

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة الجبلاي بونعامة - خميس مليانة-

Université Djilali BOUNAAMA de Khemis-Miliana



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et de Sciences de la Terre

Département de Biologie

Filière : sciences biologiques

Spécialité : Physiologie Cellulaire Et Physiopathologie

**Mémoire du projet de fin d'études pour l'obtention du diplôme de Master**

**Evaluation *in vitro* du pouvoir hypoglycémiant des extraits  
des feuilles de *Punica granatum L.***

Soutenu le : 10/07/2019

Présenté par :

**ACHOUCHE Mohammed & AZOUZI Ahmed**

**Devant les jurys composé de :**

**Présidente : Mme NABTI Dj. (MCB. Univ.DBKM).**

**Encadreur : Mr CHEURFA M. (MCB. Univ.DBKM).**

**Examinatrice : Mme BENSEHAILA S. (MCB. Univ.DBKM).**

**Examinatrice : Mme BEN OUAKLIL F. (MCB. Univ.DBKM).**

**2018/2019**

# Remerciements

Mes remerciements avant tout d'abord à ALLAH tout puissant pour m'avoir donné la volonté, la patience et le courage nécessaire pour mener ce modeste travail à bout.

Je tiens particulièrement à remercier Monsieur CHEURFA Mohammed., pour avoir encadré et dirigé ce travail, tout au long de sa réalisation, pour ses précieux conseils et qu'il puisse voir en ce travail l'expression de ma profonde gratitude.

Je tiens à exprimer ma très grande considération et ma vive reconnaissance à madame NABTI Dj., m'avoir fait honneur de présider ce jury.

J'exprime mes vifs remerciements à madame BENSEHAILA S., d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Que madame BEN OUAKLIL F., trouve ici l'expression de ma gratitude pour avoir accepté d'examiner et juger ce travail.

Je ne saurais oublier de remercier les ingénieurs du laboratoire de Biochimie, Pour leurs gentillesse et leurs aides dans la réalisation de ce modeste travail

A mes très chère parents, mes frères et toute ma famille pour l'amour qu'ils m'apportent et leur soutien durant toute mes années d'études ; un grand merci et je vous aime énormément.

Finalement, nous remercions tous ceux ou celles qui ont contribué de près ou de loin à l'accomplissement de ce mémoire.

A vous tous, un grand Merci

# DÉDICACE

*Avec l'aide d'Allah, le tout puissant, ce travail est achevé;*

*Je le dédie à toutes personnes qui me sont chères ;*

*Au deux être les plus chers au monde qui ont donnés sens à mon  
Existence, et qui m'ont soutenu nuits et jours durant tout mon parcours.*

*Ma très chère mère qui a consacré sa vie pour bâtir la mienne, je lui*

*Serai éternellement reconnaissante, merci maman.*

*Mon très cher père qui m'a donné un magnifique modèle de volonté,*

*Merci papa, Avec mes prières qu'ils soient toujours en bonne santé.*

*A mes très chers sœurs.*

*A mon très chère frère.*

*A mes cousins(es), oncles, tantes.*

*A mes amies .*

*A mon binôme Ahmed et son famille.*

*A toute la promotion de PCP 2018 -2019.*

**MOHAMMED.**

# **DÉDICACE**

*Avec l'aide d'Allah, le tout puissant, ce travail est achevé;*

*Je le dédie aux personnes qui me sont plus chères au monde;*

*à mon Papa et Mama, qui m'ont soutenu nuits et jours*

*durant tout mon parcours, avec mes prières qu'ils soient toujours en bonne  
santé et à mes coté.*

*A mes très chères sœurs: Siham, Fadhila, maria*

*A ma très chère frère: Saif Edin.*

*A mes grands-parents: Ahmed, Takfa.*

*A mes cousins, cousines, oncles et tantes.*

*A mes amies: Kamel, Karim, Ramzi, Ismail,*

*A ma binôme Mohammed et toute sa famille.*

*A toute la promotion PCP (2018/2019).*

**AHMED.**

## Sommaire

### Résumé

### Liste des Abréviations

### Liste des tableaux et des Figures

### Introduction Général.....1

## Synthèse Bibliographique

### Chapitre I : *Punica granatum* L.

|  |    |
|--|----|
| 1. Généralité sur <i>Punica granatum</i> L.....      | 3  |
| 2. Classification et dénomination du grenadier ..... | 4  |
| 3. Description botanique.....                        | 5  |
| 4. Aire de répartition.....                          | 6  |
| 5. La composition chimique du grenadier.....         | 8  |
| 6. Les propriétés pharmacologiques.....              | 9  |
| 6.1. Activité antioxydante.....                      | 10 |
| 6.2. Activité anti-inflammatoire.....                | 10 |
| 6.3. Activité anticarcinogénique.....                | 11 |
| 6.4. Activité anti diabétique.....                   | 11 |
| 6.5. Activité antibactérienne.....                   | 12 |
| 6.6. Activité Antivirale.....                        | 13 |
| 6.7. Autres activités.....                           | 13 |

### Chapitre II : le diabète

|                                   |    |
|-----------------------------------|----|
| 1. Introduction.....              | 14 |
| 2. Définition.....                | 15 |
| 3. Epidémiologie du diabète.....  | 15 |
| 4. Classification du diabète..... | 15 |
| 4.1. Diabète type 1.....          | 16 |
| 4.2. Diabète de type2.....        | 16 |
| 4.3. Diabète gestationnel.....    | 17 |
| 4.4. Autres types.....            | 17 |
| 5. Les symptômes.....             | 18 |
| 6. Les complications.....         | 19 |
| 7. Diagnostic de diabète.....     | 20 |
| 8. Traitement.....                | 21 |
| 8.1. Médicamenteuse.....          | 21 |
| 8.2. Non Médicamenteuse.....      | 22 |

## Partie Expérimentale

### Chapitre III : matériel et méthodes

|  |    |
|--|----|
| 1. Matériel végétal : les feuilles du <i>Punica granatum</i> L. .... | 24 |
| 2. Appareils et réactifs chimiques.....                              | 24 |
| 2.1. Appareillage.....   | 24 |
| 2.2. Produits et réactifs chimiques.....                             | 24 |
| 3. Méthode.....  | 25 |
| 3.1. Préparation des extraits.....                                   | 25 |

|   |  |    |
|---|--|----|
| 3.1.1.                                      | Préparation de l'extrait aqueux.....   | 25 |
| 3.1.2.                                      | Préparation de l'extrait hydro alcoolique.....                               | 25 |
| 3.1.3.                                      | Calcul du rendement de l'extraction.....                                     | 26 |
| 3.2.  | Screening photochimique.....   | 26 |
| 3.2.1.                                      | Analyse qualitative.....   | 26 |
| 3.2.1.1.                                    | Les flavonoïdes.....   | 26 |
| 3.2.1.2.                                    | Les alcaloïdes.....  | 26 |
| 3.2.1.3.                                    | Les protéines.....   | 26 |
| 3.2.1.4.                                    | Les acides aminé.....  | 26 |
| 3.2.1.5.                                    | Les glucides.....  | 27 |
| 3.2.1.6.                                    | Les Tannins.....   | 27 |
| 3.2.1.7.                                    | Les Saponines.....   | 27 |
| 3.2.1.8.                                    | Les Composés phénoliques (test FeCl3) .....                                  | 27 |
| 3.2.1.9.                                    | Détection des terpénoïdes et stéroïdes.....                                  | 27 |
| 3.2.1.10.                                   | Les substances quinoniques.....  | 28 |
| 3.2.2.                                      | Analyse quantitative.....  | 28 |
| 3.2.2.1.                                    | Dosage des flavonoïdes.....  | 28 |
| 3.2.2.2.                                    | Dosage des flavonols.....  | 29 |
| 3.3.  | Test de l'activité inhibitrice de l'activité enzymatique de l'e amylase..... | 29 |
| 3.4.  | Test d'inhibition de l'absorption du glucose par la levure.....              | 30 |
| 4.  | Etude statistique.....   | 31 |
| <b>Chapitre V : Résultats et Discussion</b> |  |    |
| 1.  | Etude phytochimique du <i>P. granatum</i> .....                              | 32 |
| 1.1.  | Rendement d'extraction.....  | 32 |
| 1.2.  | Analyses qualitatives.....   | 33 |
| 1.3.  | Analyses quantitatives.....  | 34 |
| 1.3.1.                                      | Dosage des flavonoïdes.....  | 34 |
| 1.3.2.                                      | Dosage des flavonols.....  | 36 |
| 2.  | Evaluation de l'activité antidiabétique des extraits <i>in vitro</i> .....   | 38 |
| 2.1.  | Test d'inhibition de l'enzyme alpha-amylase.....                             | 38 |
| 2.2.  | Test d'inhibition de l'absorption du glucose par la levure.....              | 40 |
| <b>Conclusion.....</b>                      |  | 43 |
| <b>Références bibliographiques.....</b>     |  | 44 |
| <b>Annexes</b>                              |  |    |

## Résumé

L'objectif de cette présente étude consiste à évaluer *in vitro* l'activité antidiabétique de l'extrait aqueux et hydro-alcoolique des feuilles de *Punica granatum* L ainsi que le screening phytochimiques et le dosage des flavonoïdes et flavonols.

Les extraits aqueux et hydro-alcoolique préparés à partir les feuilles du *P. granatum* donnent des rendements de 10.98% et 22.43% respectivement. L'analyse qualitative a permis de mettre en évidence la présence des principaux métabolites biochimique tell que les flavonoïdes, les tanins, les tèrpénoïdes, les polyphénols...etc. La teneur en flavonoïdes est de  $12.10 \pm 3.18$  mg EQ/g pour l'extrait hydro-alcoolique et de  $11.23 \pm 1.26$  mg EQ/gE dans l'extrait aqueux, les teneurs en flavonols sont de  $7,68 \pm 0.6$  mg EQ/g et  $9,20 \pm 2.8$  mg EQ/g dans l'extrait hydro-alcoolique et l'extrait aqueux respectivement.

Les résultats de l'inhibition de l' $\alpha$ -amylase montré des IC50 comprise entre  $9,804 \pm 0.67$  mg/ml et  $19,011 \pm 9.82$  mg/ml avec les extraits aqueux et hydro-alcoolique respectivement. L'inhibition de l'absorption du glucose par la levure a enregistré une capacité d'inhibition élevée à 50 mg/ml du glucose. Dont les IC50 avec les extrais aqueux et hydro-alcoolique sont  $6.975 \pm 0.39$  mg/ml ,  $7.267 \pm 0.64$  mg/ml successivement.

En conclusion, la présente étude révèle une preuve biologique qui soutient l'efficacité d'utilisation des feuilles du *P. granatum* dans la prévention du diabète.

Mots clés : *P. granatum*, *in vitro*, activité hypoglycémiante,  $\alpha$ -amylase.

## Abstract

The objective of this study is to evaluate *in vitro* the antidiabetic activity of the aqueous and hydro-alcoholic extract of *Punica granatum* L leaves. The leaves of the pomegranate tree have a large reservoir of biochemical compounds; also these compounds have very important therapeutic properties in the treatment of diabetes.

Aqueous and hydroalcoholic extracts have been prepared from the leaves of *P. granatum* gives yields of 10.98% and 22.43% respectively. The qualitative analysis revealed the presence of the main biochemical metabolites such as flavonoids, tannins, terpenoids, polyphenols, etc. Which has been confirmed by quantification of the flavonoid content ( $12.10 \pm 3.18$  mg EQ/gE in hydroalcoholic extract and  $11.23 \pm 1.26$  mg EQ/gE in aqueous extract), and flavonols (with  $7.68 \pm 0.6$  mg EQ/gE and  $9.20 \pm 2.8$  mg EQ/gE in hydro-alcoholic extract and aqueous extract respectively).

The evaluation of hypoglycemic activity is performed by the enzyme inhibition test  $\alpha$ -amylase. The results of these tests showed that the extracts have the ability to inhibit  $\alpha$ -amylase with IC<sub>50</sub> between  $9.804 \pm 0.67$  mg/ml and  $19.011 \pm 9.82$  mg/ml with aqueous and hydroalcoholic extracts respectively. Inhibition of glucose absorption by yeast has shown a high inhibition capacity at 50 mg/ml of glucose. Of which the IC<sub>50</sub> with aqueous and hydroalcoholic extracts are  $6.975 \pm 0.39$  mg/ml,  $7.267 \pm 0.64$  mg/ml successively.

In conclusion, this study reveals biological evidence that supports the effectiveness of using *P. granatum* leaves in the prevention of diabetes.

**Key words:** *P. granatum*, *in vitro*, hypoglycemic activity,  $\alpha$ -amylase.

## ملخص

الهدف من هذه الدراسة هو تقييم تأثير مستخلص أوراق الرمان *Punica granatum L.* (مائي وكحول/ماء) على خفض نسبة سكر الدم. تعتبر أوراق الرمان خزاناً كبيراً من المركبات الكيميائية الحيوية ، كما أن لهذه المركبات خصائص علاجية مهمة جدا في علاج مرض السكري.

تم تحضير المستخلصات المائية والكحولية/المائية من أوراق الرمان *P. granatum* مما أعطى مردود من 10.98 % و 22.43 % على التوالي. وكشف التحليل النوعي عن وجود المكونات الكيميائية الحيوية الرئيسية مثل الفلافونويدات و التريبونيد و البوليفينول ، إلخ. تم تأكيد ذلك من خلال المعايرة الكمية لمحتوى الفلافونويد ( $3.18 \pm 12.10 \text{ mg EQ/gE}$ ) في المستخلص المائي الكحولي و ( $11.23 \pm 1.26 \text{ mg EQ/gE}$  في المستخلص المائي) ، والفلافونول (مع  $7.68 \pm 0.6 \text{ mg EQ/gE}$  و  $9.20 \pm 2.8 \text{ mg EQ/gE}$  في المستخلص المائي للكحول والمستخلص المائي على التوالي).

تم تقييم النشاط التثبيطي لسكر الدم عن طريق اختبار تثبيط إنزيم  $\alpha$ -amylase

أظهرت نتائج هذه الاختبارات أن المستخلصات لديها القدرة على تثبيط  $\alpha$ -amylase مع  $\text{IC}_{50}$  بين  $0.67 \pm 9.804$  ملغ/مل و  $9.82 \pm 19.011$  ملغ / مل. أظهر تثبيط امتصاص الجلوكوز في الخميرة قدرة تثبيطية عالية عند 50 ملغ / مل من الجلوكوز. بحيث سجل  $\text{IC}_{50}$  في المستخلصين المائي و الإيثانولي ما قيمته  $6.975 \pm 0.39$  ملغ/مل،  $7.267 \pm 0.64$  ملغ/مل

في الختام ، كشفت الدراسة الحالية عن أدلة بيولوجية تدعم فعالية استخدام أوراق الرمان *P. granatum* في الوقاية من مرض السكري.

**الكلمات المفتاحية:** أوراق الرمان، في المختبر ، نشاط مثبط لسكر الدم ،  $\alpha$ -amylase.

# Liste des Abréviations

## Liste des abréviations

**ADN** : acide désoxyribose nucléique.

**AGL** : acide gras libre.

**AMPK**: AMP-activated protein kinase.

**APG**: angiosperme phylogeny group.

**APGI II**: angiosperme phylogeny group II.

**ATP** : adénosine triphosphate.

**AVC** : Accident Vasculaire Cérébral.

**BHT**: hydroxytoluène butylé.

**BSA** : Bureau Statistique Agricole.

**CCR5**: C-C chemokine receptor type 5.

**CD-4** : cluster of differentiation 4.

**CMI** : concentration minimale d'inhibition.

**CPA** : cellule présentatrice d'antigène.

**CXCR4**: C-X-C chemokine receptor type 4.

**DPP-4** : dipeptide peptidase .

**EGCG** : epigallocatechine gallate.

**eNOS**: endothelial nitric oxide synthase.

**EPSD** : Équipe de professionnels de la santé de Diabète Québec.

**ERO** : espèces réactives de l'oxygène.

**FCPD**: Fibrocalculous pancreatic diabetes.

**g**: gramme.

**GAD**: Acide glutamique décarboxylase.

## Liste des Abréviations

**GLUT-4** : glucose transporter.

**Ha** : hectare.

**HbA1c** : hémoglobine glyquée.

**HDL** : Lipoprotéine de haute densité.

**HGPO** : hyperglycémie provoqué par voie orale.

**HLA** : human leukocyte antigen.

**HSV** : virus de l'herpès simplexe.

**IA-2**: Insulinoma associated antigen 2.

**IC50**: Inhibitory concentration 50%

**IDF**: International Diabetes Federation.

**IL-6**: interleukine 6.

**INRAA** : Institut National de la Recherche Agronomique d'Algerie.

**Kg**: kilogramme.

**L**: litre.

**LDL**: low density lipoprotein.

**LPS**: Lipopolysaccharide.

**Mg EQ/gE**: milligramme équivalent de quercétine en gramme d'extrait sec.

**mg**: milligramme.

**NO**: monoxide d'azote.

**OMS** : Organisation mondiale de la santé.

**PPART**: Peroxisome proliferator-activated receptor T.

**PPAR-Y**: Peroxisome proliferator-activated receptor Y.

**STZ**: streptozotcin.

## Liste des Abréviations

**SUR** : sulfomyle urée.

**TGF- $\beta$** : Transforming Growth Factor-beta.

**TNF alpha**: Tumor Necrosis Factor.

**VIH-1** : virus de l'immunodéficience humaine type 1.

**VLDL** : Lipoprotéine de basse densité.

# Liste des Tableaux

## Liste des tableaux

| <b>Tableaux</b> | <b>Titre</b>  | <b>Page</b> |
|-----------------|---|-------------|
| <b>01</b>       | Variété de grenadier autorisée à commercialiser en Algérie.                       | 8           |
| <b>02</b>       | La répartition de la superficie du grenadier au niveau de la willaya d'Ain Defla. | 8           |
| <b>03</b>       | Les principaux constituants de différentes parties du grenadier et des fruits.    | 9           |
| <b>04</b>       | Critères de diagnostic du diabète.  | 20          |
| <b>05</b>       | Les résultats de screening photochimique.   | 32          |

# Liste des Figures

## Liste des figures

| Figures | Titre  | Page |
|---------|--|------|
| 01      | la plante du grenadier ( <i>Punica granatum</i> L.).   | 4    |
| 02      | Fleurs et fruits du Grenadier ( <i>Punica granatum</i> L.).  | 6    |
| 03      | Centres d'origines et de diversité des plantes cultivées selon le chercheur Vavilov.                                     | 7    |
| 04      | Physiopathologie du diabète de type 1..  | 16   |
| 05      | La structure chimique du flavonoïde (a)et le chlorure d'aluminium (b).   | 28   |
| 06      | Illustration des étapes du test de l'activité inhibitrice de l'activité enzymatique de l' $\alpha$ amylase.              | 30   |
| 07      | Illustration des étapes du test de l'effet des extraits du <i>P. granatum</i> sur l'absorption de glucose par la levure. | 31   |
| 08      | Le rendement d'extraction des feuilles de <i>Punica granatum</i> L.  | 32   |
| 09      | Courbe d'étalonnage des flavonoïdes.   | 35   |
| 10      | Teneur en flavonoïdes des extraits en mg Eq /g d'extrait.  | 36   |
| 11      | Courbe d'étalonnage de la quercétine (dosage des flavonols).   | 36   |
| 12      | Teneur en flavonols des extraits en mg EQ/g d'extrait.   | 37   |
| 13      | Les valeurs des IC50 pour l'inhibition de l'enzyme $\alpha$ -amylase   | 38   |
| 14      | les valeurs des IC50 pour l'inhibition de l'absorption du glucose par la levure.   | 41   |

## Introduction Générale

La médecine traditionnelle ou phytothérapie est une pratique médicale connue chez les populations anciennes et présente une importance à l'échelle économique et sanitaire. Elle est basée sur l'utilisation des plantes comme remèdes, et tisanes pour le traitement des pathogènes,

Des nombreuses études montrent que 70 à 80% des habitants en monde utilisent des plantes médicinales à des fins thérapeutiques (Sobiecki, 2014).

Dans le dernier siècle les plantes médicinales ont fait l'objet de la recherche comme un complément alimentaire ou médicament de plusieurs maladies humaines. Ces plantes représentent une source très riche en substances biochimiques telles que : tanins, flavonoïdes, les saponosides...etc. Qui attribue des propriétés biologiques thérapeutiques (Eddouks et al., 2007).

Le grenadier (*Punica granatum* L.) est un arbuste qui est utilisé depuis longtemps. Toutes ses parties, fruits, racines, écorce, pépins et feuilles sont utilisés pour leurs propriétés pharmaceutiques (Ahmed et al., 2005).

Le diabète est un groupe hétérogène de maladies métaboliques, il est considéré la principale cause de décès dans la plupart des pays développés, en développement ou récemment industrialisés, dont la caractéristique principale est une hyperglycémie résultant d'un défaut de sécrétion, d'action de l'insuline ou de ces deux anomalies associées (Fagot-Campagna et al., 2010).

Cette hyperglycémie peut contribuer indirectement aux graves complications, en particulier touchant le cœur, les vaisseaux, les yeux, les reins et les nerfs.

En Algérie, le diabète classé avec les quatre premières causes de décès selon les différentes études épidémiologiques.

# Introduction Générale

Le traitement actuel du diabète est constitué une des plus grandes préoccupations scientifiques à travers le monde. Pour cette raison, les chercheurs se sont intéressés à utiliser des plantes médicinales dans le traitement et le contrôle de cette maladie.

Dans 81% des cas, l'efficacité traditionnelle de plantes antidiabétiques ont été expérimentalement confirmées, l'exemple classique est celui de *p. granatum*, une plante largement utilisée dans le traitement du diabète (**Jafri et al.,2000**).

L'objectif de cette présente étude consiste à évaluer *in vitro* l'effet antidiabétique de l'extrait aqueux et hydro-alcoolique des feuilles de *Punica granatum* L.

Notre travail est structuré en deux parties :

- La première partie est consacré une synthèse bibliographique sur la plante de *P. granatum* et le diabète
- Le deuxième partie est consacré une étude expérimentale *in vitro* qui consiste à ;
  - Une analyse photochimique : qualitative et quantitative de l'extrait aqueux et hydro-alcoolique des feuilles de *P. granatum*.
  - Tester l'effet des extraits sur l'inhibition de l'enzyme  $\alpha$ -Amylase
  - Tester le pouvoir d'inhibition de l'absorption du glucose par la levure.

# **SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE**

SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

## 1. Généralité sur *Punica granatum L.*

Le grenadier, *Punica granatum L.* anciennement connu et apprécié de toutes les civilisations par sa beauté de son fleur et la julosité de son fruit antique doté de riches applications ethno-médicales (**Chadli et al ., 2015**).

Le grenadier est mentionnée comme un arbre régional symbolique dans le coran (le fruit du paradis), la bible et ainsi dans la mythologie du grecque et anciens égyptiens.

En Egypte, la grenade était considérée comme le fruit des dieux. Le symbole de la fertilité et de la richesse, en raison de l'abondance de ses graines et de sa forme ronde (**Ruis, 2015**).

Il était aussi un symbole commun de la fertilité dans les rites des mariages bédouins, chinois, grecs, indiens, perses et romains.

Le grenadier est d'origine d'Iran et d'Afghanistan, où il croît de façon spontané depuis plus de 4000 ans. On le retrouve également sur des bas-reliefs égyptiens (**Amouretti, 1991**).

On le retrouve aussi dans le bassin méditerranéenne (Espagne, Italie, Maroc, Algérie, et Tunisie) ou il est propager en raison de la germination facile de ses graine qui sont dispersées par les mouvements des bourreliers et les oiseaux ou d'autre animaux.

Le grenadier est un fruit comestible le plus anciens .Il a été utilisé dans la médecine populaire de nombreuses cultures .des études modernes montrent l'importance de grenadier dans le régime alimentaire pour maintenir le corps en bonne santé, et prévenir contre les différentes maladies et ainsi aliment qui présente des propriétés nutritifs très intéressantes.

Les différent parties de cette plante contiennent d'innombrables composés photochimiques étaient utilisées pour le traitement de nombreuses pathologies (**Jurenka J, 2008**).

Plusieurs recherches ont indiqué que *Punica granatum* compose ayant des propriétés thérapeutiques innées, telles que antioxydant, anti-inflammatoire, anti-carcinogène, antiviral, antifongique...etc ( **Preethi Madugula et al ., 2017**).



**Figure 01:** la plante du grenadier (*Punica granatum L.*) (Belaïdi, 2012).

## 2. Classification et dénomination du grenadier

Au 19<sup>ème</sup> siècle le père de taxonomie Carl Von Linnee introduit et décrit dans sa classification le grenadier « *Punica granatum L.* ». telle est cette classification :

Embranchement : Spermaphytes

Sous embranchement : Angiospermes

Classe : Magnoliopsida

Ordre : Myrtales

Famille : Punicaceae

Genre : Punica

Espece : *Punica granatum L.*

En 1998, une nouvelle classification des angiospermes, est créée par un groupe de botanistes, l'*Angiosperme Phylogeny Group* ou APG. Cette classification phylogénétique réorganise le règne végétal en fonction de critères moléculaires, s'intéressant essentiellement à l'ADN de deux gènes chloroplastiques et d'un gène nucléaire de ribosome. Cette classification a été révisée en 2003, donnant la naissance à la classification phylogénétique APGII, qui comporte 457 familles réparties dans 45 ordres (**Savolainen et al., 2004**).

Au sein de cette classification, la position du grenadier est.

Clade : Angiospermes

Clade : Dicotylédones vraies

Clade : Rosidées

Ordre : Myrtales

Famille : Lythraceae

Genre : *Punica*

Espèce : *Punica granatum L.*

Le grenadier appartient alors à la famille des Lythracées, famille comportant 30 genres et 600 espèces (**Elodie, 2009**).

### 3. Description botanique

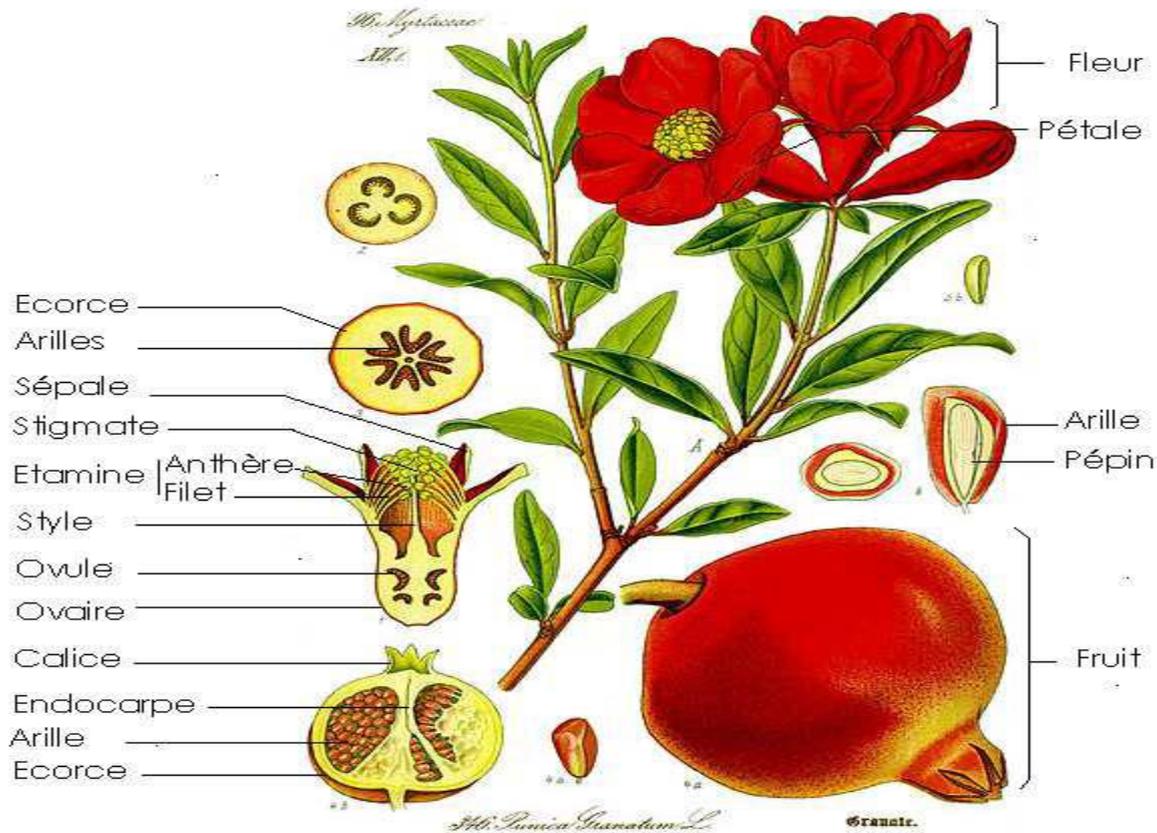
*Punica granatum L.* appartenant à la famille Lythraceae est plus communément appelé grenade. Le nom de genre, *Punica*, est dérivé du nom romain de Carthage. Le mot grenade signifie pomme « pomum » et ensemencé « granatus » (**Jurenka ,2008**).

Arbuste de 2 à 5 m très rameux. A feuilles opposées oblongues, luisantes et fleur d'un rouge écarlate, sessile, régulière et grande, 20-25 mm, par 1-3 à l'aisselle des feuilles.

Calice longuement campanulé coriace, rouge orangé à 5-7 lobes. Pétales 5-7. Etamines très nombreuses (**Wolfgang ,2007**).

Les fruits mûrs mesurent environ cinq pouces de large avec une peau rouge foncé et coriace, une grenade en forme de calice pointu. Le fruit contient de nombreuses graines

séparées par un péricarpe membraneux blanc. Chaque graine est entourée de tarte et de jus rouge (Divyashree , et Ravi .2014), et d'une croissance assez lente et d'une longévité de près de 200 ans.

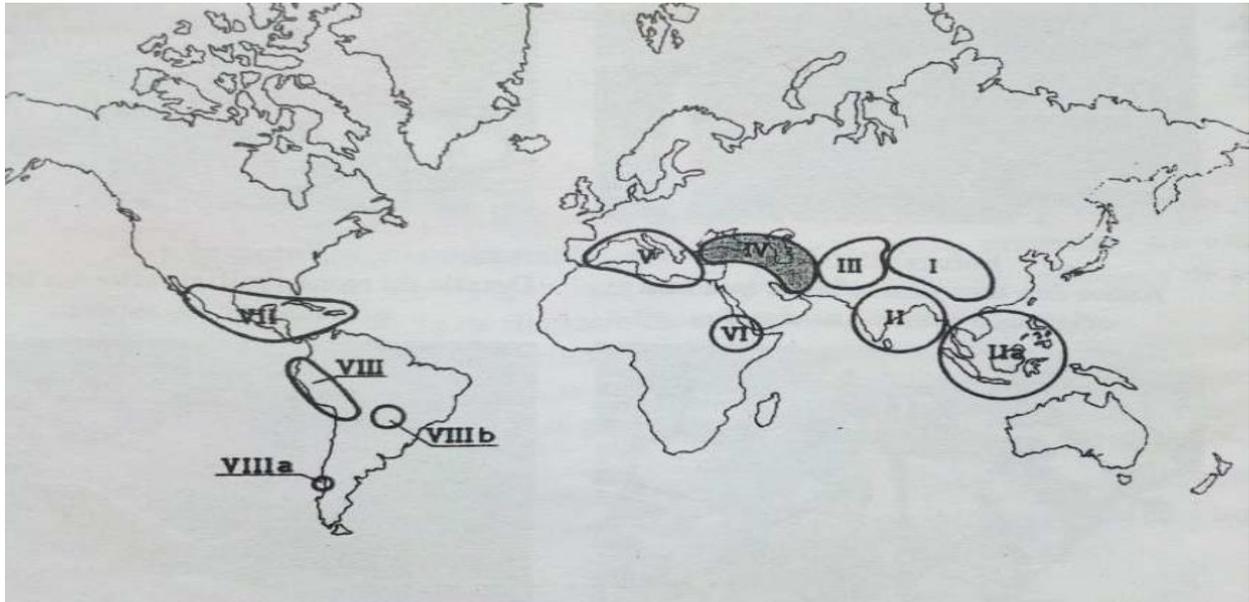


**Figure 02:** Fleurs et fruits du Grenadier (*Punica granatum L.*) (Hmid,2013).

#### 4. Aire de répartition

Le grenadier se développe préférentiellement dans les zones tropicales et méditerranéennes dont l'aire de répartition de grenadier se situe en Asie occidentale et centrale (moyen orient) ; les pays d'origine de l'arbre s'étendent de la Turquie via le Caucase (Arménie, Azerbaïdjan, Géorgie) et du Tadjikistan, Turkménistan et Ouzbékistan à l'est jusqu'en Iran, Afghanistan et Pakistan dont la surface mondiale dédiée à la culture du grenadier est environ de 300 000 Ha, dont plus de 76% sont répartis sur cinq pays (Inde, Iran, Chine, Turquie et USA), cependant l'Espagne et l'Égypte ont une superficie comprise entre 2400 et 16 000 Ha (Hmid., 2013).

Il est aussi beaucoup cultivé dans le bassin méditerranéen : Espagne, Italie, Grèce, Algérie, Tunisie et Maroc. On le rencontre déjà plus rarement dans le midi de la France, au Portugal, en Bulgarie et en Crimée. De même en Amérique, la culture du grenadier reste très sporadique. Il est présent en Californie, dans l'Utah, en Alabama, Louisiane et Floride (WALD, 2009).



**Figure 03:** Centres d'origines et de diversité des plantes cultivées selon le chercheur Vavilov (Hmid, 2013).

En Algérie, bien que le grenadier soit peu exigeant, les plantations ne sont pas très importantes en Algérie. Il existe de nombreuses variétés de grenades, de qualités très différentes. Quatorze variétés sont actuellement autorisées à la production et à la commercialisation par l'Etat (Tableau 01) (INRAA ,2006).

Plusieurs sortes de grenadier sont signalées surtout dans le nord d'Algérie qui caractérisée par le climat subhumide; dans les petits jardins en Kabylie, le plaine de Mitidja (Chelif, Tipaza, Blida, Ain Defla) et on le trouve aussi au sud du pays (Ouargla, Adrar...etc.) (Kaci Meziane et al ., 2015).

**Tableau 01:** les varetie de grenadier autorisee à commercialiser en algerie (INRAA,2006).

|               |               |                  |
|---------------|---------------|------------------|
| Espagne rouge | Corda travita | Moller huesso    |
| Méliste       | Paper shell   | Gajin            |
| Sefri         | Zemdautomne   | Sulfani          |
| Spanish duoy  | Chelfi        | Selectin station |
| Doux de kolea | Messad        |                  |

A Ain Defla, le grenadier souvent cultive dans les régions indiquer (**tableau 02**)(DSA ,20018).

**Tableau 02:** La repartition de la superficier du grenadier au niveau de la willaya d'Ain Defla (DSA ,2018).

| Commune   | Superficiier (Hictar ) |
|-----------|------------------------|
| Miliana   | 12                     |
| Arib      | 3.25                   |
| El Abadia | 11                     |
| Djendel   | 7                      |
| Bathia    | 5                      |
| Belaas    | 5                      |

## 5. La composition chimique du grenadier

Les différentes parties du grenadier (graines, écorces, pulpe, feuilles et fleurs), remplissent des fonctions déterminées et avoir des propriétés thérapeutiques. Des recherches actuelles semblent indiquer que les principaux constituants thérapeutiques du grenadier sont les ellagitannins (incluant les punicalagins), l'acide punique, les flavonoïdes, les anthocyanidines, les anthocyanines, les flavonols oestrogéniques et les flavones.( **Ben**

Abdennebi ,2012) , Rajoutant à cela d'autres composés tels que les alcaloïdes, ainsi que la présence des sucres, des acides organiques (notamment, l'acide citrique, malique, tartrique, succinique, fumarique et ascorbique), des acides aminés, des stéroïdes et des sels minéraux tels que le calcium, le magnésium, le phosphore, le potassium et le sodium.( Douaouri, 2018)(Tableaux 03).

En outre, la composition chimique du grenadier dépend du cultivar, de la région de culture, des conditions pédoclimatiques, du stade de maturité du fruit et des pratiques culturales (Sreekumar et al., 2014).

**Tableau 03:** les principaux constituants de différentes parties du grenadier et des fruits (Sreekumar, et al., 2014).

| Partie de la plante     | Composants  |
|-------------------------|---|
| Zeste de grenade        | Acide gallique, Acide ellagique, Punicaline, Punicalagine, Acide caféique, Ellagitannins, Alcaloïdes en pelletierine, Lutéoline , Kaempferol ,Quercétine  |
| Jus de grenade          | Sucres simples, Acides organiques aliphatiques, Acide gallique, Acide ellagique, Acide quinique, Flavonols, Acides aminés, Minéraux, EGCG, Acide ascorbique   |
| Pomme grenade et écorce | Ellagitannins, Alcaloïdes de pipéridine, Alcaloïde de pyrrolidine , Alcaloïdes de pelletierine  |
| Fleur de grenadier      | acides galliques, acide ursolique, triterpénoïdes, acides gras  |
| Feuilles de grenade     | Glucides, Sucres réducteurs, Stéroïls, Saponines, Flavanoïdes, Tanins, Alcaloïdes de pipéridine, Flavone, Glycoside, Ellagitannines   |
| Graine de grenade       | acide 3,3'- Di - O-méthylellagique, acide 3,3 ', 4'-Tri-Ométhylellagique, acide punique, acide oléique, acide palmitique, stéarique acide, acide linoléique, stéroïls, tocophérols, stéroïdes sexuels |

## 6. Les propriétés pharmacologiques

Les données accumulées affirmaient clairement que *Punica granatum L.* (Grenade) présente plusieurs avantages pour la santé. Elle est riche en nombreux composés bioactifs. La

grenade peut aider à prévenir ou à traiter divers facteurs de risque de maladie, notamment l'hyperglycémie, l'hypercholestérolémie, le stress oxydatif, les activités inflammatoire, les infections bactériennes...etc.

## 6.1. Activité antioxydante

Des analyses indiquent que les extrait de grenadier est une source importante d'antioxydants naturels ( **Sushil, 2013**).

Plusieurs études récentes sur la grenade, soulignant principalement son rôle de vasculoprotecteur attribué à la présence de tannins hydrolysables, ellagitannins et acide ellagique réduisaient le stress oxydatif et l'agrégation plaquettaire, réduisaient l'absorption des lipides par les macrophages ( **Dongdong, 2018**).

Selon une étude réalisée par **Kartik ,(2015)**, sur des rats mâles (albinos Wistar), montre que une dose plus élevée d'extrait de *P. granatum L.* de fruits ont réduit de manière significative les taux de cholestérol total et de triglycérides et augmenté le taux de HDL. Cette dose plus efficace pour réduire les substances plasmatiques réactives ERO et augmenter les taux d'enzymes antioxydantes (superoxyde dismutase et catalase).

Autre étude ont démontré que l'extrait de l'écorce du grenade diminue la peroxydation lipidique dans les tissus hépatiques, cardiaque, et rénaux (**Parmer et Kar, 2008**).

L'extrait de grenade a une activité anti oxydant très élevé qui dépasse même celle des antioxydants naturels et synthétiques comme la vitamine E et le BHT (**Ben Djabeur, 2012**).

## 6.2. Activité anti-inflammatoire

Suivant les résultats obtenus par **Jianjun xu ,(2017)**, montrent que l'extrait du grenadier produit un effet anti-inflammatoire potentiel en modulant la synthèse de plusieurs médiateurs et cytokines impliqués dans le processus inflammatoire tell que NO, PGE 2, d'IL-6 IL- et TNF- $\alpha$  dans des cellules RAW 264,7.

L'acide éllagique, l'acide gallique et la punicalagine ont potentiellement inhibé la production de NO, de PGE-2 et d'IL-6 induite par le LPS (**Ben Saad, 2017**).

Des études *in vivo* ont démontré que l'huile de graines pressées du grenadier inhibe la cyclo-oxygénase et la lipo-oxygénase ( **Chahnez ,2013**).

Des rats obèses (Zucker Fatty) ayant reçu une supplémentation de jus de grenade ou d'extraits de fruits de grenadier durant 5 semaines montrent une diminution significative de l'expression des marqueurs de l'inflammation vasculaire, la trombospondine et la cytokine, TGF- $\beta$ 1 et une augmentation significative de l'expression de la synthétase endothéliale de l'acide nitrique (eNOS) en comparaison avec les rats contrôles (Nigris, 2007).

### 6.3. Activité anticarcinogénique

Le cancer est une maladie de la cellule causée par une dérégulation de la prolifération incontrôlée de cellules anormales avec envahissement local ou à distance. Le grenadier a une activité d'empêcher la prolifération des cellules cancéreuse ou ralentir la formation des tumeurs par plusieurs mécanismes (Elodie, 2009).

Une série d'études précliniques démontre que le jus de grenade fermenté présente particulièrement une efficacité aussi contre le cancer de la prostate (Lansky et al., 2005).

Dans une étude in vitro, démontré l'effet protecteur du grenade contre les cellules du cancer du sein Une autre étude a montré que les graines de *P. granatum L.* contiennent une forte concentration de phytohormones, majoritairement des œstrogènes rentrant en compétition avec les hormones endogènes (Kim et al, 2002 ; Mori-Okamoto et al., 2004).

Un certain nombre d'études a démontré la capacité de la grenade et ses polyphénols pour contraster divers événements biologiques impliqués dans la pathogenèse et la progression du cancer en modulant la biochimie cellulaire (Eleonora et al., 2015).

Des propriétés chimio-préventives du cancer du côlon des ellagitannines dérivées du jus de grenade, ont été étudiées dans des cellules cancéreuses du côlon humain HT-29 (Kasimsetty, 2014).

### 6.4. Activité anti diabétique

Des études similaires effectuées par des auteurs en Inde ont également révélé les utilisations du *P.granatum L.* par les guérisseurs traditionnels (vaidya) (49%) et l'effet antihyperglycémique par la méthode in vitro de la glucose oxydase ( Middha et al., 2012).

Les rats diabétiques traités avec 0,43 g / kg de poids corporel d'extrait aqueux de pelure pendant quatre semaines ont présenté une baisse significative du taux de sucre dans le sang et une augmentation du nombre de cellules  $\beta$ , ce qui contribue relativement à l'intensification du taux d'insuline (Khalil, 2004).

**Althunibat et al., (2010)**, ont montré dans leur étude sur STZ (streptozotocin-) induite chez les rats diabétiques qui intrapéritonéale L'extrait méthanolique de *P.granatum L.* (75 et 150 mg / kg, par jour) pendant quatre semaines considérablement inhibe le taux de glucose chez le rat wistar diabétique induit par l'alloxane.

Une autre étude pilote sur des patients diabétiques de type 2 avec hyperlipidémie a démontré que le jus concentré de grenade diminue l'absorption et augmente l'excrétion fécale du cholestérol et réduit significativement le taux total de cholestérol et du LDL cholestérol en améliorant les ratios total/HDL et LDL/HDL cholestérol (**Esmailzadeh et al.,2006**).

**Ben Abdennebi ,(2012)**, Montre que l'extrait du grenadier avoir un effet sur le niveau d'expression du transporteur GLUT-4, et activation de la voie de l'AMPK pour médier partiellement le transport de glucose dans les cellules musculaires C2C12.

### **6.5. Activité antibactérienne**

Des études récents a prouvé que les composés dans la grenade peuvent aider à lutter contre les micro-organismes nuisibles, ils se sont révélés bénéfiques contre certains types de bactéries ( **Jurenka, 2008**).

Les extraits du grenadier montrent une propriété antibactérienne comparable à celle de la tétracycline contre les souches bactériennes de *Staphylococcus aureus* (Gram<sup>+</sup>), *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* (Gram<sup>-</sup>) ( **Khan et Hanee,2011**).

L'extrait d'acétate d'éthyle d'écorce de fruit a montré un large spectre d'activité antimicrobienne ( **Kaliyan ,2016**).

Les résultats des études de **Vahid et al., (2014)**, indiquent que L'extrait de *Punica granatum L.* avait d'importantes propriétés antibactériennes contre 5 bactéries buccales (*S. mutans*, *S. sanguinis*, *S. sobrinus* *S. salivarius* et *Enterococcus faecalis* . ) et empêchait la formation de biofilm bactérien à fil orthodontique ,Il a été mentionné que l'extrait a une activité antibactérienne à partir d'une certaine Concentration, c'est la CMI.

Les extraits de zeste de grenade ont été les plus efficaces pour inhiber la croissance d'un nombre de bactéries comme *Escherichia coli* et *Bacillus subtilis* (**Karthikeyan et Vidya, 2019**).

## 6.6. Activité Antivirale

Des études limitées ont été menées sur les activités antivirales associées à la grenade et à ses extraits. Une étude a également montré que l'acidité du jus de grenade et des solutions concentrées d'extraits de grenade liquide contribuait à une activité antigrippale rapide (**Amy et al.,2013**).

**Neurath et al., (2005)**, ont montré que les inhibiteurs d'entrée du VIH-1 à partir du jus de grenade sont adsorbés sur l'amidon de maïs, bloquent la liaison du VIH-1 aux récepteurs de cellules hôtes CD4 et CXCR4 / CCR5 et inhibent l'infection par les clades de virus.

Des extraits de péricarpe de grenade se montrent actifs contre les infections à virus de l'herpès simplex HSV, responsable de l'herpès buccal, neuroméningé, ophtalmique, et dans quelques cas génital (**David et al.,2017**).

## 6.7. Autres activités

La consommation de jus a montré une augmentation de la concentration de spermatozoïdes dans l'épididyme, de la mobilité des spermatozoïdes et de la densité des cellules spermatogènes (**Türk et al., 2008**).

Les enzymes liées à la membrane ont été modifiées dans les régions du cerveau de souris Tg2576 traitées avec un régime témoin, et la supplémentation en grenade rétablit les activités des enzymes à des niveaux comparables aux valeurs notées dans les contrôles (**Braidy et al., 2013**).

L'extrait de peau de de possède une activité inhibitrice des ulcères de l'estomac induits par l'aspirine et l'éthanol grâce à ses propriétés antioxydantes (**Ghazaleh et al., 2013**).

## 1. Introduction

Les maladies non transmissibles (MNT), également appelée maladie chronique, elles ne se transmettent pas d'une personne à l'autre, elles sont de longue durée et évoluent en général lentement, les quatre principaux types de MNT sont les maladies cardiovasculaires, le cancer, les maladies respiratoires chroniques, et le diabète (OMS, 2016).

La première référence de diabète est le célèbre papyrus d'Ebert découvert à Louksoy, écrit environ 1550 ans av J.-C. Au 19<sup>ème</sup> siècle le fameux chercheur français Claude Bernard montre que le sucre sanguin (le glucose) peut être stocké dans le foie sous forme de glycogène, le rôle du pancréas est mis en évidence par les allemands Oskar Minkowski, et Josef Von Mering, l'allemand Paul Langerhans décrit les îlots de cellules, pourtant aujourd'hui son nom, sont toutefois en compréhension la fonction, existence d'une hormone fabriquée dans les îlots de Langerhans, l'insuline, du latin « insula », est postulée au début du XX<sup>e</sup> siècle puis enfin démontrée (Marsaudon, 2004).

Concernant la médecine arabe deux éminents médecins Ibn Sina, et Maimonide ont contribué à la connaissance du diabète. Ibn Sina (980-1037) décrit le goût sucré des résidus brun que laissent les urines diabétiques, comme il a connu le diabète primaire et secondaire ainsi que la graine graine diabétique, il traite alors le diabète par un mélange de lupin, de fenugrec et des graines de zéaïde. Moïse Ben Maimon (Maimonide) (1135-1204), discute les symptômes polydipsie et polyurie et la fréquence du diabète chez les égyptiens (Jouzier, 2007).

Jusqu'en 1921 le diabète insulino-dépendant était donc demeuré sans traitement spécifique, convient de noter que avant cette date ou non diagnostiquée guère que ce type de diabète le plus spectaculaire, ne représente que 10 à 20% de l'ensemble des cas, par la suite on s'aperçoit le diabète est beaucoup moins rare qu'il ne semblait de formidable effort de recherche sont donc actuellement consentis dans le domaine du diabète dit de type adulte, ou non insulino-dépendant le plus fréquent (Nicolas Von, 2015).

## 2. Définition

Le diabète est un trouble métabolique caractérisé par la présence d'une hyperglycémie attribuable à un défaut de la sécrétion d'insuline ou de l'action de l'insuline, ou des deux.

L'hyperglycémie est associée à des degrés divers et par des mécanismes encore mal connue, à des complications à long terme, touchant en particuliers les yeux, les reins, les nerfs, le cœur, et les vaisseaux sanguins, ce qui fait la gravité de la maladie (**Goldenberg et al., 2013**).

Selon l'OMS le diabète sucré se définit comme un état d'hyperglycémie (taux de sucre dans le sang trop élevé) chronique avec une glycémie (taux de glucose dans le sang) à jeun supérieure ou égale à 1,26 g/l (7mmol) à deux reprises et/ou supérieure ou égale à 2 g/l (11mmol/l) à n'importe quel moment de la journée (**OMS, 2016**).

## 3. Epidémiologie du diabète

Aujourd'hui le monde entier connaît une augmentation forte et rapide du nombre des diabétiques. La prévalence mondiale de la maladie est estimée à 415 millions de cas et 5,0 millions de décès dus au diabète ont été enregistrés (**Mahteme et al., 2017**).

Cette augmentation concerne surtout les pays sous-développés, avec 69% de diabétiques adultes contre 20% dans les pays développés. Dans les pays africains, le nombre de diabétiques aussi ne cesse de croître et d'une façon alarmante (**Abubakari et al., 2009 ; Shaw et al., 2010**).

En Algérie : selon le nouveau rapport de la **IDF(2017)** 1.8 million de cas sont atteints de diabète, avec une prévalence nationale du diabète de 6.9%. Dont 42500 cas sont enregistrés chez les enfants et les adolescents atteints de diabète de type 1 qui est le plus répandu.

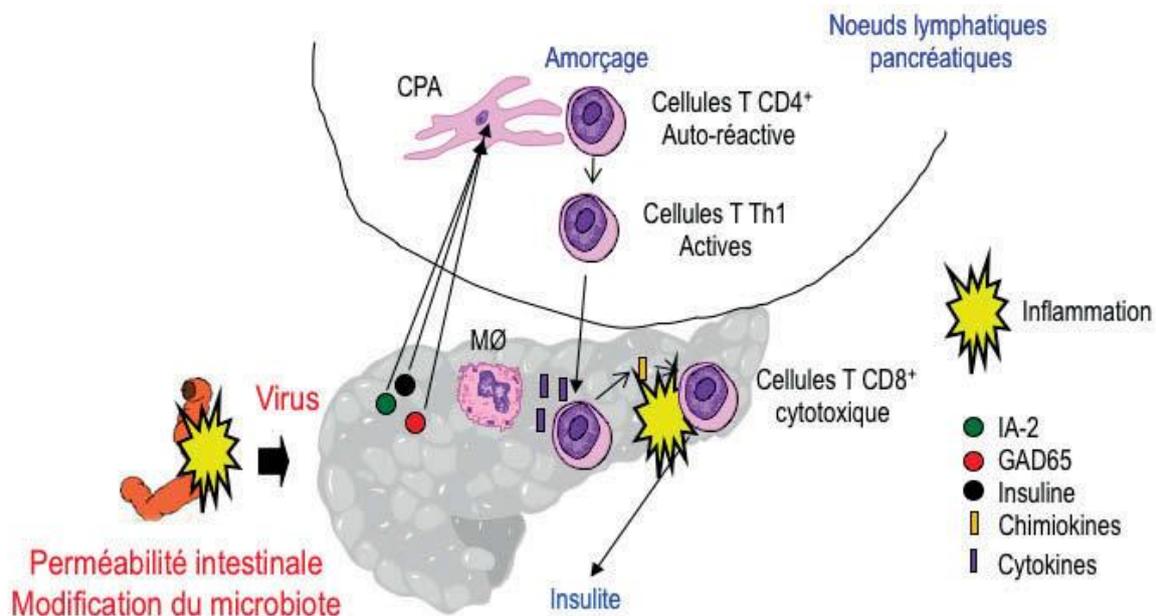
## 4. Classification du diabète

Il y a 4 types de diabète ont été définis par l'OMS : le diabète de type 1, le diabète de type 2, le diabète gestationnel et les autres formes de diabète.

**4.1. Diabète type 1 :** connus auparavant sous le nom de diabète insulino-dépendant ou diabète gevinile (OMS, 2016)

Diabète de type 1 est retrouvé par 5 à 10 % par rapport à d'autres diabétiques, il résulte de la destruction des cellules  $\beta$ , apparaît lorsque 90 % des cellules sont détruites (Alberti et Zimmet, 1998).

Lors de la destruction auto-immune des cellules insulino-sécrétrices  $\beta$  de Langerhans dans le pancréas, l'organisme produit des anticorps anti-GAD, et anti-IA2 et anti-insuline, ces anticorps dirigés contre son propre pancréas. Le premier facteur de déclenchement se situe sur le chromosome 6 au système HLA2 (Maynaud, 2006 ; Burton *et al.*, 2007).



Dans l'histoire de la maladie, la perméabilité intestinale serait augmentée et pourrait favoriser les infections. Cette hyperperméabilité pourrait être la conséquence des modifications du comportement alimentaire. La destruction des cellules bêta par l'infection libère des antigènes qui seront reconnus par les cellules présentatrices d'antigène (CPA) au niveau des nœuds lymphatiques pancréatiques.

Les lymphocytes T CD4+ activés par les CPA migrent vers les cellules bêta pancréatiques et relâchent des chimiokines attirant ainsi les lymphocytes T CD8+ cytotoxiques. Ces derniers produisent des cytokines, vont permettre le recrutement des macrophages et détruire les cellules bêta, induisant ainsi l'insulite.

**Figures 04.** Physiopathologie du diabète de type 1 (Tenenbaumet *et al.*, 2018).

**4.2. Diabète de type 2 :** Appelé diabète non insulino-dépendant ou diabète adulte. Le diabète de type 2 est une maladie non auto-immune se caractérisée par une insulino-résistance au niveau des tissus périphériques et par une anomalie des cellules  $\beta$  pancréatique (Vimink, 2007).

Insulinodéficience : insuffisance de sécrétion d'insuline par les cellules  $\beta$  de pancréas () du par le dysfonctionnement des cellules  $\beta$  d'où augmentation du glucose plasmatique et AGL, et la glycogénèse hépatique et des VLDL par le foie, l'augmentation du taux du glucose et des AGL entraîne progressivement l'apoptose de cellules  $\beta$  (Philippe, 2013 ; Brillard.O et al., 2017).

Insulinorésistance : Le principal site de l'insulinorésistance est le muscle, dans lequel défaut est localisé en aval du récepteur de l'insuline, au niveau de la voie métabolique non oxydative du glucose, la synthèse de glycogène. Les autres sites d'insulinorésistance sont l'adipocyte et le foie. Au niveau de l'adipocyte, l'incapacité de l'insuline à inhiber la lipolyse est responsable d'une augmentation des concentrations plasmatiques des acides gras libres, qui stimulent la néoglucogénèse, la synthèse des triglycérides et la production glucosée hépatique. Préférentiellement utilisés par le muscle, les acides gras libres plasmatiques y diminuent le captage et le catabolisme du glucose, et altèrent l'insulinosécrétion. L'insulinorésistance hépatique rend compte, du fait d'une moindre «freinabilité» de la production glucosée hépatique, d'un débit de glucose inapproprié, même en présence de l'hyperglycémie (guillausseau et al., 2003).

**4.3. Diabète gestationnel :** Cette diabète est diagnostiquée chez les femmes enceintes, c'est dû à la sécrétion d'hormone placentaire qui entraîne une hyperglycémie (Alberti et Zimmet, 1998).

#### 4.4. Autres types

☞ Défauts génétiques de la fonction des cellules bêta, par exemple : HNF1- du chromosome 12 (ancienne dénomination : MODY 3), glucokinase du chromosome 7 (ancienne dénomination : MODY 2), HNF4- $\alpha$  du chromosome 20 (ancienne dénomination : MODY 1), ADN mitochondrial.

☞ Défauts génétiques de l'action de l'insuline, par exemple : insulinorésistance (type A), léprechaunisme, syndrome de Rabson-Mendenhall, diabète lipoatrophique.

☞ Pathologies du pancréas exocrine, par exemple : pancréatite, trauma, pancréatectomie, néoplasie, fibrose kystique, hémochromatose, diabète fibrocalculeux (FCPD).

☞ Endocrinopathies, par exemple : acromégalie, syndrome de Cushing, glucagonome, phéochromocytome, hyperthyroïdie, somatostatine, aldostérone.

☞ Induit par des médicaments ou substances chimiques, par exemple : neuroleptiques (essentiellement la clozapine et l'olanzapine), pentamidine, acide nicotinique,

glucocorticoïdes, hormones thyroïdiennes, diazoxide, agonistes  $\beta$  adrénergiques, thiazidiques, phénytoïne, interféron alpha.

- ☞ Infections telles que rubéole congénitale, cytomégalovirus.
- ☞ Formes rares de diabète immun, par exemple : syndrome de l'homme raide, anticorps antirécepteur de l'insuline.
- ☞ Autres syndromes génétiques occasionnellement associés au diabète, par exemple : Down, Klinefelter, Turner, Wolfram, ataxie de Friedreich, Lawrence-Moon-Biedl, chlorée Huntington, dystrophie myotonique, porphyrie, Prader-Willi (**Douaouya, 2017**).

## 5. Les symptômes

Les symptômes suivants sont associés au diabète, ils peuvent présenter ou non au diagnostic à la maladie (**Buyschaert, 2006**) :

- fatigue, somnolence
- augmentation du volume et de la fréquence des urines.
- soif intense et faim exagérée
- vision embrouillée
- cicatrisation lente
- infection des organes génitaux et de la vessie
- picotement au doigt au pied
- irritabilité.

Les symptômes du diabète de type 1 peuvent apparaître progressivement ou subitement, le diabète ne se manifeste pas toujours de la même façon avec la même intensité et avec tous ces symptômes (**EPSD, Québec, 2014**).

Les symptômes du diabète de type 2 sont tellement mineurs, qu'ils passent inaperçus pendant plusieurs années, ou estimer, qu'il faut en moyenne 7 ans pour qu'un diagnostic soit posé par une médecine, pendant ce temps la maladie est développée (**EPSD, Québec, 2014**).

## 6. Les complications

Le diabète peut être entraîné des complications métaboliques aigues caractérisés par :

**Neuropathie** : Atteinte des nerfs, le plus fréquemment au niveau des membres inférieurs (perte de la sensibilité (chaud, froid, douleur)) (**Christopher et Gibbons, 2015**).

**Néphropathie** : Affection rénale, généralement Il s'agit d'une atteinte métabolique associée à une atteinte vasculaire Risque 9 fois plus élevé pour un diabétique. le 1ère cause de dialyse (**Min, 2012**).

**Rétinopathie diabétique** : Affection oculaire grave due à un endommagement de la structure de la rétine. Touche surtout les diabétiques de type 2 ,il présentent un risque ophtalmologique élevé dans le monde.

**Accident Vasculaire Cérébral (AVC)** : L'AVC se produit lorsqu'une partie du cerveau est brusquement privée de sang, 6 fois plus élevé pour un diabétique.

**Infarctus du myocarde (crise cardiaque)** : Destruction d'une partie du muscle cardiaque, due à une diminution de l'apport sanguin (ischémie) dans le cadre de la maladie coronarienne.

Le pied diabétique est une complication grave secondaire à la microangiopathie, à la microangiopathie et à la neuropathie. Cela peut être considéré comme une super-complication de plusieurs pathologies ( **Jean-Louis Schlienger,2013**).

**Hyperosmolaire non cétonique** est décrit comme l'association d'une forte déshydratation et d'une hyperglycémie sans cétose accompagnées de troubles de la conscience ( **André Grimaldi et al , 2009**).

**L'acidocétose diabétique** : une complication principalement du diabète de type I, mais parfois présent dans le type 2 lorsqu'il y a absence de production d'insuline, puisque l'insuline prévient : la dégradation des lipides, la production des corps cétoniques liée à cette dégradation et l'acidocétose diabétique (**André Grimaldi et al ., 2009**).

7. Diagnostic de diabète

Tableau 04 : critères de diagnostic du diabète

| Méthodes de diagnostic de diabète   | Glycémie g/l   | Interprétation  | Références                                       |
|---|--|---|--|
| Glycémie à jeûne :le critère de diagnostic le plus pertinent ,ce dosage réaliser après 8 h de jeûne   | <ul style="list-style-type: none"> <li>• &lt;1.10g/l</li> <li>• 1.10 – 1.26g/l</li> <li>• &gt;1.26g/l</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Personne normale</li> <li>• Prédiabète</li> <li>• Personne diabétique</li> </ul> | (Blickle ,1999).                                 |
| Hyperglycémie provoqué par voie oral(HGPO) : ce dosage consiste à avalé à jeûne 75g de glucose dans l'eau et déterminé le taux de glucose plasmatique juste après le charge du glucose  | <ul style="list-style-type: none"> <li>• &lt;1.4g/l</li> <li>• 1.4 – 2g/l</li> <li>• &gt;2g/l</li> </ul>         | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Personne normale</li> <li>• Prédiabète</li> <li>• Personne diabétique</li> </ul> | (OMS,1997 ;Gabir et al., 2000 ; Phelippe ,2013). |
| La glycémie à tous moments :chez les patients symptomatique (polyurie polydipsie....)   | <ul style="list-style-type: none"> <li>• 2g/L</li> </ul>   | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Diabétique</li> </ul>  | (Goldenberg et Punthakee , 2013).                |
| L'Hémoglobine glyquée (HbA1c) : le dosage de l'hémoglobine glyquée pour fournit des information de la glycémie ,cet examen permet de vérifier le contrôle de diabète des de derniers ,grâce à ce dosage .le médecin pourra voir si le traitement pris par le patient pour contrôler son diabète est efficace ou non | <ul style="list-style-type: none"> <li>• 4.4 – 5.7 %</li> <li>• 5.7 – 6.4%</li> <li>• &gt;6.7%</li> </ul>        | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Personne normale</li> <li>• Prédiabète</li> <li>• Personne diabétique</li> </ul> | (Heike, 2015).                                   |

L'anomalie de régulation du glucose regroupe l'hyperglycémie modère à jeûne (IFG), et intolérance au glucose (IG) :

Si la glycémie à jeûne est comprise entre 100 et 125mg/dl (5.6 - 6.9mmol/l), on parle d'anomalie de la glycémie à jeûne (AGJ)

Si à la 2<sup>ème</sup> h d'un HGPO, la glycémie est comprise entre 140 – 199mg/dl (7.8 – 11.9mmol/l), on parle d'intolérance au glucose (IG).

Si le taux d'HbA1c (6 à 6.4 %) on parle d'un Prédiabète (**Goldenberg .R et Punthakee .Z , 2013**).

## 8. Traitement

### 8.1. Médicamenteuse

a. L'insulinothérapie : constitue le traitement essentiel pour le diabète. les principales insulines sont : insuline rapide, soumit retard et lente. la dose moyenne est de 0.5 à 1 UI/kg/jour. L'effet secondaire principal de l'insulinothérapie est l'hypoglycémie (**Maynaud et Charpentier, 2006**).

b. les sulfamides : stimule le pancréas pour fabriquer plus d'insuline (effet insulinosécrétion), elles fixent sur les protéines SUR (Sulfomyle Ureé ) des canaux  $K_{ATP}$  des cellules bêta , l'efficacité hypoglycémisante des sulfamides dépend donc de la capacité résiduelle du pancréas à sécréter l'insuline (**Leutengger ,1996**).

c. les biguanides : ils favorisent l'action d'insuline au niveau du foie des muscles et des cellules, réduisent l'insulinorésistance, ex ; méformine (**Maynaud, et Charpentier 2006**).

d. les inhibiteurs des  $\alpha$ -glucosidase : les glucides absorbés sont dégradés par l'amylase salivaire et pancréatique en disaccharides (lactose, maltose...etc.), puis par les  $\alpha$ -glucosidases (maltase, lactase...etc.) en monosaccharides, les inhibiteurs de  $\alpha$ -glucosidase inhibent le dernier stade de la digestion de sucre, ceux-ci ne peuvent être absorbés, continuent leur périple dans l'intestin et subissent la fermentation colique bactérienne en acide gras ou sont éliminés dans les sels (**Guillausseau, 2003**).

e. les gliptines : les inhibiteurs de la dipeptidase-4 (DPP-4), ils diminuent le taux du glucagon ou augmentent le taux d'insuline, ne donnent pas d'hypoglycémie

permettent une réduction pondérale (4 à 5 kg), auraient une action vasculaire protectrice (**lieurade et al., 2015**).

f. Les thiazolidinediones : sont des agonistes sélectifs (ligands pharmacologiques) de récepteur nucléaire appelé « peroxisome proliferator-activated receptor » (PPAR- $\gamma$ ). Ils augmentent et améliorent la sensibilité à l'insuline dans les tissus adipeux et hépatiques, et stimulent le récepteur PPAR $\gamma$  responsable de la modulation de l'expression de certains gènes qui jouent un rôle dans le métabolisme du glucose, des protéines et des lipides. Les effets indésirables que les thiazolidinediones provoquent sont : Œdèmes, troubles visuels, prise de poids avec un risque de problème hépatique (**Friedlander, 2005**).

## 8.2. Non Médicamenteuse

a- **Activité physique** : induit différents effets bénéfiques sur les métabolismes glucidolipidique, cet effet est bien déterminé sur le diabète, l'exercice favorise l'augmentation de la capacité oxydative des muscles qu'il induit une consommation de glucose accrue, il améliore la captation cellulaire du glucose sanguin, ainsi amélioré la sensibilité des tissus et les muscles à l'insuline sur le métabolisme lipidique favorise la lipolyse et diminue le tissu adipeux sous-cutané et de graisse viscérale, autre effet diminué la tension artérielle (**Pospiech .T et al., 2017**).

b- **Régime alimentaire** : Le but de la diététique n'est pas de priver le diabétique des douceurs de la vie mais d'éviter les apports en glucides qui ne seraient pas adaptés. Le but de la diététicienne est d'apprendre au diabétique à établir des menus variés et qui apportent une quantité et une qualité de glucides adaptés au déroulement de la journée, ou bien un régime hypocalorique en cas de surcharge pondérale ; sans sucres et d'absorption rapide.

Le principe est celui d'adopter une alimentation variée et équilibrée, dans le respect d'un rythme alimentaire le plus régulier possible tant sur le plan des horaires que de la structure des repas (**Abd Elkebir, 2004**).

c- **Phytothérapie** : la plante est la bonne source des médicaments, l'information ethnobotanique a créé brusque 800 plante qui sont importantes dans le traitement de diabète (**Patel et al., 2012**).

L'activité antidiabétique des plante peut dépend de plusieurs mécanismes :

- Augmentation le taux et l'action de l'insuline, et inhibe la réabsorption rénale du glucose
- la protection des cellules bêta contre la destruction, et augmente le volume et le nombre des ces cellules (**Jarald et al., 2008**).

# **PARTIE EXPÉRIMENTALE**

EXPERIMENTAL PART

## 1. Matériel végétal : les feuilles du *Punica granatum* L.

Le matériel végétal est constitué des feuilles de *Punica granatum* L.

Les feuilles de *Punica granatum* soumises à l'expérimentation ont été collectées le mois de novembre 2016 de la région «El-karimia» (Latitude: 36°06'42,80"N, Longitude: 1°33'10,17"E, Altitude =218 m) Wilaya de CHLEF .

Après le séchage à une température ambiante et à l'abri de la lumière solaire, le matériel végétal est transformé en poudre à l'aide d'un mortier électrique (**Kanoun et al., 2016**).

## 2. Appareils et réactifs chimiques

### 2.1. Appareillage

- Balance de précision
- Plaque chauffante
- L'étuve
- Spectrophotomètre
- Bain marie
- Centrifugeuse
- Boîtes pétri en verre
- Micropipette
- Papier filtre
- Tubes à essai
- Les tubes secs.
- Entonnoir.
- Agitateur (vortex)
- Appareil de filtration à vide

### 2.2. Produits et réactifs chimiques

- L'acide Ascorbique
- Phosphate De Sodium
- Acide Sulfurique
- Chlorure D'aluminium
- HCL
- FeCL<sub>3</sub>

- Tampon Acétate De Sodium
- NaOH
- Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>
- Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>
- KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>
- Anhydride Acétique
- Réactif De Wagner (2gde IK et 1.27g deI<sub>2</sub>)
- Chloroforme
- Liqueur De Fehling
- Ethanol
- Tampon Phosphate De Sodium
- Réactif Folin- Cioclateu
- FeSO<sub>4</sub>
- Acide Gallique
- Quercitine.
- Acétate de plomb
- Phosphate de sodium
- glucose
- KI
- Iodine

### 3. Méthode

#### 3.1. Préparation des extraits

##### 3.1.1. Préparation de l'extrait aqueux

Dans 500ml d'eau distillé on ajoute 50 g du poudre végétale avec agitation manuel, après un macération de 72 h , le mélange obtenus est filtrer par appareil de filtration sous vide (Shahin et al.,2014) En suite sécher dans une étuve à 40°C.

##### 3.1.2. Préparation de l'extrait hydro alcoolique

On macéré 50 g du poudre végétale du *Punica granatum* dans un volume de 500ml du éthanol/eau distillé (70/30), (v/v) à une température ambiante pendant 72 h. Après, le mélange obtenu est filtré par appareil de filtration sous vide et séché dans un étuve à 40°C (Mohsen et al., 2016).

### 3.1.3. Calcul du rendement de l'extraction

Le rendement exprimé en pourcentage a été calculé selon la formule suivante :

$$R(\%) = \frac{PES}{PE} \times 100$$

**R(%)** : Rendement en pourcentage

**PES** : poids de L'extrait sec (g)

**PE** : poids de l'échantillon (poudre) (g)

## 3.2. Screening photochimique

### 3.2.1 Analyse qualitative

#### 3.2.1.1. Les flavonoïdes

10 gouttes d'acide chlorhydrique (HCL) concentré et quelques milligrammes de tournures de magnésium(Mg) sont ajoutés à 0,5 ml de chaque extrait. Après trois minutes d'incubation à température ambiante, apparaitre La coloration rose-rouge ou jaune qu'indique la présence des flavonoïdes (**Haddouchi et al., 2016**).

#### 3.2.1.2. Les alcaloïdes

A quelques gouttes d'extrait, on ajoute 2 gouttes de réactif de Wagner à côté du tube à essai. Un précipité brun rougeâtre confirme que le test est positif (**Karthikeyan et Vidya , 2019**).

#### 3.2.1.3. Les protéines

La solution à tester a été traitée avec une solution à 10% d'hydroxyde de sodium et deux gouttes de solution à 0,1% de sulfate de cuivre et a été observée pour la formation d'une couleur violette / rose (**Karthikeyan et Vidya, 2019**).

#### 3.2.1.4. Les acides aminés

Deux gouttes de solution de ninhydrine (10 mg de ninhydrine dans 200 ml d'acétone) a été ajouté à 2 ml de filtrat aqueux. la présence d'acides aminés était indiquée par la présence d'un couleur pourpre (**Sujatha et Sekar, 2009**).

**3.2.1.5. Les glucides**

A quelques gouttes d'extrait, on ajoute 2 ml de réactif de Fehling. Le mélange est bien agité et bout pendant 5 minutes. Un précipité rouge brique indique la présence de sucre (Karthikeyan et Vidya, 2019).

**3.2.1.6. Les Tannins**

La présence des tannins est mise en évidence en ajoutant à 1 ml de chaque extrait, 1 ml d'eau et 1 à 2 gouttes de solution de FeCl<sub>3</sub> diluée à 1% (EL-Haoud *et al.*, 2018).

- L'apparition d'une coloration verte foncée ou bleu verte indique la présence des tanins.

- L'apparition d'une coloration verte foncée indique la présence des tanins catéchiques.

L'apparition d'une coloration bleu-verte indique la présence des tanins galliques.

**3.2.1.7. Les Saponines**

Dans une série de 10 tubes à essai numérotés de 1 à 10, introduire respectivement 1, 2,3,...,10ml de la solution extrait (aqueux, hydro-alcoolique). Ajuster le volume de chaque tube à 10 ml avec de l'eau distillée. Agiter chaque tube pendant 15 secondes. Laisser reposer 15 min et mesurer la hauteur de la mousse produite dans chaque tube (Athira *et al.*, 2019).

L'indice de la mousse est calculé par la formule :

$$I = \text{hauteur de la mousse} \times 10 / 0.09$$

**3.2.1.8. Les Composés phénoliques (test FeCl<sub>3</sub>)**

Le filtrat (50 mg) est ajouté dans 5 ml d'eau distillée. On ajoute quelques gouttes de solution de chlorure ferrique (FeCl<sub>3</sub>) inactif à 5%. Les composés phénoliques étaient indiqués par la présence d'une couleur vert foncé (Sujatha et Sekar, 2009).

**3.2.1.9. Détection des terpénoïdes et stéroïdes**

Dans un tube à essai, à une petite quantité de l'échantillon solide, ont été ajoutés 5 ml de solution de chloroforme traités avec quelques gouttes d'H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentré et 2 ml d'anhydride acétique. La couleur verte montre la présence de composés de type stéroïde et terpénoïde (Sujatha et Sekar, 2009).

### 3.2.1.10. Les substances quinoniques

Quelques gouttes d'extrait ont ajouté à 5 ml de HCl. La formation de précipité jaune indique la présence de quinone (N'guessan *et al.*, 2009).

## 3.2.2. Analyse quantitative

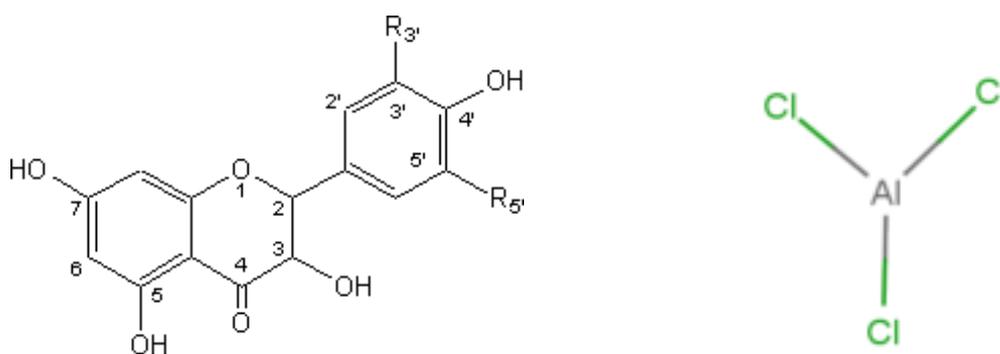
### 3.2.2.1. Dosage des flavonoïdes

La quantification des flavonoïdes a été basée sur la formation d'un complexe entre le chlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ) et les atomes d'oxygène présent sur les carbones 4 et 5 des flavonoïdes (Ali-Rachedi *et al.*, 2018).

La méthode du trichlorure d'aluminium est utilisée pour quantifier les flavonoïdes dans les différents extraits de la plante (Patel *et al.*, 2014).

Une quantité de 1 ml du l'extrait ajoutée à 1 ml de la solution d' $\text{AlCl}_3$ . Une heure après d'incubation à température ambiante, on lue l'absorbance à 430 nm.

La teneur en flavonoïdes a été calculée à partir d'une courbe d'étalonnage ( $y = ax + b$ ) réalisée par la quercétine à différentes concentrations (0-40  $\mu\text{g/ml}$ ) dans les mêmes conditions que les échantillons. Les résultats sont exprimés en microgramme d'équivalents de quercétine par milligramme d'extrait sec (mg EQ/g) (Hriri *et al.*, 1991).



**Figure 05:** La structure chimique du flavonoïde (a) et le chlorure d'aluminium (b).

### 3.2.2.2. Dosage des flavonols

Le dosage des flavonols est déterminé selon la méthode décrite par (Kosalec *et al.*, 2005 ; Adedapo *et al.*, 2008). Dans un tube à essai sont introduits: 0,3 ml d'extrait est mélangé avec 0,3 ml de chlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>) et 0,45 ml d'acétate de sodium, le mélange est vigoureusement agité, puis l'ensemble est incubé à l'ombre à la température ambiante pendant 40 minutes. L'absorbance est mesurée à 440 nm.

La quantification des flavonols se fait en fonction d'une courbe d'étalonnage réalisée par un flavonoïde standard : la quercétine.

La teneur en flavonols est exprimée en milligramme d'équivalent de quercétine par gramme de poids sec de la plante (mg EQ/g).

### 3.3. Test de l'activité inhibitrice de l'activité enzymatique de l' $\alpha$ amylase

La technique utilisée dans le cadre de ce travail est selon la méthode Gupta *et al.* (2013). Au préalable deux solutions ont été préparées, à savoir la solution mère d'amidon à 1 % et la solution d'amylase à 1% dans le tampon phosphate 0,1 M à pH 7,2, les deux solutions sont conservées à une température de 4°C.

Le mélange réactionnel contient 2 ml du tampon phosphate, 1 ml de chacun des extraits (aqueux et hydro-ethanolique) à (10, 25, 50,100 mg/ml), et 1 ml d'amylase, 1 ml d'amidon sont ajoutés. Le mélange est incubé pendant 1 heure.

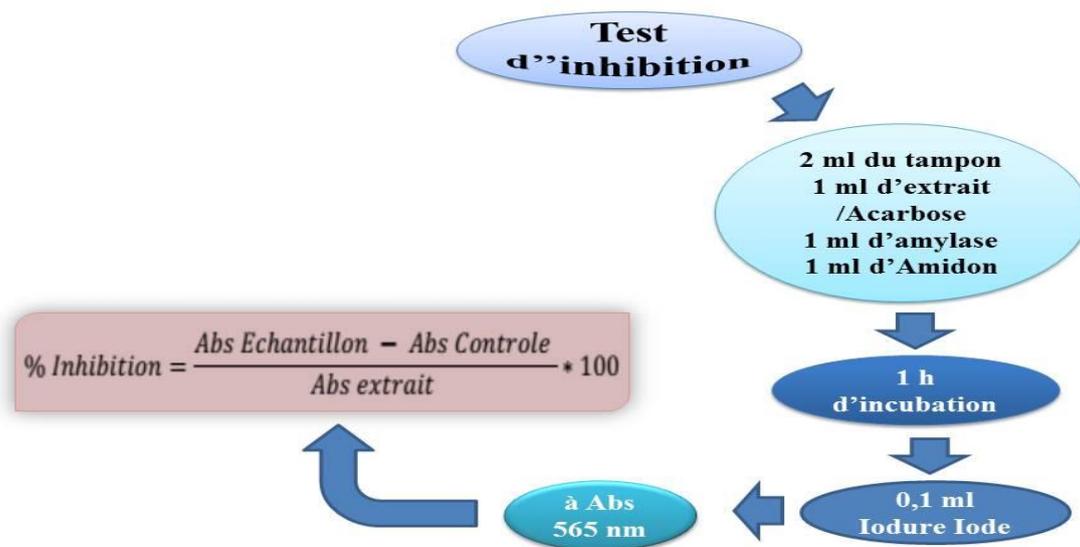
La réaction enzymatique est arrêtée par l'ajoute de 0.1 ml de l'indicateur iodure iodé. Toutes les expériences ont été réalisées dans triples. Absorbance a été mesurée à 565 nm.

L'activité inhibitrice de chaque extrait est calculée selon la formule suivante :

$$\% \text{ Inhibition} = \frac{\text{Abs Echantillon} - \text{Abs Controle}}{\text{Abs extrait}} * 100$$

Abs contrôle : l'absorbance du contrôle réaction (contenant tous les réactifs sauf Echantillon testé)

Abs échantillon : l'absorbance de l'échantillon testé.



**Figure 06 :** Illustration des étapes du test de l'activité inhibitrice de l'activité enzymatique de l' $\alpha$  amylase.

### 3.4. Test de l'effet des extraits du *P. granatum* sur l'absorption de glucose par la levure

Les cellules de levure ont été préparées selon le procédé de **Sindhu et al.,(2013)** modifier. La levure de boulangerie commerciale (1g) a été lavée par centrifugation (4 200 t / min, 5 min) dans de l'eau distillée (5ml) jusqu'à ce que le liquide surnageant étaient clairs et une suspension à 10% (v / v) a été préparé dans de l'eau distillée. Différentes concentrations d'extraits de plantes (10 à 100 mg/ml) ont été ajoutées à 1 ml de solution de glucose (10, 25 et 50mg/ml) et incubés l'ensemble pendant 15 minutes à 37 ° C. La réaction a été démarrée en ajoutant 100  $\mu$ L de levure suspension suivie d'un vortex et d'une nouvelle incubation à 37 ° C pendant 60 min. Après 1heure, les tubes ont été centrifugés (2 500 t/min, 5 min) et le glucose a été estimé dans le surnageant par le réactif iodé (**Sinha et al., 2013**).

Metformine a été prise comme médicament antidiabétique standard utilisé. L'absorbance a été mesurée à 540 nm et toutes les expériences ont été effectuées en triple. Le pourcentage d'augmentation de l'absorption de glucose par les cellules de levure a été calculé à l'aide de la formule suivante (**Ukwubile et Odugu, 2018**) :

$$\text{Inhibition de l'absorption du glucose (\%)} = \frac{\text{Abs extrait} - \text{Abs controle}}{\text{Abs extrait}} * 100$$

Abs contrôle: l'absorbance de la réaction de contrôle (contenant tous les réactifs à l'exception de l'échantillon à tester).

Abs extrait : correspond à l'absorbance de l'échantillon à tester.



**Figure 07** : illustration des étapes du test de l'effet des extraits du *P. granatum* sur l'absorption de glucose par la levure

#### 4. Etude statistique

Les expériences ont été faites en triple, les résultats ont été présentés par la moyenne avec son écart type.

Les analyses de la variance ont été réalisées par le logiciel statistique XL Stat Pro 7.5.

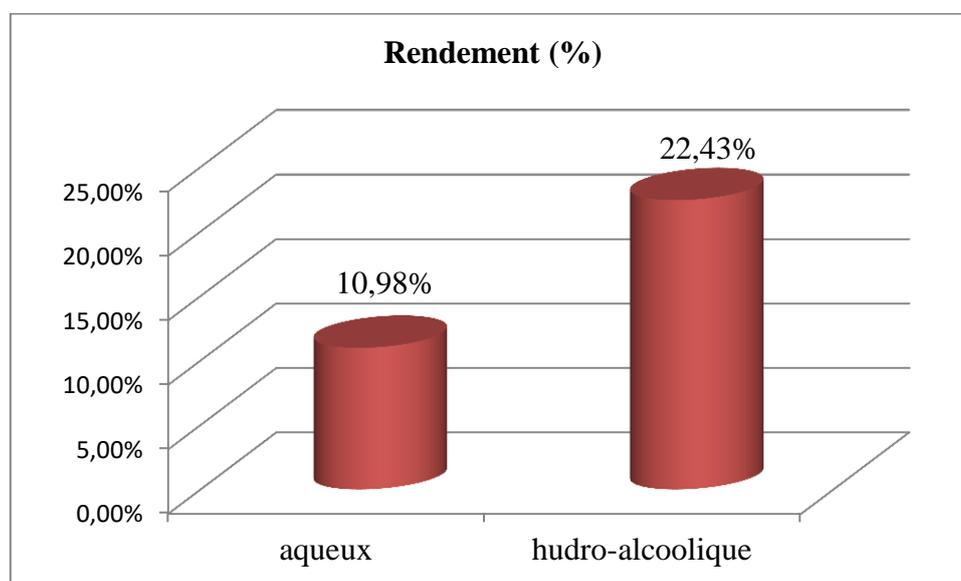
La détermination des taux de signification est effectuée par ANOVA suivie du test de Tukey. Les différences ont été considérées statistiquement significatives à  $P < 0,05$ .

## 1. Etude phytochimique du *P. granatum*

### 1.1. Rendement d'extraction

Le rendement désigne la masse de l'extrait séché, exprime en pourcentage par rapport à 100g de poudre de feuilles.

D'après les résultats obtenus, on peut déduire que la macération dans la solution hydro-alcoolique (éthanol/eau) permet d'obtenir un rendement plus élevés (22.43%) par rapport à la macération dans l'eau (10.98%) (**Figure 08**).



**Figure 08** : le rendement d'extraction des feuilles de *Punica granatum* L.

Nos résultats sont très élevés par rapport au rendement obtenu par **Gollapalle et al., (2016)**, qui ont trouvés des rendements de 12.52 et 7.41 % pour l'extrait hydro-alcoolique et l'extrait aqueux respectivement.

Le rendement se diffère d'une méthode à une autre et il est lié aux plusieurs conditions (génétiques, physiques, et climatiques), le séchage et la conservation.

Le rendement d'extraction dépend de plusieurs paramètres tels que: le solvant, le pH, la température, le temps d'extraction et la composition de l'échantillon. L'utilisation combinée de l'eau et du solvant organique peut faciliter l'extraction des substances chimiques qui sont solubles dans l'eau et/ou dans le solvant organique (**Quy-Diem et al., 2014**).

### 1.2. Analyses qualitatives

Le screening phytochimique a permis de détecter la présence des composés chimiques dans les deux extraits du *Punica granatum* étudié.

La présence de ces composés est confirmée soit par la formation de complexes insolubles en utilisant les réactions de précipitation, soit par la formation de complexes colorés, en utilisant des réactions de coloration (EL-Haoud et al., 2018).

D'après les résultats représentés dans le **tableau 05**, on peut constater que les tanins et les polyphénols sont très présents dans les extraits aqueux et hydro-alcoolique.

Les quinoniques et les acides aminés sont absents dans les deux extraits.

Pour les alcaloïdes et les protéines sont faiblement positives dans l'extrait aqueux et négatif dans l'extrait hydro-alcoolique.

La liqueur de Fehling indique une présence moyenne des glucides dans les deux extraits.

Pour les flavonoïdes, ils sont présents dans l'extrait hydro-alcoolique et absents dans l'extrait aqueux.

Les stérols et terpénoïdes sont fortement présents dans l'extrait hydro-alcoolique, et dans l'extrait aqueux est relativement faible.

Les saponines sont présentes dans l'extrait aqueux en forte teneur, tandis que ce qui est absent dans l'extrait hydro-alcoolique.

Tableau 05 : Les résultats de screening photochimique.

| Composants            | Réactifs  | Extrait aqueux | Extrait hydro-alcoolique |
|-----------------------|---|----------------|--------------------------|
| Quinoniques           | HCl   | -              | -                        |
| Flavonoïdes           | AlCl <sub>3</sub>   | -              | ++                       |
| Alcaloïdes            | Wagner  | +              | -                        |
| Protéines             | NaOH + SO <sub>4</sub> Cu <sup>+2</sup>                             | +              | -                        |
| Glucides              | Fehling   | ++             | ++                       |
| Tanins                | FeCl <sub>3</sub>   | +++            | +++                      |
| Tèrponoïde et stérols | Chloroforme<br>Anhydride acétique<br>H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> | +              | +++                      |
| Polyphénols           | FeCl <sub>3</sub>   | +++            | +++                      |
| Acides aminés         | Ninhydrine  | -              | -                        |
| Saponines             | Indice de la mousse   | ++             | -                        |

+++ : Une forte présence.

++ : Une présence moyenne.

+: une présence faible.

- : une présence nulle

Les résultats des analyses qualitatives sont partiellement en accord avec les résultats trouvés par **sreedevi et al., (2017)**, sauf : les alcaloïdes , les protéines et les saponines qu'ils ont trouvés dans l'extrait hydro-alcoolique et dans l'extrait aqueux ils ont enregistré la présence des saponines .

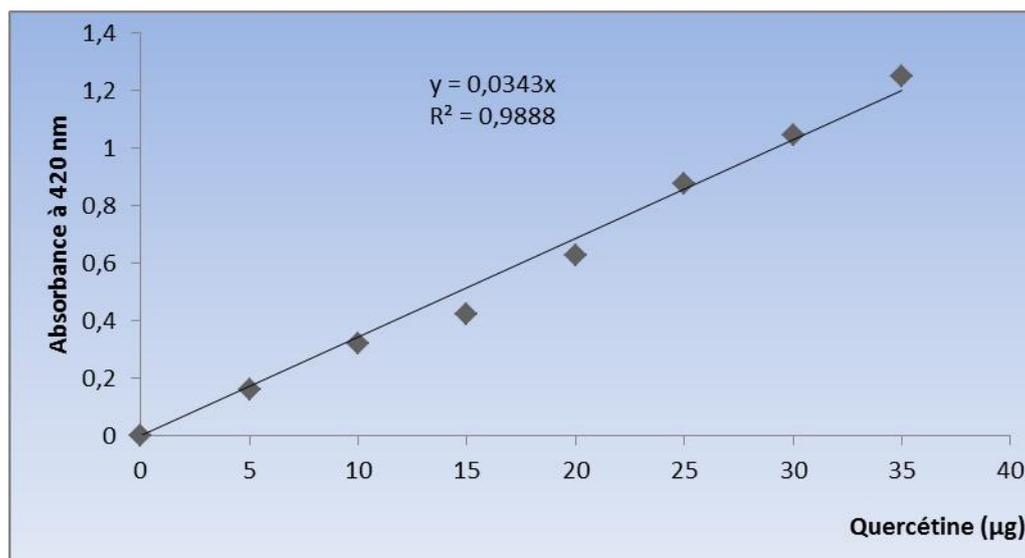
La présence des composés phénoliques diffère selon plusieurs facteurs endogènes et exogènes : par exemple les facteurs climatiques, génétiques, le stade de développement, le degré de maturation, la période de récolte, et la méthode d'extraction (**Aganga, 2001; Fiorucci, 2006**).

### 1.3. Analyses quantitatives

#### 1.3.1. Dosage des flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode de trichlorure d'aluminium.

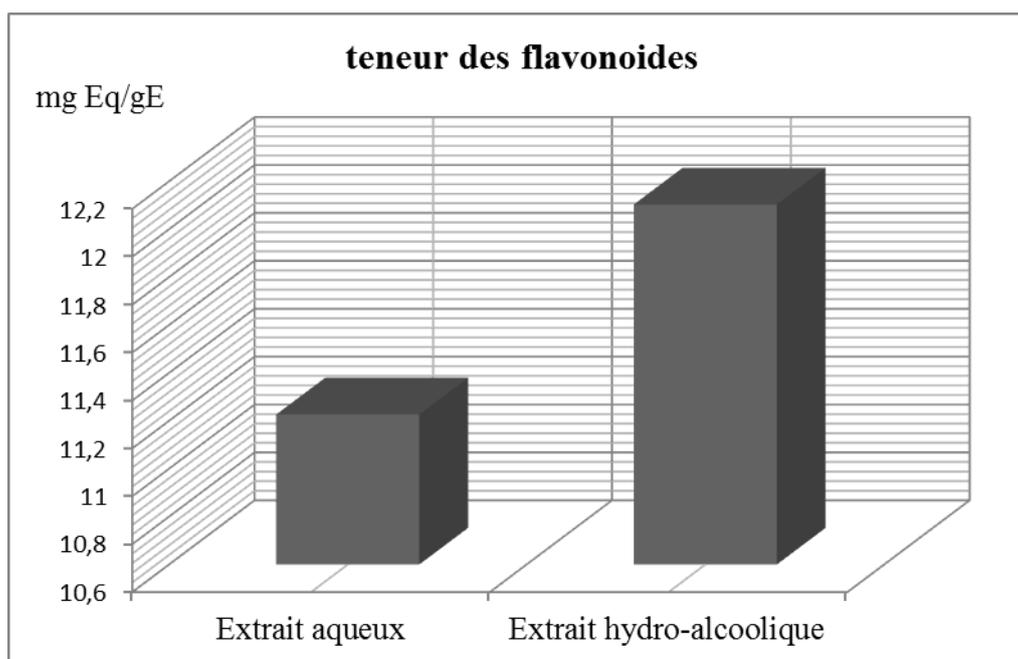
La teneur en flavonoïdes a été calculée à partir d'une courbe d'étalonnage ( $y = 0,0343x$ ) et  $R^2 = 0,9888$ , et exprimée en milligramme d'équivalent de Quercétine par gramme d'extrait (mg EQ/ g d'extrait).



**Figure 09** : courbe d'étalonnage des flavonoïdes.

Les résultats représentés dans la **figure 10** révèlent une richesse en flavonoïdes dans l'extrait hydro-alcoolique par rapport à l'extrait aqueux, Les concentrations sont de l'ordre de  $12,10 \pm 3,18$  mg EQ/g et  $11,23 \pm 1,26$  mg EQ/g respectivement.

D'après les analyses statistiques, il n'existe aucune différence significative entre l'extrait aqueux et l'extrait hydro-alcoolique ( $p > 0,05$ ).

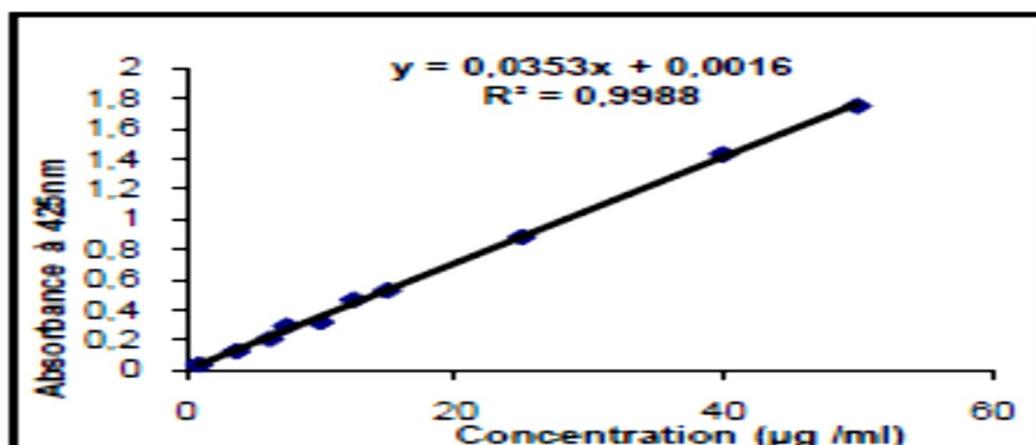


**Figure 10** : Teneur en flavonoïdes des extraits en mg EQ /g d'extrait.

Ces résultats ne conforment pas aux résultats obtenus par **Sreedevi et al., (2017)**, qui ont trouvés des concentration très élevés des flavonoïdes de  $66.3 \pm 1.25$  mg EQ/gE et  $77.26 \pm 0.8$  mg EQ/gE dans l'extrait éthanolique et l'extrait aqueux respectivement.

### 1.3.2. Dosage des flavonols

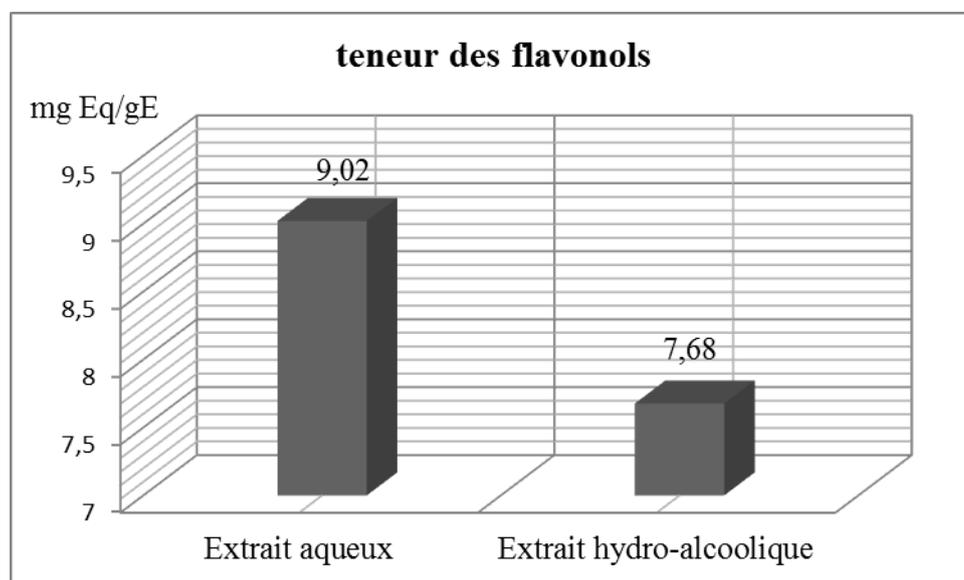
La teneur en flavonols dans les deux extraits de *Punica granatum* a été estimée en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée de la quercétine ( $y = 0.0353x - 0.0016$ ,  $R^2 = 0.9988$ ) (**Figure 11**), exprimées en mg équivalent Quercétine par gramme d'extrait sec (mg EQ/g).



**Figure 11**: Courbe d'étalonnage de la Quercétine (dosage des flavonols).

Le résultat obtenu indique que l'extrait aqueux est plus riche en flavonols par rapport à l'extrait hydro-alcoolique, avec des teneurs de  $9,20 \pm 2.8$  et  $7,68 \pm 0.6$  mg EQ/g d'extrait sec respectivement.

D'après les analyses statistiques, on a constaté qu'il n'y a pas une différence significative entre les deux extraits ( $p > 0.05$ ).



**Figure 12** : Teneur en flavonols des extraits en mg EQ/g d'extrait.

La quantité des composés phénoliques d'extrait de la plante étudiée, dépend de plusieurs facteurs qui contribuent à son efficacité : de leur origine, la variété, la saison de récolte, les conditions climatiques et environnementales, la localisation géographique, les différentes maladies qui peuvent affecter la plante, la maturité de la plante et la durée de conservation.

D'autres paramètres peuvent influencer significativement le taux et la nature des composés phénoliques à savoir le type de solvant d'extraction, la taille des particules et le temps d'extraction (Levizou et al., 2004).

## 2. Evaluation de l'activité antidiabétique des extraits *in vitro*

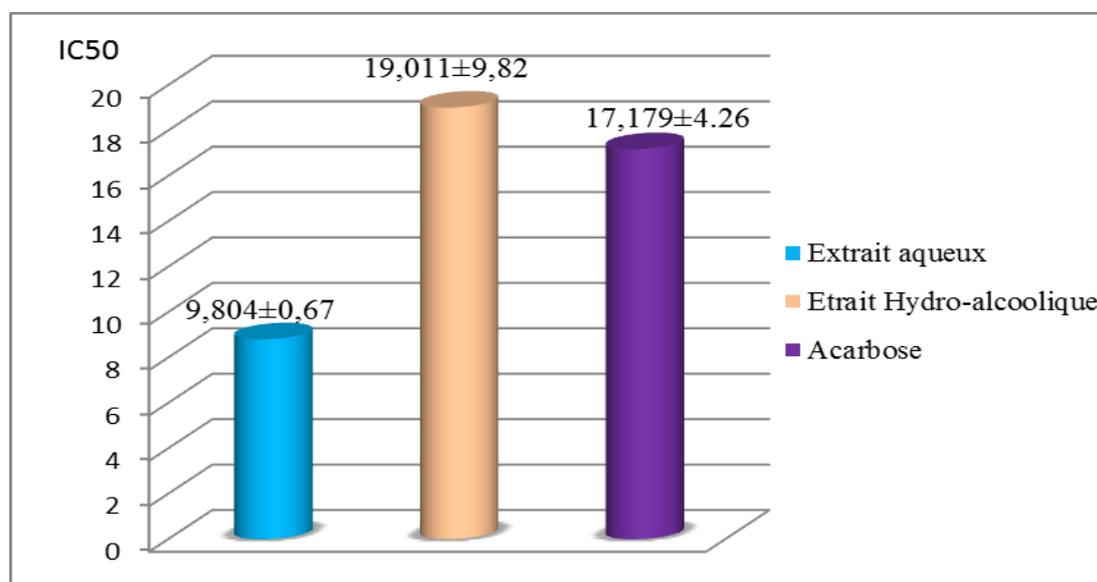
Dans la présente étude, l'évaluation de l'activité antidiabétique d'extraits de plantes étudiées sont estimées par deux méthodes : test de l'inhibition de l'enzyme  $\alpha$ -amylase et le test d'inhibition de l'absorption du glucose par la levure.

### 2.1. Test d'inhibition de l'enzyme alpha-amylase

Afin trouver des inhibiteurs naturels, Nous avons étudiés l'effet inhibitrice de l'extrait aqueux et hydro-alcoolique du feuille de *P. granatum* à différent concentration sur l'enzyme  $\alpha$  amylase.

Nous remarquons d'après les résultats trouvés (**figure 13**) et l'analyse statistique obtenus que l'extrait aqueux a montré une concentration inhibitrice de  $9,804 \pm 0.67$  mg/ml. Cette valeur est significativement inférieure ( $p < 0.05$ ) par rapport à ceux de L'Acarbose et l'extrait hydro-alcoolique, dont les IC50 trouvés sont de  $17,179 \pm 4.26$  et  $19,011 \pm 9.82$  mg/ml respectivement.

Par contre, il n'y a pas une différence significative entre l'IC50 de l'acarbose et l'IC50 de l'extrait hydro-alcoolique ( $p > 0.05$ ).



**Figure 13** : les valeurs des IC50 pour l'inhibition de l'enzyme  $\alpha$ -amylase.

Ces résultats d'inhibition ne sont pas en accord avec les résultats trouvés par **Antony et al., (2013)** ; **Ankita et al., (2014)** qu'ils ont enregistré des concentrations inhibitrices IC50 de 0.19 mg/ml et 0.65mg/ml avec les extrait aqueux et alcoolique respectivement.

Ce pouvoir inhibiteur peut être expliqué par le fait que l'extrait hydro-alcoolique et aqueux possèdent des composés portant des groupements fonctionnel proche de ceux du substrat qui est l'amidon, ce qui occupé le site actif de l'enzyme.

Les inhibiteur de l'alpha amylase d'origine naturel sont efficace pour empêcher prolongent le temps total de la digestion et l'absorption des glucides au niveau du tractus gastro-intestinal chez l'homme et donc minimiser le risque de l'hyperglycémie (**Antony et al., 2013**).

**Ankita et al.,(2014)** ont montré que l'extrait du *P .granatum* également réguler la glycémie post-pondérale par son effet inhibiteur sur l'  $\alpha$ -amylase.

Les flavonoïdes ont une haute valeur nutritive car ils font partie de notre régime alimentaire habituel, Cela pourrait s'expliquer par leur métabolisme rapide, leur élimination et leur biodisponibilité relativement faible (**Saritha, 2017**).

Les mécanismes réactionnelles de l'inhibition de l'enzyme  $\alpha$ -amylase reste pas clairement, mais il y a quelque études réaliser par **Sales et al., (2012)** et **Kandra et al., (2014)** montrent que les flavonoïdes et les tanins peuvent créer un changement conformationnels sur le site actif de l'enzyme en former un complexe entre ces dernières et l'enzyme ce qui inhibent leur activité biologique.

Le potentiel d'inhibition pour les flavonoïdes et les tanins sont corrélé avec le nombre de groupements hydroxyles dans leurs cycles B. Ces composés inhibent l' $\alpha$ amylase par la formation de liaison hydrogènes entre ses groupements hydroxyles et les résidus du site actif de cette enzyme (**Sales et al., 2012**).

Le  $\alpha$ -amylase a été efficacement inhibé par la Naringénine, le kaempferol, la lutéoline, l'apigénine, le catéchine, l'épicatchine, le diadzéine et les gallates d'épigallocalatéchines. (**Tadera et al., 2006**)

L'inhibition de cet enzyme a une forte option dans la prévention du diabète. Ainsi qu'ils existent des inhibiteurs synthétiques comme l'acarbose, la metformine...etc qui sont largement utilisés chez les diabétiques de type 2, mais ils ont beaucoup d'effets secondaires graves comme l'hépto-toxicité, les douleurs abdominales, maladies cardiovasculaires, maladies cérébrovasculaires et hypoglycémie (**Bhat et al., 2011**).

Tundis et al., (2010), montrent que certains plantes ont une activité inhibitrice enzymatique varié inclue les composés polyphénoliques qui extraites par différentes méthodes d'extraction et aussi par l'utilisation de différentes solvants.

## 2.2. Test d'inhibition de l'absorption du glucose par la levure

Ce test est réaliser pour étudier le pouvoir inhibitrice de l'absorption du glucose par la levure suspendues dans une solution de glucose de concentration variable (10, 25, 50 mg/ml) avec la présence des extraits aqueux et hydro-alcoolique des feuilles du *P. granatum* et la metformine aux différentes concentrations (10, 25, 50, 100 mg/ml).

La quantité du glucose restant dans la mélange réactionnel est sert un indicateur de l'absorption du glucose par la levure.

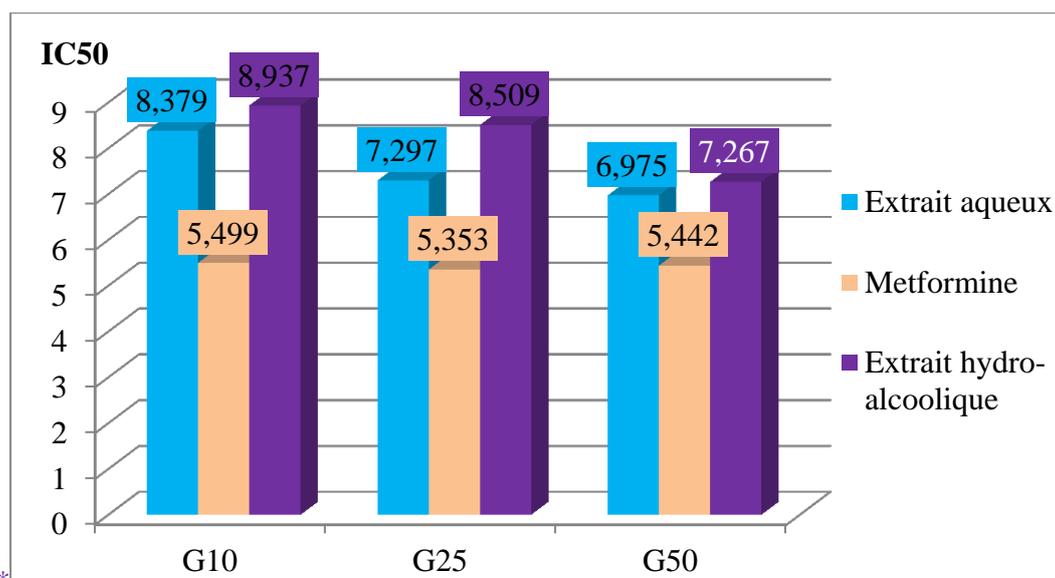
La diminution de l'absorption est un reflet pour la capacité de l'extrait à inhiber l'absorption du glucose par levure.

D'après les analyses statistiques, on constate qu'il n'y a pas une différence significative ( $p > 0.05$ ) entre les IC50 de l'extrait aqueux, de metformine et de l'extrait hydro-alcoolique dont les valeurs sont :  $8.379 \pm 2.4$ ;  $5.499 \pm 0.073$  et  $8.937 \pm 2.892$  mg/ml respectivement, avec la concentration 10 mg/ml du glucose.

Avec la concentration 25 mg/ml du glucose, il n'y a pas une différence significative ( $p > 0.05$ ) entre les IC50 de l'extrait aqueux, le metformine et l'extrait hydro-alcoolique dont les valeurs des IC50 sont :  $7.297 \pm 0.76$ ,  $5.353 \pm 0.11$  et  $8.509 \pm 2.94$  mg/ml successivement.

A la concentration 50 mg/ml du glucose, il y a une différence significative entre le metformine et les extraits ( $p < 0.05$ ), Tandis ce que il n'y a pas de différence significativement entre IC50 de l'extrait hydro alcoolique et IC50 de l'extrait aqueux avec ( $p > 0.05$ ). dont les valeurs des IC50 sont  $5.442 \pm 0.047$ ,  $7.267 \pm 0.644$ ,  $6.975 \pm 0.394$  mg/ml respectivement.

En fonction de ces résultats, le metformine montre une capacité d'inhibition élevé par rapport aux extrait aqueux et hydro-alcooliquere.



**Figure 14** : les valeurs des IC50 pour l'inhibition de l'absorption du glucose par la levure.

Le mécanisme de transport du glucose à travers la membrane cellulaire de levure a reçu une attention comme méthode de dépistage *in vitro* l'effet hypoglycémique des extraits des plantes médicinales.

Il est biologiquement plausible que la consommation de flavonoïdes ou des aliments riches en flavonoïdes peuvent réduire le risque de diabète en modulant l'absorption de glucose et la sécrétion d'insuline pour prévenir du diabète.

Le transport de glucose à travers la membrane cellulaire de levure se produit par diffusion facilitée, un mécanisme passif sans apport d'énergie, Le transport du glucose est continué si le glucose intracellulaire est efficacement réduit ou utilisé (Abirami et al., 2014).

Les données actuelles suggèrent que l'extrait de plante est capable de diminuer efficacement l'absorption du glucose. Il contrôlant ainsi le taux de glucose sanguin comme suggéré également par d'autres rapports. (Cletus et Jude, 2018)

Des travaux scientifiques montrent 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 (Oran et al., 2006).

Les composés phénoliques pourraient aider à retenir le glucose dans la lumière intestinale, En plus de l'adsorption du glucose, le retard dans la diffusion du glucose pourrait également être attribué à l'obstacle physique présenté par les particules de fibres vers les molécules de

glucose et au piégeage du glucose dans le réseau formé par les fibres. (**Pitchaipillai et Ponniah ,2016**)

Le calystégines agit sur l'absorption de glucose par un mécanisme compétitif à cause de leur analogie structurale avec le glucose, par contre aux flavonoïdes qui ont une capacité inhibitrice de l'absorption intestinale du glucose et monte que leur action pourrait être sur le transporteur GLUT 2 (**Oran et al., 2006 ; Biastoff et Drager, 2007**)

# Conclusion

## Conclusion

La médecine traditionnelle est très répondeuse depuis l'antiquité à nos jours, et les plantes l'un des moyens utilisés car elles représentent une source des substances et des composés bioactifs possédant des propriétés pharmaceutiques très importantes.

La préparation des extraits à partir des feuilles de *P. granatum* a montré que le rendement de l'extrait hydro-alcoolique est très important par rapport à l'extrait aqueux.

Le criblage photochimique de l'extrait de *P. granatum* a mis en évidence la présence de plusieurs composés polyphénoliques tels que les flavonoïdes, les tanins, les terpénoïdes et les stéroïdes.

Les analyses quantitatives des différents extraits affirment la richesse des feuilles de *Punica granatum* en composés phénoliques et plus particulièrement en flavonoïdes et flavonols qui ont été détectés par la méthode colorimétrique.

L'extrait aqueux a présenté une activité inhibitrice de l'activité enzymatique de l' $\alpha$ -Amylase élevée par rapport au standard (l'Acarbose) suivi par l'extrait hydro-alcoolique dont les valeurs des IC<sub>50</sub> sont  $9,804 \pm 0.67$  mg/ml,  $17,179 \pm 4.26$  mg/ml et  $19,011 \pm 9.82$  mg/ml respectivement.

Un effet inhibiteur important a été également noté sur l'absorption du glucose par la levure dont la capacité d'inhibition est plus importante avec le standard (metformine) suivi par l'extrait aqueux, et l'extrait hydro-alcoolique.

A la lumière de ces résultats, on peut déduire que cette activité est due à la richesse de la plante étudiée en polyphénols notamment les flavonoïdes et les tanins.

En perspective dans le cadre de valoriser les résultats, il est intéressant de :

- Tester l'effet de ces extraits *in vivo* sur l'hyperglycémie.
- Identification des composés de cet extrait Chromatographie, et HPLC.
- Étude plus approfondie pour élucider les mécanismes d'action mis en jeu et par lesquels les composés agissent sur l'hyperglycémie. Ceci nous permettra de connaître les plus actifs.

### Réafférences Bibliographiques

1. **Abd elkedir Khadîdja.,( 2004).** les marqueurs biologiques des complications du diabète sucre .thèse du magistère .université de Constantine 1.pp139
2. **Abirami, N., Natarajan, B., et Sagadevan, E., (2014).** Phytochemical investigation and *in vitro* evaluation of hypoglycemic potential of *Grewia hirsute*. *Int J Pharm Bio Sci.*, 5(1):76-83.
3. **Adeolu, A., Florence, O., Jimoh., Srinivas Koduru., Anthony, J .Afolayan., et Patrick, J Masika.,(2008).** Antibacterial and antioxidant properties of the methanol extracts of the leaves and stems of *Calpurnia aurea*. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 8:53 doi:10.1186/1472-6882-8-53.
4. **Ahmed, S., Wang, N., Hafeez, B., Cheruvu, V. K., et Haqqi, T. M., (2005).** *Punica granatum* L. extract inhib-its IL-1beta-induced expression of matrix metalloproteinases by inhibiting the activation of MAP kinases and NF-kappaB in human chondrocytes in vitro. *J of Nutrition*, 135: 2096–2102.
5. **Alberti, K. G. M. M., et Zimmet, P. F., (1998).** Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus. Provisional report of a who consultation. *Diabetic Medicine*, (15), 539-553.
6. **Ali-RACHEDI Fahima., Souad MERAGHNI., Nourhène TOUAIBIA., et Sabrina M., (2018).** Analyse quantitative des composés phénoliques d'une endémique algérienne *Scabiosa Atropurpurea sub. Maritima* L. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*, Vol. 87,p. 13 -21.
7. **Althunibat, OY., Al-Mustafa, AH., Tarawneh, K., Khleifat, KM., Ridzwan, BH., Qaralleh, HN.,(2010).** Protective role of *Punica granatum* L. peel extract against oxidative damage in experimental diabetic rats. *Process Biochemistry*. vol 45:581–585.
8. **AMOURETTI, M.C., COMET, G.,(1992).** Cahier d'histoire des techniques Des hommes et des plantes : plantes méditerranéennes, vocabulaire et usages anciens. Publications de l'université de Provence. 174 pages. Page 81.
9. **Amy,B., Doris, H., D'Souza., (2013).** The Pomegranate: Effects on Bacteria and Viruses That Influence Human Health. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*.

## Références Bibliographiques

10. André Grimaldi., Agnès Hartemann-Heurtier., Jacqueminet, S., Bosquet, F., Masseboeuf, N., Halbron, M., Sachon, C., (2009). Guide pratique du diabète .4 e édition. Elsevier Masson SAS. pp 313.

11. Ankita Niranjana Patel., Deepti Dinesh Bandawane., Nilam Kiran Mhetre., (2014). Pomegranate (*Punica granatum* Linn.) leaves attenuate disturbed glucose homeostasis and hyperglycemia mediated hyperlipidemia and oxidative stress in streptozotocin induced diabetic rats. European Journal of Integrative Medicine. dx.doi.org/10.1016/j.eujim.2014.03.009

12. Antony Kam., Kong, M.Li., Valentina Razmovski-Naumovski., Srinivas Nammi., Jeffrey Shi., Kelvin Chan., et George, Q. Li., (2013). A comparative study on the inhibitory effects of different parts and chemical constituents of pomegranate on  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase. Phytother. Res. 27: 1614–1620.

13. Athira Venu., Aneymol. VS., et Jerry Thomas., (2019). Preliminary phytochemical screening of crude methanolic extract of some ethnomedicinal plants used by Muthuvan tribe from Kulachuvayal tribal colony, Kanthalloor, Idukki district of Kerala. India. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry; 8(2): 1167-1171.

14. Baret, A., Jadot, G., Michelson, A. M., (1984). Pharmacokinetic and antiinflammatory properties in the rat of superoxide dismutases (Cu SODs and Mn SOD) from various species. Biochemical pharmacology. Biochemical Pharmacology, Vol. 33, No. 17, pp. 2755-2760.

15. Bekir Jalila., Mohamed Mars., Jean Pierre Souchard., Jalloul Bouajila., (2013). Assessment of antioxidant, anti-inflammatory, anti-cholinesterase and cytotoxic activities of pomegranate (*Punica granatum*) leave. Food and Chemical Toxicology 55 470–475.

16. Ben Abdennebi Mohamed Amine., (2012). Le grenadier tunisien (*Punica granatum*) stimule le transport de glucose dans les cellules musculaires C2C12 via la voie insulino-dépendante de l'Akt et la voie insulino-indépendante de l'AMPK. thèse. Université de Montréal.

17. Ben Djabeur Salah., (2012). Evaluation du pouvoir antioxydant et antimicrobien des extraits végétaux (cas de la grenade *Punica granatum* L.) En vue de leur utilisation alimentaire. thèse. Ecole nationale supérieure agronomique El-Harrach Alger.

18. BenSaad, LA., Kim, KH., Quah, C.C., Kim, W.R., Shahimi, M., (2017). Antiinflammatory potential of ellagic acid, gallic acid and punicalagin A&B isolated from *Punica granatum*., Complementary and Alternative Medicine; vol17,17:47

## Références Bibliographiques

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

20. **Braidy, N., Selvaraju, S., Essa, M. M., Vaishnav, R., Al-Adawi, S., Al-Asmi, A., AlSenawi, H., Alobaidy, A.A., Lakhtakia, R., Guillemin, G.J., (2013).** Neuroprotective effects of a variety of pomegranate juice extracts against MPTP-induced cytotoxicity and oxidative stress in human primary neurons. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. vol2013. 12pages

21. **Buyschaert, M., Djrolo, F., Guenou, A., Abodo, J., Lokrou, A. V., (2016).** Preumont, Buyschaert B, Diop S.N (2016). La metformine revisitée et consolidée en 2016 : un point de vue consensuel de l’Afrique à l’Europe. *Médecine des maladies Métaboliques*, 10 : 151- 154.

22. **Chadli, R., Bouzid, A., Bouzid, Kh., Nader, H., (2015).** Bactericidal effect of aqueous extracts of the bark of the pomegranate (*Punica granatum* L.) on Bacteria. *European Journal of Molecular Biotechnology*, vol 7, no 1, p.4-11.

23. **Chahinez SANAA., (2013).** Effet de l’Irradiation sur les propriétés antioxydantes, antimicrobiennes et cytoprotectrices de l’écorce de *Punica granatum*. These doctorate. Université de Carthage.

24. **Christopher, H., Gibbons Roy Freeman.,(2015).** Treatment-induced neuropathy of diabetes: an acute, iatrogenic complication of diabetes, *Brain*, Volume 138, Pages 43–52.

25. **Cletus, A., Ukwubile., et Jude, A., Odugu., (2018).** Evaluation of antibacterial and *in vitro* antidiabetic activities of *Phyllanthus amarus* Linn. (phyllanthaceae) leaf ethanol extract. *J Bacteriol Mycol Open Access*, 6(4):254–258.

26. **David, M., Houston, J., Joachim, J., Stephen, P., Denyer Charles., Heard, M., (2017).** Potentiated virucidal activity of pomegranate rind extract (PRE) and punicalagin against Herpes simplex virus (HSV) when co-administered with zinc (II) ions, and antiviral activity of PRE against HSV and aciclovir-resistant HSV.

27. **de Nigris, F., Balestrieri, M.L., Williams-Ignarro, S., D'Armiento, F.P., Fiorito, C., Ignarro, L.J., et al.,(2007).** The influence of pomegranate fruit extract in comparison to regular pomegranate juice and seed oil on nitric oxide and arterial function in obese Zucker rats. *Nitric Oxide*. *Nitric Oxide* 17 ; 50–54.

## Références Bibliographiques

28. Dongdong Wang., Cigdem Özen., Ibrahim, M., Abu-Reidah., Sridevi Chigurupati., Jayanta Kumar Patra., Jaroslaw, O., Horbanczuk., Artur Józwik., Nikolay, T., Tzvetkov., Pavel Uhrin., et Atanas, G., Atanasov., (2018). Vasculoprotective Effects of Pomegranate (*Punica granatum* L.). *Frontiers in Pharmacology*. Volume 9 , Article 544.
29. Douaouri Nor El Houda., (2018). Contribution à une étude phytothérapeutique, antiinflammatoire et antioxydante du grenadier (*Punica granatum* L.) – Etude *in vivo*, thèse doctorat, Université Abdelhamid ibn Badis de Mostaganem.
30. DSA ,2017-2018., Bureau Statistique Agricole, AIN DEFLLA.
31. Eddouks, M., Maghrani, M., Louedec, L., Haloui, M., Michel, J.B., (2007). Antihypertensive activity of the aqueous extract of *Retama raetam* Forssk. leaves in spontaneously hypertensive rats. *J.Herb Pharmacother*. 7(2):65-77.
32. Eleonora Turrini., Lorenzo Ferruzzi., et Carmela Fimognari., (2015). Potential Effects of Pomegranate Polyphenols in Cancer Prevention and Therapy. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. Volume 2015, Article ID 938475, 19 pages.
33. Elodie Wald., (2009). Le grenadier *Punica granatum* : Plante historique et évolution thérapeutique récentes, thèse , Université Henri Poincare.
34. EPSD. Équipe de professionnels de la santé de Diabète Québec (2014) . <https://www.diabete.qc.ca/fr/comprendre-le-diabete/tout-sur-le-diabete/symptomes>
35. Esmailzadeh, A., Tahbaz, F., Gaieni, I., Alavi-Majd, H., Azadbakht, L., (2006). Cholesterollowering effect of concentrated pomegranate juice consumption in type II diabetic patients with hyperlipidemia. *Int J Vitam Nutr Res*. *Int. J. Vitam. Nutr. Res.*, 76 (3), 147–151.
36. Fagot-Campagna Anne., Isabelle Romon., Sandrine Fosse., Candice Roudier., (2010). Prévalence et incidence du diabète, et mortalité liée au diabète en France – Synthèse épidémiologique. *Institut de veille sanitaire* 1-11.
37. Friedlander, G., Bouvier, M., (2005). Syndrome métabolique: quelle définition pour quel(s) traitement(s) ?. *Médecine sciences*. 21(12): 1045-1053.
38. Ghazaleh Moghaddam., Mohammad Sharifzadeh., Gholamreza Hassanzadeh., Mahnaz Khanavi., Mannan Hajimahmoodi., (2013). Anti-Ulcerogenic Activity of the Pomegranate Peel (*Punica granatum*) Methanol Extract. *Food and Nutrition Sciences*, 4, 43-48.

## Références Bibliographiques

39. **Goldenberg, R., et Punthakee, Z., (2013).** Canadian Diabetes Association. Clinical Practice Guidelines for the Prevention and Management of Diabetes in Canada: Definition, classification and diagnosis of diabetes, Prédiabète and metabolic syndrome. Canadian, Journal of Diabetes, 37, 8-11.
40. **Goli, A. H., Barzegeer, M., et sahari, M.A., (2005).**Antioxidant activity and total phenolic compounds of pistachio (*pistachia Vera*) hull extracts. Food chemistry.92:521-525.
41. **Guillausseau, P.J., (2003).** Vivre et comprendre : le diabète de type 2. Ellipses Edition Marketing. Paris.
42. **Guillausseau, P.-J., Laloi-Michelin, M.,(2003).** Physiopathologie du diabète de type 2 Pathogenesis of type 2 diabetes mellitus . La Revue de Médecine Interne. Vol 24, Issue 11, Pages 730-737.
43. **Haddouchi,F., Chaouche, T.M., et Halla, N., (2016).**Screening phytochimique, activités antioxydantes et pouvoir hémolytique de quatre plantes sahariennes d'Algérie. Phytothérapie. DOI 10.1007/s10298-016-1086-8. 12pages .
44. **Hariri, E. B., Salleet, G., Andary, C.,(1991).** Involvement of flavonoids in the resistance of two poplar cultivars to mistletoe (*Viscum album L.*), Protoplasma, 162, 20-26.
45. **Hmid Ilham.,( 2013).** Contribution à la valorisation alimentaire de la grenade marocaine (*punica granatum l.*) : caractérisations physicochimique, biochimique et stabilité de leur jus frais , thèse , Université d'Angers France.
46. **IDF .,(2017).** Diabetes in MENA, <https://www.idf.org/our-network/regionsmembers/middle-east-and-north-africa/members/167-algeria.html>.
47. **INRAA .,(2006)** . Deuxième rapport national sur l'état des ressources phytogénétiques.
48. **Jafri, MA., Aslam, M., Javed, K., Singh, S.,(2000).** Effect of *Punica granatum* Linn. (flowers) on blood glucose level in normal and alloxan-induced diabetic rats. Journal of ethnopharmacology. Vol 70. 309-314.
49. **Jean-Louis Schlienger., (2013).** Complications du diabète de type 2 Type 2 diabetes complications . La Presse Médicale. Volume 42, numéro 5 , pages 839-848.
50. **Jianjun Xu., Yongxin Zhao., et Haji Akber Aisa., ( 2017).**Anti-inflammatory effect of pomegranate flower in lipopolysaccharide (LPS)-stimulated RAW264.7 macrophages. PHARMACEUTICAL BIOLOGY, VOL. 55, NO. 1, 2095–2101.
51. **Jijith, U.S., et Jayakumari, S., (2017).** Recent advances and methodes for *in vitro* evaluation of antidiabetic activity: A review. Int. J. Res. Ayurveda. Pharm. 8(1): 81-87.

## Références Bibliographiques

52. **Jurenka, J., (2008).** Therapeutic applications of pomegranate (*Punica granatum* L.): A review. *Altern Med Rev*, 13:128-144
53. **Kaci Meziane Zoubida., Driss Elothmani., et Lynda Boutekrabt Benhadja., (2015).** Morphological and physicochemical characteristics of three pomegranate cultivars (*Punica granatum* L.) grown in northern Algeria., *Fruits*, vol. 71(1), p. 17-26.
54. **Kaliyan Barathikannan., Babu Venkatadri., Ameer Khusro., Naif Abdullah Aldhabi., Paul Agastian., Mariadhas Valan Arasu., Han Sung Choi., et Young Ock Kim., (2016).** Chemical analysis of *Punica granatum* fruit peel and its *in vitro* and *in vivo* biological properties. *Complementary and Alternative Medicine* 16:264-274.
55. **Kanoun, K., Abbouni, B., Boudissa, S., Bouhafs, N., Seddiki, M., (2016).** Étude de l'activité des extraits de feuilles de *Punica granatum* Linn sur *Candida albicans* et *Rhodotorula* spp. *Phytothérapie* 14:5-16.
56. **Karthikeyan, G., Vidya, A. K., (2019).** Phytochemical analysis, antioxidant and antibacterial activity of pomegranate peel. *Life Science Informatics Publications* ,vol 5:218-231.
57. **Kartik, J., Salwe., Devender, O., Sachdev., Yogesh Bahurupi., Manimekalai Kumarappan., (2015).** Evaluation of antidiabetic, hypolipidemic and antioxidant activity of hydroalcoholic extract of leaves and fruit peel of *Punica granatum* L. in male (Wistar albino) rats. *Journal of Natural Science, Biology and Medicine* , Vol 6, 56-64.
58. **Kasimsetty, S.G., Bialonska, D., Reddy, M.K., Ma, G., Khan, S.I., Ferreira, D., (2010).** Colon cancer chemopreventive activities of pomegranate ellagitannins and urolithins. *J. Agric. Food Chem.* 58, 2180–2187.
59. **Khalil, E.A.M., (2004).** Antidiabetic effect of an aqueous extract of pomegranate (*Punica granatum* L.) peels in normal and alloxan diabetic rats. *The Egyptian Journal of Hospital Medicine* Vol., 16 : 92 – 99.
60. **Khan, J., Hanee, S., (2011).** Antibacterial properties of *punica granatum* peels . *International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology*, vol 2, 23-28.
61. **Kim, N.D., Mehta, R., Yu, W., Neeman, I., Livney, T., Amichay, A., Poirier, D., Nicholls, P., Kirby, A., Jiang, W., Mansel, R., Ramachandran, C., Rabi, T., Kaplan, B., Lansky, E., (2002).** Chemopreventive and adjuvant therapeutic potential of pomegranate (*Punica granatum*) for human breast cancer. *Breast Cancer Research and Treatment* 71: 203–217.

## Références Bibliographiques

62. Kosalec, I., Bakmaz, M., Pepeljnjak, S., et Vladimir-Knez, E.I.C.S., (2005). Flavonoid analysis and antimicrobial activity of commercially available propolis products, *Acta Pharm.* Vol 55; 423–430.
63. Kwon, Y.-I, E.,(2008). Apostolidis, K. Shetty .*In vitro* studies of eggplant (*Solanum melongena*) phenolics as inhibitors of key enzymes relevant for type 2 diabetes and hypertension. *Bioresource Technology* , vol 99 ;2981–2988.
64. Lansky, E.P., Harrison, G., Froom, P., Jiang, W.G., (2005). Pomegranate (*Punica granatum L.*) pure chemicals show possible synergistic inhibition of human PC-3 prostate cancer cell invasion across Matrigel. *Investigational New Drugs. Investigational New Drugs* 23: 121–122.
65. Levizou, E., Petroupoulou, Y., et Manetas, Y., (2004). Total carotenoid amount in crude twig extracts may be overestimated due to inference by high contents of coextracted phenolics. *Photosynthetica*, 42(2), 295-297.
66. Mahteme Haile Workneh., Gunnar Aksel Bjune., Solomon Abebe Yimer., (2017). Prevalence and associated factors of tuberculosis and diabetes mellitus comorbidity.
67. Mangesh Bhutkar., Satish Bhise., (2013). *In vitro* hypoglycemic effects of *Albizia lebbek* and *Mucuna pruriens* . *Asian Pac J Trop Biomed* ; 3(11): 866-870.
68. Mathie Tenenbaum., Amélie Bonfond., Philippe Froguel., Amar Abderrahmani., (2018). Physiopathologie du diabète, *Revue Francophone Des Laboratoires* (502) 26-32 .
69. Maynaude, B. Charpentier., (2006). S'entretainer en endocrinologie diabétologie. *Masson Ed* 2006, pp36-39.
70. Medina-Veraab, M., Sanchez-Tapiaa, L., Noriega-López, O., Granados-Portilloa, M., Guevara-Cruza, A., Flores-López, A., Avila Navaa, M.L., Fernándezc, A.R., Tovar, N., Torres., (2019). A dietary intervention with functional foods reduces metabolic endotoxaemia and attenuates biochemical abnormalities by modifying faecal microbiota in people with type 2 diabetes. *Diabetes and Metabolism* Vol 45, Issue 2, Pages 122-131.
71. Middha, S.K., Usha, T., Tripathi, P., et al., (2012). An *in vitro* studies on indigenous ayurvedic plants, having hypoglycemic activity. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease* 46-49.
72. Min, T.Z., Stephens, M.W., Kumar, P., et Chudleigh, R.A., (2012). Renal complications of diabetes, *British Medical Bulletin* 2012; 104: 113–127.

## Références Bibliographiques

73. Mohsen Marvibaigi., Neda Amini., Eko Supriyanto., Fadzilah Adibah Abdul Majid., Saravana Kumar Jaganathan., Shajarahtunnur Jamil., Javad Hamzehalipour Almaki., Rozita Nasiri., (2016). Antioxidant Activity and ROS-Dependent Apoptotic Effect of *Scurrula ferruginea* (Jack) Danser Methanol Extract in Human Breast Cancer Cell MDA-MB-231 . PLoS ONE 11(7), 36 pages.
74. Mori-Okamoto, J., Otawara Hamamoto, Y., Yamato, H., Yoshimura, H., (2004). «Pomegranate extract improves a depressive state and bone properties in menopausal syndrome model ovariectomized mice ».Journal of Ethnopharmacology, vol 92 ; 93–101.
75. N’guessan Koffi., Beugré Kadja., Guédé, N., Dossahoua Traoré., et Laurent Aké-Assi., (2009). Screening phytochimique de quelques plantes médicinales ivoiriennes utilisées en pays Krobou (Agboville, Côte-d’Ivoire). Sciences & Nature Vol. 6 N°1 : 1 - 15.
76. Nabil Qaid, M., Al-Hajj., Algabr, M.N., Hala Ayman Alyousef., Hafiz Rizwan Sharif., Riyadh Thabit., Waleed Aboshora., Al-Farga, A., Hongxin Wang., (2016). *In Vitro* and *in Vivo* Evaluation of Antidiabetic Activity of Leaf Essential Oil of *Pulicaria inuloides Asteraceae* . Journal of Food and Nutrition Research, 2016, Vol. 4, No. 7, 461-470.
77. Naczk, M., et Shahidi, F., (2006). Phenolic in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis. Journal of pharmaceutical and biomedical analysis.41:1523-1542.
78. NelsonAndrade., João, R., Araújo., Ana Correia-Branco., Jaqueline, V., Carletti Fátima Martel., (2017) .Effect of dietary polyphenols on fructose uptake by human intestinal epithelial (Caco-2) cells .vol36 ;429 – 439.
79. Neurath, A.R., Strick, N., Li, Y.Y., Debnath, A.K., (2005). *Punica granatum* (pomegranate) juice provides an HIV-1 entry inhibitor and candidate topical microbicide. Ann. N.Y. Acad. Sci. 1056: 311–327.
80. 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. 21(2):366-77.
81. Organisation mondiale de la santé., (1999). Definition,diagnosis and classification of diabete mellitus and its complication . Report of a WHO consultation (PDF) Geneve,66.
82. Organisation mondiale de la Santé., (2006).
83. Patel, M., Verma, R., & Srivastav, P., (2014). Antioxidant Activity of *Boerhavia diffusa* Extract. IJPPR, 6 (3): 598-605.

## Références Bibliographiques

- 84. Pitchaipillai, R., et Ponniah, T., (2016).** *In Vitro* Antidiabetic Activity of Ethanolic Leaf Extract of *Bruguiera Cylindrica* L. – Glucose Uptake by Yeast Cells Method. Revathi. Int. Biol. Biomed. J. Vol 2, No 4; 171-175.
- 85. Pospiech, T., Bocock, O., Douard, H., (2017)** .Activité physique et diabète. Arch Mal Coeur Vaiss Prat 21–24.
- 86. Preethi Madugula., Sudhakara Reddy., Jyothirmai Koneru., Atla Srinivasa Rao., Rayapureddi Sruthi., et Divya Teja Dalli., (2017)** .«Rhetoric to Reality» -Efficacy of *Punica Granatum* Peel Extract on Oral Candidiasis: An *in vitro* Study. Journal of Clinical and Diagnostic Research. Vol-11: 114-117.
- 87. Rachid Bengueddour.(2018).**, Screening phytochimique d'une plante medicinale: *Mentha spicata* L. Am. J. innov. res. appl. sci. 7(4): 226-233.
- 88. Ruis, A. R., (2015).** Pomegranate and the Mediation of Balance in Early Medicine. Gastronomica: The Journal of Critical Food Studies, vol 15, no 1, p. 22-33.
- 89. Shahin Gavanji., Behrouz Larki., Azizollah Bakhtari., (2014).** The effect of extract of *Punica granatum* var.pleniflora for treatment of minor recurrent aphthous stomatitis. integr med res 3 83–90.
- 90. Sindhu, S.Nair., Vaibhavi Kavrekar., Anshu Mishra., (2013).** Evaluation of *In Vitro* Anti diabetic Activity of Selected Plant Extracts. International Journal of Pharmaceutical Science Invention. Volume 2 , PP.12-19.
- 91. Sinha, S.K., Ahmad, I., & Gayathri, M., (2013).** Antidiabetic effect of Ethanol extracts of *Syzygium jambolanum* seed (*In Vitro*). Int. J. Drug. Dev. and Res. 5 (3): 187-191.
- 92. Sobiecki, J.F., (2014).** The intersection of culture and science in South African traditional Medicine. *Indo-Pacific Journal of Phenomenology*,14(1), 1-10.
- 93. Spichiger, R.-E., Savolainen, V., et al.(2004).** Botanique systématique des plantes à fleurs. Une approche phylogénétique nouvelle des Angiospermes des régions tempérées et tropicales. Editions Presses polytechniques et universitaires romandes.3<sup>ème</sup> édition. 413 pages.
- 94. Sreeja Sreekumar ., Hima Sithul ., Parvathy Muraleedharan ., Juberiya Mohammed Azeez., et Sreeja Sreeharshan., (2014).** Pomegranate Fruit as a Rich Source of Biologically Active Compounds. BioMed Research International, Vol 2014, 12 pages.
- 95. Stover, E., et Mercure, W., (2007).** the pomegranate a new look at the fruit of paradise . Hort.Sci , vol42:1088-1092.

## Références Bibliographiques

**96. Subramaniam Ramachandran., Aiyalu Rajasekaran., et Natarajan Adhirajan., (2013).** *In Vivo* and *In Vitro* Antidiabetic Activity of *Terminalia paniculata* Bark: An Evaluation of Possible Phytoconstituents and Mechanisms for Blood Glucose Control in Diabetes. ISRN Pharmacology. Article ID 484675, 10 pages.

**97. Sujatha, S., et Dr.Sekar, T., (2009).** Phytochemical screening and HPTLC method for phytochemical compounds present extracts of leaf and stem *Litsea laevigata* Gamble. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry* 8(2): 970-977.

**98. Türk, G., Sönmez, M., Aydin, M., Yüce, A., Gür, S., Yüksel, M., Aksu, E.H., Aksoy, H., (2008).** Effects of pomegranate juice consumption on sperm quality, spermatogenic cell density, antioxidant activity and testosterone level in male rats. *Clinical Nutrition*, vol 27, 289-296.

**99. Ukwubile, C.A., Odugu, J.A., (2018).** Evaluation of antibacterial and *in vitro* antidiabetic activities of *Phyllanthus amarus* Linn. (phyllanthaceae) leaf ethanol extract. *J Bacteriol Mycol Open Access* ;6(4):254–256.

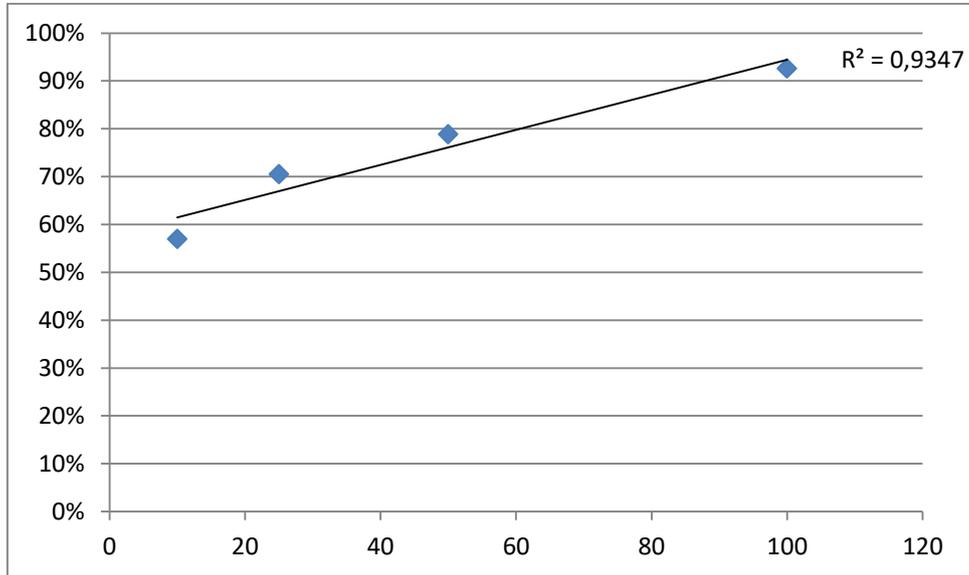
**100.Vahid Dastjerdi Elahe., Zahra Abdolazimi., Marzieh Ghazanfarian., Parisa Amdjadi., Mohammad Kamalinejad., Arash Mahboubi., (2014).** Effect of *Punica granatum* l. Flower water extract on five common oral bacteria and bacterial biofilm formation on orthodontic wire. *Iranian J Publ Health*, Vol. 43, No.12 , pp.1688-1694.

**101.Velayutham Dassprakash., Renganathan Arun., Suresh, K., Abraham., et Kumpati Premkumar., (2012).** *In vitro* and *in vivo* evaluation of antioxidant and antigenotoxic potential of *Punica granatum* leaf extract. *Pharmaceutical Biology*, 50(12): 1523–1530.

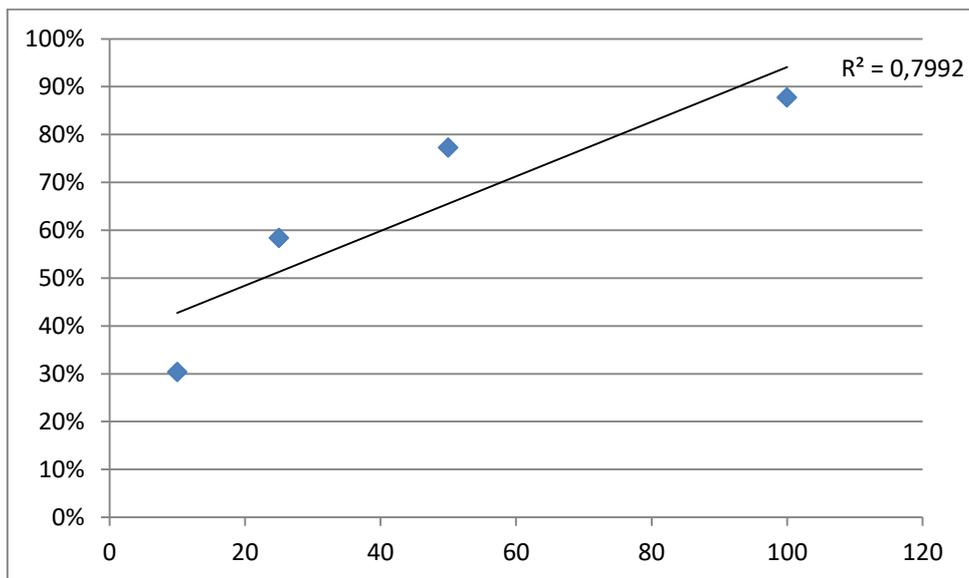
**102. Zeghad Nadia., (2018).** Evaluation des propriétés biopharmacologiques, standardisation chimique et valorisation des agro-ressources fonctionnelles cas de *Vitis vinifera*, *Punica granatum*, *Citrus aurantium* et *Opuntia ficus indica*. thèse. Université des frères Mentouri. Constantine 1.

# Annexes

## Annexes

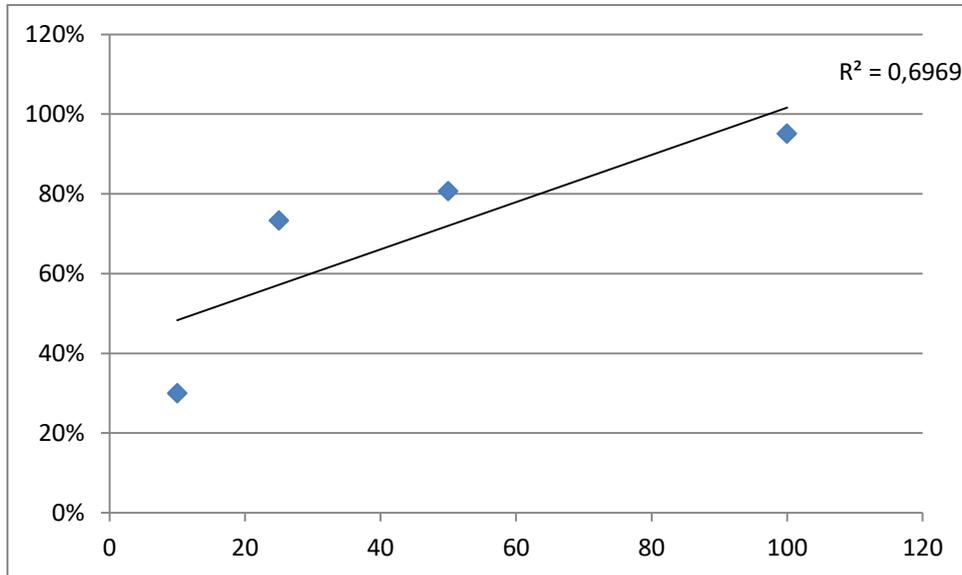


**Annexe 01 :** Courbe pour le calcul de l'IC50 pour l'inhibition de  $\alpha$ -amylase par l'extrait aqueux.

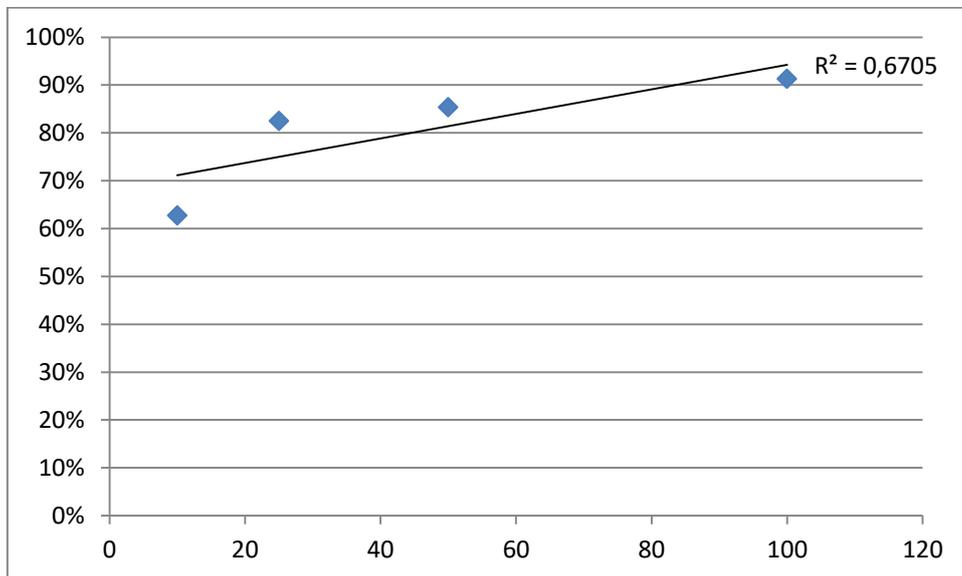


**Annexe 02 :** Courbe pour le calcul de l'IC50 pour l'inhibition de  $\alpha$ -amylase par l'extrait hydro-alcoolique.

## Annexes

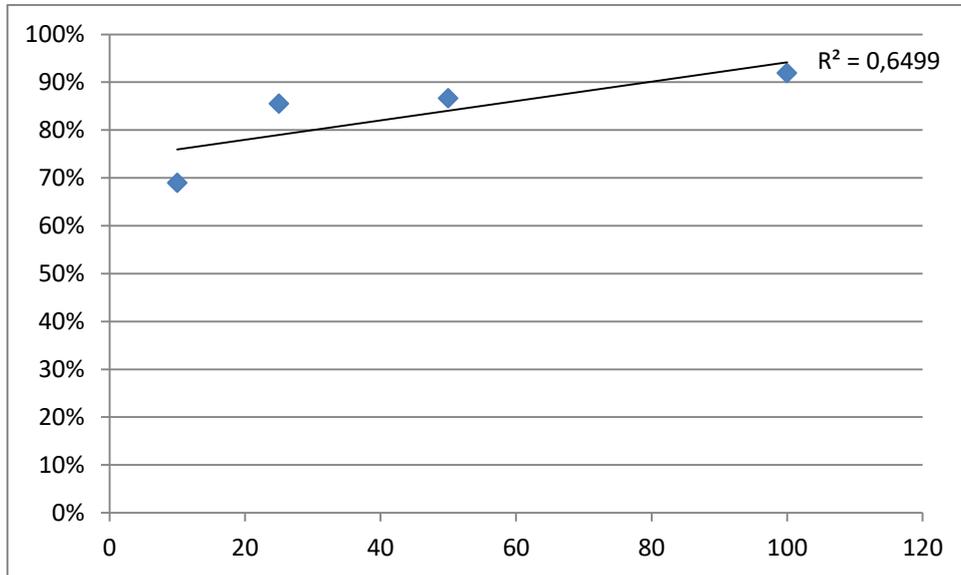


**Annexe 03 :** Courbe pour le calcul de l'IC50 pour l'inhibition de  $\alpha$ -amylase par l'Acrose.

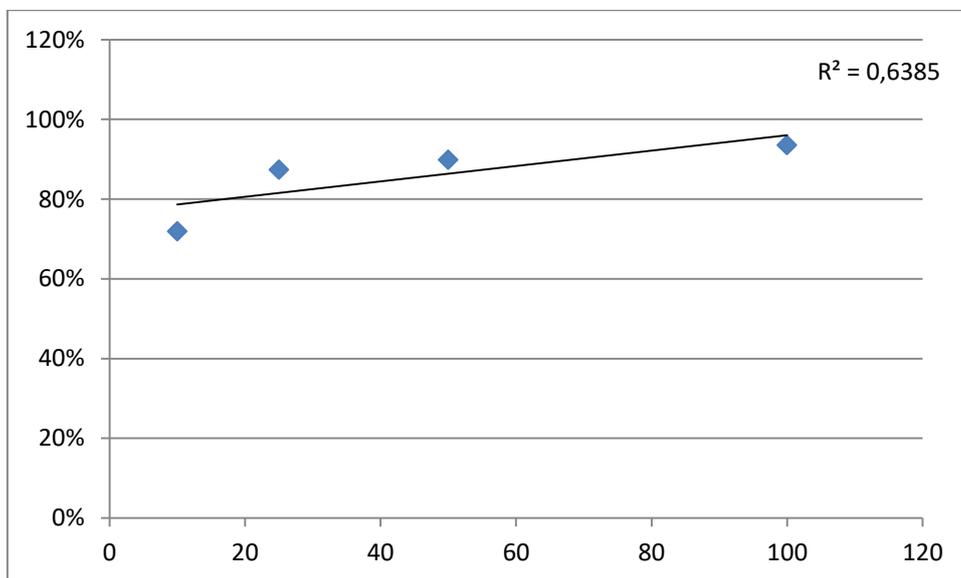


**Annexe 04 :** Courbe pour le calcul de l'IC50 pour l'inhibition de l'absorption du glucose par la levure par l'extrait aqueux (G10).

## Annexes

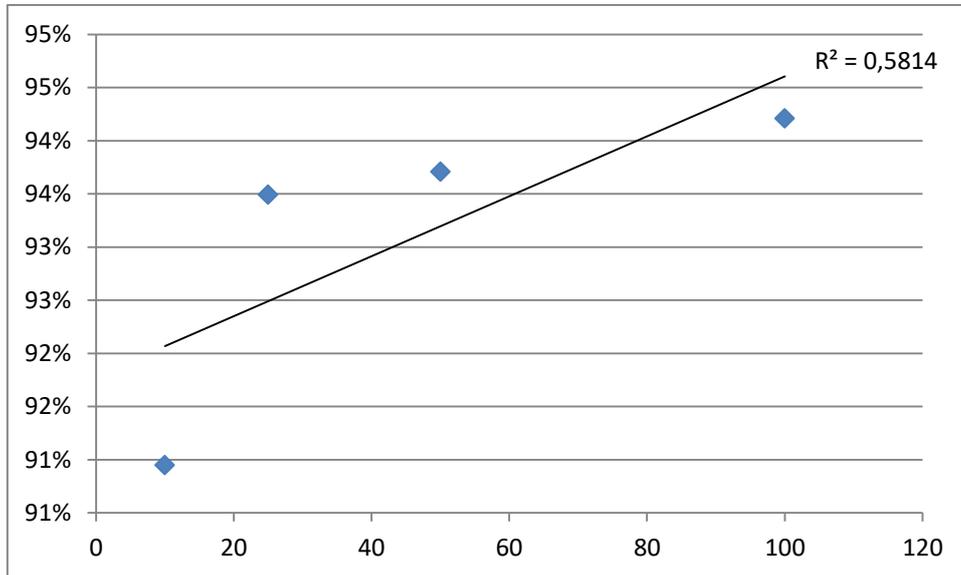


**Annexe 05 :** Courbe pour le calcul de l'IC50 pour l'inhibition de l'absorption du glucose par la levure par l'extrait aqueux (G25).

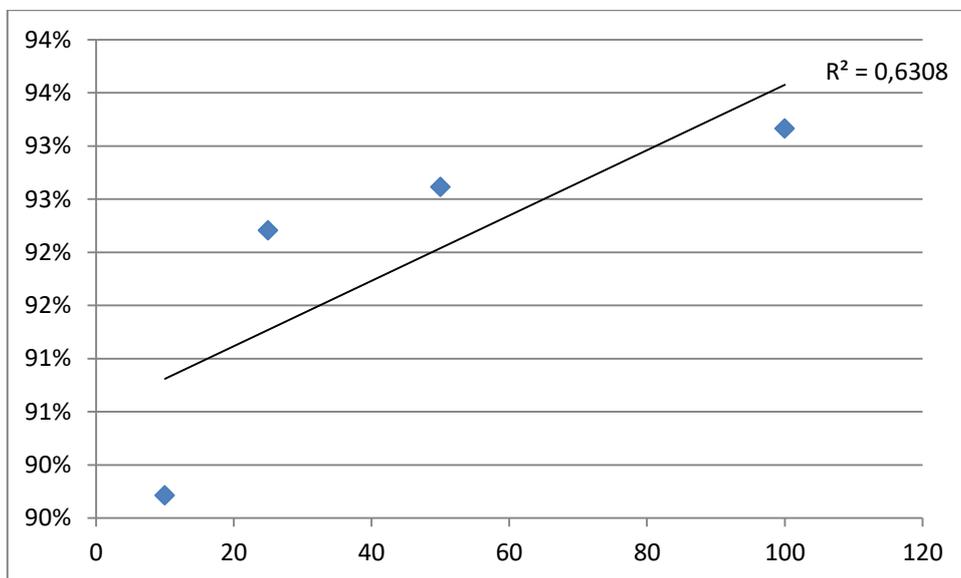


**Annexe 06 :** Courbe pour le calcul de l'IC50 pour l'inhibition de l'absorption du glucose par la levure par l'extrait aqueux (G50).

## Annexes

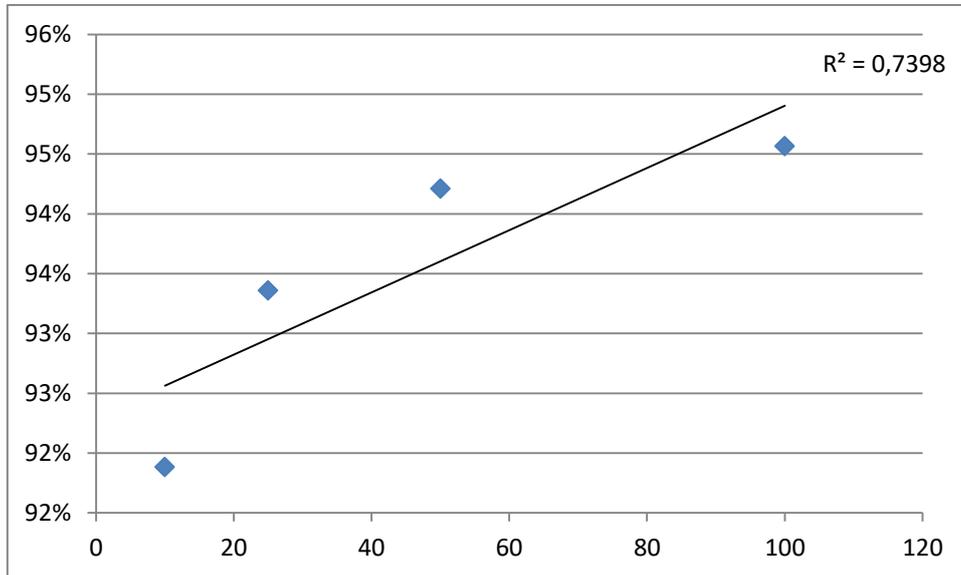


**Annexe 07 :** Courbe pour le calcul de l'IC50 pour l'inhibition de l'absorption du glucose par la levure par le Metformine (G10).

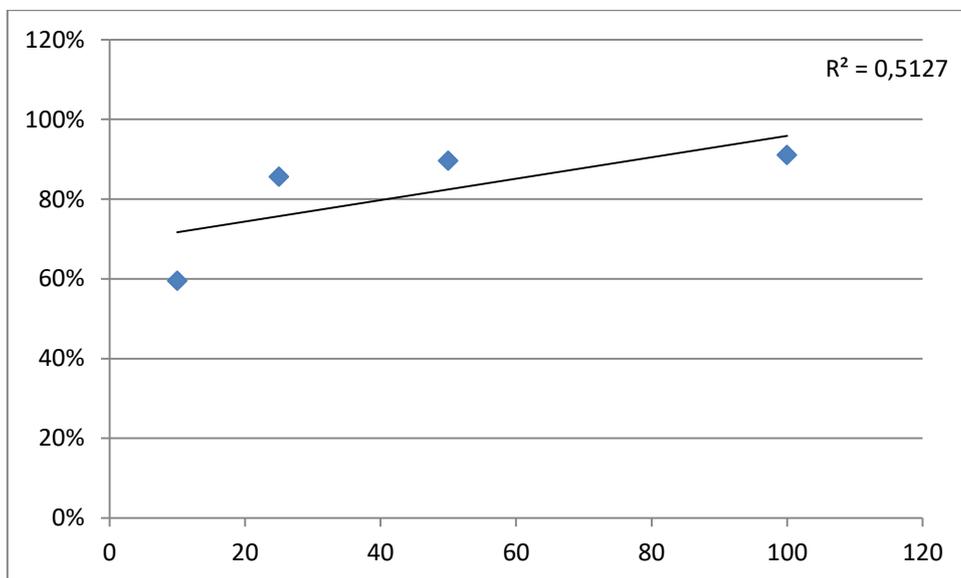


**Annexe 08 :** Courbe pour le calcul de l'IC50 pour l'inhibition de l'absorption du glucose par la levure par le Metformine (G25).

## Annexes

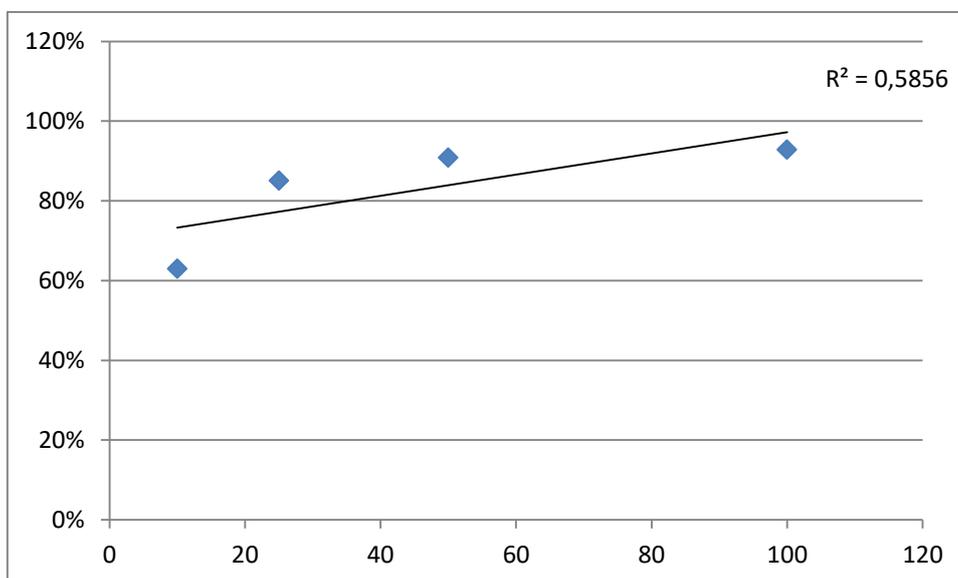


**Annexe 09 :** Courbe pour le calcul l'IC50 pour l'inhibition de l'absorption du glucose par la levure par le Metformine (G50).

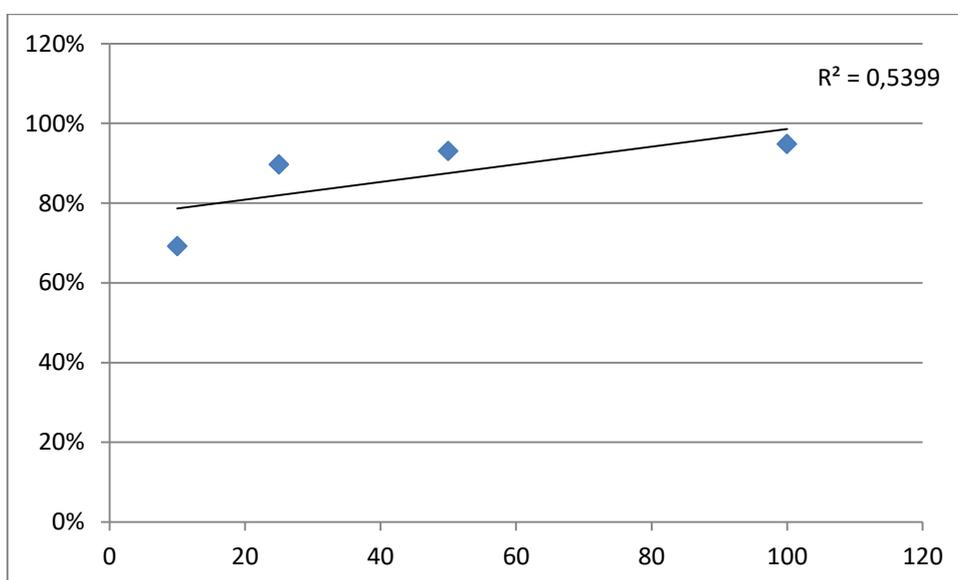


**Annexe 10 :** Courbe pour le calcul de l'IC50 pour l'inhibition de l'absorption du glucose par la levure par l'extrait hydro-alcoolique (G10).

## Annexes



**Annexe 11** : Courbe pour le calcul de l'IC50 pour l'inhibition de l'absorption du glucose par la levure par l'extrait hydro-alcoolique (G25).



**Annexe 12** : Courbe pour le calcul de l'IC50 pour l'inhibition de l'absorption du glucose par la levure par l'extrait hydro-alcoolique (G50).