qu'ils ont porté à notre égare, leurs conseils, leurs soutiens, et leur orientation tous au long de ce travail.

Nous tenant à remercier **Mr BASLI. A**, maitre-assistant à l'université de Bejaïa, d'avoir accepté d'assurer la présidence de jury de notre mémoire.

Nous remercions **Mr BOUGUEZZA.Y** maitre-assistant à l'université de Bejaia et **Mr TACHERFIOU.T.M** maitre-assistant à l'université de Bejaia d'avoir accepter de juger ce modeste travail.

Nos sentiments de reconnaissances et nos remerciements s'adressent également à toutes personnes ayant contribué, de près ou de loin, à la réalisation de ce travail.

## *Dédicaces*

*Je dédie ce modeste travail*

*A la mémoire de ma chère maman*

*A mon très cher papa*

*A mes sœurs mounia et soussou*

*A mes frères djoher, mounir, mheni et chamse adine*

*A mon fiancé mahfoud*

*A Ma belle mère*

*A ma belle sœur nawal*

*A mon beau frère abd alghani*

*Aux petits coucous hani, melina, nassim et yousri*

*A toute ma famille*

*A mes ami (es): dodo, samra, naima, wahiba, kamilia, sara, bouzid, amekrane et massi*

*A toute la promotion de pharmaco moléculaire 2012/2013*

*Et à ma chère amie avec qui j'ai partagé tous, à mon binôme rachida*

*LAMIA*

## *Dédicaces*

*A ma chère mère et mon cher père, qui m'ont toujours soutenu*

*A mes frères et sœurs*

*A ma chère amie, mon binôme, Lamia, avec qui j'ai eu le plaisir de partager ce travail*

*A mes amis ; Assia, Bahia, Cilia, Dodo, Fatiha, Salwa, Sabiha, Souhila, Ouardia,  
„Djamel“, Massi, Amoukrane et Bouzi*

*A toute la promotion MasterII PHARMACOLOGIE MOLECULAIRES  
2012/2013*

*A toute personne qui m'est chère*

*Je dédie ce modeste travail...*

**RACHIDA**

# Sommaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction.....1

## Partie bibliographique

### Chapitre I : Les alcaloïdes de *Fumaria capreolata*

**I.1. *Fumaria capreolata***.....2

I.1.1. Composition chimique de *Fumaria capreolata* .....3

**I.2. Les alcaloïdes**.....4

I.2.1. Classification chimique des alcaloïdes.....4

I.2.2. Biosynthèse des alcaloïdes d'origine végétale.....6

I.2.3. Propriétés physico-chimique des alcaloïdes.....8

I.2.4. Effets biologiques et pharmacologiques des alcaloïdes de *Fumaria capreolata*.....8

### Chapitre II : La glycémie et le diabète

**II.1. Le métabolisme glucidique**.....9

**II.2. La glycorégulation**.....10

II.2.1. L'insuline.....10

II.2.3. Le glucagon.....11

II.2.4. Les incrétines.....11

**II.3. Le diabète**.....12

**II.4. Classification du diabète**.....12

II.4.1. Diabète de type 1.....12

II.4.2. Diabète de type 2.....13

II.4.3. Autre types de diabètes sucrés.....13

**II.5. Complications du diabète**.....13

II.5.1. Les complications aiguës.....14

II.5.2. Les complications chroniques.....14

**II.6. Traitement du diabète**.....14

II.6.1. Traitement du diabète de type 1.....15

II.6.2. Traitement médicamenteux du diabète de type 2.....15

**II.7. Phytothérapie du diabète**.....18

## Partie pratique

### Chapitre III : Matériel et Méthodes

|   |           |
|---|-----------|
| III.1. Matériel végétale.....   | 19        |
| III.2. Verrerie et appareillage.....  | 19        |
| III.3. Animaux.....   | 19        |
| <b>III.4. Méthodes.....</b>   | <b>20</b> |
| III.4.1. Séchage et broyage.....  | 20        |
| III.4.2. Extraction des alcaloïdes de <i>Fumaria Capreolata</i> .....   | 20        |
| III.4.3. Etude de l'activité anti-hyperglycémiant des alcaloïdes de <i>Fumaria capreolata in vitro</i> .....    | 21        |
| III.4.4. Tests de l'activité des alcaloïdes de <i>Fumaria capreolata</i> sur la glycémie post-prandiale.....    | 23        |
| III.4.5. Test de l'activité des alcaloïdes de <i>Fumaria capreolata</i> sur la tolérance au glucose (OGTT)..... | 25        |
| III.4.6. Analyse statistique.....   | 26        |

### Chapitre IV : Résultats et discussions

|   |           |
|---|-----------|
| <b>IV.1. Collecte, séchage et extraction.....</b>   | <b>27</b> |
| <b>IV.2. Taux d'extraction des alcaloïdes de <i>Fumaria capreolata</i>.....</b>                                     | <b>27</b> |
| <b>IV.3. Etude de l'activité anti-hyperglycémiant des alcaloïdes de <i>Fumaria capreolata in vitro</i>.....</b>     | <b>27</b> |
| IV.3.1. Test de l'inhibition de l' $\alpha$ -glucosidase.....   | 27        |
| IV.3.2. Test de complexation au glucose.....  | 29        |
| <b>IV.4. Tests de l'activité des alcaloïdes de <i>Fumaria capreolata</i> sur la glycémie post-prandiale.....</b>    | <b>29</b> |
| IV.4.1. Test de l'inhibition de l' $\alpha$ glucosidase.....  | 30        |
| IV.4.2. Test de l'inhibition du transport de glucose.....   | 31        |
| <b>IV.5. Test de l'activité des alcaloïdes de <i>Fumaria capreolata</i> sur la tolérance au glucose (OGTT).....</b> | <b>33</b> |
| <b>Conclusion et perspectives.....</b>  | <b>35</b> |

### Références bibliographiques

### Glossaire

### Annexe

## *Liste des figures*

|  |    |
|--|----|
| <b>Figure 1:</b> Photographies de <i>Fumaria capreolata</i> prises à Tizi N'berber et à Souk el Tenine.....        | 2  |
| <b>Figure 2:</b> Structures chimiques de quelques alcaloïdes isoquinoléiques de <i>Fumaria capreolata</i> .....    | 3  |
| <b>Figure 3:</b> Biosynthèse des différentes classes d'alcaloïdes chez les végétaux.....                           | 7  |
| <b>Figure 4:</b> Transport du glucose de l'intestin vers la circulation sanguine.....                              | 9  |
| <b>Figure 5:</b> La régulation de la glycémie.....   | 10 |
| <b>Figure 6:</b> Voies de signalisation de l'insuline.....   | 11 |
| <b>Figure 7:</b> L'action anti-hyperglycémiant des antidiabétiques oraux.....                                      | 17 |
| <b>Figure 8:</b> Photographie d'une souris <i>Swiss albinos</i> .....  | 19 |
| <b>Figure 9:</b> Montage d'extraction (Soxhlet).....   | 20 |
| <b>Figure 10:</b> Protocole d'extraction des alcaloïdes de <i>F. capreolata</i> .....                              | 21 |
| <b>Figure 11:</b> La répartition des souris en lots de 5 souris.....   | 23 |
| <b>Figure 12:</b> Photographies des manipulations des souris et de la mesure de la glycémie.....                   | 26 |
| <b>Figure 13:</b> Taux d'inhibition de l' $\alpha$ -glucosidase par les alcaloïdes de <i>Fumaria capreolata</i> .. | 28 |
| <b>Figure 14:</b> Variation de la glycémie après administration de saccharose .....                                | 30 |
| <b>Figure 15:</b> Variation de la glycémie au cours du test de l'inhibition du transport de glucose.               | 31 |
| <b>Figure 16:</b> Variation de la glycémie au cours du test de la tolérance au glucose.....                        | 33 |

## *Liste des tableaux*

|   |    |
|---|----|
| <b>Tableau I:</b> Classification botanique de <i>Fumaria capreolata</i> .....   | 2  |
| <b>Tableau II:</b> Différentes classes d'alcaloïdes et leurs origines biosynthétiques.....  | 5  |
| <b>Tableau III:</b> Quelques plantes à effet antidiabétique.....  | 18 |
| <b>Tableau IV:</b> Valeurs des absorbances des solutions en présence des différentes concentrations d'alcaloïdes de <i>Fumaria capreolata</i> ..... | 29 |

## *Liste des abréviations*

- **Abs** : Absorbance.
- **ACARB** : Acarbose.
- **ALK** : Alcaloïdes.
- **ATP** : Adénosine Tri-Phosphate
- **CNTL** : Control.
- **DPP-4** : Di-peptidyl peptidase de type 4.
- **G6P** : glucose-6-phosphate
- **GLP-1** : Glucagon-Like Peptide -1.
- **GLUT** : Glucose Transporter.
- **IDF** : International Diabetes Fédération.
- **K+** : Ion de potassium
- **MODY** : Maturity-Onset Diabetes of the Young
- **Na+** : Ion de sodium
- **OGTT**: Oral Glucose Tolerance Test.
- **WHO** : World Health Organization.
- **ONAB** : Office National Des Aliments du Bétail.
- **Phlorid** : Phloridzin.
- **pNPG** : Para-nitrophenyl  $\alpha$ -D-glucoopyranoside.
- **SGLT** : Sodium/Glucose Transporter.

# *Introduction*

## **Introduction**

Le diabète sucré est une maladie métabolique, caractérisée par une hyperglycémie chronique. De cette dernière, résultent des complications organiques causent, à long terme, des dommages pathologiques pour l'organisme (Orban, 2007). Cette maladie menace, d'une manière croissante, la santé publique par tous dans le monde. Selon World Health Organization (WHO) (2013) 347 millions de personnes, dans la population mondiale, sont diabétiques et d'après International Diabetes Fédération (IDF) (2009), ce chiffre pourrait s'élever jusqu'à 438 millions de diabétiques en 2030.

Le traitement actuel du diabète (hypoglycémisants oraux, insuline) est efficace dans la baisse de la glycémie, cependant l'obtention d'une valeur homéostatique permanente de celle-ci est très difficile à atteindre dans la plupart des cas. Malgré tous les progrès de la recherche en pharmacologie, le médicament antidiabétique idéal n'a pas été découvert, laissant le champ ouvert à de nouvelles découvertes qui pourraient peut-être stopper cette épidémie mondiale (Kinne et Castaneda, 2011).

Plusieurs recherches s'orientent vers les plantes médicinales considérées comme source énorme de multiples substances thérapeutiques douées d'activités antidiabétique. Plus de 1000 plantes différentes ont été décrites comme un traitement traditionnel du diabète (Naczki et Shahidi, 2004). Des essais pharmacologiques, rattachant des propriétés antidiabétiques aux alcaloïdes (Iwasa et al, 2000), ont attiré notre attention et nous ont incité à proposer ce travail, qui consiste en l'étude de ces composés chez *Fumaria capreolata*, et leur probable effet anti hyperglycémiant. Cette plante médicinale est riche en alcaloïdes isoquinoléïques, molécules biologiquement actives (Wu et Huang, 2006 ; Brihi et al, 2013).

La présente étude consiste, à tester l'effet anti hyperglycémiant des alcaloïdes de *Fumaria capreolata*. Nous avons essayé de cerner quelques mécanismes d'actions que nous leur avons supposé ; ceci par des tests *in vitro* que nous avons complété par des tests *in vivo* sur des souris normales.

## *Partie bibliographique*

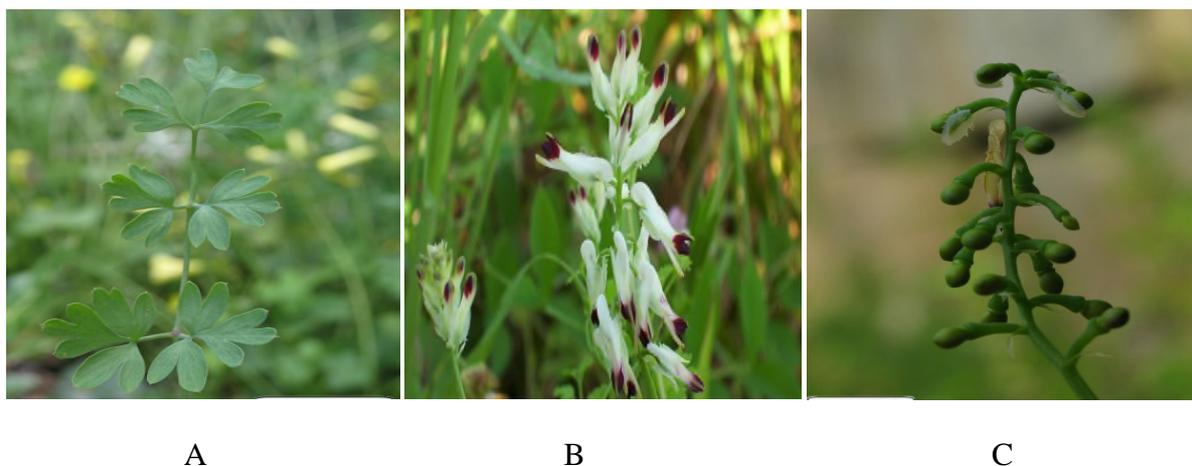
*Chapitre I*  
*Les alcaloïdes de Fumaria*  
*capreolata*

## I. Les alcaloïdes de *Fumaria capreolata*

### I.1. *Fumaria capreolata*

Les plantes du genre *Fumaria*, qui regroupe 40 espèces, sont des herbes annuelles ayant une large distribution. 22 espèces sont limitées à la région d'Ibero-Moritanian, qui inclut l'Algérie, le Maroc et l'Espagne (Suau et al, 2002a).

*Fumaria capreolata* connue sous le nom de "Fumeterre blanche" qui signifie "fumée de terre", en anglais "fumittery" ou "earth smoke" et en kabyle "zalamit" (Orhana et al, 2012). Comme la figure 1 le montre, elle est caractérisée par une tige couchée, grimpante ou dressée, simple ou rameuse dont la hauteur peut atteindre 30 à 80cm. Ses feuilles sont bipennatiséquées, s'accrochant souvent par les pédicelles des lobes (figure 1 A). Ses fleurs, blanches ou jaunâtres, sont pourpre noir à l'extrémité, éperonnées et longues de 9 à 15mm, elles forment des grappes lâches de 5 à 20 fleurs ; les sépales sont longs de 4 à 6mm (figure 1 B). Les fruits de la plante sont subsphériques, non apiculés, lisses, d'un diamètre de 2 à 2,5mm ; les pédicelles sont fructifères recourbés (figure 1 C) (Benoît, 2013).



**Figure 1** : Photographies de *Fumaria capreolata* prises à Tizi N'berber et à Souk el tenine (2013). A : Feuils, B : Fleurs C : Fruits

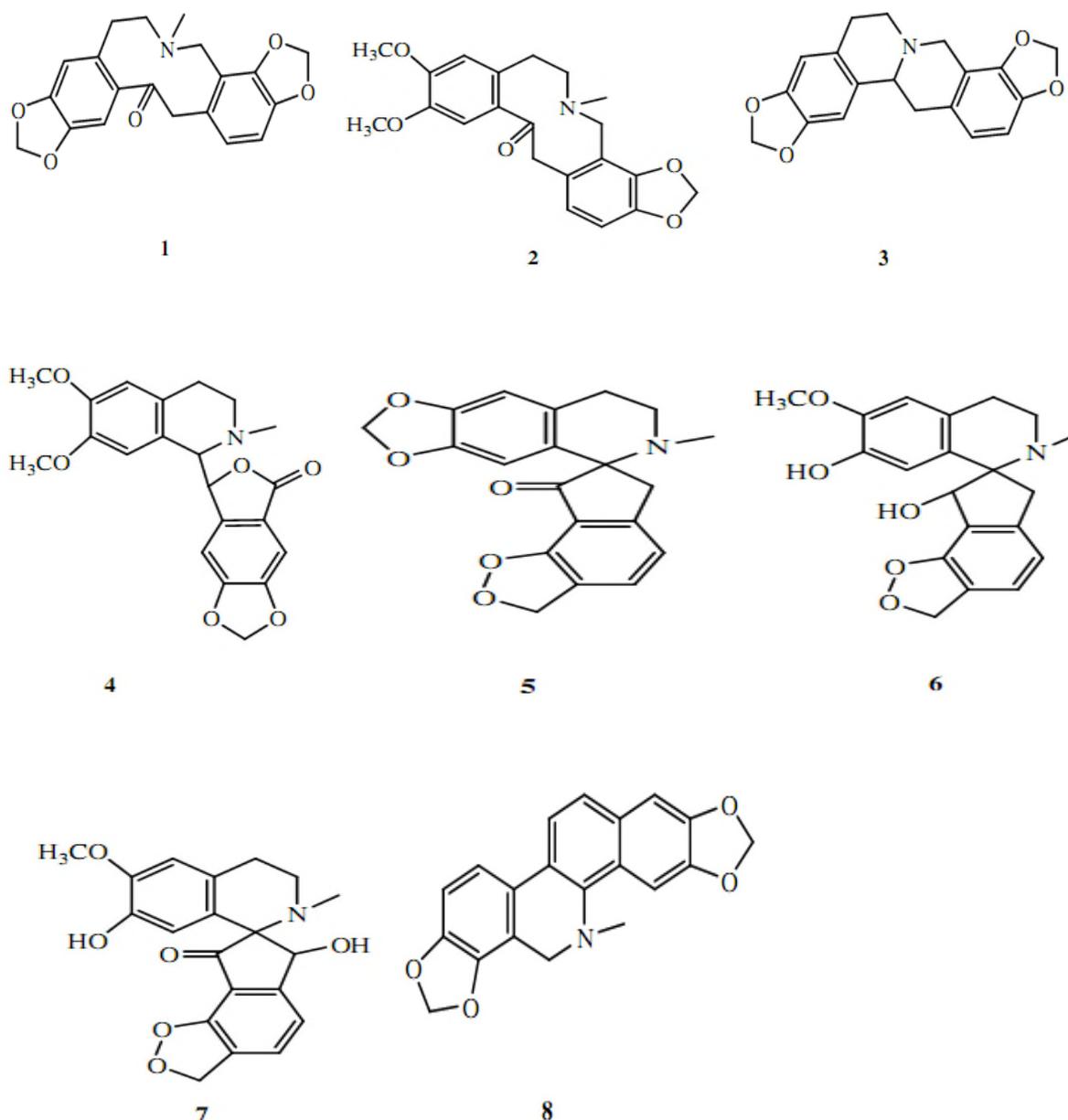
La classification botanique de *Fumaria capreolata* est présentée dans le tableau I.

**Tableau I**: Classification botanique de *Fumaria capreolata* (Goetz et al, 2009).

|                 |                             |
|-----------------|-----------------------------|
| <b>Règne</b>    | Plantes                     |
| <b>Division</b> | Angiospermes                |
| <b>Classe</b>   | Dicotyledones               |
| <b>Famille</b>  | Fumariaceaes                |
| <b>Genre</b>    | <i>Fumaria L.</i>           |
| <b>Espèce</b>   | <i>Fumaria capreolata L</i> |

### I.1.1. Composition chimique de *Fumaria capreolata*

*Fumaria capreolata* contient plusieurs types de composés chimiques; des acides organiques tel que l'acide caféique, l'ester méthylique de l'acide caféique, l'acide coumarique, l'acide fumarique, l'acide malique et l'acide protocatéchique (Sousek et *al*, 1999). Elle contient aussi les alcaloïdes, essentiellement isoquinoléiques, comme la protopine, la fumariline et la fumarafne (figure 2) (Suau et *al*, 2002b).



\*Protopine (1), cryptonine (2), Stylopine (3), phtalidiisoquinoline(4), Fumariline (5), Fumaritine (6), fumarafne (7) and dehydrobenzophenanthridine (8)

**Figure 2:** Structures chimiques de quelques alcaloïdes isoquinoléiques de *Fumaria capreolata* (Suau et *al*, 2002b).

## I.2. Les alcaloïdes

Les alcaloïdes représentent un ensemble de molécules d'origine naturelle, renfermant du carbone, de l'hydrogène et, plus spécialement, de l'azote qui est inclus dans un système hétérocyclique, leur conférant leur caractère alcalin. Ils existent à l'état de sels et sont synthétisés à partir d'acides aminés (Badiaga, 2012).

Selon les caractéristiques remplies on distingue 3 groupes d'alcaloïdes :

- Les alcaloïdes vrais ; ont un azote toujours hétérocyclique, sont basiques et existent normalement à l'état de sel. Biogénétiquement ils sont formés à partir d'acides aminés.
- Les proto-alcaloïdes ; sont des amines simples mais dont l'azote n'est pas inclus dans un système hétérocyclique. Basiques, ils sont issus du métabolisme des acides aminés.
- Les pseudo-alcaloïdes ; présentent le plus souvent toutes les caractéristiques des alcaloïdes vrais, mais ne sont pas des dérivés des acides aminés (Bruneton, 2009).

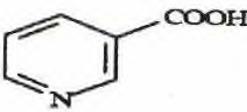
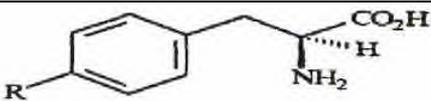
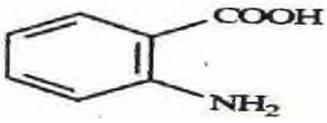
On pensait que les alcaloïdes avaient pour seule origine le règne végétal, mais au fil du temps un certain nombre d'alcaloïdes ont été isolés chez certains animaux, par exemple les arthropodes sécrètent les alcaloïdes à faibles quantités par leurs glandes exocrines. On en trouve aussi chez les bactéries comme la Pyocyanine de *Pseudomonas aeruginosa*, ils sont assez rares chez les champignons, comme les Claviceps et autres Actinomycètes (Badiaga, 2012).

### I.2.1. Classification chimique des alcaloïdes

Il est habituel de classer les alcaloïdes en fonction de leurs structures, ainsi, on distingue les composés non hétérocycliques des composés hétérocycliques ; dans ce dernier groupe, les alcaloïdes sont classés selon l'hétérocycle de base. D'autres classifications sont possibles ; par exemple celle qui consiste à regrouper les alcaloïdes en fonction de leurs propriétés pharmacologiques ou bien encore celle qui tient compte de leurs distributions botaniques.

Une autre façon de classer ces composés est de considérer, non pas seulement la structure des alcaloïdes, mais aussi leurs origines biosynthétiques. Dans le tableau II, sont résumées les différentes classes (Bruneton, 1999).

**Tableau II :** Différentes classes d'alcaloïdes et leurs origines biosynthétiques (Bruneton, 2009).

| Acide aminé  | Type d'alcaloïde                             |
|--|--|
|  <p>Ornithine</p>                               | Pyrrolidines, Pyridines, Tropanes.           |
|  <p>Lysine</p>                                  | Pipéridines, Indolizidines, Quinolizidines   |
|  <p>Acide Nicotinique</p>                       | Pyridine                                     |
|  <p>R= H, Phénylalanine<br/>R=OH, Tyrosine</p> | Isoquinoléines, Alcaloïdes du type éphédrine |
|  <p>Tryptophane</p>                           | Indoles et Quinoléines                       |
|  <p>Histidine</p>                             | Imidazoles                                   |
|  <p>Acide anthranilique</p>                   | Idoles                                       |

### I.2.2. Biosynthèse des alcaloïdes d'origine végétale

Les alcaloïdes se localisent dans les tissus périphériques de la plante, leur synthèse s'effectue au niveau de sites précis (racines en croissance, cellules spécialisées de laticifères et chloroplastes), ils sont ensuite transportés dans leur site de stockage, c'est à dire les vacuoles cellulaires, que ces dernières soient spécifiques (dans les laticifères) ou non (Badiaga, 2012). Un très grand nombre de structures d'alcaloïdes sont issues du métabolisme des acides aminés aromatiques et, en première approximation, il s'agit presque toujours d'alcaloïdes isoquinoléiques dont le motif structural de base est l'isoquinoléine (Bruneton, 1999).

Parmi les composés de cette classe, ceux qui retiennent notre attention sont les alcaloïdes dérivés de la phénylalanine et de la tyrosine (figure 3), précisément le groupe des benzyloisoquinoléines simple qui sont formées par une condensation de type Mannich entre deux métabolites de la phénylalanine. En effet, les précurseurs qui sont la dopamine d'une part et le 4-hydroxyphénylacétaldéhyde d'autre part, par leur condensation conduisent à la (S)-norcoclaurine qui est ensuite méthylée sur le phénol en C-6 ([S]-coclaurine) puis sur l'azote ([S]-N-méthylcoclaurine) avant d'être hydroxylée sur le carbone C-11 et, en fin méthylée sur le phénol en C-12 pour former la (S)-réticuline (Un benzyloisoquinoléine) (Bruneton, 2009).

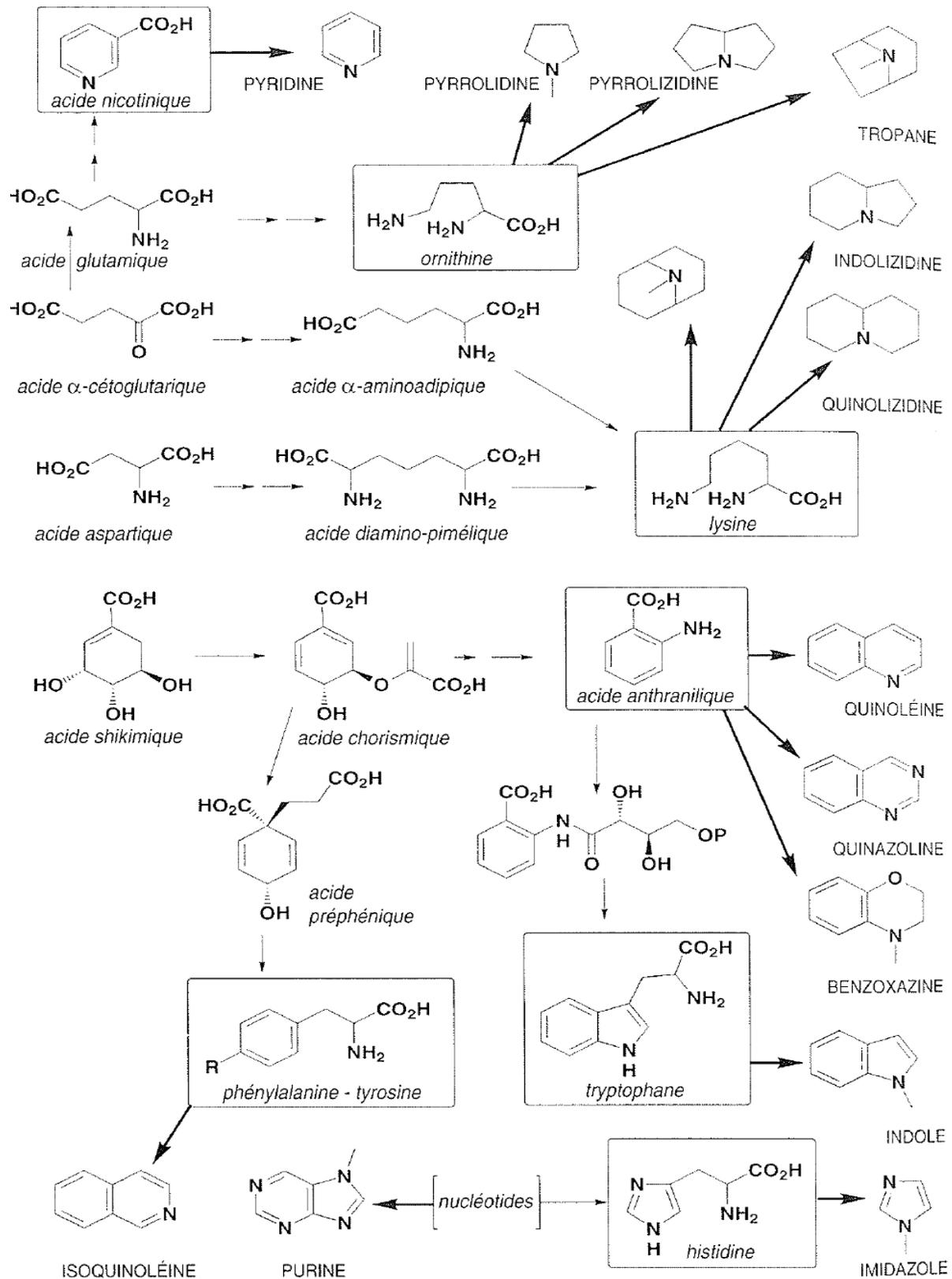


Figure 3: Biosynthèse des différentes classes d'alcaloïdes chez les végétaux (Bruneton, 2009).

### I.2.3. Propriétés physico-chimiques des alcaloïdes

Les alcaloïdes ont des masses moléculaires comprises entre 100 et 900 g/M, sont presque toujours incolores, sauf ceux fortement conjugués comme la berbérine (jaune) et sont généralement solides à la température ambiante. Les alcaloïdes bases sont insolubles ou très peu soluble dans l'eau, solubles dans les solvants organiques apolaires ou peu polaires et solubles dans les alcools de titre élevés. Leur basicité est très variables et dépend de la disponibilité du double libre de l'atome d'azote, ceci est fortement influencé par les groupements liés à ce dernier, ce caractère permet de former des sels avec des acides minéraux (chlorhydrates, sulfates, nitrates) ou organiques (tartrates, sulfamates). Les sels d'alcaloïdes sont généralement solubles dans l'eau et les alcools dilués, ils sont, sauf rares exceptions, insolubles dans les solvants organiques. Les sels cristallisés se concevant plutôt bien, ils constituent la forme commerciale habituelle pour ces molécules (Arango Acosta, 2008 ; Badiaga, 2012).

### I.2.4. Effets biologiques et pharmacologiques des alcaloïdes de *Fumaria capreolata*

L'activité pharmacologique de *Fumaria capreolata* est principalement associée à la présence des alcaloïdes, dont plusieurs études leur montrent des propriétés antimicrobiennes, car des extraits d'alcaloïdes ont un effet inhibiteur de la croissance d'un nombre de bactéries pathogènes tels que *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli* (Maiza-Benabdesselam et al, 2007). D'autres études, faites *in vitro*, leur montrent un potentiel antioxydant (Bribi et al, 2013). Les alcaloïdes possèdent aussi une activité antitumorale, anti hypertensive et analgésique (Wu et Huang, 2006). Cette classe inclue la protopine à laquelle une action hépatoprotective, hypnotique, anxiolytique et spasmolytique sont attribuées (Rathi, 2008).

Son innocuité vis-à-vis des souris NMRI lors des tests de toxicité aigue effectués après administration d'une dose orale de 2000 mg/kg, l'ont rendu aussi connue et intéressante dans le domaine de la pharmacologie et de la phyto-chimie (Bribi et al, 2013).

## *Chapitre II*

### *La glycémie et le diabète*

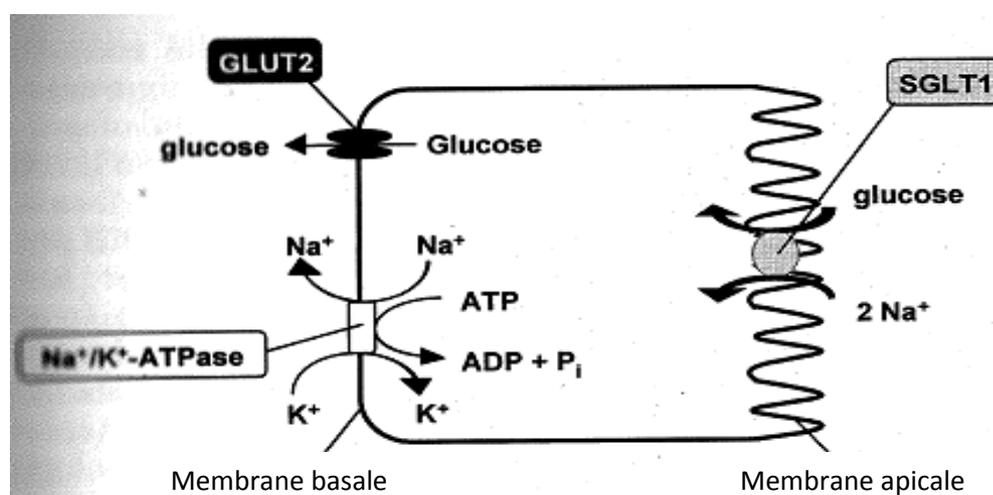
## II. La glycémie et le diabète

### II.1. Le métabolisme glucidique

Le glucose est la principale source d'énergie utilisée par les mammifères, c'est aussi un important substrat métabolique. Il est obtenu à partir de source exogène (l'alimentation) après l'hydrolyse, par les enzymes digestives, des polysaccharides et disaccharides ingérés. Parmi les osidases digestives, l' $\alpha$ -glucosidase (EC 3.2.1.20), localisée sur les cellules de la bordure en brosse de la paroi de l'intestin grêle (Gao, 2008). Elle catalyse l'hydrolyse des liaisons 1.4- $\alpha$ -glucosidiques, cette réaction a comme produit du glucose, qui sera libérer au niveau de la lumière intestinale, ce dernier sera par la suite absorbé à travers la paroi intestinale pour atteindre la circulation sanguine, d'où résulte l'hyperglycémie post-prandiale (Li *et al*, 2005).

Pour passer de la lumière intestinale vers la circulation sanguine le glucose est pris en charge par une protéine membranaire (membrane luminale) nommée Sodium/Glucose Transporter (SGLT), SGLT1 qui est le plus abondant dans l'intestin. Arrivé à la membrane apicale, le glucose est éliminé de la cellule vers le sang par une autre protéine membranaire basolatérale nommée Glucose Transporters (GLUT) qui assure une diffusion facilitée, c'est le GLUT2 qui assure ce phénomène dans l'intestin (figure 4) (Burant, 1996).

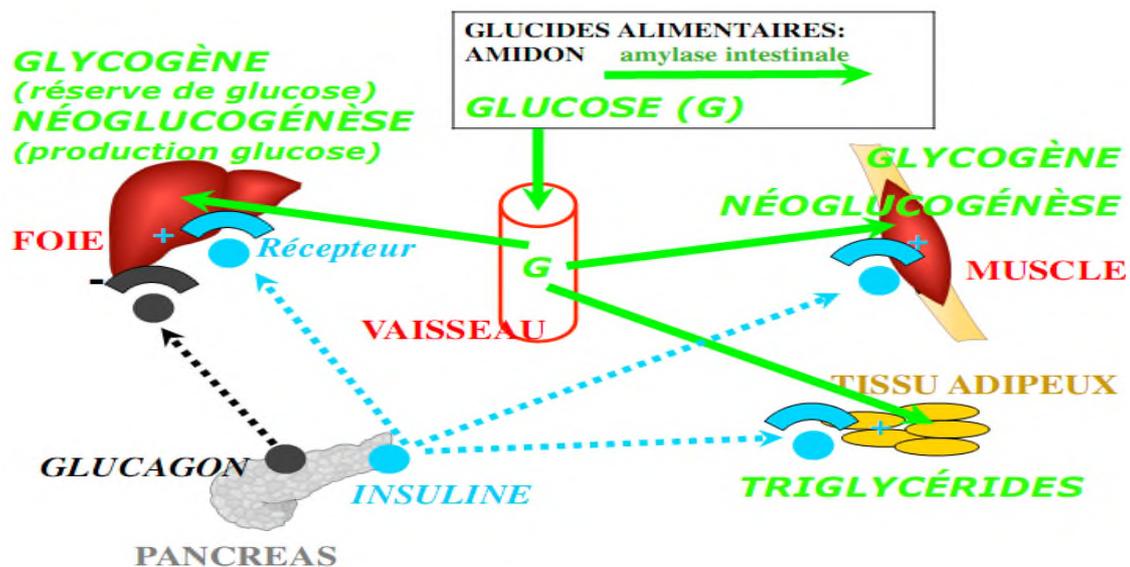
Lors du jeûne le glucose peut aussi être fourni par des sources endogènes par les organes et les tissus de stockage de celui-ci (Wood, 2003). Une foie dans le sang, le glucose est conduit au foie par la veine porte et là, est transformé en glucose-6-phosphate (G6P), qui peut suivre différentes voies, suivant les besoins de l'organisme, réglés par des mécanismes hormonaux (Baudin, 2001)



**Figure 4:** Transport du glucose de l'intestin vers la circulation sanguine (Scheepers, 2004).

## II.2. La glycorégulation

Malgré la prise alimentaire discontinue et une variation des besoins énergétiques cellulaires en fonction de leurs activités, la glycémie oscille entre 0.8 et 1.2 g/l. Cette homéostasie glycémique implique un stockage du glucose lors des repas (hyperglycémie) et un relargage des réserves glucidiques entre les repas (hypoglycémie) (Auberval, 2010). Le foie est le principal acteur de stockage du glucose sous forme de glycogène (glycogénogenèse), qui s'effectue par l'intermédiaire de la glycogène-synthétase. Les myocytes et les adipocytes jouent également un rôle important dans la mise en réserve du glucose. Le foie est aussi responsable du déstockage du glucose (Remérand, 2004). Le contrôle de la glycémie s'effectue par deux hormones pancréatiques : le glucagon et l'insuline, mais aussi, les incrétines dont les cibles sont donc le foie, les muscles, et le tissu adipeux (figure 5) (Auberval, 2010).

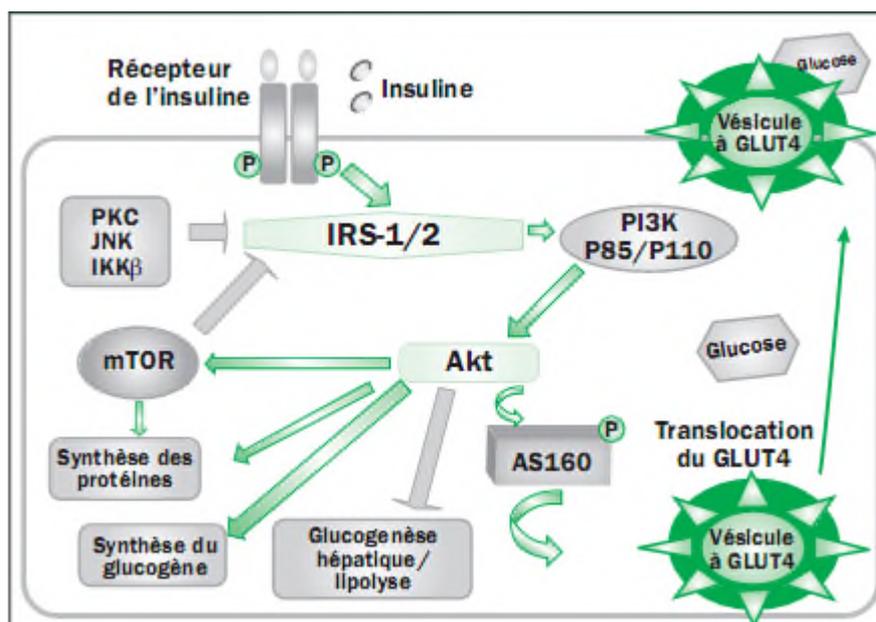


**Figure 5 :** La régulation de la glycémie (Halimi, 2005).

### II.2.1. L'insuline

L'insuline est une hormone hypoglycémisante, anabolique, produite par les cellules  $\beta$  du pancréas, dont la principale fonction est de contrôler l'homéostasie énergétique dans l'organisme. Sous son action, du glycogène est fabriqué à partir du glucose sanguin, au niveau des hépatocytes et des myocytes. De plus au niveau des adipocytes, le glucose est transformé en triglycérides (Kebieche, 2009).

L'insuline agit sur les tissus cibles par le biais de multiples voies de signalisation du récepteur de l'insuline. L'insuline se lie aux récepteurs à la surface des hépatocytes, des myocytes et des adipocytes, entraînant une chaîne de phosphorylations. Dans le foie, cette voie régule l'inhibition insuline-dépendante de la gluconéogenèse et de la production de glucose, dans le tissu musculaire et adipeux cette voie de signalisation induit la mobilisation du transporteur 4 du glucose (GLUT 4) vers la membrane cellulaire. Par le biais de ce dernier le glucose est facilement transporté dans la cellule (figure 6) (Samaan et *al*, 2008).



**Figure 6 :** Voies de signalisation de l'insuline (Samaan et *al*, 2008).

### II.2.2. Le glucagon

C'est une hormone hyperglycémiant produite par les cellules  $\alpha$  des îlots de Langerhans. En cas d'une hypoglycémie, le glucagon provoque la glycogénolyse et donc la libération de glucose, au niveau des hépatocytes. L'arrivée du glucose dans le plasma sanguin entraîne une augmentation de la glycémie (Remérand, 2004).

### II.2.3. Les incrétines

Les incrétines sont des peptides produits par les cellules L de l'intestin, souvent associées à des hormones et jouent sur la satiété. La plus connue des incrétines est le glucagon-like peptide1 (GLP-1). Il est sécrété par les cellules du jéjunum et de l'iléon en présence de nutriments dans l'intestin, ce qui stimule la sécrétion d'insuline et diminue la néogluconéogenèse hépatique. Cette hormone intéressante a malheureusement une demi-vie très courte car elle est rapidement dégradée par dipeptidylpeptidase-4 (DPP-4) (Auberval, 2010).

### II.3. Le diabète

Le diabète est une maladie chronique caractérisée par une augmentation de la glycémie atteignant 1,26 g/l à jeun au moins à deux reprises, ou > 2g/l quelque soit l'heure du prélèvement, il apparaît lorsque le pancréas ne produit pas suffisamment d'insuline ou que l'organisme n'utilise pas correctement l'insuline qu'il produit (Rodier, 2001; Agence de la Santé et des Services Sociaux de Montréal, 2011). La personne diabétique souffre d'une polydipsie, d'une polyphagie, d'une polyurie, d'une perte de poids et d'une grande lassitude (Godeau et al, 1987). La fréquence du diabète continue de croître du fait notamment de l'augmentation du vieillissement de la population et des conditions de vie (alimentation et obésité). Le diabète est assez fréquemment une cause de mortalité associée, surtout pour les maladies cardiovasculaires. La gravité des pathologies associées tient surtout à ses complications (Rencontre presse, 2005).

### II.4. Classification du diabète

La classification du diabète repose sur l'étiologie et/ou la pathogénie de chaque type de diabète, parmi les types de diabète les plus fréquents ; on distingue le diabète de type 1 et le diabète de type 2 (Rencontre presse, 2005).

#### II.4.1. Diabète de type 1

Le diabète de type 1 (diabète insulino-dépendant ou juvénile) est caractérisé par une production insuffisante d'insuline. Ce type de diabète prend son origine suite à une destruction progressive des cellules  $\beta$  du pancréas qui résulte d'une agression auto-immune impliquant les lymphocytes T qui débute plusieurs années (5 à 10 ans, voir plus) avant le début de diabète. L'élévation de la glycémie suppose une destruction de 80 à 90% des cellules  $\beta$  (Grimaldi et al, 2009).

### II.4.2. Diabète de type 2

Environ 90% des patients diabétiques sont atteints de diabète de type 2 (John et Gerich, 2004). Il survient, en règle, après l'âge de 40 ans, mais parfois plus tôt (Godeau et *al*, 1987). La physiopathologie de ce diabète est complexe ; elle associe un trouble de l'insulino-sécrétion, quantitatif et qualitatif par diminution du pic de réponse précoce aux aliments. A ce phénomène, s'ajoute une insulino-résistance qui est un trouble de la sensibilité des tissus périphériques à l'insuline ; expliquant l'hyperglycémie lors de jeûne. De plus ; la carence en insuline en regard des niveaux glycémiques, est liée à des troubles de la cellule  $\beta$  des îlots de Langerhans, qui sont aggravés par l'hyperglycémie elle-même «glucotoxicité », et par les taux élevés d'acides gras circulants « lipotoxicité ». On considère que la diminution de la masse des cellules  $\beta$  est de l'ordre de 50 %, au moment du diagnostic de diabète où l'hyperglycémie est précédée par 10 à 20 ans d'hyperinsulinisme euglycémique (Halimi, 2005).

### II.4.3. Autres types de diabètes sucrés

Parmi les autres types de diabètes, on cite :

Le diabète gestationnel qui correspond à un trouble de la tolérance glucidique apparaissant entre la 24<sup>ème</sup> et la 28<sup>ème</sup> semaine de grossesse et disparaissant après l'accouchement (Rodier, 2001).

Le diabète de type MODY (Maturity-Onset Diabetes of the Young) survient classiquement avant l'âge de 25 ans, cliniquement il est non insulino-dépendant, au moins pendant les premières années suivant le diagnostic et l'on n'observe pas de surpoids, il est de transmission autosomique dominante (Jenkins et Campbell, 2004).

### II.5. Complications du diabète

La gravité du diabète provient essentiellement de ses complications, à long terme, qui sont sources d'handicaps, d'incapacités et d'une altération de la qualité de vie. Les complications du diabète sont de deux types, microvasculaires et macrovasculaires. Le diabète de type 2 peut rester longtemps ignoré, il n'est pas rare que le diagnostic du diabète soit fait devant l'une de ces complications (Rencontre presse, 2005).

### **II.5.1. Les complications aiguës**

On distingue deux types de complications aiguës du diabète ;

L'hyperglycémie, caractérisée par une augmentation importante du glucose dans le sang et se traduit par un dessèchement de la bouche, une polydipsie, une polyurie, une somnolence accrue, des nausées et des vomissements, associés à une perte de poids. Elle peut provoquer une hypotension, une altération de la fonction myocardique, une vasodilatation cérébrale et un coma, parfois mortel. (Booth et coll, 2006). L'hypoglycémie est caractérisée par une faim insatiable, des tremblements et étourdissements, des troubles visuels associés à des maux de tête et à des changements de caractères, ainsi qu'une transpiration importante et une fatigue extrême (Orban et *al*, 2007).

### **II.5.2. Les complications chroniques**

Les complications chroniques du diabète représentent aujourd'hui les causes essentielles de morbidité et de mortalité chez le patient diabétique (Grimaldi et *al*, 2009), elles sont de deux types ; les lésions microangiopathiques qui sont caractérisées par l'épaississement de la membrane basale des capillaires sanguins, elle touche essentiellement le rein, l'œil et certains nerfs périphériques (Huet et *al*, 2010) ; et les lésions macroangiopathiques cette atteinte coronaire est due à une athérosclérose et peut s'exprimer sous la forme d'angine de poitrine encore appelée « angor » et parfois d'infarctus du myocarde. Les artères cérébrales peuvent également être touchées et donner lieu à des accidents vasculaires cérébraux (Collège des Enseignants d'Endocrinologie, 2004).

### **II.6. Traitement du diabète**

Traiter un diabétique, c'est chercher non seulement à baisser les valeurs glycémiques mais aussi à corriger les autres facteurs de risques vasculaires souvent associés. La fonction des cellules béta se détériore au cours de la maladie, pour cela la thérapie visant à contrôler la glycémie varie passant d'un traitement initial avec unique modification du régime alimentaire à une monothérapie, ensuite à une thérapie combinée, et plus tard à une insulinothérapie, ceci pour un diabétique de type 2, par contre le traitement d'un diabétique de type 1 se résume sur l'insulinothérapie (John et Gerich, 2004).

### **II.6.1. Traitement du diabète de type 1**

Un diabétique de type 1 doit suivre une alimentation variée, sans interdits mais les horaires et l'apport glucidique doivent être réguliers. L'exercice physique modéré est à recommander, tout en prenant compte les doses d'insuline, car un risque d'hypoglycémie existe pour ce type de diabète. Ces mesures sont un plus, car l'insulinothérapie reste indispensable ; l'insuline doit être pris tout au long de la vie du patient, avec adaptation des doses selon les cas. Les insulines diffèrent par leurs durées d'action ; on trouve les ultra-rapides (3 à 5 heures) et les rapides (4 à 8 h) couvrant les besoins prandiaux, les intermédiaires (9 à 16 h) et les ultra-lente (environ 24 h) couvrant les besoins basaux (Dorchy, 2010 ; Moret, 2010),

### **II.6.2. Traitement médicamenteux du diabète de type 2**

Les médicaments pour le contrôle de la glycémie sont prescrits pour abaisser le taux de glucose dans le sang lorsque le régime alimentation et l'activité physique ne permettent pas de contrôler adéquatement la glycémie. Selon leur mode d'action, on peut actuellement regrouper ces médicaments en plusieurs familles (Deshaies et *al*, 2011).

#### **II.6.2.1. Biguanides (Méthformine)**

Elle est indiquée en première intention dans le traitement du diabète de type 2, en particulier en cas de surcharge pondérale. La methformine est antihyperglycémiant. Elle réduit la glycémie basale et postprandiale en; diminuant la production hépatique du glucose (inhibition de la néoglucogénèse et de la glycogénolyse), favorisant la capture et l'utilisation périphérique du glucose principalement au niveau musculaire (augmente la sensibilité à l'insuline), retardant l'absorption intestinale du glucose. Sur le plan moléculaire, elle stimule la glycogènesynthétase et augmente la capacité de transport de tous les types de transporteurs membranaires du glucose (GLUT) (Lefebvre, 2005).

#### **II.6.2.2. Inhibiteurs de l' $\alpha$ -glucosidase**

Les inhibiteurs de l' $\alpha$ -glucosidase comme l'acarbose, le miglitol et le voglibose qui agit par inhibition compétitive et réversible des  $\alpha$ -glucosidases intestinales et diminuent ainsi la dégradation des hydrates de carbones en monosaccharides absorbables. Ils agissent donc en diminuant l'hyperglycémie post-prandiale et n'entraîne pas d'hyperinsulinisme. Ils sont utilisés en monothérapie ou en association avec d'autres antidiabétiques (Lefebvre, 2005).

### II.6.2.3. Les sulfamides hypoglycémiants ou sulfonylurées

Ce sont des médicaments qui stimulent les cellules  $\beta$  pancréatique pour qu'elles sécrètent plus d'insuline, ce qui augmente l'entrée du glucose dans les cellules de l'organisme. L'efficacité hypoglycémiante des sulfamides dépend donc de la capacité résiduelle du pancréas à sécréter de l'insuline. Par ailleurs, par ce mode d'action, la glycémie peut parfois baisser sous la normale (hypoglycémie). Ces médicaments peuvent aussi causer une prise de poids (Blickle et *al*, 1999).

### II.6.2.4. Les glinides (répaglinide)

Le répaglinide est le seul représentant commercialisé de cette classe. Il peut être associé à la metformine lorsque celle-ci ne suffit pas. Le répaglinide est un dérivé de l'acide carbamoylméthyl-benzoïque. Il n'appartient pas à la famille des sulfamides mais se fixe également sur site que les sulfamides. Son action sur la membrane des cellules  $\beta$  est à l'origine de la sécrétion de l'insuline (action insulinosécrétagogue). Le répaglinide présente l'avantage d'avoir une demi-vie courte plus courte que les sulfamides, ce qui limite les risques d'hypoglycémies. Cependant une diminution de l'effet hypoglycémiant au cours du temps est observée chez de nombreux patients (échec secondaire) (Fagherazzi-Pagel, 2002).

### II.6.2.5. Inhibiteurs de la DPP-4 et analogues du GLP-1

Cette nouvelle classe comporte la sitagliptine et la vildagliptine. La sitagliptine est pour le moment la seule commercialisée. Ils agissent sur les incrétines et provoquent une diminution de la sécrétion de glucagon et l'augmentation de la sécrétion d'insuline. Cette classe agit essentiellement sur la glycémie post-prandiale. Plusieurs autres médicaments agissant sur les incrétines sont en développement. Comme ces médicaments agissent en fonction du niveau de glycémie (plus la glycémie est élevée, plus ils agissent), ils risquent peu de causer de l'hypoglycémie (Deshaies et *al*, 2011).

### II.6.2.6. L'insuline

Le traitement initial du diabète de type 2 ne comprend généralement pas d'insulinothérapie. En effet, au moment du diagnostic, on estime à environ 50% la fonction cellulaire  $\beta$  résiduelle. Les buts de l'insulinothérapie dans le diabète de type 2 sont identiques à ceux du diabète de type 1. Habituellement, l'insulinothérapie dans le diabète de type 2 fait suite à un échec des antidiabétiques oraux ou à une de leurs contre-indications. Si l'on considère le diabète de type 2 comme une maladie évolutive, l'insulinothérapie est susceptible d'être proposée un jour ou l'autre à la plupart des patients (Agin, 2006).

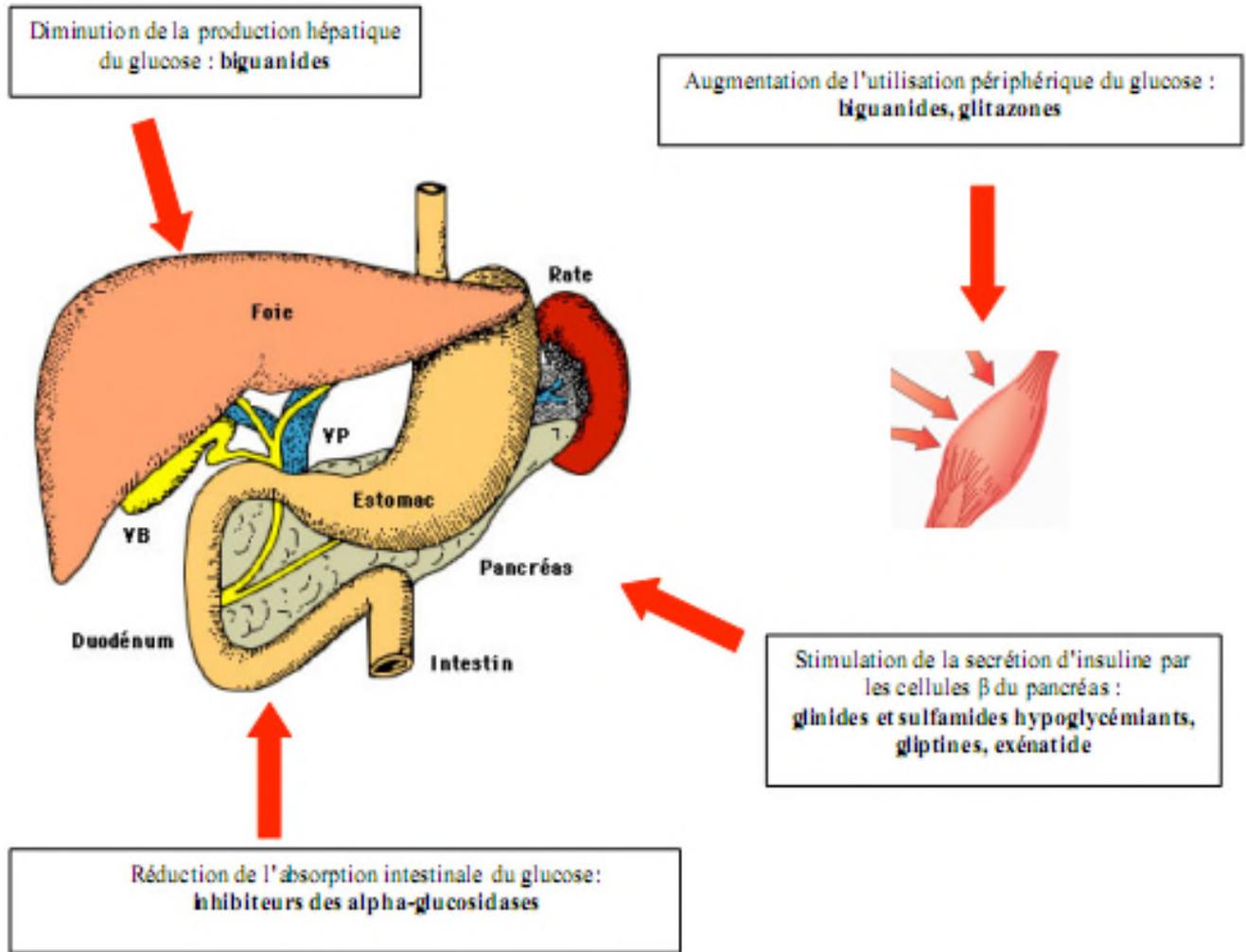


Figure 7: L'action anti- hyperglycémiant des antidiabétiques oraux (Deshaies et al, 2011).

### II.7. Phytothérapie du diabète

La phytothérapie du diabète a été long temps très empirique et il y a toute une série de plantes utilisées en médecine traditionnelle contre le diabète de qui ne sont pas à retenir dans un traitement moderne. Les études en laboratoire montrent souvent des extraits de plantes à effet antidiabétique (Goetz, 2007), quelques exemples sont cités dans le tableau III.

**Tableau III** : Quelques plantes à effet antidiabétique.

| Effet thérapeutique        | Nom scientifique               | Nom commun                | Parties utilisées | Références              |
|----------------------------|--------------------------------|---------------------------|-------------------|-------------------------|
| <b>Antihyperglycémiant</b> | <i>Caesalpinia digyna</i>      | Burmese                   | Racines           | Kumar et al, 2012       |
|                            | <i>Genista tenera</i>          | Genêt                     | Parties aériennes | Rauter et al, 2009      |
|                            | <i>Adhatoda vasica</i>         | Adusoge                   | Feuilles          | Gao et al, 2008         |
|                            | <i>Rhus chinensis</i>          | Sumac de Chine            | Parties aériennes | Shim et al, 2003        |
|                            | <i>Andrographis paniculata</i> | Echinacée d'Inde          | Parties aériennes | Subramanian et al, 2008 |
|                            | <i>Corchorus olitorius</i>     | Mauve des juifs           | Feuilles          | Oboh et al, 2012        |
| <b>Hypoglycémiant</b>      | <i>Toddalia asiatica</i>       | Patte de poule à piquants | Feuilles          | Irudayaraj et al, 2012  |
|                            | <i>Coccinia cordifolia</i>     | Ivy gourd                 | Feuilles          | Islam et al, 2009       |
|                            | <i>Catharanthus roseus</i>     | Rose amère                | Feuilles          | Islam et al, 2009       |
|                            | <i>Potentilla fulgens</i>      | Calédonien                | Racines           | Syiem et al, 2002       |
|                            | <i>Morus nigra</i>             | Mûrier noir               | Feuilles          | Goetz, 2007             |
|                            | <i>Eucalyptus globulus</i>     | Gommier bleu              | Feuilles          | Goetz, 2007             |

# *Partie pratique*

*Chapitre III*  
*Matériel et Méthodes*

### III. Matériel et Méthodes

#### III.1. Matériel végétale

Sur la base de son utilisation traditionnelle, notre étude a été réalisée sur la partie aérienne (fleurs, feuilles et tige) de l'espèce *Fumaria capreolata*. Le matériel végétal sain (exempt de toute attaque fongique ou d'insecte) a été récolté de deux stations : Tizi N'berbère et Souk El Tenine (dans la wilaya de Bejaïa), durant la période de fructification et de floraison (Mars, 2013), moment convenable pour la cueillette, et loin de la pollution de toutes ses formes.

L'identification de l'espèce a été effectuée au laboratoire Biotechnologie Végétale et Ethnobotanique, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie (l'université A Mira) de Bejaïa.

#### III.2. Verrerie et appareillage

Le matériel et les produits chimiques utilisés pour l'extraction et pour les tests sur l'activité anti-hyperglycémiant sont cités en annexes.

#### III.3. Animaux

Cette étude a été réalisée au laboratoire de Biotechnologie Végétale et Ethnobotanique, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie (université A Mira), sur des souris femelles *Swiss albinos* (figure 8), ayant un poids moyen de 30g. Les souris sont hébergées dans l'animalerie, dans des cages standards. Les animaux reçoivent librement de l'aliment standard provenant de l'ONAB de Medea (Office National Des Aliments du Bétail). L'alimentation est constituée d'un mélange de maïs, son, remoulage, soja et un complément minéral vitaminé.

Les conditions comme la température, l'éclairage et la ventilation ne sont pas prises en considération. La litière utilisée est la sciure, elle est renouvelée chaque jour ou chaque deux jours pour tous les groupes de souris.



**Figure 8** : Photographie d'une souris *Swiss albinos*.

### III.4. Méthodes

#### III.4.1. Séchage et broyage

Les échantillons de *Fumaria capreolata* sont découpés en petits morceaux, nettoyés et lavés à l'eau courante, puis séchés à l'étuve à 40°C, pendant dix jours, pour permettre un bon broyage et une meilleure extraction. Les échantillons séchés sont réduits en poudre grâce à un broyeur électrique (Debuigne, 1999 ; Naczk et Shahidi, 2004).

#### III.4.2. Extraction des alcaloïdes de *Fumaria Capreolata*

Le corps de l'extracteur, contenant une cartouche remplie de la poudre obtenue précédemment, est fixé à sa partie supérieure et est surmonté d'un réfrigérant. Le solvant est vaporisé puis condensé tout en restant en contact avec le matériel végétal pour donner une solution qui est soutirée périodiquement par l'amorçage d'un siphon. La solution collectée dans le ballon s'enrichit de plus en plus en soluté à chaque cycle d'extraction (pendant 8 heures) (figure 9) (Houghton et Raman, 1998).

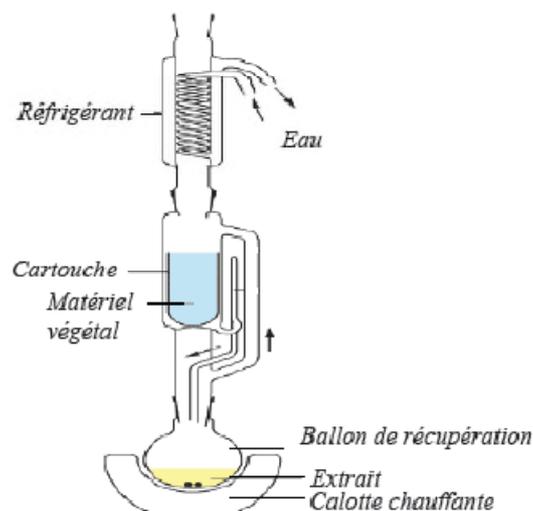
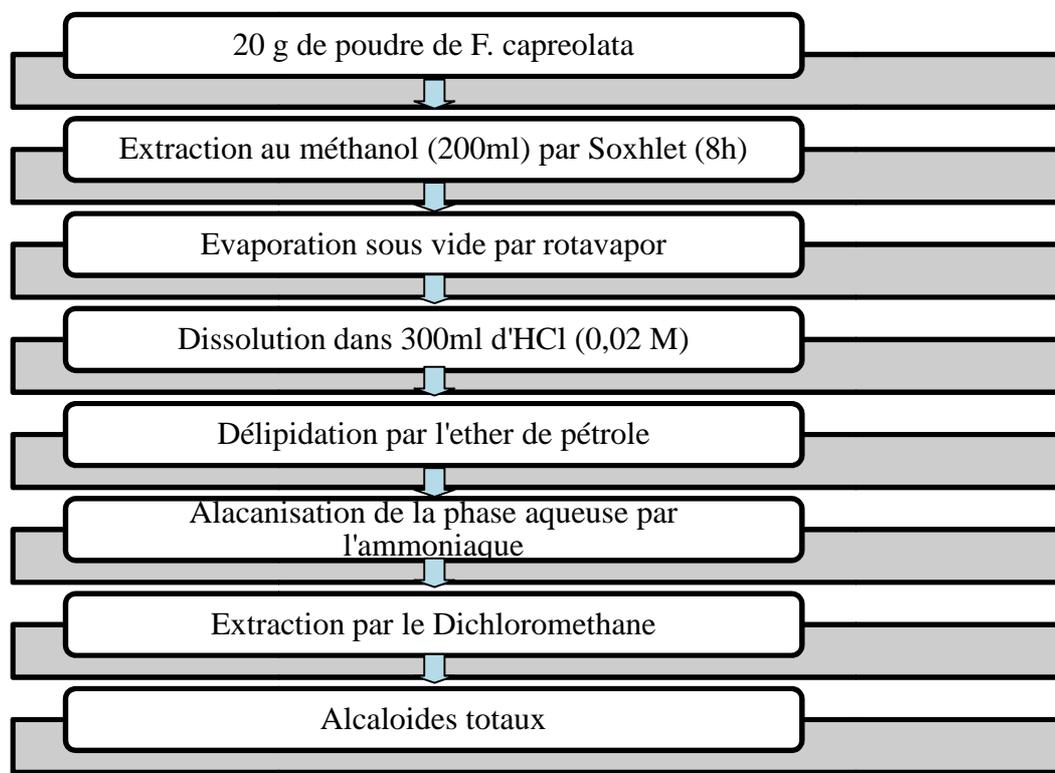


Figure 9 : Montage d'extraction (Soxhlet).

Les différentes étapes suivies pour l'extraction des alcaloïdes, selon Bruneton (1999), sont illustrées dans la figure 10 :



**Figure 10 :** Protocole d'extraction des alcaloïdes de *F. capreolata* (Bruneton, 1999).

### III.4.3. Etude de l'activité anti-hyperglycémiant des alcaloïdes de *Fumaria capreolata in vitro*

Lors de cette étude, nous avons testé l'effet inhibiteur des alcaloïdes de *Fumaria capreolata* sur l' $\alpha$ -glucosidase *in vitro* ainsi que le degré de complexation (glycosylation) de ces molécules avec le glucose.

#### III.4.3.1. Test de l'inhibition de l' $\alpha$ -glucosidase

Ce test nous renseigne essentiellement sur l'inhibition de l' $\alpha$ -glucosidase de *Saccharomyces cerevisiae* par les alcaloïdes de *Fumaria capreolata in vitro*, dont l'objectif crucial est d'inhiber l' $\alpha$ -glucosidase intestinale dans le but de diminuer la glycémie post-prandiale chez les personnes diabétiques.

Pour cela, l'extrait a été solubilisé dans un tampon phosphate (0.1M, pH 6.9) de telle sorte à obtenir des concentrations de (6.25, 12.5 et 25 µg/ml). Un volume de 250µl de chaque échantillon a été mélangé avec 500µl de l'enzyme α-glucosidase solubilisée dans le même tampon. Le mélange obtenu a été incubé à une température de 37°C pendant 15 minutes. Par la suite, 250µl du substrat para-nitrophenyl α-D-glucopyranoside (pNPG) solubilisé dans le même tampon phosphate ont été ajoutées au mélange. Le tout a été incubé pendant 15 minutes à 37°C (Subramanian et al, 2010 ; Oboh et al, 2012).

La réaction a été stoppée en incubant le mélange réactionnel pendant 5 minutes au bain marée (BUNSEN) à une température de 100°C. L'activité enzymatique a été déterminée en mesurant l'absorbance par spectrophotomètre à une longueur d'onde de 405nm. (Shima et al, 2003).

Les mêmes étapes sont suivies pour l'acarbose utilisé comme standard aux concentrations de 6.25, 12.5 et 25 µg/ml.

Le pourcentage d'inhibition de l'activité enzymatique est calculé par la loi suivante :

$$\% \text{ Inhibition} = \frac{\text{Abs (contrôle)} - \text{Abs (échantillon)}}{\text{Abs (contrôle)}} \times 100$$

Ou Abs (contrôle) = absorbance de l'enzyme avec substrat

Abs (échantillon) = absorbance de enzyme+substrat+extrait.

#### III.4.3.2. Test de complexation au glucose (glycosylation)

Le but de ce test est d'estimer la capacité des alcaloïdes de *Fumaria capreolata* à complexer le glucose libre *in vitro*, donc étudier l'un de mécanisme possible de cet extrait à réduire la glycémie post-prandiale.

L'extrait a été solubilisé dans de le tampon phosphate de telle sorte à obtenir des concentrations de (0.25, 0.5 et 1mg/ml). 100µl de chaque concentration de l'échantillon a été mélangée avec 100µl d'une solution glucosée à des concentrations différentes (0.2, 0.6 et 1 mg/ml). Le témoin contient 100µl d'une solution glucosée à ces différentes concentrations et 100µl de l'eau distillée. Le mélange réactionnel a été incubé pendant 10min à 37°C. Le glucose non lié aux alcaloïdes a été mesuré par une méthode enzymatique (glucose oxydase), pour cela 50µl de chaque mélange ont été ajouté à 2ml du réactif de dosage (solution glucose oxydase). Après 15 minutes d'incubation à température ambiante, la concentration de glucose non lié a été déterminée par spectrophotométrie en mesurant l'absorbance à 520 nm.

### III.4.4. Tests de l'activité des alcaloïdes de *Fumaria capreolata* sur la glycémie post-prandiale

Cette expérience a été réalisée dans le but d'étudier l'effet des différentes concentrations des alcaloïdes de *Fumaria capreolata* sur la glycémie post-prandiale. Pour réaliser cette étude, deux tests ont été faits.

#### III.4.4.1. Test d'inhibition de l' $\alpha$ -glucosidase

Ce test nous a permis de déterminer l'effet inhibiteur des différentes concentrations des alcaloïdes de *Fumaria capreolata* sur l' $\alpha$ -glucosidase intestinale.

##### III.4.4.1.1. Répartition des souris sur différents lots

Lors de cette étude les souris ont été mises à jeun pendant environ 15 heures, puis réparties sur quatre lots de 5 souris chacun (figure 11) :

- Lot I (lot control): les souris de ce groupe reçoivent seulement une dose de 2g/kg de saccharose (CNTL).
- Lots traités par l'extrait ; Lot II (ALK200) reçoit une dose de 200 mg /Kg et le Lot III (ALK300) une dose de 300 mg /Kg.
- Lot IV (lot standard): contient les souris traitées par l'acarbose (ACARB).



**Figure 11** : La répartition des souris en lots de 5 souris.

#### III.4.4.1.2. Procédure expérimentale

Après une nuit de jeûne (environ 15h), les souris ont été réparties sur différents groupes selon l'homogénéité de leur glycémie. Les différentes concentrations d'extraits ont été solubilisées dans de l'eau distillée pour obtenir les doses appropriées (200 et 300mg/kg), puis administrées aux souris par voie orale avant 5 minutes de l'administration d'une solution saccharose (2g/kg) (Figure 12A). Les souris du groupe control ont reçu uniquement une solution de saccharose (2g/kg). Les souris du groupe traité par un antidiabétique standard (acarbose), ont reçu une dose de 25 mg/kg avant 5 minutes de l'administration de la solution saccharose (2g/kg).

La glycémie post prandiale a été mesurée après 30, 60, 90, 120 minutes de l'administration du saccharose. Le dosage du glucose sanguin a été réalisé à l'aide d'un glucomètre à partir du sang prélevé de la veine de la queue (Figure 12 B, C, D) (Shima et al, 2003 ; Hogan et al , 2010).

#### III.4.4.2. Test d'inhibition du transport intestinal de glucose

Ce test nous renseigne essentiellement sur le blocage des transporteurs intestinaux de glucose (SGLT1, GLUT2) par les alcaloïdes de *Fumaria capreolata*.

##### III.4.4.2.1. Répartition des souris sur différents lots

Les souris ont été réparties sur quatre lots :

Lot I : lot control (CNTL), ces souris ont reçu uniquement une dose de 2g/kg de glucose.

Lot II et III: lot extrait (ALK100 et ALK200), ces groupes de souris ont reçu une dose de 100 et 200mg/kg respectivement de l'extrait et une solution de 2g/kg de glucose.

Lot IV : lot standard (PHLORIDZIN), ce groupe de souris a reçu une dose de 100 mg/kg de phloridzin (flavonoïde glycosylé), et une solution de 2g/kg de glucose.

##### III.4.4.2.2. Procédure expérimentale

Après 15 heures de jeûne, les souris ont été réparties selon l'homogénéité de leurs glycémies.

Les concentrations de l'extrait à tester, la phloridzin et le glucose ont été tous solubilisés dans de l'eau distillée, de telle sorte à obtenir une solution homogène.

Les solutions de l'extrait (100 et 200 mg/kg) ont été administrées aux souris par voie orale avant 5 minutes de l'administration de la solution glucose (2g/kg) (Figure 12A).

Les souris de lot control ont reçu seulement une solution de glucose (2g/kg).

Les souris de lot standard ont reçu une dose de 100 mg/kg de phloridzin avant 5 minutes de l'administration de la solution glucosée (2g/kg).

La glycémie a été mesurée après chaque 20 minute de l'administration du glucose sur une durée d'une heure (20 min, 40 min, 60 min).

En utilisant un glucomètre, la glycémie post prandiale a été mesurée à partir du sang prélevé de la veine de la queue (Figure 12 B, C, D) (Song, 2002 ; Kottra et Daniel, 2007).

#### **III.4.5. Test de l'activité des alcaloïdes de *Fumaria capreolata* sur la tolérance au glucose (OGTT)**

Le test de tolérance au glucose, est l'un des principaux tests qui nous renseigne sur le degré de stockage de glucose par le foie ainsi que son utilisation par les cellules des tissus périphériques, et cela en soumettant les animaux à un éventuel anti hyperglycémiant.

##### **III.4.5.1. Répartition des souris sur différents lots**

les souris ont été réparties sur quatre lots de 5 souris chacun :

Lot I: lot control (CNTL), ces souris ont reçu uniquement une dose de 2g/kg de glucose.

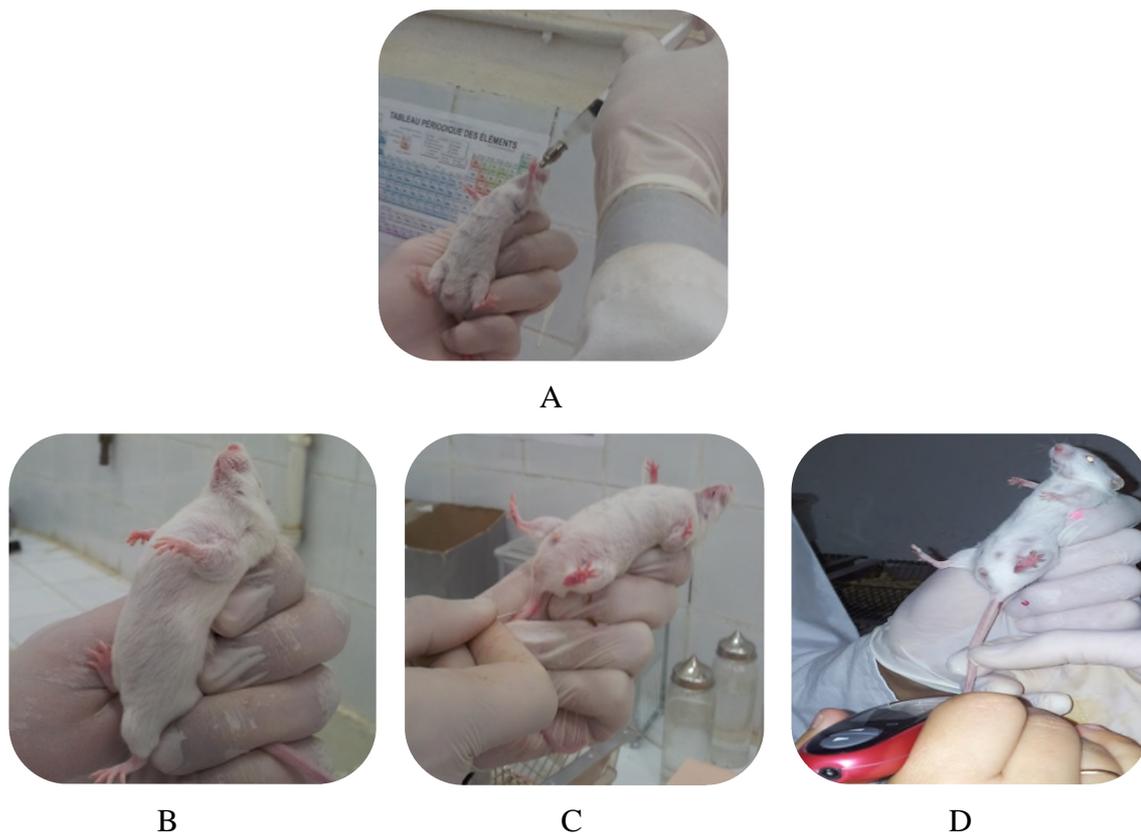
Lot II et III : lots extraits (ALK100 et ALK200), ces groupes de souris ont reçu respectivement une dose de 100 et 200 mg/kg de l'extrait, et une solution de 2g/kg de glucose.

Lot IV : lot standard (Metf) : ce groupe de souris a reçu une dose de 150 mg/kg de métformine (antidiabétique), et une solution de 2g/kg de glucose.

##### **III.4.5.2. Procédure expérimentale**

Après 15 heures de jeûne, les souris ont été réparties selon l'homogénéité de leur glycémie. Les concentrations de l'extrait à tester, la métformine et le glucose ont été tous solubilisés dans de l'eau distillée, de telle sorte à obtenir une solution homogène. Les solutions de l'extrait (100 et 200 mg/kg) ont été administrées aux souris par voie orale avant 45 minutes de l'administration de la solution glucose (2g/kg) (Figure 12A). Les souris de lot control ont reçu seulement une solution de glucose (2g/kg).

Les souris de lot standard ont reçu une dose de 150 mg/kg de métformine avant 45 minutes de l'administration de la solution glucosée (2g/kg). Le dosage de la glycémie a été effectué toutes les 30, 60, 120 et 180 minutes après administration de glucose (Figure 12 B,C,D) (Syiema et al, 2002 ; Islam et al, 2009).



**Figure 12:** Photographies des manipulations des souris et de la mesure de la glycémie.

*A : Gavage, B : Méthode de la cotention, C : Prélèvement du sang, D : Mesure de la glycémie*

#### III.4.6. Analyse statistique

En utilisant un logiciel de statistique Statview, les résultats des tests effectués dans ce travail sont exprimés en moyenne  $\pm$  écartypes ( $p \leq 0.05$ ).

*Chapitre VI*  
*Résultats et discussions*

## IV. Résultats et discussions

### IV.1. Collecte, séchage et extraction

La collecte et le séchage du matériel végétal ont été réalisés de façon à pouvoir récupérer le maximum d'alcaloïdes. Le temps choisi pour la collecte du matériel végétal influence les activités biologiques des extraits des plantes, car la teneur en métabolites secondaires chez les végétaux n'est pas stable dans le temps. Nous avons collecté la partie à étudier en printemps, saison durant laquelle le pic en alcaloïdes est atteint (Suau et *al*, 2002).

### IV.2. Taux d'extraction des alcaloïdes de *Fumaria capreolata*

L'extraction des alcaloïdes a été réalisée dans un milieu acide. Le taux d'extraction des alcaloïdes que renferme *Fumaria capreolata* (1,17%) a été calculé en fonction de la matière végétale sèche (poudre initiale) de la partie aérienne de la plante. Cette espèce semble être plus riches en alcaloïdes en comparaison à d'autres espèces du même genre ; En effet on observe chez *Fumaria fella* un taux de 0,67%, dans le cas de *Fumaria sepium* et *Fumaria agaria* des rendements allant respectivement jusqu'à 0,88% et 0,83% ont été observés. Généralement, la teneur en métabolites secondaires dépend de plusieurs facteurs tels que l'espèce, l'origine, le stade de croissance, les influences environnementales et le patrimoine génétique (Bruneton, 1999).

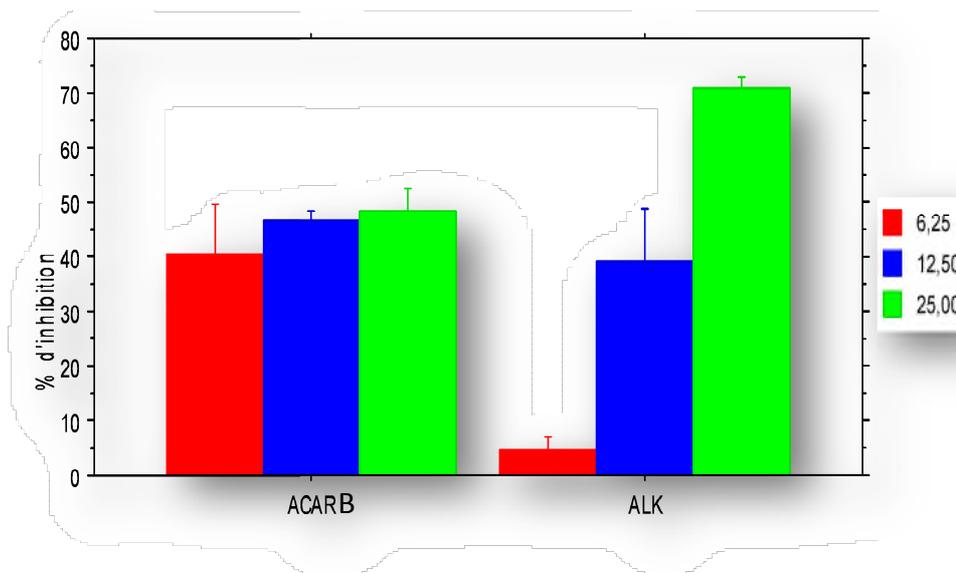
La procédure de séchage est aussi un paramètre important pouvant influencer les activités biologiques des extraits. En effet, un séchage mal conduit pourrait aboutir à des contaminations fongiques du matériel végétal et mener à des modifications significatives de la composition chimique et des activités biologiques des extraits des plantes. Ce paramètre aussi influence le taux d'extraction (Naczki et Shahidi, 2004).

### IV.3. Etude de l'activité anti-hyperglycémiant des alcaloïdes de *Fumaria capreolata in vitro*

Lors de cette étude, nous avons testé l'effet inhibiteur des alcaloïdiques de *Fumaria capreolata* sur l' $\alpha$ -glucosidase ainsi que son degré de complexation (glycosylation) avec le glucose.

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

L'inhibition de l' $\alpha$ -glucosidase *in vitro* est l'une des étapes clé de la mise en évidence d'éventuelles molécules antidiabétiques, dont le mécanisme d'action est de réduire la glycémie post-prandiale. Les résultats de ce test sont représentés sur la figure 13.



**Figure 13:** Taux d'inhibition de l' $\alpha$ -glucosidase par les alcaloïdes de *Fumaria capreolata* ;  
ALK : alcaloïdes 6.25, 12.5 et 25  $\mu\text{g/ml}$ , ACARB : 6.25, 12.5 et 25  $\mu\text{g/ml}$ .

Ces résultats montrent que l'effet inhibiteur des alcaloïdes de *Fumaria capreolata*, étudié sur l' $\alpha$ -glucosidase intestinale, est proportionnel aux concentrations utilisées (dose-effet). Avec les concentrations de l'extrait (6.25, 12.5 et 25  $\mu\text{g/ml}$ ), nous constatons une forte inhibition avec la dose de 25  $\mu\text{g/ml}$  (70.8%), et une moindre inhibition avec la concentration de 12.5  $\mu\text{g/ml}$  (39.36%), alors que la concentration de 6.25  $\mu\text{g/ml}$  n'a montré qu'un très faible effet (4.48%). Notant aussi que la concentration de 25  $\mu\text{g/ml}$  présente une inhibition plus importante que celle observée avec l'acarbose (inhibiteur de l' $\alpha$ -glucosidase intestinale).

L'inhibition de l' $\alpha$ -glucosidase de *Saccaromyces cerevisiae* par les différentes concentrations des alcaloïdes de *Fumaria capreolata*, notamment par les deux concentrations les plus élevées, revient probablement à une inhibition non compétitive de l'enzyme, vue que la structure des alcaloïdes n'est pas similaire au substrat de cette enzyme (pNPG), et ne pourraient donc probablement pas se lier au site catalytique de celle-ci, ils exerceraient leur effet inhibiteur en se liant à un autre site que celui-ci, présent sur l'enzyme, à l'état libre ou complexé (enzyme/substrat) et empêcherait ainsi la dégradation du substrat.

Le type d'inhibition exercée par les alcaloïdes à la concentration de 25  $\mu\text{g/ml}$ , pourrait être à l'origine de la meilleure inhibition obtenue.

### IV.3.2. Test de complexation au glucose

L'inhibition du transport intestinal de glucose, est l'une des principales cibles des recherches actuelles en diabétologie, dans le but de réduire la glycémie post prandiale. En fait l'inhibition de ce type du transport peut se produire par deux mécanismes principaux, à savoir le blocage des transporteurs de glucoses (SGLT1, GLUT2) par d'éventuelles molécules antidiabétiques d'une part et la complexation de ces dernières avec le glucose d'autre part. Pour dévoiler le mécanisme d'action des alcaloïdes de *Fumaria capreolata*, sur le transport intestinal de glucose, deux tests complémentaires devront être réalisés, le premier *in vitro* sur la complexation de l'extrait avec le glucose, et le deuxième *in vivo* sur l'inhibition des transporteurs intestinaux de glucose. L'effet des alcaloïdes de *Fumaria capreolata* sur la complexation avec le glucose *in vitro* est illustré dans le tableau IV.

**Tableau IV:** Valeurs des absorbances des solutions en présence des différentes concentrations d'alcaloïdes de *Fumaria capreolata*.

| Concentration<br>(mg/ml) | Alcaloïdes [0,25] | Alcaloïdes [0,5] | Alcaloïdes [1] |
|--------------------------|-------------------|------------------|----------------|
| Glucose [0,2]            | 0,113             | 0,111            | 0,117          |
| Glucose [0,6]            | 0,163             | 0,162            | 0,161          |
| Glucose [1]              | 0,300             | 0,343            | 0,361          |

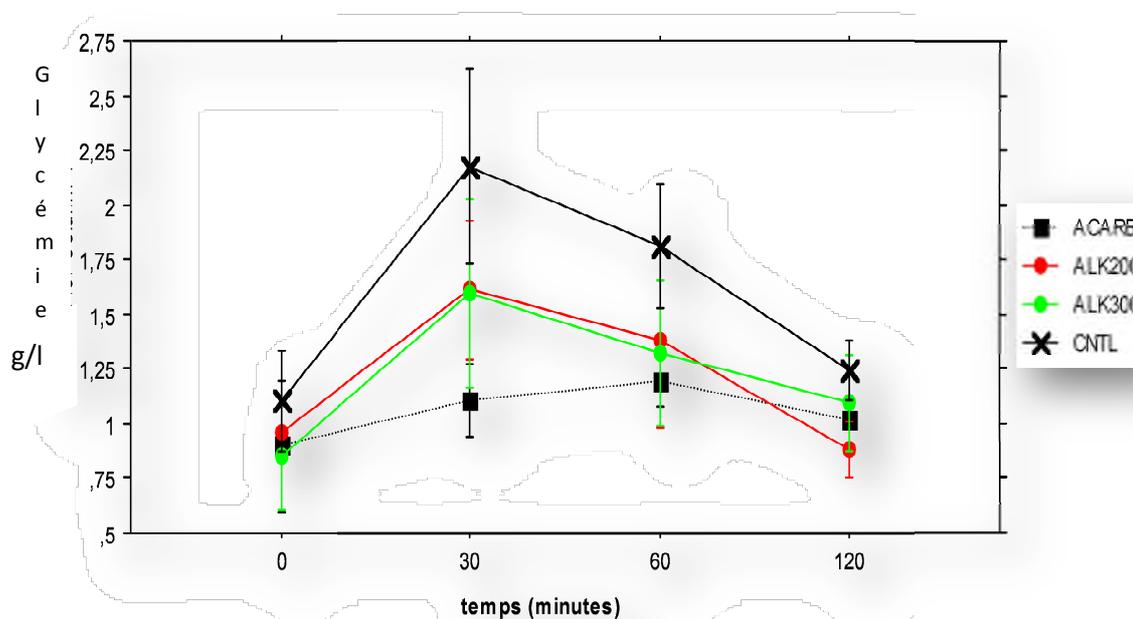
Alors que l'absorbance augmente avec l'augmentation de la concentration du glucose, nous remarquons que l'absorbance reste constante en augmentant la concentration des alcaloïdes (tableau IV). Ces données peuvent être interprétées par l'absence de complexation entre les molécules du glucose et celles des alcaloïdes de *Fumaria capreolata*.

### IV.4. Tests de l'activité des alcaloïdes de *Fumaria capreolata* sur la glycémie post-prandiale

Dans cette étude, nous évaluons l'action inhibitrice des alcaloïdes de *Fumaria capreolata* sur l' $\alpha$ -glucosidase et la possibilité qu'ils puissent inhiber le transport intestinale du glucose. Ainsi ils pourraient avoir un effet sur l'absorption intestinale du glucose en prolongeant le processus d'absorption, de ce fait supprimer le pic de la glycémie post prandiale.

#### IV.4.1. Test de l'inhibition de l' $\alpha$ -glucosidase

Les tests d'inhibition de l' $\alpha$ -glucosidase intestinale par les différentes concentrations des alcaloïdes de *Fumaria capreolata*, nous renseignent essentiellement sur leur éventuelle capacité à réduire la glycémie post-prandiale.



**Figure 14:** Variation de la glycémie, après administration de saccharose;

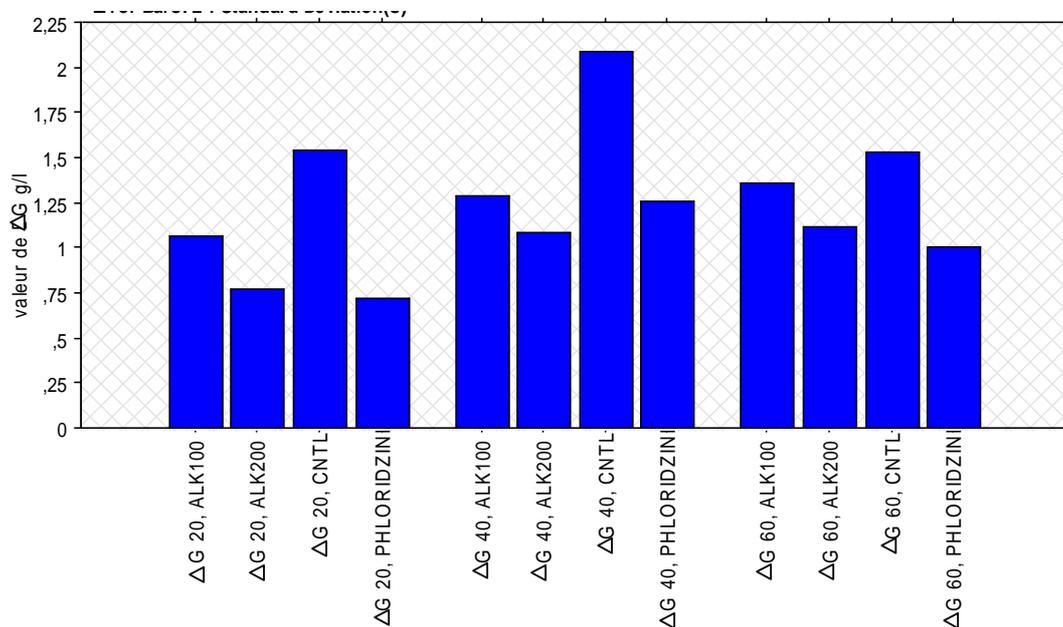
*ALK : alcaloïdes 200, 300 mg/kg, ACARB : acarbose, CNTL : control.*

Les résultats de ce test montrent qu'après 30 minutes de l'administration du saccharose, nous constatons une élévation significative de la glycémie chez le lot de souris non traitées (CNTL) qui atteint une valeur de 2.17 g/l. À la différence du lot CNTL, nous observons chez les lots traités avec les alcaloïdes, une augmentation de la glycémie qui est significativement moindre, atteignant des valeurs très proches entre elles : elle est de 1.59 g/l pour ALK200 et de 1.61g/l pour ALK300. Dans les 90 minutes qui suivent, nous observons un retour progressif aux taux de glycémies initiaux pour les trois lots. Nous observons pour ACARB (lot des souris traitées par l'antidiabétique standard) que la glycémie oscille au tour d'une glycémie homéostasique lors de tous les dosages, où elle atteint une valeur maximum de 1.19 g/l à la 60<sup>ème</sup> minute (figure 14).

L'absence de formation du pic glycémique poste-prandial chez les lots ALK200 et ALK300, comme ça l'est chez ACARB, pourraient être attribués à un effet inhibiteur de type non compétitif des alcaloïdes sur l' $\alpha$ -glucosidase, par formation de complexe inactif avec celle-ci, à l'état libre ou à l'état complexé.

#### IV.4.2. Test de l'inhibition du transport de glucose

Ce test nous renseigne essentiellement sur la possibilité du blocage des transporteurs intestinaux de glucose (SGLT1, GLUT2), et donc de réduire la glycémie post prandiale et ceci en complémentarité avec les résultats du test *in vitro* sur la complexation des alcaloïdes avec les molécules du glucose. L'effet des alcaloïdes de *Fumaria capreolata* sur le transport intestinal de glucose est illustré dans la figure 15.



**Figure 15 :** Variation de la glycémie au cours du test de l'inhibition du transport de glucose;  $\Delta G$  : augmentation de la glycémie par rapport à la glycémie initiale, à la 20, 40 et 60<sup>ème</sup> minute, ALK : alcaloïdes 100, 200 mg/kg, CNTL : contrôle, PHLORIDZIN : phloridzin.

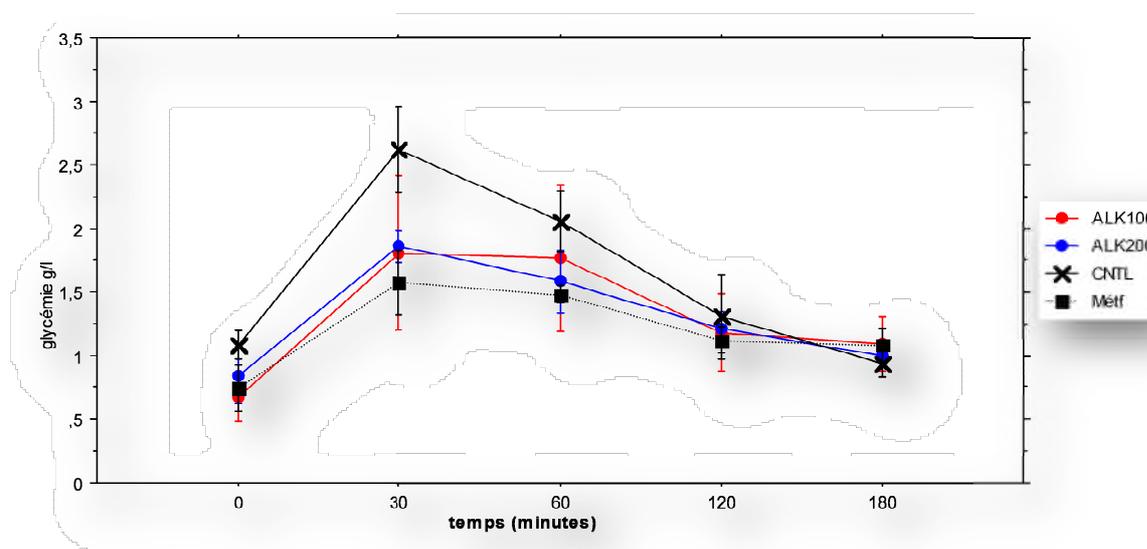
D'après les résultats obtenus, nous pouvons constater que les souris non traitées (CNTL), ont connu une augmentation significative dans leur glycémie tout au long de l'expérience ( $\Delta G_{20}$ : 1.54g/l,  $\Delta G_{40}$ : 2.09g/l,  $\Delta G_{60}$ : 1.53g/l), à la différence des souris traitées par les alcaloïdes, où la glycémie n'a pas connu de grandes variations ( $\Delta G_{20}$ : 1.06g/l,  $\Delta G_{40}$ : 1.29g/l,  $\Delta G_{60}$ : 1.36g/l) pour ALK100 et ( $\Delta G_{20}$ : 0.77g/l,  $\Delta G_{40}$ : 1.08g/l,  $\Delta G_{60}$ : 1.11g/l) pour ALK200. Le meilleur effet inhibiteur a été obtenu par la Phloridzin (100mg/kg) ( $\Delta G_{20}$ : 0.72g/l,  $\Delta G_{40}$ : 1.26g/l,  $\Delta G_{60}$ : 1g/l), cette dernière est un flavonoïde glycosylé connue par son puissant effet inhibiteur des transporteurs de glucose établit par Kinne et Castaneda en 2011.

L'effet révélé suite à l'administration d'une dose de 200mg/kg d'alcaloïdes, ne pourrait se produire que par un seul mécanisme d'action qui est l'inhibition des transporteurs intestinaux de glucose (GLUT2 et SGLT1). Rappelant que les résultats obtenus suite au test de complexation des alcaloïdes de *Fumaria capreolata* avec le glucose *in vitro*, nient complètement l'hypothèse de formation de complexes glucose/alcaloïdes dans l'intestin lors de cette expérience.

Les valeurs des glycémies des lots traités par les alcaloïdes qui sont proches de celles des souris traitées par la phloridzine, confirme l'effet inhibiteur des alcaloïdes sur les transporteurs intestinaux (GLUT2 et SGLT1) et qui est proportionnel à leur dose. La dissipation du gradient électrochimique de  $\text{Na}^+$  de part et d'autre de la membrane des enterocytes, pourrait être l'un des mécanismes impliqués dans cette inhibition, telle que l'action de la Phloridzin (Nistor, 2009). Les alcaloïdes de *Fumaria capreolata* pourraient agir également par le blocage des transporteurs intestinaux de glucose, empêchant ainsi le passage de glucose via la barrière intestinale, ce qui se traduit par une réduction de la glycémie post prandiale.

#### IV.5. Test de l'activité des alcaloïdes de *Fumaria capreolata* sur la tolérance au glucose (OGTT)

Le test de tolérance au glucose, nous aide en partie à comprendre le mécanisme d'action des alcaloïdes étudiés, tout en suivant la glycémie des souris dans le temps. Ce test nous renseigne principalement sur l'effet des molécules antidiabétiques à : stocker le glucose dans le foie, capturer le glucose par les tissus périphériques, et stimuler la sécrétion de l'insuline par les cellules  $\beta$  pancréatiques. L'inhibition de la dipeptidylpeptidase-4 (DPP-4), est l'un des effets qui pourraient aussi être élucidés par ce test (OGTT). La figure suivante montre l'effet des alcaloïdes de *Fumaria capreolata* sur la tolérance au glucose (OGTT).



**Figure 16 :** Variations de la glycémie au cours du test de la tolérance au glucose ;

*ALK : alcaloïdes 100, 200 mg/kg, Méth : méthformine, CNTL : control.*

Nous observons dans la figure 16 une augmentation relative des glycémies à la 30<sup>ème</sup> minute ; celle du CNTL est la plus élevée (2.62 g/l), par contre celles des deux lots traités par les alcaloïdes se rapprochent entre elles (ALK100 : 1.79 g/l et ALK200 : 1.85 g/l) et sont significativement plus basses que celle du CNTL. Entre 60 à 180 minutes après administration du glucose, la glycémie du lot traité par l'extrait ALK100 a diminué de 1.75g/l à 0.83g/l et celle de ALK200 a diminué de 1.58 g/l à 0.99 g/l, comparée à celle du lot non traité (2.5g/l à 0.94g/l).

L'effet de l'extrait étudié dans ce test a été comparé à un lot standard où les souris ont été traitées par la métformine, qui est un antidiabétique dont les deux actions principales sont la réduction de la production hépatique de glucose d'une part, et l'augmentation de son utilisation par les cellules (Stephene, 2011) de l'autre part. La diminution du taux de glucose dans le sang observée chez les souris traitées par l'extrait, pourrait être attribuée à l'effet des alcaloïdes de *Fumaria capreolata*. Nous avons tiré cette conclusion après comparaison de nos résultats, similaires à ceux d'une étude faite sur la fraction d'éther de pétrole des extraits de *Coccinia cordifolia* contenant des alcaloïdes, étudiant l'activité anti-hyperglycémiant par Islam et ses collaborateurs en 2009.

## *Conclusion et perspectives*

## **Conclusion et perspectives**

Le diabète est l'un des problèmes de santé publique dont la prévalence continue d'augmenter dans le monde. Il en existe principalement deux formes ; diabète insulino-dépendant et diabète non insulino-dépendant, ce dernier représente 90% des cas diabétiques (John et Gerich, 2004). Malgré la pléthore d'options thérapeutiques pour traiter le diabète sucré, la normalisation de la glycémie et la réduction des complications du diabète à long terme au moyen d'un traitement demeure problématique (Grossman, 2009).

Les fumariacées représentent une source inépuisable de composés naturels bioactifs, il s'agit essentiellement des alcaloïdes isoquinoléiques qui sont largement utilisés dans la phytothérapie. Les résultats obtenus, après l'extraction des alcaloïdes totaux de *Fumaria capreolata* par Soxhlet selon le protocole de Bruneton (1999), montre que la partie aérienne de la plante contient 1.17% d'alcaloïdes totaux.

L'étude de l'effet anti hyperglycémiant, de l'extrait des alcaloïdes de *Fumaria capreolata* *in vitro* et *in vivo* sur des souris normales, a révélé qu'avec une dose de 200mg/kg nous observons une inhibition significative des transporteurs intestinaux du glucose, ce mécanisme est soutenu par le résultat du test *in vitro*. Secondairement les alcaloïdes pourraient modérément inhiber l' $\alpha$ -glucosidase intestinale à la même dose. Ce ci confirmerais l'effet anti hyperglycémiant post prandial.

Sachant qu'un certain nombre de nouvelles cibles se sont révélées prometteuses pour le traitement du diabète de type 2, notamment l'inhibition du transport du sodium-glucose (Grossman, 2009), l'ensemble de ses résultats obtenus constituent une première étape dans la recherche de l'effet antidiabétique des alcaloïdes de *Fumaria capreolata*, il serait très intéressant d'approfondir l'étude de cette activité pour caractériser et purifier les molécules actives, mieux cerner leur mécanisme d'action et leur biodisponibilité dans l'organisme.

## *Références bibliographiques*

## *Références bibliographiques*

---

### **A**

**Agence de la santé et des services sociaux de Montréal. (2011).** Généralités sur le diabète. Québec.

**Agin, A. (2006).** Dosage des analogues de l'insuline à l'aide de deux immune dosages de l'insuline humaine. Thèse de Doctorat. Université Strasbourg, 139 p.

**Arango Acosta, G. J. (2008).** Alcaloides y compuestos nitrogenados. Thèse de professorat. Université de Antioquia, 84 p.

**Association Canadienne du Diabète. (2009).** La prévalence et les coûts du diabète. LDPC.

**Auberval, N. (2010).** Prévention du stress oxydant dans le diabète et ses complications par des antioxydants d'origine naturelle. Thèse Doctorat. Université de Strasbourg. 257p.

---

### **B**

**Badiaga, M. (2012).** Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologique de *nauclea latifolia smith* une plante médicinale africaine récoltée au mali. Thèse Doctorat. Université de Bamaco, 183 p.

**Baudin, G. (2001).** Biologie du diabète. *Médecine Nucléaire*. P: 55-59.

**Benoît, B. (2013).** *Fumaria capreolata L. Base de Données Nomenclaturale de la Flore de France*. P: 02.

**Blickle, J. E, Andres, E., Neyrolles, N., Brogard, J. M. (1999).** Actualités dans les traitements du diabète de type 2. Les agents insulinosécréteurs. *Rev Méd Interne*. P : 351-9.

**Booth, G. L., coll. (2006).** Prévenir les complications du diabète. p : 1-4.

**Bribi, N., Bouguezza, Y., Maiza-Benabdesselam, F. (2013).** Evaluation of erythrocytes toxicity and antixida activity of alkaloids of *Fumaria capreolata*. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*. P : 770 – 776.

**Bruneton, J. (1999).** *Pharmacognosie phytochimie plantes médicinales. 3eme édition.* Lavoisier, *Technique et Documentation*. Paris. P : 784-873.

**Bruneton, J. (2009).** *Pharmacognosie phytochimie plantes médicinales. 4eme édition.* Lavoisier, *Technique et Documentation*. Paris. P : 952-1110.

**Burant, C. F. (1996).** Facilitative glucose transport. *Principles of Medical Biology*. P: 67-86.

---

### **C**

**Chang, C. L. T., Lin, Y., Bartolome, A. P., Chen, Y. Ch, Chiu, Sh. Ch, Yang, W. Ch. (2013).** Herbal therapies for type 2 diabetes mellitus: chemistry, biology, and potential application of selected plants and compounds. *Hindawi*. P : 1-33.

**Collège des Enseignants d'Endocrinologie. (2004a).** Diabète et Maladies Métaboliques. p : 1-43.

**Collège des Enseignants d'Endocrinologie. (2004b).** Diabète sucre de type 1 et 2 de l'enfant et de l'adulte. p : 1-43.

---

### **D**

**Darmon, P. (1999).** Nouvelle classification et nouveaux critères diagnostiques du diabète et des troubles de la glycorégulation. *J L.* (11), p : 6 -240.

**Debuigne, G. (1999).** Dictionnaire des plantes qui guérissent. *Edition Larousse*. Paris. P : 1-74.

**Deshaies, B., Pharm B., LL, B. (2011).** Les médicaments pour le contrôle de la glycémie (antihyperglycémiant). Québec. P : 1-11.

**Dorchy, H. (2010).** Stratégie thérapeutique dans le diabète de type 1 (insuline, alimentation, sport). *Rev Med Brux*. P : 37-51.

**F**

---

**Fagherazzi-Pagel, H. (2000).** Actualités sur le diabète de type 2. *Institut de l'information scientifique et technique*. P: 1-70.

**G**

---

**Gao, H., Huang, Y. N., Gao, B., Li P., Inagaki, Ch., Kawabata, J. (2008).** Inhibitory effect on  $\alpha$ -glucosidase by *Adhatoda vasica* Nees. *Food Chemistry*. P : 965–972.

**Godeau, P., Bailliere, J. B., Grimaldi, A., Thervet, F. (1987).** *Les diabètes et les hypoglycémies. Lavoisier, Technique et Documentation*. Paris. p : 284-300.

**Goetz, P. (2007).** Phytothérapie du diabète. *Springer*. P: 212–217.

**Goetz, P., Ghedira, K., Le Jeune, R. (2009).** *Fumaria officinalis* L. (Fumariaceae). *Phytothérapie*. P : 221–225.

**Grimaldi, A., Harteman-Heurtier, A., Jacqueminet, S., Bosquet, F., Masseboeuf, N., Halbron, M., Sachon, C. (2009).** *Guide pratique du diabète. 4<sup>ème</sup> Edition. Elsevier Masson*. P: 100-180.

**H**

---

**Halimi, S. (2005).** Le diabète de type 2 ou diabète non insulino-dépendant (DNID). *Corpus Médical*. P: 1-12.

**Hogan, S., Zhang L., Li J., Sun S., Canning, C., Zhou, K.(2010).** Antioxydant riche en jus de raisin supprime l'hyperglycémie post-prandiale chez les souris diabétiques en inhibant spécifiquement l'alpha-glucosidase. *Nutrition Metabolism*. P : 71.

**Houghton, P. J., Raman, A. (1998).** *Laboratory hand book for fractionation of natural extracts., 1<sup>ère</sup> édition. Chapman et Hall, Londres*. p29-31.

**Huet, G., Leclerc, J., Martin, A. (2010).** Exploration biochimique du diabète. Enseignements dirigés biochimie et biologie moléculaire. P : 1-25.

I

**Irudayaraj, S. S, Sunil, Ch., Duraipandiyan, V., Ignacimuthu, S. (2012).** Antidiabetic and antioxidant activities of *Toddalia asiatica (L)* Lam leaves in Streptozotocin induced diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*. P : 515–523.

**Islam, A., Akhtar, M. A., Khan, R I., Hossain S., Alam, A. H. M. K., Ibne Wahed, M I., AMRAN, S., Rahman, B M., Ahmed, M. (2009).** Oral glucose tolerance test (OGTT) in normal control and glucose induced hyperglycemic rats with *Coccinia cordifolia L* and *Catharanthus roseus L*. *Pak. J. Pharm. Sci*. P: 402-404.

**Iwasa, K., Moriyasu, M., Nader, B. (2000).** Fyngicidal and herbicidal activities of berberine related alkaloids. *Biotechnol. Biochem*. P: 1998-2000.

J

**John, E., Gerich. (2004).** Classification and diagnosis. *National Diabetes Data, American Diabetes Association*. P: 7-28.

**Juan, Y. C., Tsai, W. J., Lin, Y. L., Wang, G. J., Cheng, J. J., Yang, H. Y., Hsu, C. Y., Liu, H. K. (2010).** The novel antihyperglycemic effect of *Paeoniae radix* via the transcriptional suppression of phosphoenopyruvate carboxykinase (PEPCK). *Phytomedicine*. P: 626–634.

**Jenkins, A. B., Campbell, L. V. (2004).** The genetics and pathophysiology of diabetes mellitus type II. *J. Inherit. Metab. Dis*. P : 331-347.

K

**Kebieche, M. (2009).** Activité biochimique des extraits flavonoïdiques de la plante *Ranunculus repens L* : effet sur le diabète expérimental et l'hépatotoxicité induite par l'epirubicine. Thèse de Doctorat. Université Mentouri Constantine. 124 p.

**Kinne, R. K. H., Castaneda, F. (2011).** SGLT inhibitors as new therapeutic tools in the treatment of diabetes. *Handbook of Experimental Pharmacology*. P: 105-122.

**Kottra, G., Daniel, H. (2007).** Flavonoid glycosides are not transported by the human Na/glucose transporter when expressed in *xenopus laevis* oocytes, but effectively inhibit electrogenic glucose uptake. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. P: 829–835.

**Kumar, R., Patel, DK., Prasad, SK., Sairam, K., Hemalatha, S. (2012).** Antidiabetic activity of alcoholic root extract of *Caesalpinia digyna* in streptozotocin-nicotinamide induced diabetic rats. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. P : 934-940.

---

**L**

**Li, X., Niu, R., Fan, X., Han, L., Zhang, L. (2005).** Macroalgae as a source of alpha-glucosidase inhibitors. *Chinese Journal of Oceanology and Limnology*. P: 354-356.

**Grossman, L. D. (2009).** L'inhibition du transport du sodium et du glucose rénaux dans le traitement du diabète de type 2. *Endocrinologie*. P : 1-6.

---

**M**

**Maiza-Benabdesselam, F., Khentache, S., Bougoffa, K., Chibane, M., Adach, S., Chapeleur, Y., Max, H., Laurain-Mattar, D. (2007).** Antioxidant activities of alkaloid extracts of two Algerian species of *Fumaria*: *Fumaria capreolata* and *Fumaria bastardii*. *Records of Natural Products*. P: 2-3, 28-35.

**Moret, M. (2010).** Traitement du diabète de type 1. Cours DCEM 2. Lyon Est. p: 2-59.

---

**N**

**Nacz, M., Shahidi, F. (2004).** Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of chromatography*. (1054), p: 95-111.

**Nistor, L. A. 2009.** Inhibition de l'absorption intestinale du glucose par les produits naturels issus de la pharmacopée traditionnelle des Cris de la Baie James. Thèse de grade maître des sciences. Université de Montréal. 75p.

O

**Oboh, G., Ademiluyi, A. O., Akinyemi, A. J., Henle, T., Saliu, J. A., Schwarzenbolzb, U. (2012).** Inhibitory effect of polyphenol-rich extracts of jute leaf (*Corchorus olitorius*) on key enzyme linked to type 2 diabetes ( $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase) and hypertension (angiotensin iconverting) *in vitro*. *Journal of Functional FOODS*. P: 450 – 458.

**OMS. (2013).** Extrait de l'article rédigé par l'OMS à l'occasion de la journée mondiale du diabète. 14 Novembre 2013.

**Orban, J. Ch., Lena, D., Bonciu, M., Grimaud, D., Ichai, C. (2007).** Complications métaboliques aiguës du diabète. *Référence médicale*. P: 13-17.

**Orhana, I. E., Sener, B., Musharraf, S. G. (2012).** Antioxidant and hepatoprotective activity appraisal of four selected *Fumaria* species and their total phenol and flavonoid quantities. *Experimental and Toxicologic Pathology*. P: 205–209.

P

**Punitha, I. S. R., Shirwaikar A, Shirwaikar, A. (2005).** Antidiabetic activity of benzyl tetra isoquinoline alkaloid berberine in streptozotocin-nicotinamide induced type 2 diabetic rats. *Diabetologia Croatica*. P: 117-127.

R

**Rathi, A., Srivastavab, A. K., Shirwaikar, A., Singh Rawata, A. K., Mehrotrad, S. (2008).** Hepatoprotective potential of *Fumaria indica* Pugsley whole plant extracts, fractions and an isolated alkaloid protopine. *Phytomedicine*. P: 470–477.

**Remérand, S. (2004).** La régulation de la glycémie et les phénotypes diabétiques. Enseignement Obligatoire de 1èreS - Dossier 2. P: 1-12.

**Rencontre presse. (2005).** La prévention des complications du diabète. P: 1-32.

**Rodier, M. (2001).** Définition et classification du diabète. *Médecine Nucléaire*. P: 91-93.

**S**

**Samaan, C., Mrcpi., Mrcpch., Klip, A. (2008).** L'obésité, l'insulinorésistance et le diabète de type 2: l'interaction entre les cellules adipeuses et les cellules musculaires. *Endocrinologie*. P: 1-6.

**Scheepers, A., Joost, H. G., Schürmann, A. (2004).** The glucose transporter families SGLT and GLUT: molecular basis of normal and aberrant function. *Journal Of Parenteral And Enteral Nutrition*. P: 364-371.

**Shim, Y. J., Doo, H. K., Ahn, S. Y., Kimc, Y. S., Seong. J. K., Park, I. S., Min, B. H. (2003).** Inhibitory effect of aqueous extract from the gall of *Rhus chinensis* on alpha-glucosidase activity and post prandial blood glucose. *Journal of Ethnopharmacology*. P: 283–287.

**Song, J., Kwon, O., Chen, S., Daruwala, R., Eck, P., Park, J. B., Levine, M. (2002).** Flavonoid inhibition of SVCT1 and GLUT2, intestinal transporters for vitamin C and glucose. *The Journal of Biological Chemistry*. p : 1-31.

**Sousek, J., Guedon, D., Adam, T., Bochorakova, H., Taborska, E., Valka, I., Simanek, V.(1999).** Alkaloids and organic acids content of eight *Fumaria* species. *Phytochemical Analysis*. P: 6–11.

**Stephenne, X., Foretz, M., Taleux, N., Van Der Zon, G.C., Sokal, E., Hue, L., Violet, B & Guigas, B. 2011.** Metformin activates AMP-activated protein kinase in primary human hepatocytes by decreasing cellular energy status. *Diabetologia*. P: 3101-3110.

**Suau, R., Cabezudo, B., Rico, R., Lopez-Romero, M J., Najera, F. (2002a).** Alkaloids from *Fumaria sepium* and *Fumaria agrarian*. *Biochemical Systematics and Ecology*. P : 263–265.

**Suau, R., Cabezudo, B., Rico, R., Lopez-Romero, M J., Najera, F. (2002b).** Direct Determination of Alkaloid Contents in *Fumaria* Species by GC-MS. *Phytochemical Analysis*. P: 363–367.

**Subramanian, R, Asmawi, M.Z., Sadikun, A. (2008).** *In vitro*  $\alpha$ -glucosidase and  $\alpha$ -amylase enzyme inhibitory effects of *Andrographis paniculata* extract and *Rograpfolide*. P : 391–398.

**Syiema, D., Syngai, G., Khup, P.Z., Khongwir, B.S., Kharbuli, B., Kayang, H. (2002).** Hypoglycemic effects of *Potentilla fulgens L.* in normal and alloxan-induced diabetic mice. *Journal of Ethnopharmacology*. P : 55-61.

---

**W**

**Wood, I. S., Trayhurn, P. (2003).** Glucose transporters (GLUT and SGLT): expanded families of sugar transport proteins. *British Journal of Nutrition*. P : 3-9.

**Wu, W. N., Huang, CH. (2006).** Structural elucidation of isoquinoline, benzyloisoquinoline, aporphine, and phenanthrene alkaloids using api-ionspray tandem mass spectrometry. *The Chinese Pharmaceutical Journal*. P : 41-55.

# *Annexe*

## **1. Produit chimique**

- Acarbose 50mg (bayer) ;
- Ammoniaque ;
- Dichlorométhane ;
- Eau distillée;
- Ether de pétrole ;
- Glucophage 500mg (SAIDAL).
- HCl ;
- Méthanol ;
- Phloridzine 100 (sigma aldrich chemical) ;
- pNPG (p-Nitrophenyl  $\alpha$ -D-glucopyranoside) : PM= 301.25, C<sub>12</sub>H<sub>15</sub>NO<sub>8</sub>,
- Réactif folin ciocalteu ;
- Tampon phosphate de pH=6.9 (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> :0,1M + Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> :0.1M).
- $\alpha$  –glucosidase (sacharomyces cerevisiae) ;

## 2. **Matériel**

- Agitateur magnétique de marque VELR;
- Ampoule à décompter ;
- Bain-marré (BUNSEN);
- Balance de précision ;
- Béchers ;
- Broyeur électrique;
- Des cages standards pour souris;
- Entonnoirs en verre;
- Etuve ;
- Glucomètre (Accu-Chek active);
- Micropipette de 200 et 1000 $\mu$ l ;
- Mortier;
- Papiers filtres wattman.
- pH mètre ;
- Portoir ;
- Seringue de 5ml ;
- Sonde pour gavage ;
- Soxhlet ;
- Spatule métallique ;
- Tubes à essai .

# *Glossaire*

## **1-Glossaire botanique**

- **Angiospermes** : Plantes à fleurs
- **Bipennatiséquées** : Dont les folioles présentent la particularité d'être dissociées totalement, jusqu'à la base et sont disposés parallèlement par rapport à l'axe de la feuille.
- **Dicotylédones** : Plantes angiospermes (plantes à fleurs) dont la graine contient deux cotylédones.

## 2- Glossaire médical

- **Antalgique** : Permet d'atténuer et voir même de supprimer la douleur.
- **Antimicrobienne** : Permet de détruire (bactéricide) ou de ralentir (bactériostatique) la croissance des microbes.
- **Antioxydant** : Lutte contre le stress oxydatif et protège la cellule d'une oxydation par les radicaux libres.
- **Antispasmodique** : Calme ou de neutraliser des contractions involontaires des muscles. Ils sont souvent utilisés dans les spasmes digestifs, les douleurs à type de coliques hépatiques ou néphrétiques et les douleurs utérines de la femme.
- **Glycémie** : Taux de glucose dans le sang. Grâce à plusieurs mécanismes de régulation, la glycémie est maintenue sensiblement constante (autour de 1 gramme par litre) afin d'apporter aux organes et aux tissus des quantités constantes de glucose sanguin.
- **Homéostasie glycémique** : Maintient de la glycémie à une valeur normale.
- **Hyperglycémie** : Augmentation anormale de la glycémie au-dessus de la norme.
- **Macro-angiopathie** : Principalement représentée par les diverses atteintes qui sont les conséquences de l'athérosclérose (maladie dégénérative de l'artère due à la formation d'une plaque lipidique sur sa paroi).
- **Micro-angiopathie** : Comprend essentiellement les phlébites et les varices. La phlébite correspond à une obstruction plus ou moins complète d'une ou de plusieurs veines d'un membre (le plus souvent inférieur) par un caillot.
- **Polydipsie** : Sensation de soif exagérée, calmée par une prise de boisson abondante.
- **Polyphagie** : Symptôme ou maladie caractérisé(e) par une faim excessive avec une absence de sensation de satiété, traduisant un excès dans le comportement alimentaire.
- **Polyurie** : Augmentation (au-dessus du seuil de 3 litres) de la quantité des urines émises pendant 24 heures.
- **Post- prandiale** : Relatif aux repas. Un événement post-prandial est un phénomène survenant après le repas, comme la douleur postprandiale, caractéristique de l'ulcère gastroduodéal.

## **Résumé**

---

Le diabète, un désordre pathologique du métabolisme des glucides et de la régulation de la glycémie, est un problème de santé publique qui touche le monde entier, et dont le nombre de patients touchés par cette maladie ne cesse d'augmenter

*Fumaria capreolata*, plante médicinale à utilisations phyto-thérapeutiques traditionnelles, a fourni un taux d'extraction d'alcaloïdes de 1.17%. Les tests *in vitro* complétés par d'autres essais *in vivo*, sur des souris normales, visant à évaluer l'effet anti hyperglycémiant des alcaloïdes de *Fumaria capreolata*, révèlent des résultats démontrant effectivement un effet inhibiteur sur les transporteurs intestinaux du glucose exercé par ces molécules

**Mots clés :** Diabète, *Fumaria capreolata*, Alcaloïdes, Anti hyperglycémie, Poste prandiale.

## **Abstract**

---

Diabetes is a pathological disorder of the glucidic metabolism and the regulation of glycemia. This is a public health problem that affects the whole world, and the number of patients affected by this disease is increasing.

*Fumaria capreolata*, a traditional medicinal phyto therapeutic used plant, provided a rate of extraction of alkaloids of 1.17%. *In vitro* tests supplemented by other *in vivo*, in normal mice, to evaluate the anti hyperglycaemic effect of the extract reveal effectively an inhibitory effect on intestinal glucose transporters by *Fumaria capreolata's* alkaloids.

**Key words:** Diabetes, *Fumaria capreolata*, Alkaloids, Anti hyperglycemia, Postprandial.