

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم والبحث العلمي

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE UNIVERSITÉ ABDELHAMID BEN BADIS MOSTAGANEM

جامعة عبد الحميد بن باديس - مستغانم

UNIVERSITE ABD ELHAMID IBN BADIS MOSTAGANEM

FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE & DE LA VIE

DEPARTEMENT DE SCIENCES ALIMENTAIRES

THESE DE DOCTORAT 3ème Cycle (Doctorat LMD)

Domaine : Sciences de la Nature & de la Vie

Filière : Sciences Alimentaires

Spécialité : Physiologie de la Nutrition et Santé

THEME

**Etude ethno pharmacognosique, phytochimique et vertus
thérapeutiques de *Bunium incrassatum*.**

Présentée par : M^{me} MEKRAF Souheyla

Soutenue le.....2025, devant le jury:

Président : Pr. BOUZOUINA Mohammed

Université Abdelhamid Ibn Badis
de Mostaganem

Rapporteur de thèse : Pr. BOUFADI Mokhtaria Yasmina

Université USTHB d'Alger

Examinatrice : Dr. DERAMCHIA Nawel

Université Abdelhamid Ibn Badis
de Mostaganem

Examinatrice : Pr. MEZIANI Samira

Université Djillali Liabés de
Sidi Bel Abbés

Année universitaire : 2024-2025

Remerciements

Mes profondes gratitude et mes remerciements les plus respectueux, en premier lieu à l'Université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem, ainsi qu'au Laboratoire de Bioéconomie, de Sécurité Alimentaire et de Santé (LBSAS), pour m'avoir accordé l'opportunité de réaliser ce projet de recherche doctorale dans un cadre scientifique des plus enrichissants.

*Je tiens à exprimer ma plus sincère gratitude à ma directrice de thèse, **Pr. BOUFADI Mokhtaria Yasmina** de l'Université Houari Boumediene (USTHB) d'Alger, pour son soutien inestimable, ses conseils éclairés, ses encouragements constants et ses orientations précieuses tout au long de mon travail. Je la remercie sincèrement pour sa compréhension, la confiance qu'elle m'a accordée ainsi que pour les discussions scientifiques enrichissantes qui ont favorisé ma progression tout au long de ces années de recherche. Sa générosité, son expertise et son enthousiasme pour la recherche ont été une source d'inspiration inestimable. Je ne saurai jamais assez la remercier pour tout ce qu'elle a fait pour moi. Vous demeurerez toujours un modèle inspirant et un repère précieux dans mon parcours.*

*Nous sommes très honorées par la présence du **Pr. BOUZOUINA Mohammed** de l'Université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem dans notre jury comme Président. Je vous adresse mes vifs remerciements pour avoir accepté aimablement et sans hésitation notre invitation. Je vous exprime toute ma gratitude.*

*Mes plus profonds remerciements au **Dr. DERAMCHIA Nawel**, Maître de Conférences classe « A » à l'Université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem pour avoir accepté de juger mon travail.*

*Mes profonds remerciements sont aussi destinés au **Pr. MEZIANI Samira** de l'Université Djillali Liabés de Sidi Bel Abbés pour avoir examiné cette thèse et fait partie de mon jury.*

*Ma profonde gratitude au **Pr. KEDDARI Soumia** de l'Université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem. Votre contribution à ce travail a été déterminante. Je vous remercie sincèrement pour vos conseils avisés, vos connaissances approfondies et votre expérience qui m'ont soutenue dans de nombreuses occasions.*

Remerciements

*C'est avec un immense plaisir que je tiens à exprimer mes grands remerciements au **Dr. Abbessene Fatiha**, Maître de Conférences classe « A » à l'Université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem. Un grand merci pour l'enrichissement de notre article et pour vos orientations précieuses. Vous avez été pour moi un modèle de modestie et de rigueur professionnelle, et votre exemple m'a profondément inspiré.*

*Je remercie cordialement le **Dr. REBBOUH Farah**, Maître de Conférences classe «B» à l'Université d'USTHB d'Alger et Maître de Recherche au Campus Saint-Jean à Edmonton Alberta (Canada) pour son soutien, notamment les analyses biologiques effectuées.*

*Je suis particulièrement reconnaissante au **Dr. SEKKAL Fatima Zohra**, Maître de Conférences classe « B » à l'Université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem, pour l'identification botanique de la plante.*

*Mes vives gratitudee au **Pr. MEZIANE AHMED Malika**, à l'Université Hassiba Benbouali de Chlef, ainsi qu'à toute l'équipe du Laboratoire de Bio-Ressources Naturelles (LBRN) de Chlef, pour leur soutien indéfectible et leurs conseils éclairés tout au long de cette recherche.*

*Mes profonds remerciements au **Dr. NEDJARI BENHADJ ALI Kamal**, Maître de Conférences classe « B » à l'Université de Chlef, pour son investissement déterminant dans ce travail. Vos soutiens, conseils, connaissances et expérience ont été d'une aide précieuse tout au long de cette étude.*

*Il m'est agréable de remercier mes collègues **BENTAIBA Karima, ZAOUI Somia, TEHLEYTI Amina, HAMED Djahira, SBAIHIA Aïcha, BENATTOU Amel, DOUMA BOUTHIBA Zohra, MEHIRI Khayra et ATTOU Asma**, pour leurs aides, leurs soutiens et leurs disponibilités, ainsi que toutes les personnes ayant participé, de près ou de loin, à l'exécution de ce modeste travail.*

MEKRAF Souheyla

Dédicace

Je dédie ce travail particulièrement à **ma chère mère** et à tous ceux que j'aime...

Souheyla Mekraf

2025

Résumé

L'objectif de ce travail est de déterminer la composition chimique par HPLC/UV et d'évaluer l'effet anti-radicalaire, le pouvoir inhibiteur d'alpha-amylase et la capacité antilithiasique choléstérolique vésiculaire des extraits méthanoliques de la graine (EMG), de la tige (EMT) et de la racine (EMR) de *Bunium incrassatum*. Ainsi, de déterminer la dose létale médiane (DL₅₀) de l'extrait d'EMG et l'effet analgésique (une douleur induite par l'acide acétique 1%, *i.p.*) et anti-diabétique (un diabète induit par l'alloxane) d'EMG.

L'extrait EMG contient plus de composés phénoliques comme l'acide gallique, acide férulique, acide ellagique, quercétine, naringine, kaempférol, etc. Cet extrait a présenté des propriétés anti-radicalaires remarquables (CE₅₀ DPPH = 0.23 mg/mL; CE₅₀ ABTS = 0.40 mg/mL; CE₅₀ FRAP = 0.66 mg/mL et TAC = 55.10 mg EAA/g EMG), une inhibition notable *in vitro* de l'alpha-amylase à 1 mg/mL avec CI₅₀ = 0.77 mg/mL et 80.24%, similaire à celle obtenue par la méthode de dispersion sur disque d'agar (84.17%) et un faible taux d'hydrolyse (15.83%), et un fort effet anti-lithiasique vésiculaire du cholestérol, semblent être dus à son contenu phénolique élevé (PT = 70.80 mg EAG/g EMG, FT = 18.44 mg EQ/g EMG).

Aucun changement de comportement ou de mortalité n'a été constaté durant les 14 jours dans les groupes expérimentaux testés avec des doses allant de 250 à 8 000 mg/Kg. La DL₅₀ excède 8 000 mg/kg. Une augmentation marquée des contorsions abdominales a été induite par l'acide acétique.

En outre, une thérapie de 30 jours de 200 mg/kg d'EMG a restauré l'équilibre hormonal thyroïdien et réparé les lésions engendrées par la thyroxine (600 µg/kg).

En fin, l'administration de cet extrait de même dose pendant 59 jours aux rats diabétiques a permis de normaliser les marqueurs biochimiques et de réparer les dommages pancréatiques, hépatiques et rénaux causés par d'alloxane (150 mg/kg, *i.p.*).

L'extrait méthanolique des graines de *Bunium incrassatum* a des vertus thérapeutiques, notamment antioxydantes, antilithiasiques choléstéroliques vésiculaires, inhibitrices d'enzyme digestive (alpha-amylase), analgésiques, hypoglycémiques et hypothyroïdiennes.

Mots clés : *Bunium incrassatum*, HPLC/UV, effet anti-radicalaire, alpha-amylase, toxicité aigüe, effet anti-diabétique, effet analgésique, capacité antilithiasique.

Abstract

The aim of this work is to determine the chemical composition by HPLC/UV and to evaluate the antiradical effect, the alpha-amylase inhibiting power, and the vesicular cholesterol antilithiasis capacity of the methanolic extracts of the seed (EMSE), stem (EMST), and root (EMRO) of *Bunium incrassatum*. Thus, to determine the median lethal dose (LD₅₀) of the EMSE extract and the analgesic (pain induced by 1% acetic acid, *i.p.*) and anti-diabetic (diabetes induced by alloxane) effect of EMSE.

EMSE extract contains more phenolic compounds such as gallic acid, ferulic acid, ellagic acid, quercetin, naringin, kaempferol, etc. This extract showed remarkable anti-free radical properties (EC₅₀ DPPH = 0.23 mg/mL ; EC₅₀ ABTS = 0.40 mg/mL ; EC₅₀ FRAP = 0.66 mg/mL, and TAC = 55.10 mg EAA/g EMSE), notable *in vitro* inhibition of alpha-amylase at 1 mg/mL with IC₅₀ = 0.77 mg/mL and 80.24%, similar to that obtained by the agar disc dispersion method (84.17%) and a low hydrolysis rate (15.83%), and a strong anti-vesicular cholesterol-lithiasis effect, appear to be due to its high phenolic content (PT = 70.80 mg EAG/g EMSE, FT = 18.44 mg EQ/g EMSE).

No change in behaviour or mortality was observed during the 14 days in the experimental groups tested with doses ranging from 250 to 8000 mg/Kg of MESE. The LD₅₀ exceeded 8000 mg/kg. A marked increase in abdominal contortions was induced by acetic acid.

In addition, a 30-day course of 200 mg/kg EMSE restored thyroid hormone balance and repaired the damage induced by thyroxine (600 µg/kg).

Finally, administration of this extract at the same dose for 59 days to diabetic rats normalised the biochemical markers and repaired the pancreatic, hepatic, and renal damage caused by alloxane (150 mg/kg, *i.p.*).

The methanolic extract of *Bunium incrassatum* seeds has therapeutic properties, including antioxidant, vesicular cholesterol antilithiasis, digestive enzyme (alpha-amylase) inhibitor, analgesic, hypoglycemic, and hypothyroid properties.

Key words : *Bunium incrassatum*, HPLC/UV, anti-free radical effect, alpha-amylase, acute toxicity, anti-diabetic effect, analgesic effect, antilithiasis capacity.

الملخص

الهدف من هذا العمل هو تحديد التركيب الكيميائي بواسطة HPLC/UV وتقييم التأثير المضاد للأكسدة وقوة تثبيط إنزيم ألفا-أميلاز والقدرة المضادة للكوليسترول الحويصلي لمستخلصات الميثانولي من بذور (EMG) وساق (EMT) وجذر (EMR) من بونيوم إنكراساتوم وهكذا، لتحديد الجرعة المميئة المتوسطة (LD₅₀) من مستخلص (EMG) والتأثير المسكن (الألم المستحث بحمض الأسيتيك بنسبة 1% عن طريق الحقن الوريدي) والمضاد للسكري (السكري المستحث بالألوكسان) لمستخلص (EMG).

ويحتوي مستخلص EMG على المزيد من المركبات الفينولية مثل حمض الغاليك وحمض الفيروليك وحمض الإيلاجيك والكيرسيتين والنارينجين والكايامفيرول وغيرها. وأظهر هذا المستخلص خصائص ملحوظة مضادة للجذور الحرة (EC₅₀ DPPH = 0.23 ملغم/مل؛ EC₅₀ ABTS = 0.40 ملغم/مل؛ EC₅₀ FRAP = 0.66 ملغم/مل و TAC = 55.10 ملغم EAA/غرام من EMG)، وتثبيط ملحوظ في المختبر لألفا-أميلاز عند 1 ملغم/مل مع IC₅₀ = 0.77 ملغم/مل و 80.24٪، مماثل لذلك الذي تم الحصول عليه بطريقة تثبيط قرص أجار (84.17٪) ومعدل تحلل مائي منخفض (15.83٪)، وتأثير قوي مضاد للكوليسترول الحويصلي يبدو أنه يرجع إلى محتواه الفينولي العالي (PT = 70.80 ملغم EAG/غرام EAG/غرام EMG، FT = 18.44 ملغم EQ/غرام EAG/غرام EMG).

لم يلاحظ أي تغيير في السلوك أو الوفيات خلال 14 يوماً في المجموعات التجريبية التي تم اختبارها بجرعات تتراوح بين 250 إلى 8000 ملغم/كجم وتجاوزت الجرعة المميئة النصفية 8000 ملغم/كجم. سجلت زيادة ملحوظة في التقلصات البطنية التي يسببها حمض الأسيتيك.

بالإضافة إلى ذلك، أدى إعطاء 200 ملغم/كجم من مستخلص 200 ملغم/كجم من هرمون الغدة الدرقية لمدة 30 يوماً إلى استعادة توازن هرمون الغدة الدرقية وإصلاح الأفات التي يسببها الثيروكسين (600 ميكروغرام/كجم).

أخيراً، أدى إعطاء هذا المستخلص بنفس الجرعة لمدة 59 يوماً للجرذان المصابة بالسكري إلى تطبيع العلامات الكيميائية الحيوية وإصلاح الأضرار البنكرياسية والكبدية والكلوية التي يسببها الألوكسان (150 مجم/كجم، حقن وريدي).

يتميز مستخلص الميثانولي من بذور البونيوم إنكراساتوم بخصائص علاجية، بما في ذلك مضادات الأكسدة، ومضادات الكوليسترول الحويصلي ومثبط الإنزيم الهضمي (ألفا-أميلاز)، ومسكن، ومضاد للسكر في الدم، ومضاد لخصائص قصور الغدة الدرقية.

الكلمات المفتاحية: بونيوم إنكراساتوم، HPLC/UV، تأثير مضاد للجذور الحرة، إنزيم ألفا-أميلاز، السمية الحادة، التأثير المضاد لمرض السكري، التأثير المسكن، القدرة المضادة للحويصلات.

Liste des abréviations

Abs : Absorbance.

Abs C : Absorbance de Contrôle.

Abs E : Absorbance d'Echantillon.

ABTS : Acide 2,2'-Azino-bis-3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique.

ABTS^{o+} : Acide 2,2'-Azino-bis-3-éthylbenzothiazoline-6 sulfonique.

AC : Acini.

ADN : Acide Désoxyribonucléique.

AG : Acide Gras.

AGL : Acide Gras Libre.

ADA : American Diabetes Association

ALAT : Alanine Aminotransférase.

AlCl₃ : Trichlorure d'aluminium.

AOH : Composé anti-radicalaire.

Ar : artère.

ASAT : Aspartate Aminotransférase.

ATP : Adénosine Triphosphate.

C : Colloïde.

Ca : Calcium.

Ca⁺² : Ions de calcium.

CB : Canal Biliaire.

CCPE : Calculs de Cholestérol de Poids Elevé.

CCPF : Calculs de Cholestérol de Poids Faible.

CCPM : Calculs de Cholestérol de Poids Moyen.

CE₅₀ : Concentration Effective Médiane.

CI₅₀ : Concentration Inhibitrice à 50%.

CO₂ : Dioxyde de carbone.

CT : Cholestérol Total.

DID : Diabète Insulino-Dépendant.

DL₅₀ : Dose Létale à 50 %.

DNID : Diabète Non Insulino-Dépendant.

DO : Densité Optique.

DPPH : 2,2-Diphényl-1-picrylhydrazyl.

Liste des abréviations

DPPH-H : 2,2-Diphényl-1-picrylhydrazine.

DNS : Acide 3,5-Dinitrosalicylique.

DT I : Diabète de Type I.

DT II : Diabète de Type II.

DNID : Diabète Non Insulino-Dépendant.

EAA : Equivalent Acide Ascorbique.

EAG : Equivalent Acide Gallique.

EGF : Epidermal Growth Factor.

EMG : Extrait Méthanolique de Graine.

EMR : Extrait Méthanolique de Racine.

EMT : Extrait Méthanolique de Tige.

EP : Espaces Portaux

EQ : Equivalent Quercétine.

ERN : Espèces Réactives d'Azote.

ERO : Espèces Réactives d'Oxygène.

ES : Extrait Sec.

f : fonction.

FCR : Réactif Folin-Ciocalteu.

Fe³⁺ : Ions ferriques.

Fe²⁺ : Fer ferreux.

FeCl₃ : trichlorure de fer.

FID : Fédération Internationale du Diabète.

FRAP : Pouvoir Antioxydant Réducteur du Fer ferrique.

FT : Flavonoïdes Totaux.

FT3 : Free triiodothyronine.

FTIR-ATR : Fourier Transform InfraRed -Attenuated Total Reflectance.

G_{j0} : Glycémie du 1^{er} jour.

G_j : Glycémie du jour j.

GLUT 4 : Glucose Transporter 4.

G6P-DH : Glucose 6-Phospho-gluconate.

H : Heure.

H⁺ : Cation d'hydrogène.

HbA1 C : Hémoglobine glyquée.

Liste des abréviations

HDL : High Density Lipoprotein.

H&E : Hématoxyline et Eosine.

HGF : Hepatocyte Growth Factor.

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène.

HO[•] : Radical hydroxyle.

HPLC : Chromatographie en Phase Liquide à Haute Performance.

H₂SO₄ : Acide sulfurique.

HT : Hormones Thyroïdiennes.

I₂ : Iode.

I⁻ : Iodure.

ICAM-1 : Inter Cellular Adhesion Molecule-1.

IgE : Immunoglobuline E.

IGF-1 : Insulin-Like Growth Factor-1.

IMC : Indice de la Masse Corporelle.

IL : Ilot de Langerhans.

i.p. : Intra-péritonéale.

i.v. : Intraveineuse.

K : Potassium.

K⁺ : Ions de potassium.

Kg : Kilogramme.

KI : Iodure de potassium.

K₂S₂O₈ : Persulfate de potassium.

K₃Fe(CN)₆ : Potassium ferrocyanure.

L : Litre.

LB : Lithiase Biliaire

LDL : Low Density Lipoproteins.

LPL : Lipoprotéine lipase.

M : Molaire.

MeOH : Méthanol.

Mg : Magnésium.

Mg²⁺ : Ions de magnésium.

Mg : Milligramme.

Min : Minute.

Liste des abréviations

mL : Millilitre.

mM : Milimolaire.

mmol : Milimole.

Na : Sodium.

Na^+ : Ions de sodium.

NaCl : Chlorure de sodium.

NC : Nombre de Contorsions.

NC_T : Moyenne du Nombre de Contorsions des rats du groupe Témoin.

NC_{Tr} : Moyenne du Nombre des Contorsions des rats du groupe Traité.

NAD : Nicotinamide Adénine Dinucléotide.

NADH : Nicotinamide Adénine Dinucléotide réduit.

NADPH : Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate.

(NH₄)₂MoO₄ : Molybdate d'ammonium.

NaH₂PO₄ : Phosphate de sodium.

NIH : National Institutes of Health.

nm : Nanomètre.

NO : Oxyde Nitrique.

NO₂ : Dioxyde d'azote.

NOS : Oxyde Nitrique Synthéase

OH : Hydroxyde.

OMS : Organisation Mondiale de la Santé.

ONAB : Office National des Aliments du Bétail.

O₂ : Dioxygène.

O₂⁻ : Anion superoxyde.

PAL : Phosphatase Alcaline.

PBS : Phosphate Buffered Saline.

PC : Poids Corporel.

PGF₂ α : Prostaglandine F₂ α .

PGE₂ α : Prostaglandine E₂ α .

pg/mL : Pigogramme par millilitre.

pH : Potentiel d'Hydrogène.

PI3K : Phosphoinositide 3-kinase.

PM : Poids moléculaires.

Liste des abréviations

- ppm** : Particules par million.
- PNP** : P-nitrophénol.
- PNP-P** : P-nitrophényl Phosphate.
- P/V** : Poids/Volume.
- P₀** : Poids du matériel végétal sec initial mis à l'extraction.
- P₁** : Poids de l'extrait sec obtenu.
- P'₀** : Poids de calcul avant la dissolution.
- P'_f** : Poids final de calcul après la dissolution.
- P_{j0}** : Poids corporel des rats du 1^{er} jour.
- P_j** : Poids corporel des rats du jour j.
- R•** : Radical peroxyde.
- r** : Facteur Pearson de corrélation.
- RI** : Résistance à l'Insuline.
- RL** : Radicaux Libres.
- RLU** : Unités Relatives de la Lumière.
- ROS** : Reactive Oxygen Species.
- rpm** : Rotation par minute.
- RSA** : Radical Scavenging Activity.
- Rt** : Temps de Rétention.
- rT3** : Reverse Triiodothyronine.
- S** : Semaine.
- SD** : Déviation Standard.
- TAC** : Total Antioxidant Capacity.
- TCA** : Trichloro-Acétic Acid.
- TDM** : Tomodensitométrie.
- TE** : Equivalent Trolox.
- TFA** : Trifluoro-Acétic acid.
- TG** : Triglycérides.
- TGF- α** : Transforming Growth Factor- α .
- TGF- β** : Transforming Growth Factor- β .
- TGO** : Transaminase Glutamate Oxaloacétate.
- TGP** : Transaminase Glutamate Pyruvate.
- tr/min** : Tour/minute.

Liste des abréviations

- TRH** : Thyreotropin Releasing Hormone.
- TSH** : Thyréostimuline.
- TSI** : Thyroid Stimulating Immunoglobulin.
- T3** : Triiodo-thyronine.
- T4** : Tétrai-iodothyronine ou thyroxine.
- UI** : Unité Internationale.
- UV** : Ultra-Violet.
- UV-VIS** : Ultraviolet-Visible.
- VB** : Vésicule Biliaire.
- VC** : Veine Centrale.
- VEGF** : Vascular Endothelial Growth Factor.
- VG** : Variation de la Glycémie.
- VLDL** : Very Low Density Lipoproteins.
- VP** : Veine porte.
- VPC** : Variations de Poids Corporel des rats.
- VS** : Vaisseau sanguin.
- V/V** : Volume/Volume.
- WHO** : World Health Organization.
- γ-GT** : Gamma Glutamyl Transférase.
- % a** : Pourcentage de dissolution des calculs.
- % I** : Pourcentage d'Inhibition de la douleur.
- % R** : Pourcentage de Rendement d'extraction.
- µg** : Microgramme.
- µM** : Micro-Molaire.
- µUI** : Micro-Unité Internationale.
- µm** : Micro-mètre.

Liste des tableaux et figures

Partie bibliographique

Liste des tableaux

N°		Pages
Tab. 1	Composition nutritionnelle des racines de <i>Bunium incrassatum</i> (Aiouaz et Arezki, 2022).	6

Liste des figures

Fig. 1	<i>Bunium incrassatum</i> (Chentouh et al., 2018).	5
Fig. 2	Débalancement des antioxydants et des pro-oxydants (Belaïch et Boujraf, 2016).	8
Fig. 3	Dix premiers pays classés par le nombre des diabétiques (Romli, 2016).	10
Fig. 4	Homéostasie dysfonctionnelle du diabète de premier type (Kharroubi et Darwish, 2015) : 1 : sécrétion insulinaire par les β -cellules pancréatiques en présence de glucose ; 2 : les β -cellules pancréatiques ne sécrètent pas ou peu d'insuline ; 3 et 4 : anomalies de l'absorption du glucose (muscle lisse, de l'adipocyte ou de l'hépatocyte) et de la transmission du signal insulinaire/translocation de GLUT4 ; 5 : hyperglycémie.	11
Fig. 5	Homéostasie dysfonctionnelle du diabète de deuxième type (Kharroubi et Darwish, 2015) : 1 et 2 : libération de l'insuline par β -cellules de pancréas ; 3 et 4 : défauts dans la libération de l'insuline, la translocation du glucose, réduisant la masse musculaire lisse, l'adipocyte et l'absorption du glucose par le foie ; 5 : hyperglycémie.	12
Fig. 6	Structure chimique de l'alloxane (Lenzen, 2008).	13
Fig. 7	Cycles d'oxydo-réduction de l'acide dialurique et de l'alloxane (Lenzen, 2008).	14
Fig. 8	Anatomie thyroïdienne (Waugh et al., 2023).	15
Fig. 9	Histologie du follicule thyroïdien (Marieb, 2008).	17
Fig. 10	Schéma illustratif des follicules thyroïdiens : A : follicule en actif ; B :	17

	inactif (Wemeau, 2012).	
Fig. 11	Description de la composition chimique des hormones thyroïdiennes (Ryndak-Swiercz, 2010).	18
Fig. 12	Aspect anatomique vésiculaire biliaire (Idrissi, 2020).	19
Fig. 13	Étapes de formation des calculs de cholestérol (El Kadi, 2016).	22
Fig. 14	Calculs pigmentaires (Stevens et Lowe, 1997).	23
Fig. 15	Calculs biliaires cholestéroliques (Boualiten, 2019).	24
Fig. 16	Maladie de Mirizzi (Scafer et al., 2003).	25
Fig. 17	Examen échographique abdominale de lithiase biliaire : 1 : calcul de type vésiculaire ; 2 : cône d'ombre postérieur (Aymard, 2010).	27

Partie expérimentale

Liste des tableaux

		Pages
Tab. 2	Composition chimique (mg/g) de l'extrait méthanolique de grains de <i>B. incrassatum</i> (EMG) par HPLC/UV.	55
Tab. 3	Composition chimique (mg/g) de l'extrait méthanolique de racine de <i>B. incrassatum</i> (EMR) par HPLC/UV.	56
Tab. 4	Composition chimique (mg/g) de l'extrait méthanolique de tige de <i>B. incrassatum</i> (EMT) par HPLC/UV.	57
Tab. 5	Valeurs des CE ₅₀ des extraits de <i>B. incrassatum</i> et des antioxydants synthétiques obtenues par le test DPPH. Les données obtenues indiquent la moyenne (m) sur l'ensemble des trois essais ±SEM.	61
Tab. 6	Valeurs des CE ₅₀ d'inhibition des différents extraits de <i>B. incrassatum</i> et des standards obtenues par le test ABTS. Les données obtenues indiquent la moyenne (m) sur l'ensemble des trois essais ±SEM.	62
Tab. 7	Valeurs des CE ₅₀ des extraits de <i>B. incrassatum</i> et des antioxydants standards obtenues par le test de FRAP. Les données obtenues indiquent la moyenne (m) sur l'ensemble des trois essais	63

	±SEM.	
Tab. 8	Taux des antioxydants par le test CAT dans les extraits méthanoliques de <i>B. incrassatum</i> . Les données obtenues indiquent la moyenne (m) sur l'ensemble des trois essais ±SEM.	65
Tab. 9	Activité inhibitrice d'acarbose et des extraits de <i>B. incrassatum in vitro</i> sur l'α-amylase. Les données obtenues indiquent la moyenne (m) sur l'ensemble des trois essais ±SEM.	67
Tab. 10	Action inhibitrice des extraits de <i>B. incrassatum</i> sur l'α- amylase par la méthode de dispersion sur disque d'agar gélosé. Les données obtenues indiquent la moyenne (m) sur l'ensemble des trois essais ±SEM.	69
Tab. 11	Symptômes cliniques des rats expérimentaux.	80

Liste des figures

Fig. 18	<i>Bunium incrassatum</i> : A : plante dans l'environnement ; B : racines et partie aérienne ; C : racines (tubercules) ; D : grains.	30
Fig. 19	Calculs vésiculaires testés (photo originale).	36
Fig. 20	Protocole expérimental descriptif de l'acte de toxicité aiguë de <i>B. incrassatum</i> .	38
Fig. 21	Protocole expérimental descriptif de l'effet analgésique de <i>B. incrassatum</i> .	40
Fig. 22	Protocole expérimental descriptif de l'effet hypoglycémiant de <i>B. incrassatum</i> .	41
Fig. 23	Protocole expérimental descriptif de l'effet hypothyroïdien de <i>B. incrassatum</i> .	47
Fig. 24	Rendement de l'extraction de trois extraits méthanoliques de <i>B. incrassatum</i> (EMT, EMG et EMR).	51
Fig. 25	Chromatogramme par HPLC/UV d'extrait EMG de <i>B. incrassatum</i> à 270 nm (a) et à 320 nm (b).	53
Fig. 26	Chromatogramme par HPLC/UV d'extrait EMR de <i>B. incrassatum</i> à 270 nm (a) et à 320 nm (b).	54
Fig. 27	Chromatogramme par HPLC/UV d'extrait EMT de <i>B.</i>	55

	<i>incrassatum</i> à 270 nm (a) et à 320 nm (b).	
Fig. 28	Teneurs en composés phénoliques des extraits méthanoliques de <i>B. incrassatum</i> : (a) : taux des polyphénols totaux (PT), (b) : taux des flavonoïdes totaux (FT). Les données obtenues indiquent la moyenne (m) sur l'ensemble des trois essais \pm SEM.	59
Fig. 29	Activité anti-radicalaire (RSA%) des extraits méthanoliques de <i>B. incrassatum</i> par le test de DPPH. Les données obtenues indiquent la moyenne (m) sur l'ensemble des trois essais \pm SEM.	61
Fig. 30	Activité anti-radicalaire (RSA%) des extraits méthanoliques de <i>B. incrassatum</i> par le test d'ABTS. Les données obtenues indiquent la moyenne (m) sur l'ensemble des trois essais \pm SEM.	63
Fig. 31	Pouvoir réducteur des extraits méthanoliques de <i>B. incrassatum</i> par le test de FRAP. Les données obtenues indiquent la moyenne (m) sur l'ensemble des trois essais \pm SEM.	64
Fig. 32	Corrélation entre les constituants bioactifs phénoliques (PT et FT) et les capacités antioxydantes (DPPH, ABTS, FRAP et CAT) de <i>B. incrassatum</i> .	67
Fig. 33	Inhibition dose-dépendante de l' α -amylase par les extraits méthanoliques de <i>B. incrassatum</i> via dispersion sur disque agar gélosé : Blanc ; Contrôle ; EMG : (a) : 1 mg/mL ; (b) : 0.5 mg/mL ; (c) : 0.250 mg/mL ; (d) : 0.125 mg/mL ; (e) : 0.0625 mg/mL ; EMT : (f) : 1 mg/mL ; (g) : 0.5 mg/mL ; (h) : 0.250 mg/mL ; (i) : 0.125 mg/mL ; (j) : 0.0625 mg/mL ; EMR : (k) : 1 mg/mL ; (l) : 0.5 mg/mL ; (m) : 0.250 mg/mL ; (n) : 0.125 mg/mL ; (o) : 0.0625 mg/mL. (1) ; (2) ; (3), répétition de chaque concentration d'extrait.	69
Fig. 34	Spectre AT-FTIR de calculs biliaires de cholestérol, acquis entre 4000 et 725 cm^{-1} .	71
Fig. 35	Évolution des groupes de masse des calculs cholestéroliques par les extraits de <i>B. incrassatum</i> en fonction du temps : (a) : masse des calculs biliaires de cholestérol de faible poids (CCPF) ; (b) : perte de masse des CCPF ; (c) : masse des calculs cholestéroliques de poids moyen (CCPM) ; (d) : perte de masse des CCPM ; (e) :	73

- masse des calculs cholestéroliques de poids élevé (CCPE) ; (f) : perte de masse des CCPE. Les données obtenues indiquent la moyenne (m) sur l'ensemble des trois essais \pm SEM.
- Fig. 36** Évolution cinétique du taux de dissolution (a%) des groupes de poids des calculs cholestéroliques par les extraits de *B. incrassatum* en fonction du temps : (a) : des calculs cholestéroliques de faible poids (CCPF) ; (b) : des calculs cholestéroliques de poids moyen (CCPM) ; (c) : des calculs cholestéroliques de poids élevé (CCPE). Les données obtenues indiquent la moyenne (m) sur l'ensemble des trois essais \pm SEM. **74**
- Fig. 37** Évolution du pH dans les extraits de *B. incrassatum* en présence de groupes de poids de calculs biliaires de cholestérol en fonction du temps : (a) : calculs cholestéroliques de faible poids (CCPF) ; (b) : calculs cholestéroliques de poids moyen (CCPM) ; (c) : calculs cholestéroliques de poids élevé (CCPE). Les données obtenues indiquent la moyenne (m) sur l'ensemble des trois essais \pm SEM. **77**
- Fig. 38** Nombre des contorsions (NC) par les groupes expérimentaux de rats Wistar. Les résultats correspondent à la moyenne (m) des cinq essais \pm SEM. Les résultats correspondent à la moyenne (m) des cinq essais \pm SEM. **79**
- G1 : témoin positif, traité uniquement avec 1 mL à 1% d'acide acétique (*i.p.*) ; G2 : référence, traité par voie orale avec 200 mg/kg d'ibuprofène (5 jours), puis 1 mL à 1% d'acide acétique (*i.p.*) ; G3 : traité avec 200 mg/kg d'EMG par voie orale (5 jours), puis 1 mL à 1% d'acide acétique (*i.p.*). * Comparativement au G1 témoin positif. * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$; # $P < 0.001$; ## $P < 0.001$; ### $P < 0.001$.
- Fig. 39** Évolution du poids corporel du rat (g) après traitement/non traitement à l'extrait méthanolique des grains de *B. incrassatum* et/ou de l'alloxane durant la période expérimentale. Les résultats correspondent à la moyenne (m) des cinq essais \pm SEM. **82**

-
- Fig. 40** Évolution du taux de la glycémie (g/L) des rats après traitement/sans traitement à l'extrait méthanolique de grains de *B. incrassatum*/ou à l'alloxane durant la période expérimentale. Les résultats correspondent à la moyenne (m) des cinq essais \pm SEM. 83
 G1 : rats témoins ; G2 : rats traités par 150 mg/kg d'alloxane (*i.p.*) ; G3 : rats traités par 150 mg/kg d'alloxane (*i.p.*) puis 200 mg/kg (59 jours) ; G4 : rats traités par 200 mg/kg d'EMG (59 jours).
- Fig. 41** Marqueurs glycémiques des groupes expérimentaux des rats après traitement/sans traitement avec l'EMG/ou l'alloxane : (a) : Glucose sanguin ; (b) : HbA1 C ; (c) : insuline. Les résultats correspondent à la moyenne (m) des cinq essais \pm SEM. 85
 G1 : rats témoins ; G2 : rats traités par 150 mg/kg d'alloxane (*i.p.*) ; G3 : rats traités par 150 mg/kg d'alloxane (*i.p.*) puis 200 mg/kg (59 jours) ; G4 : rats traités par 200 mg/kg d'EMG (59 jours). * Comparativement au G1 témoin, # comparativement au G2, traité par l'alloxane. * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$; # $P < 0.001$; ## $P < 0.001$; ### $P < 0.001$.
- Fig. 42** Marqueurs lipidiques des groupes expérimentaux des rats après traitement/sans traitement avec l'EMG/ou l'alloxane : (a) : TG ; (b) : TC ; (c) : LDL ; (d) : HDL ; (e) : VLDL ; (f) : RI. Les résultats correspondent à la moyenne (m) des cinq essais \pm SEM. 89
 G1 : rats témoins ; G2 : rats traités par 150 mg/kg d'alloxane (*i.p.*) ; G3 : rats traités par 150 mg/kg d'alloxane (*i.p.*) puis 200 mg/kg (59 jours) ; G4 : rats traités par 200 mg/kg d'EMG (59 jours). * Comparativement au G1 témoin, # comparativement au G2, traité par l'alloxane. * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$; # $P < 0.001$; ## $P < 0.001$; ### $P < 0.001$.
- Fig. 43** Marqueurs hépatiques des groupes expérimentaux des rats après traitement/sans traitement avec l'EMG/ou l'alloxane : (a) : ALAT ; (b) : ASAT ; (c) : PAL ; (d) : γ -GT. Les résultats correspondent à la moyenne (m) des cinq essais \pm SEM. 92
 G1 : rats témoins ; G2 : rats traités par 150 mg/kg d'alloxane (*i.p.*) ;

G3 : rats traités par 150 mg/kg d'alloxane (*i.p.*) puis 200 mg/kg (59 jours) ; G4 : rats traités par 200 mg/kg d'EMG (59 jours). * Comparativement au G1 témoin, # comparativement au G2, traité par l'alloxane. * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$; # $P < 0.001$; ## $P < 0.001$; ### $P < 0.001$.

Fig. 44 Marqueurs rénaux des groupes expérimentaux des rats après traitement/sans traitement avec l'EMG/ou l'alloxane : (a) : urée ; (b) : créatinine. Les résultats correspondent à la moyenne (m) des cinq essais \pm SEM. **94**

G1 : rats témoins ; G2 : rats traités par 150 mg/kg d'alloxane (*i.p.*) ; G3 : rats traités par 150 mg/kg d'alloxane (*i.p.*) puis 200 mg/kg (59 jours) ; G4 : rats traités par 200 mg/kg d'EMG (59 jours). * Comparativement au G1 témoin, # comparativement au G2, traité par l'alloxane. * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$; # $P < 0.001$; ## $P < 0.001$; ### $P < 0.001$.

Fig. 45 Protéines totales des groupes expérimentaux des rats après traitement/sans traitement avec l'EMG/ou l'alloxane. Les résultats correspondent à la moyenne (m) des cinq essais \pm SEM. **97**

G1 : rats témoins ; G2 : rats traités par 150 mg/kg d'alloxane (*i.p.*) ; G3 : rats traités par 150 mg/kg d'alloxane (*i.p.*) puis 200 mg/kg (59 jours) ; G4 : rats traités par 200 mg/kg d'EMG (59 jours). * Comparativement au G1 témoin, # comparativement au G2, traité par l'alloxane. * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$; # $P < 0.001$; ## $P < 0.001$; ### $P < 0.001$.

Fig. 46 Albumine des groupes expérimentaux des rats après traitement/sans traitement avec l'EMG/ou l'alloxane. Les résultats correspondent à la moyenne (m) des cinq essais \pm SEM. **98**

G1 : rats témoins ; G2 : rats traités par 150 mg/kg d'alloxane (*i.p.*) ; G3 : rats traités par 150 mg/kg d'alloxane (*i.p.*) puis 200 mg/kg (59 jours) ; G4 : rats traités par 200 mg/kg d'EMG (59 jours). * Comparativement au G1 témoin, # comparativement au G2, traité par l'alloxane. * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$; # $P < 0.001$; ## $P < 0.001$; ### $P < 0.001$.

-
- Fig. 47** Coupes histologiques du pancréas (H&E) des rats des groupes expérimentaux : (A) G1 : rats témoins ; (B) G2 : rats traités par 150 mg/kg d'alloxane (*i.p.*) ; (C) G3 : rats traités par 150 mg/kg d'alloxane (*i.p.*) puis 200 mg/kg d'EMG (59 jours) ; (D) G4 : rats traités par 200 mg/kg d'EMG (59 jours). **100**
- IL : îlot de Langerhans ; Ac : Acini.
- Fig. 48** Coupes histologiques du foie (H&E) chez le groupe G1 témoin (A et B) et le groupe G2, traité uniquement avec 150 mg/kg d'alloxane (*i.p.*) (C, D, E et F). **102**
- Ar : artère ; CB : canal biliaire ; VC : veine centrale ; VP : veine porte. Flèche bleue : capillaire sinusöide, flèche noire : hépatocyte, flèche rouge : cellule de Kupffer, flèche orange : dilatation des capillaires sinusöides, flèche verte : cellules en bague à chaton (stéatose), flèche jaune : infiltration inflammatoire, flèche marron : noyaux condensés fragmentés.
- Fig. 49** Coupes histologiques du foie (H&E) chez le groupe G3 (G et H), traités par 150 mg/kg d'alloxane (*i.p.*) puis 200 mg/kg d'EMG (59 jours) et le groupe G4 (I, J), traités seulement par 200 mg/kg d'EMG (59 jours). **103**
- VC : veine centrale, flèche bleue : capillaire sinusöide, flèche noire : hépatocyte, flèche rouge : cellule de Kupffer.
- Fig. 50** Coupes histologiques des reins (H&E) chez le groupe G1 témoin (A et B). **104**
- Flèche bleue : glomérule, flèche rouge : tubule contourné, flèche noire : appareil juxta-glomérulaire.
- Fig. 51** Coupes histologiques du foie (H&E) chez le groupe G2, traité uniquement avec 150 mg/kg d'alloxane (*i.p.*) (C, D, E, F, G et H). **105**
- Flèche jaune : glomérule fragmenté, flèche rouge : tubule contourné, flèche verte : glomérule dégénéré, flèche marron : augmentation de l'espace capsulaire de Bowman.
- Fig. 52** Coupes histologiques du foie (H&E) chez le groupe G3 (I et J), traités par 150 mg/kg d'alloxane (*i.p.*) puis 200 mg/kg d'EMG (59 jours) et le groupe G4 (K, L), traités seulement par 200 mg/kg **106**

d'EMG (59 jours).

Flèche bleue : glomérule, flèche rouge : tubule contourné, flèche grise : espace capsulaire de Bowman normal.

Fig. 53 Marqueurs thyroïdiens des groupes expérimentaux des rats après traitement/sans traitement avec l'EMG/ou la thyroxine : (a) : T3 ; (b) : T4 ; (c) : TSH. Les résultats correspondent à la moyenne (m) des cinq essais \pm SEM. **109**

G1 : rats témoins ; G2 : rats traités par 600 μ g/kg de thyroxine (14 jours) ; G3 : rats traités par 600 μ g/kg de thyroxine (14 jours) puis par EMG à 200 mg/kg (30 jours) ; G4 : rats reçoivent EMG à 200 mg/kg (30 jours). * Comparé au G1 témoin, # comparativement au G2 traité par la thyroxine. * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$; # $P < 0.001$; ## $P < 0.001$; ### $P < 0.001$.

Fig. 54 Coupes histologiques des glandes thyroïdiennes (H&E) des groupes de rats expérimentaux : (A, B) G1 : témoin ; (C, D) G2 : traités oralement par 600 μ g/kg de thyroxine (14 jours). **111**

C : colloïde ; VS : vaisseau sanguin, flèche jaune : follicule, flèche rouge : thyrocyte cubique avec noyau arrondi, flèche bleue : thyrocyte pavimenteuse avec noyau aplaté.

Fig. 55 Coupes histologiques des glandes thyroïdiennes (H&E) des groupes de rats expérimentaux : (E, F) G3 : traités oralement par 600 μ g/kg de thyroxine (14 jours) puis 200 mg/kg d'EMG (30 jours) ; (G, H) G4 : traités par 200 mg/kg d'EMG (30 jours). **112**

C : colloïde, flèche jaune : follicule, flèche rouge : thyrocyte cubique avec noyau arrondi.

Liste de publication et communications

Publication internationale

Mekraf, S., Boufadi, MY., Keddari, S., Abbassene, F., Rebbouh, F. (2025). Phenolic Profile, Antioxidant Activity, and Litholytic Cholesterol Properties of Algerian *Bunium incrassatum* L. Extracts. Trop J Nat Prod Res. 2025, 9(3): 1211–1219
<https://doi.org/10.26538/tjnpr/v9i3.42>

Communications scientifiques

-**Souheyla Mekraf**, Mokhtaria Yasmina Boufadi (2021). " Dosage des composés phénoliques et l'activité antioxydante des racines de Telghouda (*Bunium L.*) ". The 10th National days of natural and life sciences "JNSNV2021". University of Mostaganem, 16, 17 and 18 November 2021, Mostaganem, Algeria.

-**Souheyla Mekraf**, Mokhtaria Yasmina Boufadi (2023). " Etude de profile phénolique et de statut anti-radicalaire de *Bunium L.*". The Second National Seminar of Nutrition and Health. University of Chlef, 30-31 May 2023, Chlef, Algeria.

-**Souheyla Mekraf**, Mokhtaria Yasmina Boufadi (2023). "Phytochemical study, *in vitro* evaluation of the anti-oxidant effect and alpha amylase inhibitory power of telghouda stem (*Bunium L.*) ". The 1ST International Seminar on Biology, Physiology and Pathophysiology (ISBPP'23). University of Chlef, 18-19 Octobre 2023, Chlef, Algeria.

Table des matières

« Etude ethno pharmacognosique, phytochimique et vertus thérapeutiques de *Bunium incrassatum* »

Remerciements

Dédicaces

Résumé

Abstract

المخلص

Liste d'abréviations

Liste des tableaux et figures

Liste de publication et communications

Table des matières

Partie bibliographique

Introduction **1**

Chapitre I : Généralités et vertus thérapeutiques de *Bunium incrassatum*

I.1.	Historique	4
I.2.	Définition de <i>Bunium incrassatum</i>	4
I.3.	Description morphologique de <i>Bunium incrassatum</i>	4
I.4.	Description botanique de <i>Bunium incrassatum</i>	5
I.5.	Composition chimique de <i>Bunium incrassatum</i>	5
I.6.	Utilisation de <i>Bunium incrassatum</i>	6
I.6.1.	Utilisation alimentaire	6
I.6.2.	Utilisation phytothérapeutique	6
I.7.	Impacts thérapeutiques de <i>Bunium incrassatum</i>	7
I.7.1.	Impact antioxydant	7
I.7.2.	Impact antithyroïdien	7
I.7.3.	Impact antibactérien	7
I.8.	Stress oxydatif	7
I.8.1.	Radicaux libres	8
I.8.2.	Défense antioxydante	8

Table des matières

I.8.3.	Antioxydants	9
I.8.4.	Polyphénols	9
I.9.	Diabète	9
I.9.1.	Généralités	9
I.9.2.	Prévalence mondiale du diabète	10
I.9.3.	Prévalence du diabète en Algérie	10
I.9.4.	Classement du diabète	11
I.9.4.1.	Diabète primaire	11
I.9.4.2.	Diabète secondaire	12
I.9.4.3.	Diabète expérimental	13
I.9.4.3.1.	Diabète induit par l'alloxane	13
I.10.	Dysthyroïdie	15
I.10.1.	Anatomie de la glande thyroïdienne	15
I.10.2.	Embryologie de la glande thyroïdienne	15
I.10.3.	Histologie de la glande thyroïdienne	16
I.10.3.1.	Cellules folliculaires ou thyrocytes	16
I.10.3.2.	Cellules para-folliculaires ou cellules C	16
I.10.3.3.	Colloïde	17
I.10.3.4.	Hormones thyroïdiennes	17
I.11.	Lithiase biliaire (LB)	18
I.11.1.	Aspect anatomique vésiculaire biliaire	18
I.11.2.	Physiologie de la vésicule biliaire	19
I.11.2.1.	Biosynthèse de la bile	19
I.11.2.2.	Composition biliaire	20
I.11.2.3.	Contrôle biliaire dans la partie grêle intestinale	20
I.11.3.	Calculs biliaires	20
I.11.3.1.	Physiologie des calculs biliaires	20
I.11.3.2.	Composition des calculs biliaires	22
I.11.3.3.	Classification des calculs biliaires	22
I.11.4.	Symptômes de lithiase biliaire	24
I.11.5.	Quelques complications de la lithiase biliaire	24
I.11.6.	Sémiologie de lithiase biliaire	26
I.11.7.	Diagnostic de lithiase biliaire	27

I.11.8.	Quelques traitements des calculs biliaires	28
I.11.9.	Prévention de lithiase biliaire	29

Partie expérimentale

Chapitre II : Matériel et méthodes

II.1.	Matière végétale	30
II.2.	Extraction et détermination du rendement de <i>Bunium incrassatum</i>	31
II.3.	Analyse des extraits de <i>Bunium incrassatum</i> par HPLC/UV	31
II.4.	Activité antioxydante <i>in vitro</i>	32
II.4.1.	Quantification des composés phénoliques	32
II.4.1.1.	Quantification des polyphénols totaux (PT)	32
II.4.1.2.	Quantification des flavonoïdes totaux (FT)	32
II.4.2.	Détermination du potentiel anti-radicalaire par le test au DPPH	33
II.4.3.	Détermination du potentiel anti-radicalaire par ABTS	33
II.4.4.	Détermination du potentiel anti-radicalaire par le test au FRAP	34
II.4.5.	Détermination de la capacité antioxydante totale (CAT)	34
II.5.	Effet inhibiteur de l'alpha-amylase	35
II.5.1.	Alpha-amylase inhibiteur <i>in vitro</i>	35
II.5.2.	Alpha-amylase par dispersion sur agar gélosé	35
II.6.	Activité antilithiasique vésiculaire <i>in vitro</i> des extraits phénoliques de <i>Bunium incrassatum</i>	36
II.6.1.	Calculs vésiculaires	36
II.6.2.	Capacité de dissolution	36
II.6.3.	Évolution du pH	37
II.7.	Etudes biologiques <i>in vivo</i>	37
II.7.1.	Matériel animal expérimental	37
II.7.2.	Acte de toxicité aiguë	37
II.7.3.	Acte analgésique <i>in vivo</i> (test du Writhing)	38
II.7.4.	Acte antidiabétique <i>in vivo</i>	40
II.7.4.1.	Induction expérimentale de diabète	40
II.7.4.2.	Protocole de traitement des animaux	41
II.7.4.3.	Évolution du poids corporel	42

Table des matières

II.7.4.4.	Évolution glycémique	42
II.7.4.5.	Sacrifice, prélèvements du sang et des organes	42
II.7.4.6.	Dosage des marqueurs biochimiques	43
II.7.4.6.1.	Marqueurs glycémiques	43
II.7.4.6.2.	Marqueurs lipidiques	43
II.7.4.6.3.	Marqueurs rénaux	45
II.7.4.6.4.	Marqueurs hépatiques	45
II.7.4.6.5.	Protéines totales	46
II.7.4.6.6.	Albumine	46
II.7.5.	Activité hypothyroïdie <i>in vivo</i> sur des rats Wister	46
II.7.5.1.	Induction d'hyperthyroïdie expérimentale	46
II.7.5.2.	Protocole de traitement des animaux	47
II.7.5.3.	Sacrifice, prélèvement sanguin et d'organes	48
II.7.5.4.	Détermination des marqueurs hormonaux thyroïdiens	48
II.7.5.4.1.	Triiodo-thyronine (T3)	48
II.7.5.4.2.	Thyroxine (T4)	48
II.7.5.4.3.	Thyréostimuline (TSH)	48
II.7.6.	Étude histologique	48
II.7.6.1.	Préparation d'échantillonnage	49
II.7.6.2.	Microtomie	49
II.7.6.3.	Coloration	50
II.7.6.4.	Assemblage et observation au microscope	50
II.8.	Analyses statistiques	50

Chapitre III : Résultats et discussion

III.1.	Rendement de l'extraction	51
III.2.	Composition chimique de <i>Bunium incrassatum</i> par HPLC/UV	52
III.3.	Activité antioxydante <i>in vitro</i> de <i>Bunium incrassatum</i>	59
III.3.1.	Dosage quantitatif des composés phénoliques de <i>Bunium incrassatum</i>	59
III.3.2.	Test au DPPH	60
III.3.3.	Test scavenging du radical ABTS ^{o+}	62
III.3.4.	Test de FRAP	63
III.3.5.	Test antioxydant de CAT	65

III.3.6.	Corrélation entre les constituants bioactifs phénoliques et les capacités antioxydantes de <i>Bunium incrassatum</i> .	66
III.4.	Action inhibitrice de <i>Bunium incrassatum</i> sur l' α -amylase	67
II.4.1.	Alpha-amylase <i>in vitro</i>	67
II.4.2.	Alpha-amylase par dispersion sur agar gélosé	68
III.5.	Activité litholytique <i>in vitro</i> de <i>Bunium incrassatum</i>	71
III.5.1.	Analyse des calculs biliaires	71
III.5.2.	Effet de dissolution de <i>Bunium incrassatum</i> sur les groupes des calculs biliaires de cholestérol	72
III.5.2.1.	Groupe des calculs de cholestérol de poids faible (CCPF)	72
III.5.2.2.	Groupe des calculs de cholestérol de poids moyen (CCPM)	72
III.5.2.3.	Groupe des calculs de cholestérol de poids élevé (CCPE)	72
III.5.3.	Évolution du pH	76
III.6.	Toxicité aiguë d'EMG de <i>Bunium incrassatum</i> sur des rats Wistar	78
III.7.	Acte analgésique <i>in vivo</i> de l'extrait EMG chez des rats Wistar	78
III.8.	Acte antidiabétique <i>in vivo</i> de l'extrait EMG sur des rats Wistar	80
III.8.1.	Observations des symptômes cliniques	80
III.8.2.	Évolution du poids corporel	81
III.8.3.	Évolution de la glycémie	83
III.8.4.	Effet de l'alloxane sur les marqueurs biochimiques	84
III.8.4.1.	Effet de l'alloxane sur les marqueurs glycémiques et l'impact protecteur d'EMG de <i>Bunium incrassatum</i>	84
III.8.4.2.	Effet de l'alloxane sur les marqueurs lipidiques et l'impact protecteur de l'EMG de <i>Bunium incrassatum</i>	87
III.8.4.3.	Effet de l'alloxane sur les marqueurs hépatiques et l'impact hépatoprotecteur d'EMG de <i>Bunium incrassatum</i>	91
III.8.4.4.	Effet de l'alloxane sur les marqueurs rénaux et l'impact néphroprotecteur d'EMG de <i>Bunium incrassatum</i>	94
III.8.4.5.	Effet de l'alloxane sur les protéines totales et l'impact protecteur d'EMG de <i>Bunium incrassatum</i>	96
III.8.4.6.	Effet de l'alloxane sur l'albumine et l'impact protecteur d'EMG de <i>Bunium incrassatum</i>	97
III.8.5.	Étude histologique	99

Table des matières

III.8.5.1.	Histologie du pancréas	99
III.8.5.2.	Histologie du foie	100
III.8.5.3.	Histologie des reins	103
III.9.	Acte anti-hyperthyroïdien <i>in vivo</i> de l'extrait EMG sur des rats Wistar	107
III.9.1.	Effet de la thyroxine sur les marqueurs thyroïdiens et l'impact protecteur d'EMG de <i>Bunium incrassatum</i>	108
III.9.1.1.	Triiodothyronine (T3)	108
III.9.1.2.	Thyroxine (T4)	108
III.9.1.3.	Thyréostimuline (TSH)	109
III.9.2.	Étude histologique des glandes thyroïdiennes	111
	Conclusion et perspectives	114
	Références bibliographiques	116
	Publication	

Introduction

Introduction

Les radicaux libres, générés quotidiennement par l'organisme, sont neutralisés par les antioxydants. Toutefois, un excédent de ces molécules réactives ou une déficience en antioxydants engendre un stress oxydatif et ses conséquences néfastes sur l'organisme (Papazian et Roch, 2008 ; Christophe, 2011). Le stress oxydatif peut résulter de facteurs divers tels que les radiations, la pollution, le tabac, l'alcool, certains médicaments, le sport intensif, ou encore des déséquilibres dans la détoxification hépatique (perte de poids significative) (Poirier, 2004 ; Médart, 2009). Les radicaux libres altèrent l'ADN (Hadj Salem, 2009), les lipides et les protéines (Jacob, 2007), accélérant le vieillissement et contribuant au risque de pathologies telles que les maladies cardiovasculaires, neurodégénératives, le cancer et le diabète (Bonnet et al., 2010).

Le diabète est un dysfonctionnement chronique du métabolisme marqué par un syndrome d'hyperglycémie. Il résulte d'une production insuffisante ou d'une action réduite de l'insuline, influencée par des facteurs génétiques, sociaux ou environnementaux (Imam, 2012). Le diabète de type I (insulinodépendant, DID) résulte d'une absence de production d'insuline, tandis que le type II (non insulinodépendant, DNID) se manifeste fréquemment par une inadéquation de l'insuline, tandis que le diabète gestationnel survient au cours de la grossesse, avec une hyperglycémie modérée (OMS, 2020). Les pays en développement concentrent 67% des diabétiques, avec des taux d'incidence supérieurs à 12% (Romli, 2016).

La lithiase biliaire cholestérolique, pathologie fréquente et complexe, touche une large part de la population mondiale (Raghavendra et al., 2015), résultant de déséquilibres du cholestérol et étant dépendante de l'âge, de l'obésité et du mode de vie (Stokes et al., 2012; Weerakoon et al., 2014). Ces calculs, dont la concentration en cholestérol a été classée comme étant de type cholestérol ($\geq 70\%$), pigment ($\leq 30\%$) ou mixte (30-70%) (Qiao et al., 2013).

Des thérapies alternatives sont nécessaires pour traiter ces pathologies (Jamil et al., 2017). La phytothérapie, en particulier, est souvent privilégiée par rapport aux médicaments de synthèse en raison de la sécurité et de la tolérance généralement associées à un usage prolongé des plantes (Jean, 2009).

La phytothérapie, bien qu'étant une pratique traditionnelle, connaît une popularité croissante à l'échelle mondiale (Carillon, 2009). La recherche sur les plantes médicinales est cruciale pour leur utilisation étendue et leurs bénéfices. Cette prise de conscience découle des récentes évolutions dans le secteur pharmaceutique et de ses applications dérivées (Aichour et al., 2018).

Les effets biologiques des plantes sont le résultat des interactions synergétiques entre leurs divers composants actifs, plutôt que de l'action isolée de molécules particulières (Morel, 2008). Les médicaments d'origine végétale, élaborés à partir de fruits, de graines et d'huiles, sont couramment employés pour traiter un large éventail d'affections telles que les infections dentaires et gingivales, les troubles digestifs, les inflammations, les bronchites, l'asthme, ainsi que les intoxications causées par certains animaux comme les serpents et les scorpions, parmi d'autres maladies (Jamal et al., 2006 ; Sharma et al., 2004). Parmi ces plantes, *Bunium incrassatum*, communément appelée Talghouda, appartenant à la famille des Apiaceae. Cette espèce, également désignée aussi sous les noms scientifiques *Bunium bulbocastanum* et *Bunium pachypodum*, est endémique le long de la frontière méditerranéenne en Afrique, avec une présence notable dans l'est de l'Algérie (Quézel et al., 1962).

Les racines de *Bunium incrassatum* ont démontré un potentiel anti-radicalaire, une capacité à régénérer et réactiver les follicules thyroïdiens chez les rats Wistar, avec des résultats confirmés par des études *in vivo*, hématologiques, physiologiques et histologiques (Aiouaz et Bitam, 2022). Les recherches suggèrent que les racines de cette plante ont des effets anti-inflammatoires, antibronchites et anticancéreux (Bousetla et al., 2015 ; Di Dalmazi et Giuliani, 2021). De plus, les terpènes et les sesquiterpènes, riches dans les huiles essentielles des racines de *Bunium incrassatum*, sont les principaux agents bioactifs responsables de l'activité antibactérienne (El Kolli et al., 2017).

Dans cette recherche, nous avons entrepris une analyse approfondie de la composition chimique des extraits méthanoliques issus des graines (EMG), des racines (EMR) et des tiges (EMT) de *Bunium incrassatum*, ainsi qu'à évaluer leurs propriétés antioxydantes, leur capacité d'inhibition de l'alpha-amylase et leur potentiel antilithiasique sur le cholestérol vésiculaire *in vitro*. Par ailleurs, nous avons investigué, à travers des modèles *in vivo*, les effets analgésiques, hypoglycémisants et hypothyroïdiens de l'EMG, en réponse aux toxicités induites par l'acide acétique, l'alloxane et la thyroxine, respectivement.

Ce manuscrit est structuré en triples chapitres : le premier expose la synthèse bibliographique qui inclut une description de *Bunium incrassatum* et des pathologies

Introduction

associées. Le second chapitre représente le matériel et les méthodes adoptés durant l'expérimentation. Enfin, le troisième chapitre est consacré à l'interprétation et à la discussion des résultats obtenus, suivi d'une conclusion mettant en avant des perspectives futures de recherche.

Partie bibliographique

Chapitre I : Généralités et vertus thérapeutiques de *Bunium incrassatum*

I.1. Historique

Bunium incrassatum L., autrement dit Talghouda, est une plante commune dans les territoires ruraux du tell algérien, illustrant pour certains une source nutritive notable, mais pour d'autres un signe de pauvreté, évoquant la période de famine, notamment durant la seconde guerre du monde et la période de la révolution algérienne (Al Baitar, 1996).

Certains herboristes sont actuellement intéressés par cette plante pour sa qualité nutritionnelle supérieure et pour ses vertus thérapeutiques, notamment antithyroïdiennes, anticancéreuses et anti-inflammatoires (Jassbi et al., 2005).

I.2. Définition de *Bunium incrassatum*

Bunium incrassatum est une plante médicinale ombellifère (Apiaceae), également connue sous le nom de *Bunium bulbocastanum* ou *Bunium pachypodum*. Cette espèce couramment dispersée le long de la frontière méditerranéenne de l'Afrique. Elle abrite dans le nord et l'est de l'Algérie (Quézel al., 1962).

I.3. Description morphologique de *Bunium incrassatum*

Plante vivace, herbacée à tiges grêles atteignant 10-50 cm de hauteur, à feuilles robustes à segments linéaires ou lancéolés et à rayons d'ombelles et d'ombellules de 5-7 cm de large. Les racines sont renflées en tubercules arrondis et sans odeur. Les fruits sont rétrécis au sommet avec une couche membraneuse contiguë et sont 4-5 fois plus longues que larges (fig. 1) (Quézel al., 1962).



Figure 1 : *Bunium incrassatum* (Chentouh et al., 2018)

I.4. Description botanique de *Bunium incrassatum*

La plante de *B. incrassatum* est classée comme suit dans la systématique botanique de [Quézel al. \(1962\)](#) :

Règne : Plantae

Sous règne : Tracheobionta

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Sous classe : Dilleniidea

Ordre : Apiales

Famille : Apiaceae

Genre : *Bunium*

Espèce : *Bunium incrassatum* L.

I.5. Composition chimique de *Bunium incrassatum*

La composition nutritionnelle de la poudre de racine de *B. incrassatum* a révélé la présence de glucides, de lipides, de protéines et de minéraux. Par ailleurs, la composante phytochimique de cette partie est marquée par la mise en évidence de polyphénols (flavonoïdes, alcaloïdes et coumarines) ([Tableau 1](#)) ([Aiouaz et Bitam, 2022](#)).

Bousetla *et al.* (2015) ont découvert que cette section de *B. incrassatum* contient du bêta-sitostérol, de la scoparone, de la scopolamine, du saccharose et de l'acide oléique. En outre, El Kolli *et al.* (2017) ont relevé 31 constituants chimiques dans la partie aérienne de même espèce.

Tableau 1 : Composition nutritionnelle des racines de *B. incrassatum* (Aiouaz et Bitam, 2022).

Eléments	Composition (%)
Matière sèche	87.59 ± 0.19
Protéines	6.87 ± 0.28
Lipides	1.59 ± 0.09
Amidon et congénères	75.79 ± 0.26
Cendre	3.34 ± 0.14
Minéraux (mg/100g)	
Calcium	449.6
Potassium	289.17
Sodium	26.126

I.6. Utilisation de *Bunium incrassatum*

I.6.1. Utilisation alimentaire

Après séchage et broyage en poudre, les tubercules de *B. incrassatum* remplacent les pommes de terre dans la cuisine orientale (Bousetla *et al.*, 2015). Elles sont également consommées sous forme de galettes en mélangeant de la farine et de l'orge (El Kolli *et al.*, 2017).

I.6.2. Utilisation phytothérapeutique

Les tubercules de *B. incrassatum* ont des effets antithyroïdiens, anti-diarrhéiques, anti-inflammatoires (hémorroïdes), anti bronchites et anticancéreux (Bousetla *et al.*, 2015 ; Di Dalmazi et Giuliani, 2021). Elle favorise la prise de poids et la lactation des animaux (Jassbi *et al.*, 2005).

I.7. Impacts thérapeutiques de *Bunium incrassatum*

I.7.1. Impact antioxydant

El Kolli *et al.* (2017) ont évalué *in vitro*, une efficacité anti-radicalaire des extraits de *B. incrassatum*. Certaines substances chimiques présentes dans cette plante, même à l'état de traces, comme le carvacrol et le thymol, présentent des propriétés antioxydantes synergiques (Lu et Foo, 2001).

I.7.2. Impact antithyroïdien

Les racines de *B. incrassatum* régénèrent et réactivent les follicules thyroïdiens chez des rats Wistar hyper et hypothyroïdiens, conformément à des études *in vivo*, hématologiques, physiologiques et histologiques (Aiouaz et Bitam, 2022).

I.7.3. Impact antibactérien

Les investigations menées par El Kolli *et al.* (2017) suggèrent que les terpènes et les sesquiterpènes, riches en huiles essentielles des racines de *B. incrassatum*, pourraient être les principaux agents bioactifs responsables du pouvoir antibactérien de la plante, endommagent également les membranes plasmiques, les ions de rupture et les composants cytoplasmiques coagulés.

I.8. Stress oxydatif

De nombreuses maladies sont affectées par le stress oxydatif, qui agit à la fois comme un déclencheur et un facteur de problèmes dans leur évolution (Favier, 2003). L'organisme génère quotidiennement des radicaux libres, des composés hautement réactifs possédant un électron non apparié, indispensables à divers processus vitaux. Toutefois, une production excessive de ces radicaux pourrait endommager les organes (Koechlin-Ramonatxo, 2006).

Un dysfonctionnement de l'homéostasie redox produit un stress oxydatif en sur-génération ou en sous-neutralisant les radicaux instables. Un pouvoir antioxydant réduit ou un excès de radicaux libres peuvent causer ce déséquilibre. Les dommages oxydatifs affectant les divers composants cellulaires (les protéines, les lipides et les acides nucléiques) induisant l'apoptose ou la nécrose résultant de ce déséquilibre (fig. 2) (Belaïch et Boujraf, 2016).



Figure 2 : Débalancement des antioxydants et des pro-oxydants (Belaïch et Boujraf, 2016)

I.8.1. Radicaux libres

Les radicaux libres (RL) ayant un ou plusieurs électrons dans leurs couches externes, ils demeurent intrinsèquement instables. Ils réagissent fortement comme des espèces réactives de l'oxygène (ERO) et des espèces réactives de l'azote (ERN) (Sosa *et al.*, 2013). ERO avec des dérivés radicaux et des dérivés non radicaux de l'oxygène (peroxyde d'hydrogène) était toxique (Pisoschi et Pop, 2015 ; Weidinger et Kozlov, 2015).

Les enzymes intracellulaires produites par des radicaux libres modérés maintiennent l'homéostasie cellulaire. Le stress oxydatif naturel provoque la mort programmée des cellules tout au long du développement. Les ERO ont influencé la plasticité synaptique et les voies de signalisation. La fonction cellulaire, la structure des membranes et l'ADN sont irrémédiablement endommagés lorsque les radicaux libres submergent les défenses antioxydantes des tissus (Belaïch et Boujraf, 2016 ; Jauniaux et Burton, 2016).

I.8.2. Défense antioxydante

La défense antioxydante est indispensable à la survie des cellules (Rodrigo, 2009). Tout agent qui ralentit ou inhibe l'oxydation du substrat oxydable à une concentration relativement faible est nommé « antioxydant ». Ils sont classés en fonction de leur origine. Les antioxydants endogènes enzymatiques neutralisent les radicaux libres, tandis que les antioxydants non enzymatiques et exogènes offrent les électrons (Durand *et al.*, 2013).

I.8.3. Antioxydants

Les antioxydants inhibent les espèces réactives oxygénées. Ces derniers sont réduits ou éliminés, piégés dans une molécule stable, le fer capturé et le glutathion produit (Favier, 2003).

Toutes les molécules *in vivo* sont des substrats oxydables. La catalase, le superoxyde dismutase, la glutathion peroxydase et les composés à faible PM tels que le glutathion et l'acide urique sont impliqués dans la génération des ERO (Kozarski *et al.*, 2015 ; Ighodaro *et al.*, 2018 ; Tahidul *et al.*, 2019).

Les oligoéléments, les vitamines A, C et E, les produits phytochimiques et les métabolites secondaires sont des antioxydants alimentaires, prévenant le stress oxydatif et maintenant l'équilibre redox cellulaire (Haleng *et al.*, 2007 ; Fofana, 2011 ; Tahidul *et al.*, 2019).

I.8.4. Polyphénols

Les polyphénols sont composés de substances chimiques flavonoïdes, notamment les flavans, les flavanols, les isoflavones et les anthocyanidines, et de composés non flavonoïdes, tels que les acides phénoliques et les stilbènes. Les polyphénols sont des molécules bioactives présentes dans les végétaux, en particulier dans les légumes et les fruits, renfermant plus de 6000 composants différents. Les effets biologiques bénéfiques des molécules polyphénoliques bioactives font l'objet des études approfondies (Handique *et Baruah*, 2002).

I. 9. Diabète

I.9.1. Généralités

Le diabète, une maladie métabolique connue depuis l'Antiquité, tire son nom du grec diabète (passer à travers) et du latin mellitus (sucré) (Delluc *et al.*, 1995). Bien que sa compréhension reste limitée, il est devenu une des principales raisons de décès, avec une forte progression dans les autres nations en voie de développement (Bhattacharya, 2009).

Le diabète sucré est un dysfonctionnement du métabolisme marqué par un niveau de glucose sanguin élevé, causés par une insuline inadéquate ou inefficace, ou par une combinaison des deux. Ce trouble perturbe le métabolisme glucidique, lipidique et des protéique (Grimaldi, 2009 ; Ghalandari *et al.*, 2015 ; Brahem *et al.*, 2016 ; Uzan, 2016).

Selon l'OMS, la maladie du diabète sucré est diagnostiquée avec une élévation du glucose sanguin de ≥ 1.26 g/L (7 mmol/L) ou des variations glycémiques de ≥ 2 g/L (11.1 mmol/L) (Young, 2011).

I.9.2. Prévalence mondiale du diabète

Seuls dix pays, dont sept sont en développement, abritent actuellement 67% des personnes atteintes de diabète. Les taux d'incidence les plus élevés, supérieurs à 12%, sont surtout observés dans les pays en développement (fig. 3) (Romli, 2016).

Le diabète de type II augmente plus rapidement dans les régions d'Afrique subsaharienne en vertu des taux croissants d'obésité et d'autres facteurs de risque importants. Au Ghana, la prédominance du diabète de deuxième type est de 9-10% chez les adultes (Agyemang *et al.*, 2016). À Berlin, elle atteint 15% chez les hommes et 10% chez les femmes. En outre, aux États-Unis, le diabète de deuxième type chez les jeunes a progressé d'environ 30.5% (Vijayakumar *et al.*, 2017). Le diabète de type I correspond à 10% des cas à l'échelle mondiale et augmente de 3 à 4% par an (Ribot, 2015).

I.9.3. Prévalence du diabète en Algérie

Cette pathologie en Algérie oscille de 1.3% dans le sud à 8% dans le nord. Jeunes et en surpoids, 86.1% des diabétiques en 2014 étaient du deuxième type. La prévalence nationale est passée de 6.8% en 1990 à 12.29% en 2005, atteignant 7.47% en 2013 (IFD, 2013).

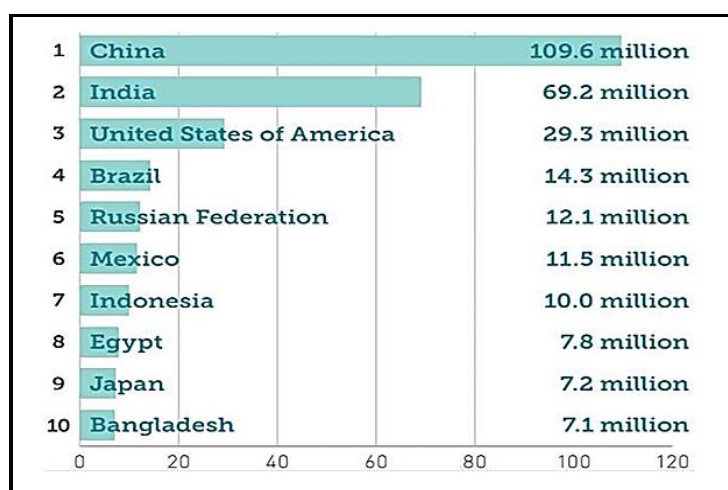


Figure 3 : Dix premiers pays classés par le nombre des diabétiques (Romli, 2016)

I.9.4. Classement du diabète

I.9.4.1. Diabètes primaires

- **Diabète de type I (DTI)**

Le diabète de type I, diabète juvénile, ou diabète insulino-dépendant (DID), une pathologie auto-immune détruisant les bêta-cellules pancréatiques, entraînant une absence d'insuline. Il apparaît habituellement chez les enfants et chez les personnes jeunes (fig. 4) (Violettes et Conte-Devolx, 2013 ; Leroux, 2015).

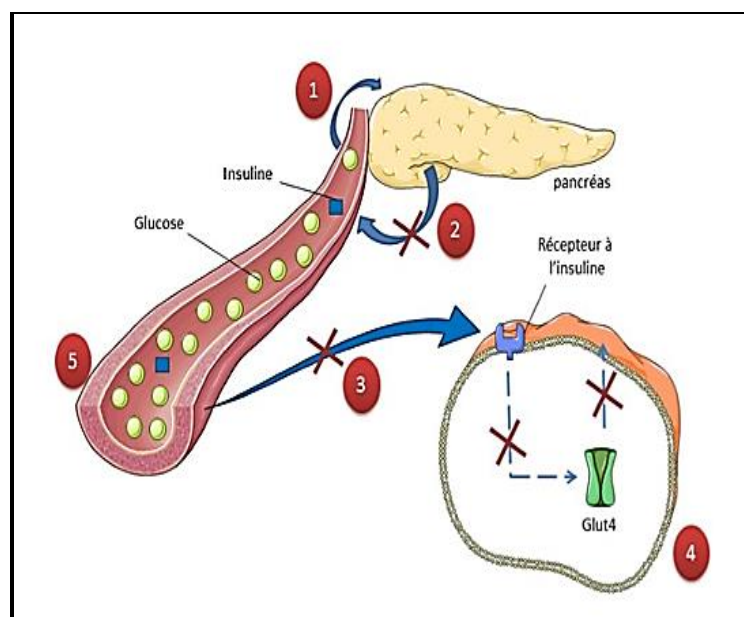


Figure 4 : Homéostasie dysfonctionnelle du diabète de premier type (Kharroubi et Darwish, 2015) : 1 : sécrétion insulinique par les β -cellules pancréatiques en présence de glucose ; 2 : les β -cellules pancréatiques ne sécrètent pas ou peu d'insuline ; 3 et 4 : anomalies de l'absorption du glucose (muscle lisse, de l'adipocyte ou de l'hépatocyte) et de la transmission du signal insulinaire/translocation de Glucose Transporteur 4 (GLUT4) ; 5 : hyperglycémie

- **Diabète de type II (DTII)**

Le diabète de deuxième type, diabète non insulino-dépendant (DNID) (Goldenberg et Punthakee, 2013), fréquent chez les adultes obèses après 40 ans (Prasad et Groop, 2015). La diminution de l'insuline dans la cellule bêta entraîne une insulino-résistance (ADA, 2015).

L'hyperglycémie résulte par une progression de la production au niveau hépatique du glucose et sa baisse consommation par les muscles (fig. 5) (Kharroubi et Darwish, 2015).

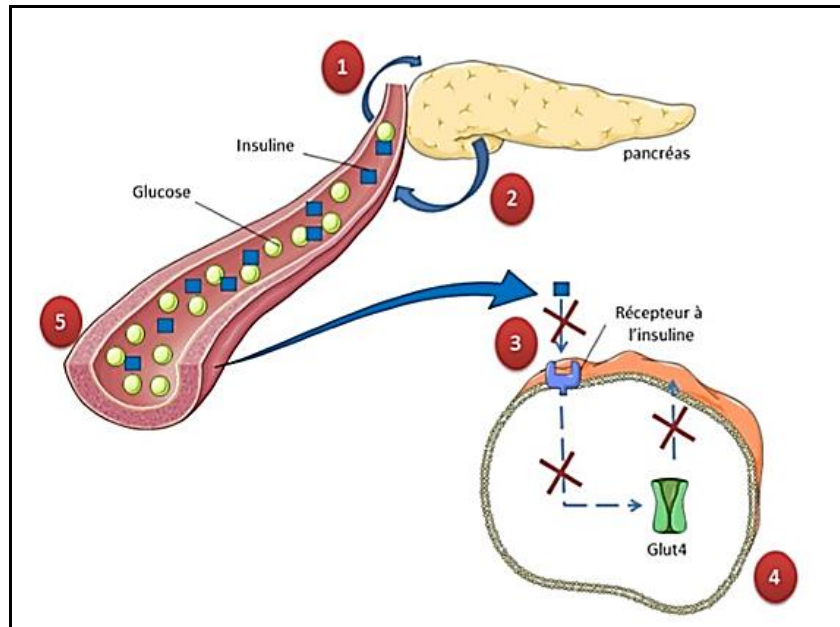


Figure 5 : Homéostasie dysfonctionnelle du diabète de deuxième type (Kharroubi et Darwish, 2015) : 1 et 2 : libération de l'insuline par β -cellules de pancréas ; 3 et 4 : défauts dans la libération de l'insuline, la translocation du glucose, réduisant la masse musculaire lisse, l'adipocyte et l'absorption du glucose par le foie ; 5 : hyperglycémie.

- **Diabète gestationnel**

Généralement, ce diabète survient entre les semaines 24 et 28 de la femme enceinte et régresse progressivement après la maternité. Les principaux traitements sont l'insuline et les hypoglycémifiants oraux (Rodier, 2001 ; Ural et Repke, 2008 ; Agarwal, 2015).

I.9.4.2. Diabète secondaire

Déficits génétiques qui altèrent la fonction cellulaire de l'îlot de Langerhans, action de l'insuline, maladies pancréatiques exocrines, endocrinopathies, diabète médicamenteux outoxique, le diabète infectieux et les syndromes génétiques sont d'autres types de diabète secondaire (Gourdy, 2013 ; Yamagata, 2014 ; Tidjane, 2016).

I.9.4.3. Diabète expérimental

Les animaux sont souvent destinés à des études expérimentales sur le diabète en raison de leur réponse bien caractérisée aux facteurs pathogènes, qui est similaire au diabète sucré humain. Cela aide les chercheurs à comprendre la maladie et à développer de nouveaux traitements. Les méthodes d'induction comprennent des substances chimiques (alloxane et streptozotocine), chirurgicales et génétiques (Etuk, 2010).

I.9.4.3.1. Diabète induit par l'alloxane

L'alloxane est une substance dérivée de la pyrimidine (acide urique), synthétisée en 1838 par Wohler, la plus fréquemment utilisée pour induire le diabète mellitus chez les animaux (lapins, rats, souris, etc.) (Etuk, 2010).

- **Structure d'alloxane**

Chez l'animal, l'alloxane (2, 4, 5, 6-tétraoxyypyrimidine), un dérivé pyrimidique (acide urique), détruit les cellules bêta pancréatiques pour induire le diabète de premier type (fig. 6) (Lenzen, 2008).

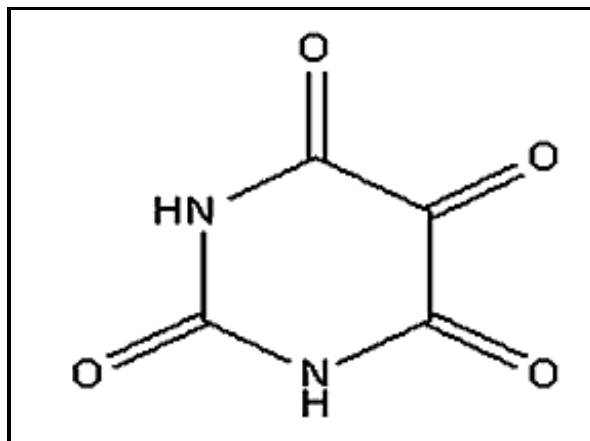


Figure 6 : Structure chimique de l'alloxane (Lenzen, 2008)

- **Mode d'action d'alloxane**

L'alloxane agit comme suit :

1. Les transporteurs de glucose 2 (GLUT2) assurent le passage du glucosyl alloxane dans les cellules β du pancréas. L'acide diurétique résulte de la réduction du glutathion cytosolique, de la cystéine, de l'acide ascorbique et des groupes SH.
2. L'alloxane inactive la glucokinase en formant un pont disulfure avec ses groupes thiol. Cela réduit le taux de glucose oxydé et la libération d'ATP, perturbant la signalisation de l'insuline. Une minute d'inhibition de la glucokinase augmente l'ATP des cellules β et la libération d'insuline.
3. La réoxydation de l'acide diurétique en alloxane active les réactions de Fenton et génère des formes réactionnelles de l'oxygène. L'alloxane réduit la libération d'insuline et améliore la perméabilité de la membrane β .
4. L'alloxane augmente le Ca^{+2} dans les cellules β du pancréas par modification de l'homéostasie calcique intracellulaire. Cela dépolarise les cellules et ouvrant les conduits de calcium, augmentant l'apport calcique. La libération accrue d'insuline nuit aux cellules β et à l'ERO (fig. 7) (Ankur et Shahjad, 2012).

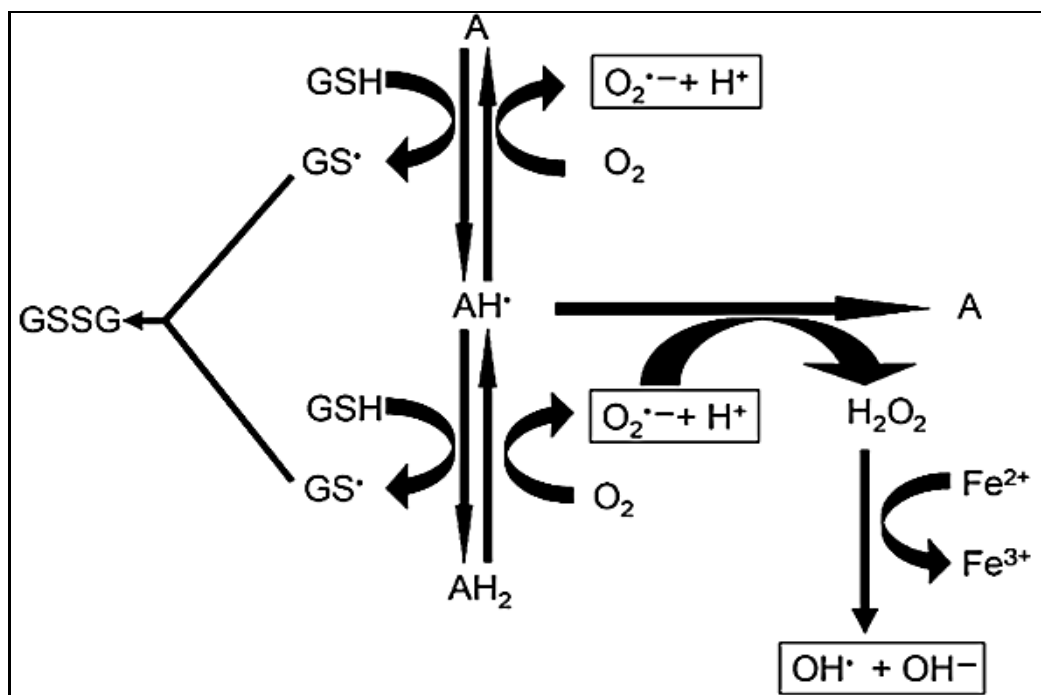


Figure 7 : Cycles d'oxydo-réduction de l'acide dialurique et de l'alloxane (Lenzen, 2008)

L'alloxane intraveineux, intra-péritonéal et sous-cutané induit le diabète. La dose efficace varie selon l'espèce animale. Une dose inférieure à 50 mg/kg est généralement insuffisante pour les rats (Szkudelski, 2001).

I.10. Dysthyroïdie

I.10.1. Anatomie de la glande thyroïdienne

Thyroïde, la plus grande glande endocrine, située sous le larynx et la trachée. En forme de papillon avec deux lobes latéraux et un isthme moyen. La charge d'iode, l'âge, le sexe et la morphologie affectent son volume de 20 à 30 g. Glande rouge élastique. Chaque côté a trois veines thyroïdiennes: supérieure, moyenne et inférieure. Troisième entre dans le tronc brachio-céphalique, les deux premiers dans les veines jugulaires (fig. 8) (Wémeau, 2011).

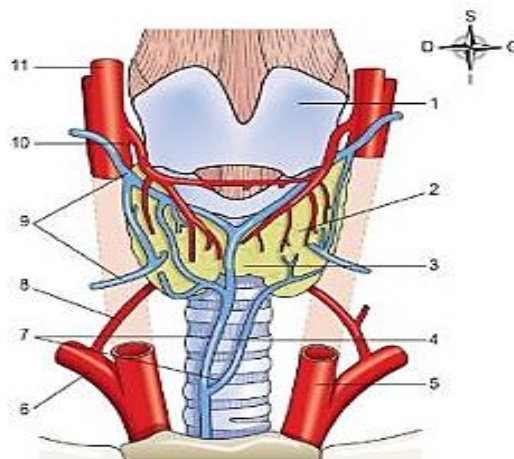


Figure 8 : Anatomie thyroïdienne (Vaugh et al., 2023) : 1 : cartilage thyroïde ; 2 : lobe gauche de la glande thyroïde ; 3 : isthme de la glande thyroïde ; 4 : trachée ; 5 : artère carotide commune gauche (coupée) ; 6 : artère subclavière droit ; 7 : veines thyroïdiennes inférieures ; 8 : artère thyroïdienne inférieure droite ; 9 : veines allant à la veine jugulaire interne droite ; 10 : artère thyroïdienne supérieure droite ; 11 : artère carotide externe droite.

I.10.2. Embryologie de la glande thyroïdienne

Durant la troisième semaine de la phase d'embryogenèse, la glande thyroïde se développe sous l'effet d'une hypertrophie endodermique et elle migre par la suite vers sa position finale devant l'axe laryngotrachéal. À la 7^{ème} semaine, elle fusionne avec les corps

ultimo-branchiaux, formant les cellules C (sécrétrices de calcitonine). Les cellules folliculaires dérivent de l'endoderme et produisent les hormones thyroïdiennes, stockées dans la thyroglobuline. Dès la 11^{ème} semaine, la thyroïde retrouve son activité (Wémeau, 2011).

I.10.3. Histologie de la glande thyroïdienne

La glande thyroïde est histologiquement divisée en lobes appelés follicules. Chaque follicule a une paroi épithéliale entourant un espace rempli de colloïdes (fig. 9).

L'épithélium contient deux types de cellules :

I.10.3.1. Cellules folliculaires ou thyrocytes

Les cellules folliculaires, ou thyrocytes, constituent 99% du parenchyme thyroïdien. Elles forment une assise uni-stratifiée autour des follicules de 200 µm de diamètre. Ces cellules endodermiques sont reliées par des jonctions serrées apicales. Leur taille et morphologie varient : plates quand inactives, cubiques quand actives (Brouet, 2011).

La fonction modifie la forme des thyrocytes. Elles sont aplaties avec abondance colloïdale et acidophile, les cellules au repos. Les cellules hyperactives, cylindriques produisent plus de protéines, le colloïde devient raréfié et incolore (fig. 10). Exocrine (production, excrétion et stockage de la thyroglobuline) et endocrinien (libération du plasma T3 et T4), processus assurés par les cellules folliculaires (Tramalloni, 2011).

I.10.3.2. Cellules para-folliculaires ou cellules C

La calcitonine, une hormone hypocalcémiant, est libérée par les cellules para-folliculaires, souvent appelées cellules C, moins abondantes que les thyrocytes, occupant moins de 0.1% du parenchyme thyroïdien, sécrétant le carcinome, une hormone hypocalcémiant. Le carcinome thyroïdien est indiqué par des niveaux élevés de calcitonine (Brouet, 2011).

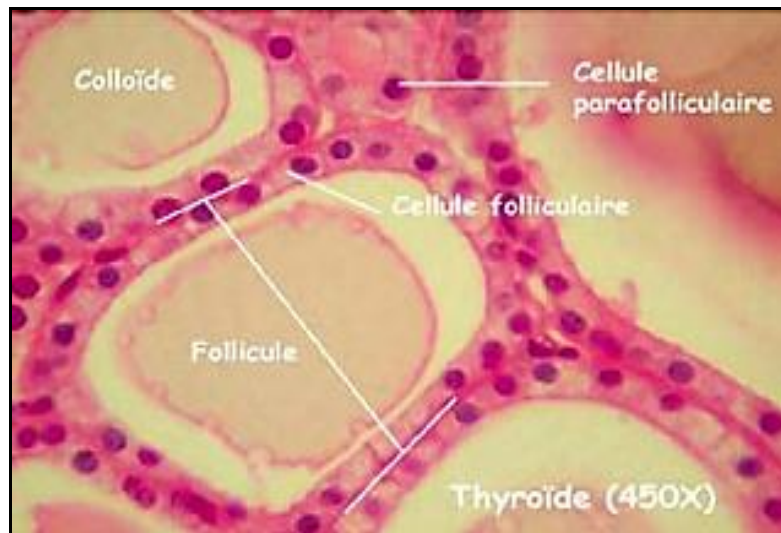


Figure 9 : Histologie du follicule thyroïdien (Marieb, 2008)

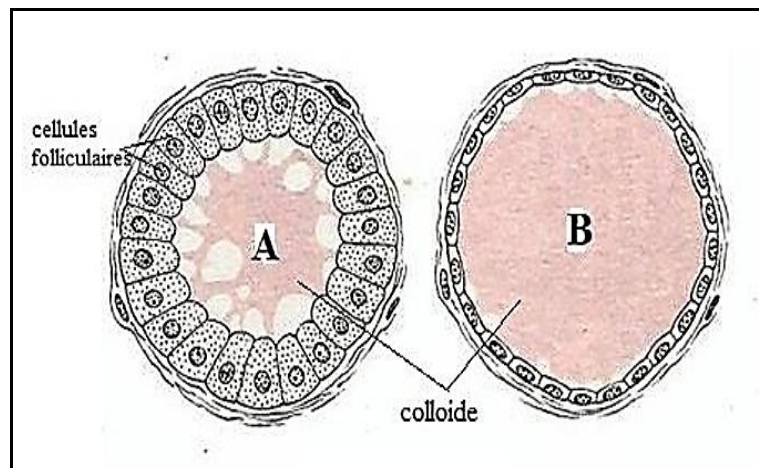


Figure 10 : Schéma illustratif des follicules thyroïdiens : A : follicule en actif ; B : inactif (Wémeau, 2011)

I.10.3.3. Colloïde

Une substance pâteuse de couleur jaune, appelée colloïde, est déposée dans le lumen du follicule thyroïdien, où elle sert de réserve d'hormones thyroïdiennes (Brouet, 2011).

I.10.3.4. Hormones thyroïdiennes

Les thyrocytes produisent les hormones thyroïdiennes T3 et T4, qui dérivent de l'acide aminé tyrosine. Elles diffèrent par le nombre et la position des atomes d'iode (Tramalloni, 2011). La désintégration d'iode de T4 entraîne la formation de la 3,3',5'-tri-iodothyronine (opposée à T3, rT3), qui n'agit pas (fig. 11) (Ryndak-Swiercz, 2010).

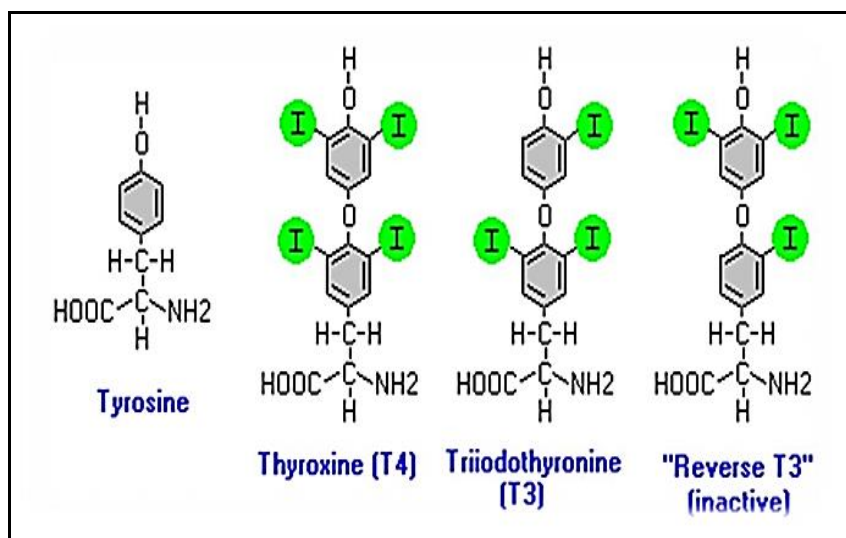


Figure 11 : Description de la composition chimique des hormones thyroïdiennes
(Ryndak-Swiercz, 2010)

I.11. Lithiase biliaire (LB)

I.11.1. Aspect anatomique vésiculaire biliaire

Elle prend la forme d'un collecteur allongé en forme de poire. Elle mesure de 5 cm de large, 8 à 12 cm de long, de 30 à 50 mL de capacité, située à l'intérieur d'une cavité viscérale, il rejoint le siège du système hépatique par le tissu conjonctif (fig. 12) (Nguyen et Bourouina, 2008).

Le fond de la vésicule biliaire et le point vésiculaire se situent sur la droite de la ligne ombilico-axillaire, en vis-à-vis du bord côté droit et du contour de la partie latérale du grand droit abdominal (Kamina, 2012).

L'épithélium prismatique basique confère à la muqueuse de la vésicule biliaire des plis similaires à ceux-ci de l'estomac. Les parois vésiculaires biliaires sont dépourvues de sous-muqueuse. Les myocytes lisses de sa couche intermédiaire s'étendent pour déverser le contenant vésiculaire dans le conduit cystique. Le péritoine recouvre la vésicule biliaire (Marieb, 2008).

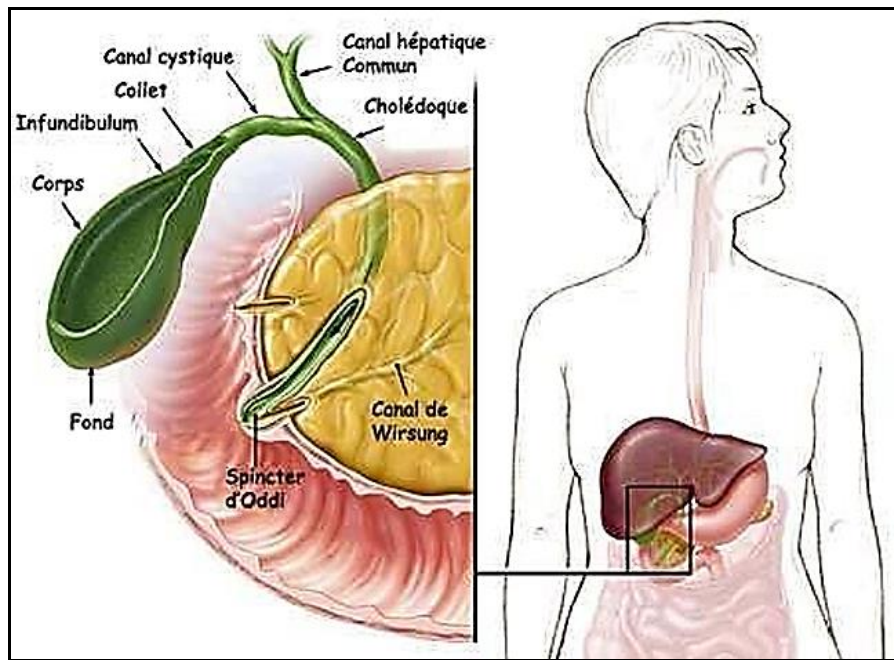


Figure 12 : Aspect anatomique vésiculaire biliaire (Idrissi, 2020)

I.11.2. Physiologie de la vésicule biliaire

I.11.2.1. Biosynthèse de la bile

Les hépatocytes génèrent de la bile, laquelle est ultérieurement altérée par les processus de sécrétion et de résorption des corps cholangiocytaires. La bile est un fluide vert-jaune visqueux, dégageant un odorat désagréable, un goût peu agréable et laissant en bouche une saveur fade. La bile change de couleur, passant du vert foncé au jaune sous l'effet de l'acide azotique (Jansen, 2000).

La présence de cholérétiques, tels que les sels biliaires, provoque une augmentation de production accrue de la bile par la vésicule biliaire, qui est ensuite libérée dans le duodénum suite à l'ingestion de nourriture. La sécrétion de bile impliquée dans le processus digestif est optimisée grâce au mécanisme du cycle entérohépatique qui permet la réabsorption et la réutilisation des acides biliaires. La sécrétine, une hormone, augmente l'acidité et l'alcalinité de la bile, sans altérer les sels biliaires. Pendant le stade céphalique digestif, antérieurement à la réception du bol alimentaire au sein de l'estomac et les intestins, le foie favorise la sécrétion de la bile, laquelle n'est pas influencée par d'autres paramètres. La bile est constamment synthétisée par le foie et en stockage dans les voies biliaires. Elle est acheminée vers le duodénum exclusivement pendant le processus de digestion (Jansen, 2000).

I.11.2. 2. Composition biliaire

La bile est composée d'un mélange de lipides neutres, de sels, de cholestérol, de pigments, d'eau et d'électrolytes. Les sels biliaires ainsi que les phospholipides, tels que la lécithine et d'autres, constituent les seuls éléments chimiques favorisant la digestion (Marieb, 2000).

I.11.2. 3. Contrôle biliaire dans la partie grêle intestinale

Le sphincter du bulbe hépato-pancréatique se ferme de manière étanche sans processus de digestion. Uniquement les contractions vésiculaires biliaires permettent l'évacuation des biles. Elle remonte vers le canal cystique et l'intestin grêle lors la vésicule biliaire se contracte. La contraction vésiculaire est provoquée par la cholécystokinine (CCK), qui est sécrétée suite à l'arrivée de chyme acide et lipidique dans le duodénum. La cholécystokinine provoque la contraction vésiculaire de bile, libérant le suc pancréatique et relâchant le muscle sphinctérien au niveau de l'ampoule hépato-pancréatique, favorisant ainsi le transit biliaire et du suc du pancréas vers le duodénum (Marieb, 2000).

I.11. 3. Calculs biliaires

Les calculs biliaires sont des accumulations de résidus biliaires cholestéroliques. La formation d'un grand ou de plusieurs petits calculs ne cause généralement aucun signe. La vésicule biliaire, les voies biliaires principales et intra-hépatiques susceptibles de former des calculs (Benhamou, 2008). Les canaux biliaires, qui transportent la bile vésiculaire au duodénum, sont partiellement ou totalement obstrués par des calculs (Tortora *et al.*, 2007).

I.11.3.1. Physiologie des calculs biliaires

Selon Payen *et al.* (2011), de nombreux troubles intestinaux, vésiculaires et hépatiques sont susceptibles d'induire la formation de calculs cholestéroliques, résultant de la sursaturation biliaire en composants insolubles, de la nucléation et de la stase vésiculaire.

- **Sursaturation biliaire**

Une hypercholestérolémie entraîne une augmentation de l'indice lithogène, ce qui conduit à un déséquilibre du rapport entre le cholestérol, les acides biliaires et les lécithines, le portant à un niveau supérieur à un. Cela conduit à la formation de microcristaux de cholestérol. La nucléation et la synthèse du cholestérol surviennent lorsque les hépatocytes sécrètent de manière excessive le cholestérol dans la bile. Étant donné que le cholestérol est apolaire et

présente une solubilité dans l'eau de 10^{-7} M, il est essentiel d'avoir une sursaturation, bien que celle-ci soit insuffisante pour la formation des calculs. La bile a la capacité de dissoudre de façon efficace et sophistiquée le cholestérol (Payen *et al.*, 2011).

La synthèse du cholestérol monohydraté implique l'utilisation de lécithine et de sels biliaires qui se regroupent en micelles ou en vésicules. Les sels biliaires favorisent la formation de micelles, qui sont des structures polymoléculaires hydrophiles et hydrophobes composées de 50% de lécithine et 10% de phosphatidylcholines. La chaîne carbonée des sels biliaires est composée de plus de dix atomes de carbone. Les lécithines diminuent la quantité d'eau présente dans la bile en rendant le cholestérol soluble (Payen *et al.*, 2011).

- **Nucléation**

Les lécithines uni-lamellaires sont responsables du transport total du cholestérol, étant donné que leur concentration dans la bile est en deçà de leur seuil micellaire. Les formations kystiques multicouches, les microcristaux, les dépôts boueux et les calculs sont engendrés par une hypercholestérolémie. Les immunoglobulines A et M, les glycoprotéines, la fibronectine, les lysolécitines, le bilirubinate de calcium, les sels de calcium, les composants organiques tels que les celluloses, les matières parasitaires et les bactéries, ainsi que les substances biliaires, favorisent la translocation nucléaire. Les médicaments A1 et A2 ainsi que les glycoprotéines inhibent la translocation nucléaire. Le déséquilibre des composants perturbe le processus de nucléation. Le processus de formation des calculs biliaires prend trois jours et dix jours pour la bile normale (Payen *et al.*, 2011).

- **Stase vésiculaire**

Le cholestérol, la bilirubine et les cristaux de sel de calcium se fixent à la matrice glycoprotéique afin de constituer le calcul durant la phase de stase vésiculaire. La stagnation biliaire et la perte de tonicité de la vésicule biliaire favorisent ce mécanisme (fig. 13) (Payen *et al.*, 2011).

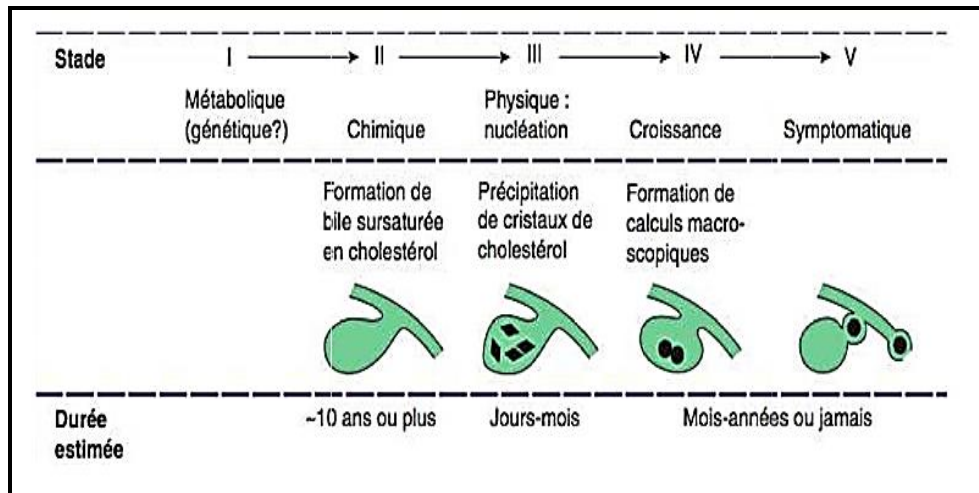


Figure 13 : Étapes de formation des calculs de cholestérol (El kadi, 2016)

I.11.3.2. Composition des calculs biliaires

Les sels de bile, le cholestérol, les caroténoïdes et le calcium sédimentent dans la bile de vésicule et forment des calculs. Ces derniers pouvant être formés par n'importe quelle branche du canal hépatique. La majorité des calculs sont constitués de 94% de cholestérol, 1% de calcium et 4% de couleur. S'ils sont à base de pigments, ils peuvent contenir 25% de cholestérol (Corpechot, 2013).

I.11.3.3. Classification des calculs biliaires

Les calculs biliaires se subdivisent en trois types selon leur composition: pigmentaires, mixtes et cholestéroliques (Corpechot, 2013).

- **Calculs pigmentaires**

Les micro-organismes, notamment la colonisation de la bile par les bactéries, accroissent la sédimentation des lithiases pigmentaires en raison de la conjugaison (Cortey et al., 2017). Les pierres pigmentaires sont réparties en deux types correspondant à des processus pathophysiologies distincts: pigmentaires noirs et ceux bruns (fig. 14) (Corpechot, 2013).

- **Calculs pigmentaires noirs**

Les pierres pigmentaires noires, qui sont solides et amorphes, sont associées aux polymères de bilirubine et au calcium, présents dans la vésicule. La drépanocytose et les anémies hémolytiques chroniques entraînent une augmentation de la bilirubine libre en raison

de la dégradation de l'hémoglobine. La précipitation de la bilirubine en l'absence de cholestérol peut provoquer la création des pigments biliaires. Les symptômes sont habituellement en latence, entraînant une obstruction des voies biliaires et des troubles liés à la bile. Un cas d'hémolyse non diagnostiquée pourrait avoir entraîné le développement d'une lithiase (Corpechot, 2013).

- **Calculs pigmentaires bruns**

Les pierres pigmentaires brunes, qui sont solides et molles, sont associées aux bilirubinate de calcium, présents dans les voies biliaires. La bilirubine non conjuguée, le calcium, les protéines et le cholestérol sont les composants des calculs biliaires pigmentaires.

L'apparition de ces calculs est due à la décomposition de la bilirubine conjuguée dans les voies biliaires par l'enzyme bactérienne appelée β -glucuronidase. Ces symptômes pourraient résulter d'infections chroniques affectant les voies biliaires, comme l'angiocholite aiguë survenant après une intervention chirurgicale sur ces voies (Corpechot, 2013).



Figure 14 : Calculs pigmentaires (Stevens et Lowe, 1997)

- **Calculs de cholestérol**

La bile est le premier vecteur permettant la sécrétion du cholestérol dans l'organisme, tandis que les sels de bile assurent le maintien du cholestérol en solution au sein de celle-ci. Un excès ou une carence en sels biliaires ou en cholestérol peut entraîner la constitution des cristaux appelés calculs biliaires choléstéroliques (Marieb, 2000).

Les calculs de cholestérol sont classés en deux types: les calculs cholestéroliques cristallin pur représentent environ 20% de la totalité des calculs de cholestérol, et les calculs mixtes qui sont caractérisés par la présence des couches de cholestérol et de bilirubinate de calcium disposées en couches successives entourant au centre un noyau cholestérolique et de sels de bile (El Ouadghiri, 2016). 80% du cholestérol et 67% des calculs biliaires présentent une teinte jaune, aspect dure et stérile (fig. 15) (Zeitoun et al., 2017).



Figure 15 : Calculs biliaires cholestéroliques (Boualiten, 2019)

I.11.4. Symptômes de lithiase biliaire

Thiele, (2010) énumère divers signes et conséquences de la lithiase biliaire :

- Près de 50% sont des calculs silencieux qui ne posent pas de problème.
- Les nausées matinales et la pression dans le haut de l'abdomen droit sont des signes possibles.
- Légère douleur à la dorsale.
- Les troubles gastro-intestinaux.
- Fièvre rare.

I.11.5. Quelques complications de lithiase biliaire

- **Douleurs aiguës**

Crampes extrêmes au niveau la zone droite de l'abdomen supérieur et de l'épaule droite, le bras et le dos, généralement accompagnées de nausées et de vomissements.

Le reflet droit de l'abdomen est généralement absent dans les situations bénignes, mais observable dans les cas plus sévères (Thiele, 2010).

- **Cholécystite aiguë**

En cas de blocage du conduit cystique, partiel ou intermittent, des infections bactériennes provenant du sang ou du côlon entraînent une cholécystite aiguë. Le plus souvent, les bactéries *E. coli* et *Streptococcus faecalis* sont impliquées dans ces cas. Le syndrome de Mirizzi est une pathologie peu commune marquée notamment par une lithiase localisée dans le canal infundibulaire, vésiculaire ou kystique. Cette lithiase exerce une pression sur le canal hépatique commun, entraînant ainsi une inflammation chronique (fig. 16) (Schäfer et al., 2003).

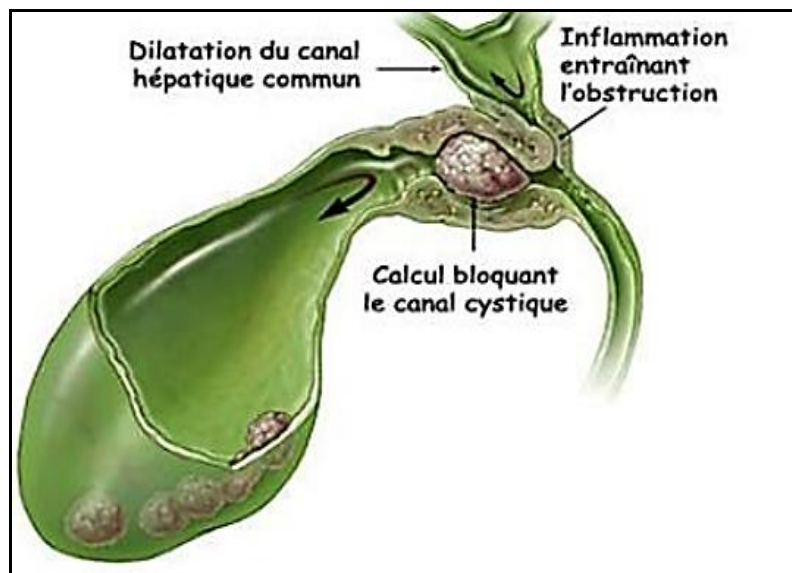


Figure 16 : Maladie de Mirizzi (Schäfer et al., 2003)

- **Cholécystite chronique**

La chélecystite provoque une irritation continue des parois vasculaires. Les lésions d'un blocage partiel sont plus communes que la cholécystite aiguë. Outre la maladie vésiculaire, les coliques hépatiques et les troubles dyspeptiques entraînent une cholécystite chronique. Une échographie confirme la lithiase vésiculaire dans une vésicule rétractée, épaisse et hyperéchogène. Le scanner repère des dépôts de calculs dans les parois des vésicules. Un risque de potentielle malignité est possible (Reid et al., 2007).

- **Cancer vésiculaire biliaire**

Le cancer vésiculaire biliaire est présenté sous différentes formes, telles que de petites excroissances sessiles ou pédiculées à l'intérieur de la vésicule, des régions infiltrées entraînant un épaississement anormal de la paroi vésiculaire ou bien une masse de couleur blanchâtre altère la forme de cet organe, la rendant irrégulière, et parfois la présence de calculs formant le calculo-cancer typique (Reid *et al.*, 2007).

- **Iléus biliaire**

Une obstruction intestinale causée par un calcul biliaire est désignée sous le terme médical d'iléus biliaire. Cette pathologie constitue environ 2 à 3% de l'ensemble des cas d'obstructions intestinales, mais qu'elle affecte jusqu'à 20% des individus âgés. En cas de cholécystite aiguë, il est possible que le calcul soit éliminé à travers une fistule cholécysto-duodénale, parfois survenant après l'intervention chirurgicale. Les calculs sont plus fréquemment observés dans l'iléon terminal et moins fréquemment au niveau du duodénum. Les calculs de taille supérieure à 25 mm sont aisément évacués par les selles. L'incidence de la lithiase se localise habituellement dans la valve iléo-ocaecale, ce qui peut s'étendre de l'estomac au côlon. Les symptômes lithiasiques sont associés à une obstruction intermittente. La constatation d'une aérobilie est liée à la présence d'une lithiase anormale (Reid *et al.*, 2007).

I.11.6. Sémiologie de lithiase biliaire

- **Symptômes cliniques**

- **Douleurs abdominales** : seule la douleur vésiculaire, aussi nommée colique hépatique, signale la présence de calculs biliaires. Une obstruction des voies biliaires peut provoquer des douleurs localisées dans la région hypochondriaque droite. La douleur étant relativement fréquente, elle est le premier indice de la maladie lithiasique vésiculaire plutôt qu'un symptôme précurseur (Corpechot, 2013).
- **Problèmes digestifs** : nausées, vomissements et douleurs abdominales peuvent s'accompagner d'aliments ou de bile. La constipation et l'intolérance aux graisses sont des troubles gastro-intestinaux rares (Oussama, 2010 ; Svensson et Makin, 2012).

- **Ictère** : en plus de la jaunisse cholestatique due à l'accumulation de calculs dans le canal biliaire, elle peut aussi résulter d'une maladie hémolytique, causant la destruction anormale
- des globules rouges (Oussama, 2010 ; Debray *et al.*, 2011).
- **Fièvre** : généralement, elle ne fait pas partie des symptômes observés en cas de lithiase biliaire simple (Oussama, 2010).

I.11.7. Diagnostic de lithiase biliaire

- **Imagerie** : L'imagerie est réalisée de diverses manières :
 - **Echographie abdominale** : elle permet de diagnostiquer la lithiase vésiculaire. Il est possible d'examiner le canal cystique, la vésicule biliaire, les calculs présents, ainsi que leur quantité, leur taille et leur structure. Son taux de spécificité oscille entre 95 et 99% et sa sensibilité entre 84 et 97% (en fonction de l'opérateur). Le dispositif repère des calculs vésiculaires mesurant entre 1 et 2 mm (fig. 17) (Borie et Millat, 2003 ; Finech, B., Najib, I.J., Dafali, 2008).

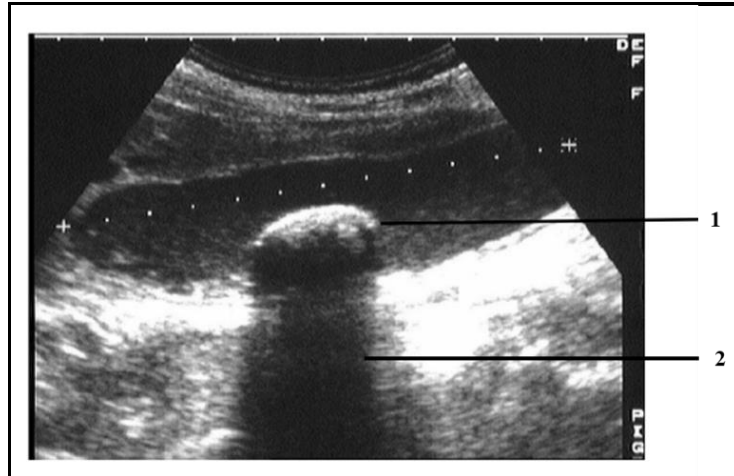


Figure 17 : Examen échographique abdominale de lithiase biliaire : 1 : calcul de type vésiculaire ; 2 : cône d'ombre postérieur (Aymard, 2010)

- **Tomodensitométrie (TDM)** : les coupes axiales mettent en évidence la disponibilité des calculs biliaires au niveau de la vésicule de bile. L'informatique est tributaire de la concentration de calcium. Les calculs calcifiés se caractérisent par une hyperdensité,

alors que le cholestérol est hypodense. Néanmoins, cette observation est rare ([Tramalloni, 2011](#)).

- **Imagerie par résonance magnétique (IRM)** : ce diagnostic détecte les calculs dans les voies biliaires sans recourir à une méthode invasive, la réservant aux situations nécessitant une intervention chirurgicale ([Benrahhal, 2018](#)).
- **Echo-endoscopie** : elle explore les pathologies du pancréas ainsi que la cholestase extra-hépatique. Elle permet de détecter de petits calculs biliaires qui n'ont pas été repérés lors de l'échographie abdominale. Ces cristaux, dont la taille varie de 1 à 3 mm, peuvent entraîner des douleurs intenses au niveau du foie ou du pancréas, particulièrement chez les adultes, et sont peu fréquents chez les enfants. À l'heure actuelle, l'éco-endoscopie est de plus en plus fréquemment employée chez les adultes afin de dépister la microlithiase, avec une sensibilité de 98% ([Tijani, 2014](#)).

I.11.8. Quelques traitements des calculs biliaires

- **Traitements symptomatiques**

Il est envisageable d'administrer des antispasmodiques et des analgésiques symptomatiques par voie intramusculaire, intraveineuse ou oral, et les antibiotiques en cas d'inflammation vésiculaire (cholécystite). Cela est habituellement effectué avant la cholécystectomie ([Corpechot, 2013](#)).

- **Traitements chirurgicaux**

- **Traitement palliatif** : cette intervention vise à garantir que la bile parvienne au système digestif en cas d'impossibilité d'éliminer les calculs. Une anastomose biliodigestive, duodénale, hépatique ou jéjunale, ou une endoprothèse biliaire endoscopique peut être placée à proximité du calcul pour contourner l'obstruction ([Gainant et Sautereau, 1996](#)).
- **Cholécystectomie** : la vésicule biliaire est retirée sous anesthésie générale. Selon l'origine et la technique employée, il est indispensable de respecter certains paramètres opératoires cohérents lors des cholécystectomies par coelioscopie ou laparotomie. L'intervention commence par la détection de la maladie péritonéale ([Massault, 2001](#)).

I.11.9. Prévention de lithiase biliaire

Pour prévenir la lithiase biliaire, [Erlinger, \(2002\)](#) a recommandé les mesures suivantes :

- S'efforcer de maintenir un poids corporel adéquat.
- Pratiquer régulièrement une activité physique.
- Intégrer des graisses de qualité dans l'alimentation.
- Limiter à consommer les sucres à indice glycémique élevé pour réduire le risque de calculs. -Manger des fibres alimentaires qui aident à contrôler l'appétit et à prévenir l'obésité.

Partie expérimentale

Chapitre II : Matériel et méthodes

II.1. Matière végétale

En juin 2021, la plante *Bunium incrassatum*, également connue sous le nom de *Bunium pachypodum*, a été collectée à maturité dans la localité de Labiod Medjadja, située dans la wilaya de Chlef en Algérie. Les coordonnées géographiques de ce site sont approximativement une latitude de 36° 15' 0" Nord, une longitude de 1° 24' 0" Est, et une altitude de 176 m. L'identification botanique de cette plante a été réalisée par le Dr. Sekkal Fatima Zohra, botaniste au département de biologie de l'Université Abdelhamid Ibn Badis à Mostaganem, en Algérie. Un échantillon spécimen a été déposé au laboratoire d'Écologie Végétale du département de biologie de l'Université Ahmed Ben Bella, Oran 1, en Algérie, sous le code voucher (n° H.S. 01998. 1) (fig. 18).



Figure 18 : *Bunium incrassatum* : (A) : plante dans l'environnement ; (B) : racines et partie Aérienne ; (C) : racines (tubercules) ; (D) : grains (originale)

Après la récolte, les racines, les tiges et les grains ont été minutieusement nettoyés par l'eau pour éliminer toute présence de contaminants. Ces trois parties de la plante sont ensuite séparément soumises à un premier processus de séchage d'une durée de 30 jours, réalisé à 37 °C et à l'abri de la lumière. Suite à un deuxième séchage dans une étuve à 40 °C durant quelques jours, le matériel végétal a été pesé chaque 24 h jusqu'à obtention d'un poids stable. Il a été broyé par un broyeur électrique (Moulinex) jusqu'à obtenir une texture fine, ensuite stocké dans des flacons hermétiquement fermés, en vue de toute analyse ultérieure.

II.2. Extraction et détermination du rendement de *Bunium incrassatum*

L'extraction a été réalisée en macérant 10 g de chaque partie de matière végétale broyée dans 100 mL de méthanol à 99.7%, à 25 °C et à l'obscurité, pendant une durée de 72 h. Après filtration à l'aide d'un papier Whatman n°1, la concentration a été effectuée sous pression réduite et à 50 °C par un évaporateur rotatif (Boeco RVO 400, type SD, Allemagne). Les extraits secs bruts de *B. incrassatum* provenant des racines (EMR), des graines (EMG) et des tiges (EMT), obtenus après évaporation dans une étuve à 40 °C pendant 48 h, et conservés à l'obscurité, jusqu'à leur usage (Hasanein et al., 2016).

Le rendement d'extraction a été déduit selon l'équation suivante :

$$\% R = (P_0/P_1) \times 100$$

% R : pourcentage de rendement d'extraction.

P₀ : poids du matériel végétal sec initial mis à l'extraction (g).

P₁ : poids de l'extrait sec obtenu (g).

II.3. Analyse des extraits de *Bunium incrassatum* par HPLC/UV

Les extraits méthanoliques de *B. incrassatum* (EMG, EMT et EMR) ont été soumis à une analyse par un système de chromatographie liquide haute performance (type Agilent 1100), et le processus de séparation s'est déroulé sur une colonne Agilent 120 EC Poroshell (100 mm × 2.1 mm, 2.7 µm), avec une phase mobile composée d'eau/TFA/acide formique (99 : 0.25 : 0.75) (A) et d'acétonitrile (B). L'élution a été menée à 55 °C, avec un débit de 0.6 mL/min et 10 µL de volume de l'échantillon injecté. Le gradient de solvant était le suivant : (0, 0), (1, 10), (2, 12.5), (3, 15), (9, 80), (10, 100), (11, 100), et (14, 0), avec une phase post-équilibre de 5 min.

La détection UV a été observée à 270 et 320 nm. Les temps de rétention ont été comparés avec les standards phénoliques synthétiques (acide gallique, acide cinnamique trans, acide benzoïque, acide férulique, acide m-coumarique, acide caféique, acide rosmarinique et acide ellagique), des flavonoïdes (catéchine, acacétine, hespéridine, thymol, galangine, tectochrysin, pinocembrine, rutine, chrysin, apigénine, kaempférol et quercétine) ainsi que d'autres composés (acide ascorbique, menthol), en utilisant une correspondance spectrale.

Les extraits EMG, EMR et EMT ainsi que les standards ont été solubilisés dans du méthanol à 1 mg/mL. Des courbes étalons synthétiques ont été mises en œuvre pour évaluer les taux en éléments étudiés, exprimées en mg pour 1 g d'extrait brut (Barbaric *et al.*, 2011).

II.4. Activité antioxydante *in vitro*

II.4.1. Quantification des composés phénoliques

II.4.1.1. Quantification des polyphénols totaux (PT)

La quantification des polyphénols totaux dans les extraits méthanoliques de *B. incrassatum* (EMR, EMG et EMT) a été réalisée conformément au protocole de Velioglu *et al.* (1998).

Un volume de 200 µL d'extrait méthanolique de *B. incrassatum* et 1500 µL de FCR à 10% ont été soigneusement mélangés et maintenus à 25 °C dans l'obscurité pendant 5 min avant l'ajout de 1500 µL à 60% (P/V) de bicarbonate de sodium. Après 1 h 30 min d'incubation à 25 °C et à l'obscurité, les absorbances ont été lues à 725 nm par un spectrophotomètre UV-VIS de type Optizen Pop (Corée) contre un blanc.

Les concentrations totales de polyphénols dans les extraits examinés ont été déterminées avec précision à l'aide de la courbe standard de l'acide gallique. Les résultats ont été estimés en milligramme équivalent acide gallique/gramme d'extrait sec (mg EAG/g ES).

II.4.1.2. Quantification des flavonoïdes totaux (FT)

L'estimation quantitative des flavonoïdes totaux inclus dans les extraits de *B. incrassatum* a été effectuée par la procédure adaptée par Woisky et Salatino (1998).

La procédure nécessite de mélanger vigoureusement 1000 µL d'extrait avec 1000 µL de 2% (P/V) de trichlorure d'aluminium (AlCl₃) puis d'incuber pendant 60 min à 25 °C et à

l'obscurité. La DO du mélange réactionnel a été mesuré à 420 nm par rapport à un blanc. La quercétine a servi de standard de référence. Les taux des flavonoïdes totaux ont été exprimés en milligramme équivalent quercétine/gramme d'extrait sec (mg EQ/g ES).

II.4.2. Détermination du potentiel anti-radicalaire par le test au DPPH

La détermination du pouvoir antioxydant des divers extraits de *B. incrassatum* (EMR, EMG et EMT) par le test DPPH a été menée en suivant le protocole décrit par [Loo et al. \(2008\)](#).

Un volume de 250 µL d'extrait méthanolique à différentes concentrations (0.0625, 0.125, 0.25, 0.5, 1, 2 mg/mL) a été combiné à 1000 µL de DPPH à 0.004% fraîchement préparée dans le méthanol. La DO de la mixture a été déterminé à 517 nm par rapport à un blanc, après 30 min dans l'obscurité à 25 °C.

La formule ci-dessous a été adoptée pour établir l'activité anti-radicalaire de DPPH (%RSA ou Radical Scavenging Activity) :

$$\%RSA = [(Abs\ C - Abs\ E / Abs\ C) \times 100]$$

Abs C : absorbance de contrôle.

Abs E : absorbance d'échantillon.

La concentration effective médiane (CE₅₀) a été dérivée du graphique DPPH [%RSA = f (concentrations)] par le biais de la méthode de régression linéaire ([Molyneux, 2004](#)). Elle a été exprimée en milligramme équivalent acide ascorbique/gramme d'extrait sec (mg EAA/g ES) et en milligramme équivalent trolox/gramme d'extrait sec (mg TE/g ES). Le %RSA a été inversement proportionnel à la CE₅₀ ([Prakash et al., 2007](#)).

II.4.3. Détermination du potentiel anti-radicalaire par ABTS

La méthode de spectrophotométrie d'ABTS a été évaluée en suivant le protocole recommandé par [Rice-Evans et al. \(1996\)](#), avec des modifications apportées selon [Re et al. \(1999\)](#).

Le protocole nécessite en premier lieu la préparation d'une solution de stock d'ABTS⁰⁺ en mélangeant un rapport V/V de 2.45 mM de persulfate de potassium (K₂S₂O₈) avec 7 mM d'ABTS. Ce mélange réactionnel est ensuite incubé pendant 12 à 16 h à température ambiante, à l'obscurité. Par la suite, cette solution a été fraîchement diluée avec du méthanol pour atteindre une DO de 0.70 ± 0.02 à 734 nm.

En deuxième lieu, 100 μL d'extrait testé à diverses teneurs (0.0625, 0.125, 0.25, 0.5, 1, 2 mg/mL) ont été additionnés à 900 μL de la solution d'ABTS⁰⁺ précédente. Les DO ont été mesurés à 734 nm contre un blanc. Après 15 min d'incubation du milieu réactionnel à 25 °C et dans l'obscurité.

La solution ABTS⁰⁺ a servi comme contrôle, l'acide ascorbique et le trolox comme standards synthétiques. Les résultats ont été estimés en mg EAA/g ES et en mg TE/g ES. Les courbes graphiques illustrant le taux d'inhibition et la CE₅₀ ont été calculées selon le même procédé que celui utilisé pour le test DPPH.

II.4.4. Détermination du potentiel anti-radicalaire par le test au FRAP

La procédure de [Karagözler et al. \(2008\)](#) a évalué le pouvoir antioxydant réducteur du fer ferrique (FRAP) des extraits de *Bunium incrassatum*.

À 1000 μL de chaque extrait à différentes concentrations (0.0625, 0.125, 0.25, 0.5, 1, 2 mg/mL) a été ajouté 2500 μL d'un tampon phosphate (0.2 M, pH 6.6) et 2500 μL de 1% (P/V) de potassium ferrocyanure ($\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$). Durant 20 min, la mixture a été placée dans un bain-marie à 50 °C, puis refroidie à température ambiante dans l'obscurité avant d'interrompre la réaction chimique en ajoutant 2500 μL à 10% (P/V) d'acide trichloroacétique (TCA).

Un volume de 2500 μL de surnageant obtenu après une centrifugation à 3000 tr/min durant 10 min, a été mélangé avec 2500 μL d'eau distillée et 500 μL de trichlorure de fer à (0.1% : P/V) (FeCl_3) fraîchement préparé et incubé durant 10 min à l'obscurité et à 25 °C. Les DO ont été mesurées à 700 nm par rapport à un blanc et comparées à celle des standards (l'acide ascorbique et le trolox), qui sont des antioxydants standards. Une élévation de l'absorbance est liée à un renforcement du potentiel réducteur ferrique des extraits, révélant ainsi une augmentation de leur capacité antioxydante.

Le potentiel réducteur des échantillons a été exprimé en termes de concentrations effectives à 50% (CE₅₀), qui ont été calculées à travers une régression linéaire, nécessaires pour avoir une absorbance de 0.5 à 700 nm ont été interpolées ([Fernandes et al., 2017](#)).

II.4.5. Détermination de la capacité antioxydante totale (CAT)

La méthode de phosphomolybdate des différents extraits méthanoliques a été déterminée par la procédure de [Laloo et Sahu. \(2011\)](#).

Un volume de 300 µL d'extrait méthanolique ont été ajoutés à 3000 µL de réactif, comprenant de solutions d'acide sulfurique à 0.6 M (H₂SO₄), de molybdate d'ammonium à 4 mM de ((NH₄)₂ MoO₄), et de phosphate de sodium à 28 mM de (NaH₂PO₄). Après une incubation de 90 min dans un bain-marie à 95 °C, suivie d'un refroidissement à 25 °C et à l'obscurité. En comparaison à un blanc, l'absorbance a été marquée à 695 nm. Le taux des antioxydants par le phosphomolybdate dans les extraits testés a été exprimé en mg EAA/g ES et en mg TE/g ES.

II.5. Effet inhibiteur de l'alpha-amylase

II.5.1. Alpha-amylase inhibiteur *in vitro*

L'impact des extraits méthanoliques de *B. incrassatum* (EMR, EMG et EMT) sur la capacité de lyse de l'alpha-amylase a été appliqué à l'aide de la méthode de [Worthington \(1993\)](#).

Un volume de 500 µL de chaque extrait à différentes teneurs (0.125, 0.250, 0.50, 1, 2 et 4 mg/mL) ont été ajoutés à 500 µL de l'α-amylase pancréatique porcine (0.50 mg/mL), et à 500 µL de solution soluble dans l'amidon (1% : P/V) (préparée dans un tampon de phosphate de sodium (PBS) à 0.02 M et pH 6.9 et de 0.006 M de NaCl) et incubés à 25 °C durant 10 min. Ensuite, la réaction enzymatique a été terminée en ajoutant 2 mL d'acide dinitrosalicylique. La mixture résultante a été bouillie pendant 5 min, puis refroidie à température ambiante. Par la suite, les DO ont été lus à 540 nm contre un blanc.

L'acarbose à différentes concentrations a été ajouté dans les mêmes conditions que décrites précédemment et utilisé comme standard. L'activité des extraits sur l'α-amylase a été calculée en pourcentage d'inhibition conformément. L'activité des extraits sur l'α-amylase a été calculée en pourcentage d'inhibition (%I) en se basant sur l'équation suivante :

$$\%I = (\text{Abs C} - \text{Abs E}) / \text{Abs C} \times 100$$

La teneur quantitative inhibitrice de l'activité enzymatique à 50% de l'extrait a été utilisée pour mesurer l'effet inhibiteur. Les valeurs CI₅₀ ont été dérivées en procédant à une régression pour déduire des courbes d'inhibition en pourcentage de l'α-amylase en fonction des teneurs en extrait. Ces valeurs sont exprimées en mg/mL.

II.5.2. Alpha-amylase par dispersion sur agar gélosé

Les échantillons ont été analysés pour déterminer l'effet digestif de l'alpha-amylase en utilisant la méthode de dispersion sur disque d'agar gélosé décrite par [\(Cha et al., 2009\)](#).

Le test d'hydrolyse de l'amidon a été réalisé à l'aide de plaques contenant 1% d'amidon mélangé à 1.5% d'agar. Des disques Whatman n° 1 (8 mm) stériles ont été insérés sur les plaques d'agar, puis 10 µL d'échantillons : α -amylase pancréatique porcine (0.50 mg/mL) avec ou sans extrait à différentes concentrations (0.0625, 0.125, 0.250, 0.5 et 1 mg/mL) ont été appliqués sur le disque de papier-filtre. Après 72 h d'incubation à 37 °C, une solution d'iode (5 mM I₂ dans 3% de KI) a été déversée sur les plaques d'amidon pendant 15 min à température ambiante. L'eau distillée a éliminé l'iode des plaques et les diamètres des zones hydrolysées entourant les puits ont déterminé l'activité de l' α -amylase.

II.6. Activité antilithiasique vésiculaire *in vitro* des extraits phénoliques de *Bunium incrassatum*

II.6.1. Calculs vésiculaires

Les calculs vésiculaires sont prélevés volontairement sur des patients atteints de lithiase vésiculaire à l'hôpital Bourdj Bounaama (Tissemsilt, Algérie) (fig. 19). Leur identification chimique est effectuée par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier et réflectance totale atténuée (FTIR-ATR) à l'aide d'un spectromètre IR (IRAffinity-1S Shimadzu, Japon).



Figure 19 : Calculs vésiculaires testés (photo originale)

II.6.2. Capacité de dissolution

La capacité litholytique de *B. incrassatum* a été estimée selon les méthodes énoncées par Meiouet *et al.* (2011) ; Hannache *et al.* (2012) et Amoura *et al.* (2018).

Un volume de 100 mL de chaque extrait à tester (EMG, EMR et EMT) a été mis dans un erlenmeyer de 250 mL en verre. Chaque calcul a été placé dans un tissu poreux stérile et

mis en suspension dans la solution d'extrait afin d'éviter toute contrainte mécanique sur les calculs biliaires. L'erenmeyer a été fermé à l'aide d'un bouchon et l'ensemble a été mis sous une agitation magnétique constante de 130 tr/min (Wise Cube, Wisd) à température ambiante pendant 9 semaines contre un témoin négatif contenant une solution de NaCl à 9 g/L. Après chaque semaine, les calculs biliaires ont été retirés des solutions et séchés à 40 °C durant 18 h dans une étuve avant d'être pesés sur une balance de précision pour calculer la perte de poids.

Le pourcentage de dissolution (%a) a été déterminé selon l'équation suivante :

$$\%a = (P'_0 - P'_1) / P'_0 \times 100$$

P'₀ : poids de calcul avant la dissolution (g).

P'₁ : poids final de calcul après la dissolution (g).

II.6.3. Évolution du pH

Le pH du médium teste a été effectués par un pH-mètre au début de l'étude (S₀), et à la fin de chaque semaine expérimentale pendant la durée de la recherche.

Après le traitement des résultats *in vitro*, le choix de l'extrait pour l'étude *in vivo* sera fait par rapport au meilleur rendement des trois extraits.

II.7. Études biologiques *in vivo*

II.7.1. Matériel animal expérimental

Un nombre de 111 rats Wistar albinos mâles pesant 100 ± 20 g, délivrés par l'Institut Pasteur (Alger, Algérie), ont été sélectionnés pour les recherches actuelles. Après leur arrivée, les animaux ont été distribués dans des cages métalliques (22 ± 2 °C, 45 à 55% d'humidité) exposés alternativement à la lumière et à l'obscurité chaque les 12 h préservant leur rythme naturel, pour une phase d'adaptation de deux semaines. La litière a été changée tous les deux jours, la nourriture a été fournie par l'Office National des Animaux du Bétail de Bouzeréa, Alger (ONAB).

Ils ont reçu un traitement conorme aux recommandations des National Institutes of Health (NIH-USA). Le Comité Institutionnel d'Ethique Animale a autorisé toutes les méthodes et stratégies expérimentales de ces recherches (1205/c/08/CPCSEA, 21 avril 2008).

II.7.2. Acte de toxicité aiguë

Onze groupes de 5 rats chacun ont été utilisés dans le test de toxicologie aiguë dont le premier groupe a servi de témoin et les groupes de 2 à 11 de l'extrait méthanolique des

graines de *B. incrassatum*. Après un jeûne de 16 h, les rats ont reçu des doses orales de 250, 500, 1000, 2000, 3000, 4000, 5000, 6000, 7000 et 8000 mg d'EMG/kg de poids corporel (chaque dose pour chaque groupe).

Des observations comportementales des rats ont été établies pendant les premières 4 h, 8 h, régulièrement, 24 h et jusqu'à 14 jours après l'administration orale de l'EMG à différentes concentrations avec une hydratation et une alimentation quotidienne. Durant cette période, les éventuelles modifications de comportement, notamment (motilité, agitation, respiration, asthénie, poids, aspect des selles, mortalité, etc.) de chaque rat ont été consignées (fig. 20) (OCDE, 2002).

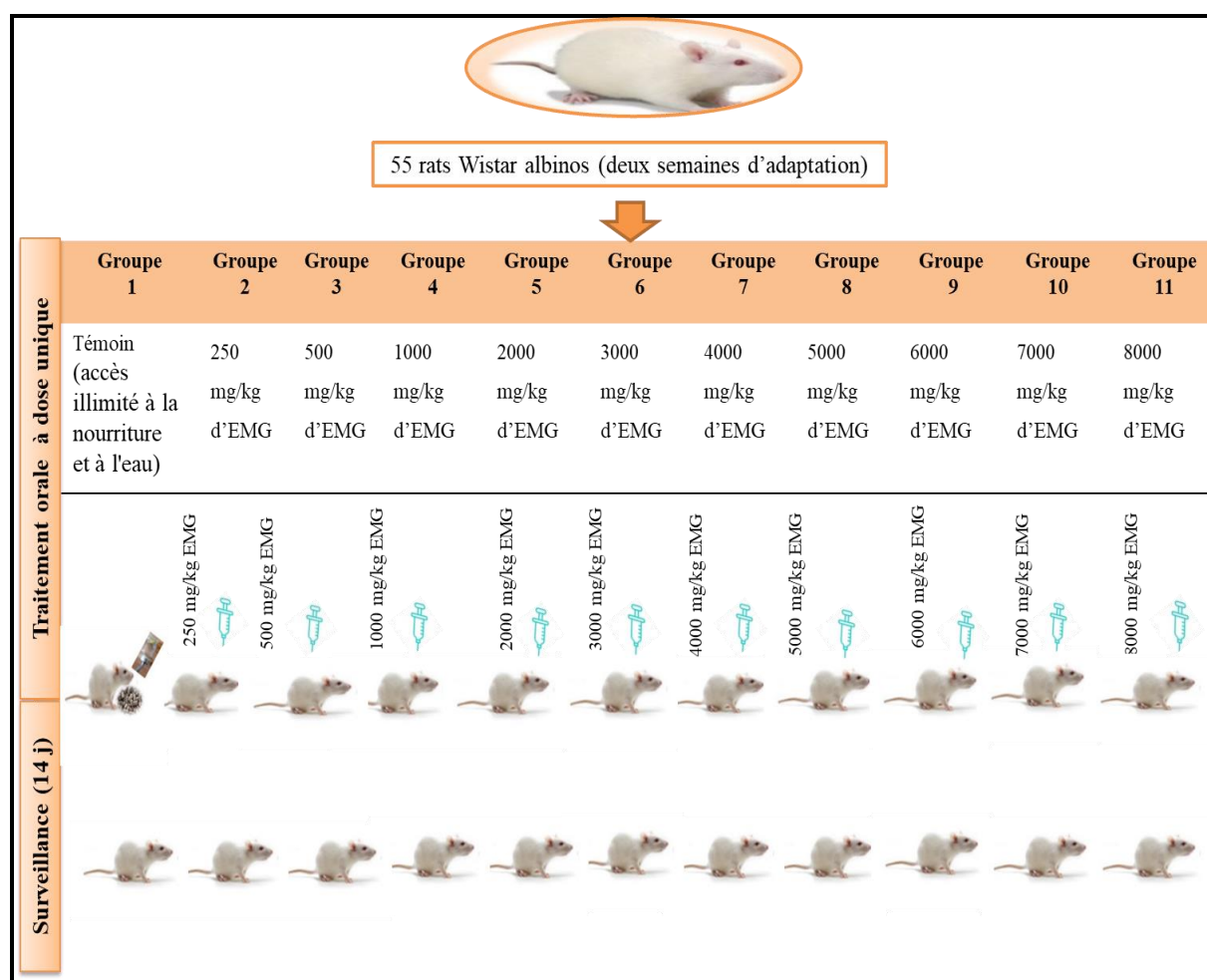


Figure 20 : Protocole expérimental descriptif de l'acte de toxicité aiguë de *B. incrassatum*

II.7.3. Acte analgésique *in vivo* (test du Writhing)

Selon la procédure de [Koster et al. \(1959\)](#) et celle modifiée par [Collier et al. \(1968\)](#), le test de Writhing implique l'induction de la douleur d'origine périphérique à l'aide de substance irritante en administrant de l'acide acétique à 1.2% (V/V) intra-péritonéalement (*i.p.*) chez les

rats, à raison de 10 mL/kg. Cette injection génère de la douleur, ce qui entraîne l'extension des contractions des pattes arrière et des torsions des muscles dorso-abdominaux du rat (contorsions abdominales).

Suite à une période de jeûne de 16 h, les rats ont été disposés en 3 groupes de 5 animaux chacun, soumis au traitement suivant une heure avant l'induction de la douleur par 1.2% (V/V) *i.p.* d'acide acétique.

Les traitements pour les groupes de rats ont été les suivants :

Groupe 1 : rats témoins positifs.

Groupe 2 : rats de référence, traités par 200 mg/kg d'ibuprofène par voie orale pendant 5 jours.

Groupe 3 : rats traités oralement par 200 mg/kg de l'EMG durant 5 jours.

Après 5 min d'administration d'acide acétique (*i.p.*) aux rats des trois groupes, ils ont disposé de 15 min pour enregistrer le nombre de contorsions (NC) par observation comportementale (fig. 21).

L'efficacité analgésique en tant que pourcentage d'inhibition de la douleur (%I) (Rouibi, 2012) a été déterminée selon l'équation :

$$\%I = \frac{NC_T - NC_{Tr}}{NC_T} \times 100$$

NC_T : moyenne du nombre de contorsions des rats du groupe témoin.

NC_{Tr} : moyenne du nombre des contorsions des rats du groupe traité.

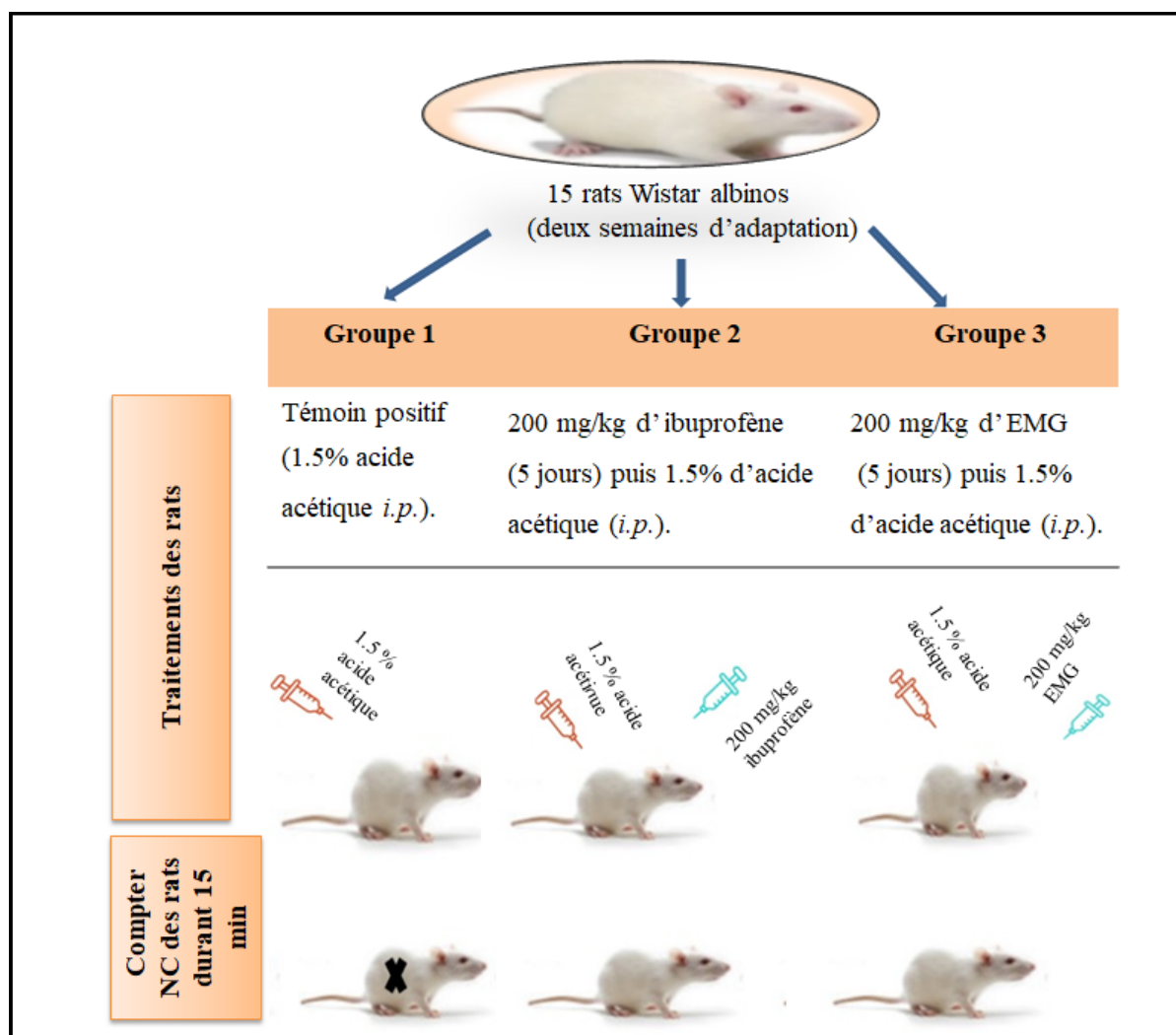


Figure 21 : Protocole expérimental descriptif de l'effet analgésique *in vivo* de *B. incrassatum*

II.7.4. Acte antidiabétique *in vivo*

II.7.4.1. Induction expérimentale de diabète

L'étude a compté 20 rats qui ont été répartis en 4 groupes de 5 chacun, Après l'adaptation, les animaux sont restés à jeun pendant 12 h mais ont eu un accès illimité à l'eau. Ils ont été exposés à une dose unique (*i.p.*) de 150 mg/kg de poids corporel d'alloxane monohydraté (SIGMA-ALDRICH, St Louis, USA), dissous dans une solution saline à 0.9% (Collins *et al.*, 2016).

Après 7 jours, les rats présentant un taux de glucose sanguin à jeun dépassant 2.50 g/L ont été classés diabétiques et maintenus pour la poursuite de l'étude (Idakwoji *et al.*, 2021).

II.7.4.2. Protocole de traitement des animaux

L'effet hypoglycémiant a été réalisé selon les protocoles d'Hassan *et al.* (2011) et de BelHadj *et al.* (2013) avec quelques modifications (fig. 22).

Les animaux ont été traités de la manière suivante :

Groupe 1 : rats témoins à accès illimité à la nourriture et à l'eau.

Groupe 2 : rats traités par l'alloxane (150 mg/kg, *i.p.*).

Groupe 3 : rats traités par l'alloxane (150 mg/kg *i.p.*) puis oralement par EMG à 200 mg/kg (59 jours).

Groupe 4 : rats traités par administration orale de l'EMG à 200 mg/kg (59 jours).

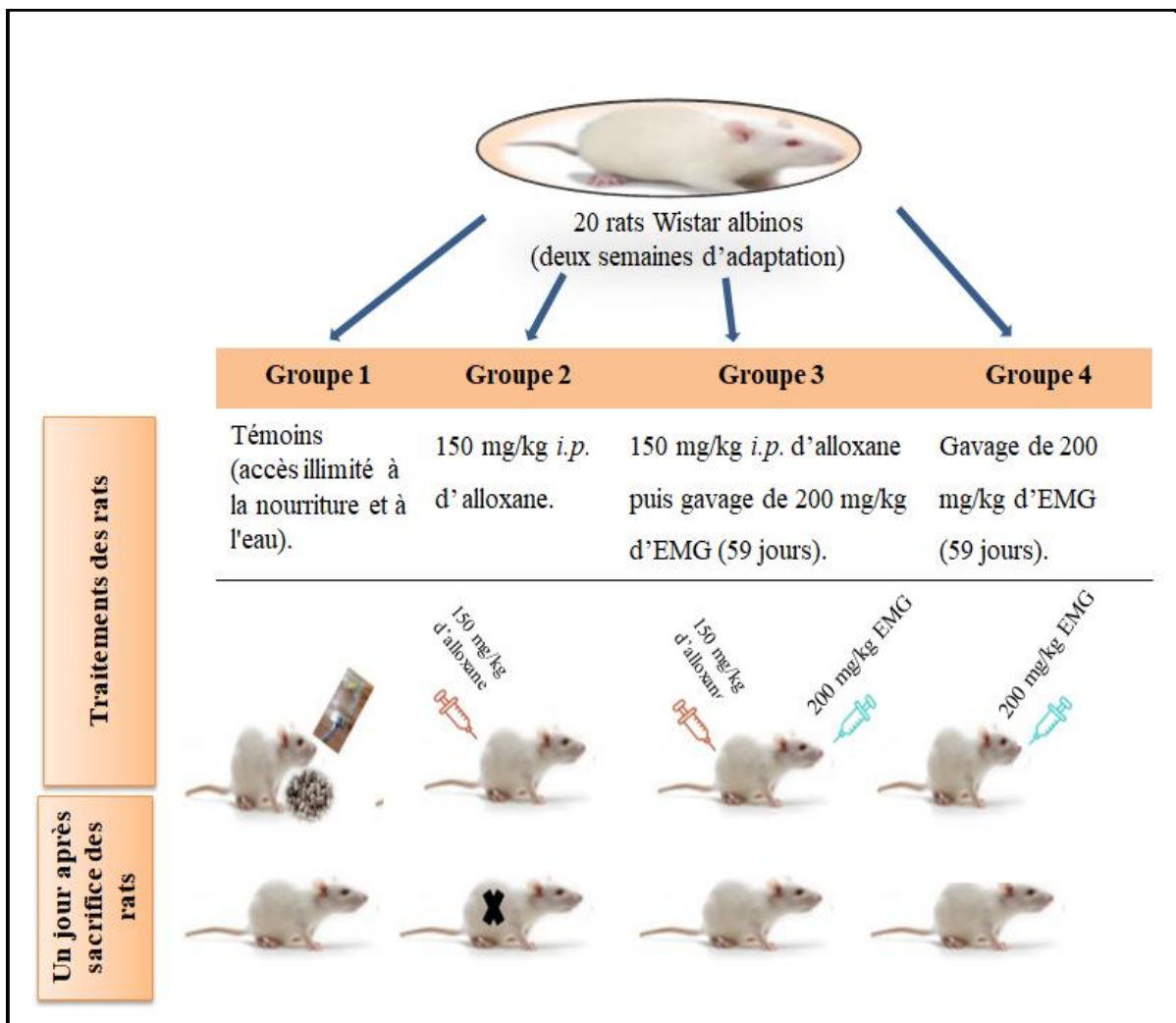


Figure 22 : Protocole expérimental descriptif de l'effet hypoglycémiant *in vivo* de *B. incrassatum*

II.7.4.3. Évolution du poids corporel

Chaque semaine, les mesures pondérales des rats ont été prises au moyen d'une balance de précision (Sartorius, Göttingen, Allemagne). Les variations de poids corporel (%VPC) ont été calculées selon la formule suivante :

$$\%VPC = (P_j - P_{j0}) / P_{j0} \times 100$$

P_{j0} : poids corporel des rats du 1^{er} jour.

P_j : poids corporel des rats du jour j.

II.7.4.4. Évolution glycémique

Après un jeûne de 16 h, l'impact hypoglycémiant a été estimé durant 59 jours en mesurant le taux de glucose sanguin chaque semaine par un glycomètre à bandelettes (Vital Check MM 1200, Corée). Une fine incision a été créée latéralement au-dessus de la veine de la queue de rat. Le sang a été immédiatement aspiré par le bout de la bandelette lorsqu'il a été mis en contact avec celle-ci. La queue de l'animal a été préalablement et successivement désinfectée par un coton imprégné de l'alcool chirurgical.

Le pourcentage de variation glycémique (%VG) a été déterminé suivant la formule suivante :

$$\%VG = (G_j - G_{j0}) / G_{j0} \times 100$$

G_{j0} : glycémie du 1^{er} jour.

G_j : glycémie du jour j.

II.7.4.5. Sacrifice, prélèvements du sang et des organes

Au 59^{ème} jour (à la fin de l'expérimentation), après un jeûne de 16 h. Pour réduire le risque de modification des paramètres métaboliques, tous les rats ont été soumis à une légère anesthésie. Ils ont ensuite été décapités immédiatement avant que le sang ne soit recueilli par ponction cardiaque dans des tubes héparines et secs. Le plasma et le sérum ont ensuite été séparés par la centrifugation à 3000 tr/min pendant 10 min (Hettich Zentrifugen EBA 20, Allemagne), puis conservés à -80 °C jusqu'aux dosages hormonal et biochimique.

Après la dissection des rats, les organes (pancréas, foie et reins) ont été délicatement retirés, inspectés et nettoyés avec une solution de NaCl à 0.9% (P/V). Les échantillons d'organes ont été rapidement fixés dans 10% (V/V) de formol en vue d'un examen histologique.

II.7.4.6. Dosage des marqueurs biochimiques

Les paramètres biochimiques ont été analysés par un automate (Mindray BS 330, Allemagne) à l'aide des kits de dosages standards commercialisés. Les dosages de chaque paramètre ont été déterminés selon les méthodes décrites par les fabricants.

II.7.4.6.1. Marqueurs glycémiques

- **Glucose sanguin**

Le glucose sanguin a été établi en appliquant la procédure de [Tringer \(1969\)](#) (Kit Biomérieux, France).

La progression de DO du NADH dans la mixture réactionnelle est détectée à 340 nm et est corrélée au taux de glucose dans le spécimen testé.

- **Hémoglobine glyquée (HbA1 C)**

Dans les érythrocytes, le glucose a été combiné à l'hémoglobine A (au niveau de la chaîne B) pour former l'hémoglobine glyquée. Le 723G7 a été utilisé pour mesurer le taux d'HbA1 C sanguin (%). L'analyse HPLC a été faite à l'aide d'une colonne échangeuse d'ions non poreuse (gel + polymère). Les diverses sections d'hémoglobine, y inclus l'hémoglobine A1c, ont été efficacement fractionnées en six fragments et évaluées (2.2 min/échantillon). Les éluants n° 1, 2 et 3 d' HSi ont été utilisés pour le processus de séparation. Les résultats obtenus dans le chromatogramme indiquent les fractions de l'hémoglobine en pourcentage ([Little et al., 1994](#)).

- **Insuline**

L'insuline a été déterminée par la méthode de [Sapin et Demangeat \(2001\)](#) (Kit de Biomnis, France). Cette procédure est effectuée par radio-immunodosage, en employant des antisérums polyclonaux capables de détecter également la pro-insuline.

II.7.4.6.2. Marqueurs lipidiques

- **Triglycérides (TG)**

Les triglycérides ont été analysés conformément à la procédure de [Fossati et Prencipe \(1982\)](#) (Kit Biolabo, France).

L'absorbance du complexe coloré en rose (quinonéimine) a été lue à 500 nm. Elle est proportionnelle au taux de triglycérides dans l'échantillon testé.

- **Cholestérol total (TC)**

La méthode colorimétrique enzymatique de [Fasce \(1982\)](#) a été utilisée pour mesurer le taux total de cholestérol (Kit Spinreact, Spain).

La DO a été révélé à 505 nm dont le taux a été proportionnellement lié au taux de cholestérol engagé dans le processus, exprimé en g/L ([Fasce, 1982](#)).

- **Lipoprotéine de haute densité (HDL)**

L'HDL a été dosé par la technique enzymatique décrite par [Grove \(1979\)](#) (Kit Spinreact, Spain).

La lipoprotéine de haute densité a été générée par la précipitation préférentielle du LDL et du VLDL avec un composé de polyanions et de cations ou de l'acide phosphotungstique en présence de cations divalents. Une fois que la centrifugation a été effectuée à 4000 tr/ 20 min, le surnageant a été récupéré comme HDL. La lecture de DO a été notée à 505 nm.

- **Déduction de taux de lipoprotéines de faible densité (LDL)**

Le taux de lipoprotéines de faible densité ou bien LDL a été calculé à partir de l'équation de [Friedewald et al. \(1972\)](#), dont le taux des triglycérides est inférieur à 3.5 g/L (4 mmol/L).

$$\text{LDL} = [\text{TC} - \text{HDL} + (\text{TG}/5)]$$

LDL : cholestérol de lipoprotéine de faible densité.

TC : cholestérol total.

HDL : cholestérol de lipoprotéine de haute densité.

TG : triglycéride

- **Déduction de lipoprotéines de très faible densité (VLDL)**

La formule de [Crook \(2006\)](#) a été utilisée pour quantifier le taux de lipoprotéines de très faible densité ou bien VLDL (g/L) à partir des triglycérides :

$$\text{VLDL} = \text{TG}/5$$

- **Déduction de résistance à l'insuline (IR)**

[Young et al. \(2019\)](#) ont utilisé la formule suivante pour identifier le marqueur de résistance à l'insuline (IR) qui indique :

$$\text{IR} = \text{TG}/ \text{HDL}$$

II.7.4.6.3. Marqueurs rénaux

- **Urée**

Le protocole calorimétrique enzymatique de [Fawcett et Scott \(1960\)](#) a été utilisé pour apprécier l'urée (Kit Biolabo, France).

La diminution de la teneur de NADH se manifeste par une baisse de l'absorbance de la coloration à 340 nm, proportionnelle au taux urinaire en spécimen.

- **Créatinine**

La méthode appliquée à la réaction du picrate alcalin de Jaffé ([Kruijswijk, 1975](#)) a permis de quantifier la créatinine (Kit Biolabo, France).

La production d'un complexe coloré entre la créatinine et le picrate alcalin est proportionnelle au taux quantitatif de créatinine dans le spécimen examiné. La cinétique de ce développement a été marquée à 500 nm.

II.7.4.6.4. Marqueurs hépatiques

- **Alanine aminotransférase (ALAT)**

L'enzyme hépatique alanine aminotransférase (ALAT) ou bien glutamate-pyruvate-transaminase (GPT) a été déterminée par la méthode cinétique de [Bergmeyer et al. \(1978\)](#) (Kit Spinreact, Spain).

La baisse des niveaux de NADH correspond à la capacité enzymatique de l'alanine aminotransférase dans le spécimen présent. La DO a été réalisé à 340 nm.

- **Aspartate aminotransférase (ASAT)**

L'enzyme aspartate aminotransférase (ASAT) ou bien glutamate-oxalo-acétate-transaminase (GOT) a été analysée par la méthode cinétique de [Bergmeyer et al. \(1978\)](#) (Kit Spinreact, Spain).

La réduction des taux de NADH a été liée à l'activité d'ASAT dans l'échantillon. Lecture à 340 nm.

- **Phosphatase alcaline (PAL)**

La phosphatase alcaline ou bien PAL a été estimée par la procédure colorimétrique de [Moss et al. \(1971\)](#) (Kit BioVision, USA). Ce paramètre assure l'hydrolyse du P-nitrophényl phosphate (PNP-P) dans un milieu alcalin en produisant du phosphate et du P-nitrophénol (PNP) de couleur jaune.

L'intensité de la pigmentation jaune générée dépend de la production enzymatique de la PAL dans le substrat, absorbante à 405 nm.

- **Gamma-glutamyl-transférase (γ -GT)**

La γ -GT est retrouvée dans la plupart des tissus de l'organisme. Elle est plus particulièrement localisée dans le pancréas, le foie et les reins.

[Persijn et van der Slik \(1976\)](#) ont démontré que l'enzyme gamma-glutamyl-transférase du foie convertit le γ -glutamyl-p-nitroanilide en glycylglycine, un dipeptide récepteur.

II.7.4.6.5. Protéines totales

Selon la réaction de Biuret, les protéines sériques ont été transformées en un complexe coloré en présence de sels de cuivre dans un milieu alcalin ([Lowry et al., 1951](#)). La teneur en protéines détermine l'intensité de la pigmentation. Les protéines du sérum produisent un composé coloré lorsqu'elles sont exposées à un milieu alcalin contenant du tartrate de sodium et du potassium. La densité optique a été lue à 550 nm.

II.7.4.6.6. Albumine

[Doumas et al. \(1977\)](#) ont appliqué la méthode colorimétrique pour quantifier la dose d'albumine (Kit Biolabo, France).

L'albumine se combine au vert de bromocrésol dans un milieu tamponné au pH de 4.2 pour créer un complexe teinté qui peut être relevé par spectrophotométrie à 630 nm. Cette réponse varie en fonction du taux d'albumine dans le spécimen.

II.7.5. Activité hypothyroïdie *in vivo* sur des rats Wistar

L'effet hypothyroïdie d'EMG de *B. incrasatum* a été effectué suivant le protocole de [Saxena et al.\(2012\)](#), suivi de quelques modifications.

II.7.5.1. Induction d'hyperthyroïdie expérimentale

Après acclimatation, l'hyperthyroïdie a été induite chez des rats expérimentaux en administrant oralement de 600 μ g/kg PC 14 jours. L'hyperthyroïdie a été confirmée par un dosage des hormones thyroïdiennes, hormone triiodothyronine (T3), hormone thyroxine (T4), et hormone thyroïdostimuline (TSH).

II.7.5.2. Protocole de traitement des animaux

Un effectif de 20 rats a été réparti en 4 groupes de 5 chacun et a reçu les traitements suivants par voie orale (fig. 23) :

Groupe 1 : rats témoins (eau et nourriture *ad libitum*).

Groupe 2 : rats traités par 600 µg/kg de thyroxine (14 jours).

Groupe 3 : rats traités par 600 µg/kg de thyroxine (14 jours) puis par EMG à 200 mg/kg (30 jours).

Groupe 4 : rats reçoivent EMG à 200 mg/kg (30 jours).

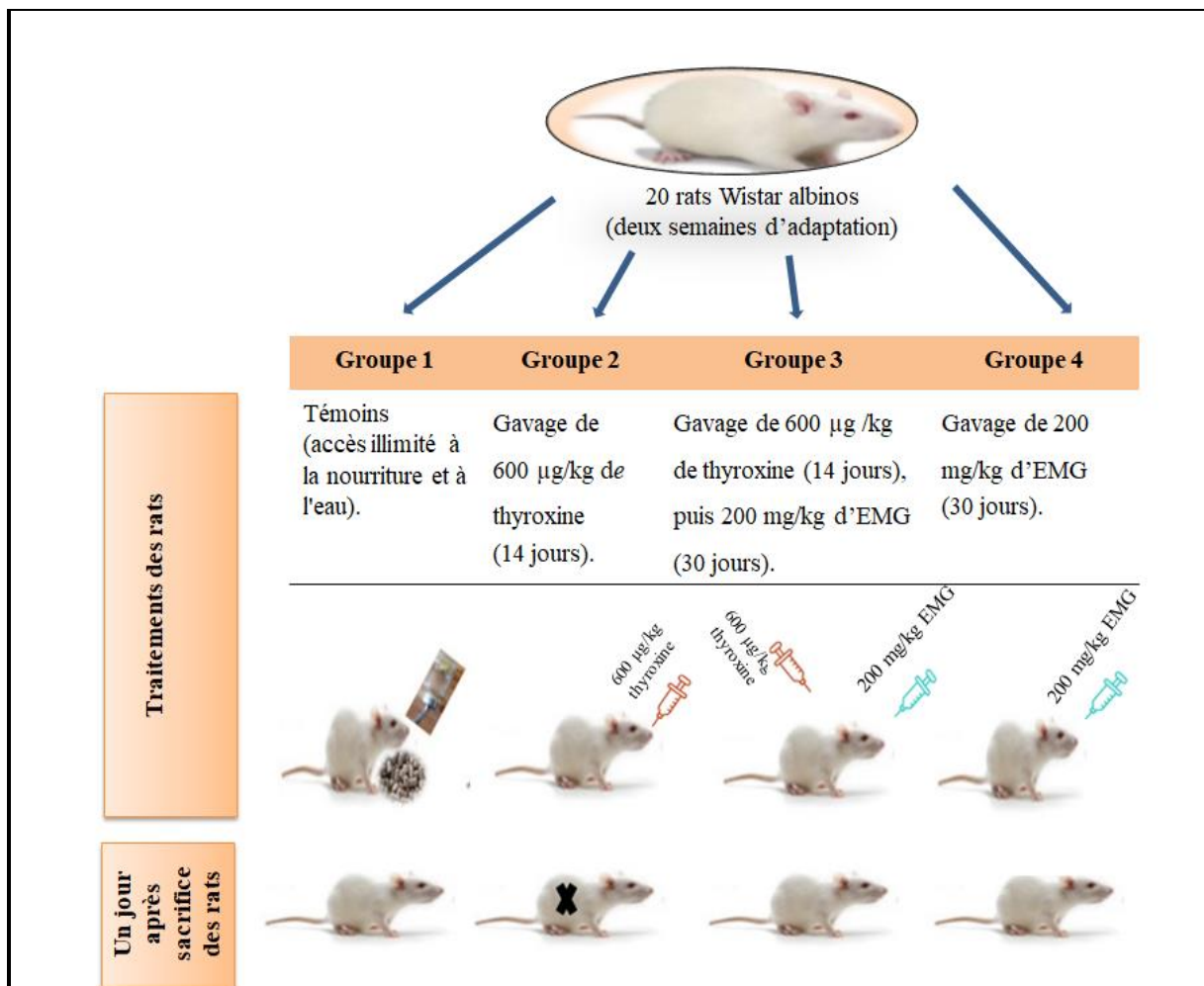


Figure 23 : Protocole expérimental descriptif de l'effet hypothyroïdien *in vivo* de *Bunium incrassatum*

II.7.5.3. Sacrifice, prélèvement sanguin et d'organes

À la fin de l'expérience, les mêmes procédures ont été suivies que précédemment chez les rats pour le prélèvement du sang et le sacrifice. Après centrifugation, le sérum récupéré a été conservé à -20 °C pour réaliser le dosage hormonal thyroïdien (T3, T4, et TSH). Pour l'examen histologique, les glandes thyroïdiennes ont été rapidement excisées, et conservées dans du formol à 10% (V/V).

II.7.5.4. Détermination des marqueurs hormonaux thyroïdiens

II.7.5.4.1. Triiodothyronine (T3)

La méthode immuno-enzymatique compétitive de [Shuurs et Van \(1977\)](#) a été utilisée pour mesurer la concentration de triiodothyronine libre (FT3) dans le sérum de l'échantillon à l'aide de Kit Mindray Biomédical (Chine). L'échantillon contient un taux de T3 qui est inversement lié aux unités relatives de la lumière (RLU) générées pendant la réaction.

II.7.5.4.2. Thyroxine (T4)

La teneur en thyroxine (FT4) a été déterminée selon la méthode immuno-enzymatique de [Shuurs et Van \(1977\)](#) (Kit Mindray Biomédical, Chine). Elle est inversement liée aux unités relatives de la lumière (RLU) formées durant la réaction.

II.7.5.4.3. Thyréostimuline (TSH)

Le dosage quantitatif de l'hormone thyréostimuline (TSH) a été effectué selon la méthode immuno-enzymatique de [Soos et Siddle \(1982\)](#) à l'aide du Kit Mindray Biomédical (Chine). La quantité de TSH présente dans l'échantillon est proportionnelle aux unités relatives de la lumière (RLU) produites au cours de la réaction.

II.7.6. Étude histologique

Les différents organes ont été retirés à la suite de chaque expérience *in vivo* pour l'observation et l'évaluation des organes endommagés par contraste avec les organes typiques.

- Le pancréas, le foie et les reins après le diabète causé par une administration intra-péritonéale d'alloxane.
- La glande thyroïdienne, suite à une hyperthyroïdie induite par la thyroxine par voie orale.

L'examen histologique des différents organes prélevés a été réalisé selon plusieurs étapes principales et successives ([Drury et Wallington, 1980](#)).

II.7.6.1. Préparation d'échantillonnage

A- Fixation

Après le prélèvement, cette étape est immédiatement mise en place pour prévenir les contaminations tissulaires ainsi que l'autolyse. Selon la méthode de [Coujard \(1980\)](#), la fixation vise à conserver les structures de l'échantillon tout en préservant leur morphologie cellulaire et tissulaire. Les organes ont été entièrement immergés dans un fixateur (formol ou bien le liquide de Bouin) de 24 h à plusieurs jours.

B- Mise en cassette

Chaque échantillon a été par la suite découpé transversalement et mis dans une cassette d'inclusion marquée sur le bord avant d'être plongée dans un récipient contenant du formol (10%), un dixième du volume de l'échantillon.

C- Déshydratation

Les cassettes ont été rincées avec de l'eau distillée avant d'être déshydratées dans trois bains successifs d'éthanol (70, 95 et 100%) pendant une heure chacun. Cette étape permet également de mettre un terme à l'effet de fixation du formol.

D- Clarification

Deux bains de xylène à 40 °C ont été utilisés pour clarifier les échantillons, avec une durée de 2 h pour chaque bain. Dans cette étape, toute présence d'éthanol est éliminée de l'échantillon. Le déshydratant a été substitué par une substance qui se mélange avec la paraffine, ce qui améliore la transparence des échantillons.

E- Inclusion

Les cassettes ont été imprégnées à chaud (56 °C) avec deux bains successifs de paraffine de routine pendant 1 h 30. Par la suite, la paraffine a été coulée en quart dans des moules en acier inoxydable et chauffée à 60 °C, avant d'être déposée sur les spécimens. Une fois la paraffine a été durcie, les blocs obtenus ont été soumis à une congélation à -20 °C.

II.7.6.2. Microtomie

Au moyen d'un microtome Leica (Allemagne), des coupes d'épaisseur de 5 µm ont été préparées à partir des blocs de paraffine préalablement décongelés et démoulés. Les coupes ont été attachées à des lames en verre et séchées à température ambiante.

II.7.6.3. Coloration

Cette phase a été initiée par l'élimination de la cire et la réhydratation des lames préparées dans une série de bains d'alcool dégressifs (100°, 95°, 90° et 70°), demeurant chacun 10 min, puis 5 min de lavage à l'eau courante. Deux colorants ont été utilisés pour colorer les cellules et les tissus afin de mettre en évidence leur morphologie :

- L'hématoxyline basique a marqué le noyau acide (basophile) en bleu-violet ;
- Tandis que le cytoplasme basique (acidophile) a été coloré en rose par l'éosine acide (acidophile).

Les lames ont subi une coloration de la façon suivante :

- Les lames ont été immergées dans un bain d'hématoxyline pendant 5 min ;
Ils ont été immergés dans l'eau du robin jusqu'à ce que la couleur vire au bleu violet ;
- On les a plongées dans une solution d'éosine à 1% (V/V) pendant 3 min ;
- Deux bains éthanoliques successifs ont été utilisés pour éliminer l'excès de pigment, à 70° puis à 96°, pendant 5 min chacun ;
- Passez les lames à deux reprises dans du xylène pendant 5 min.

II.7.6.4. Assemblage et observation au microscope

Après avoir été séchées à l'air libre, une goutte de baume du Canada permet de bien sceller les échantillons colorés entre la lame et la lamelle. Un microscope optique a été utilisé pour examiner les lames préparées.

II.8. Analyses statistiques

Les résultats sont obtenus sous forme de moyenne \pm écart-type. Ils sont traités par le logiciel IBM SPSS Statistiques version 22 et soumis à une ANOVA à un facteur avec le test de Tukey et le Past 3 software. Selon un plan entièrement aléatoire, les tests *in vitro* et *in vivo* ont été effectués de manière indépendante, 3 fois et 5 fois répétés d'ordre respectif. La différence est significative à $P < 0.05$, très significative à $P < 0.01$, hautement significative à $P < 0.001$ ou bien non significative à $P > 0.05$. * Comparativement au G1 témoin, # comparativement au G2, traité par l'alloxane ou bien par la thyroxine. Les graphes ont été représentés par GraphPad Prism 10.2.1.395.

Résultats et discussion

Chapitre III : Résultats et discussion

III.1. Rendement d'extraction

Les résultats des rendements d'extraction pour les racines (EMR), les tiges (EMT) et les graines (EMG) de *B. incrassatum* ont été indiqués dans la [figure 24](#).

EMR a présente un rendement plus élevé, estimé à 12.19%, en comparaison avec les extraits EMG 4.46% et EMT 1.77%, respectivement.

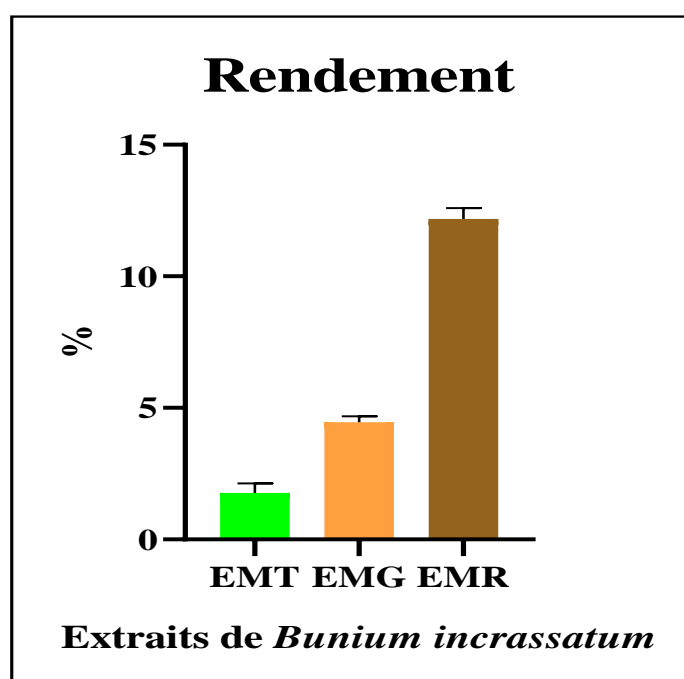


Figure 24 : Rendement de l'extraction des extraits méthanoliques de *B. incrassatum*

En outre, des facteurs tels que la variabilité génétique, les conditions spécifiques de croissance (le type de sol et les pratiques de culture), le prélèvement de l'organe, les circonstances de dessèchement, ainsi que le solvant et le procédé d'extraction, peuvent également contribuer aux différences observées dans l'extraction entre différentes études ([Benmeddour et al., 2013](#) ; [Oreopoulou et al., 2019](#)).

III.2. Composition chimique de *Bunium incrassatum* par HPLC/UV

Afin d'identifier les flavonoïdes et les acides phénoliques, la technique HPLC/UV a servi à analyser les extraits méthanoliques de *B. incrassatum* (EMR, EMG et EMT). Les longueurs d'onde utilisées étaient 270 nm et 320 nm (fig. 25-27). Ces analyses ont permis de déterminer et de quantifier les composants phénoliques (tableaux 2-4).

Les aires des pics présentes dans les chromatogrammes des différents extraits révèlent des fluctuations notables. Les constituants phénoliques de chaque extrait ont été identifiés en comparant les durées de rétention des pics (Rt) détectés à celles des standards commerciaux.

L'analyse des extraits méthanoliques de *B. incrassatum*, désignés EMG, EMR et EMT renfermant respectivement 25, 24 et 21 composés phénoliques. L'extrait EMG présente un profil phénolique plus riche et plus diversifié que les autres extraits de plante. L'acide gallique, l'acide férulique et l'acide ellagique ont affiché les taux en acide phénolique les plus élevés, soit 7.13, 2.17 et 2.02 mg/g, respectivement. Ces données correspondent à des temps de rétention de 1.73, 6.99 et 7.14 min. Trans-cinamique, l'acide chlorogénique et l'acide *p*-coumarique ont été détectés à des taux mineurs.

En outre, la quercétine, la naringine et le kaempférol, les principaux flavonoïdes, ont été trouvés à 10.38, 6.47 et 4.26 mg/g EMG, respectivement. Leurs temps de rétention (Rt) étaient de 1.72, 6.74, 2.19 et 7.14 min. L'acacétine, le thymol et le menthol ont été observés à des teneurs de traces.

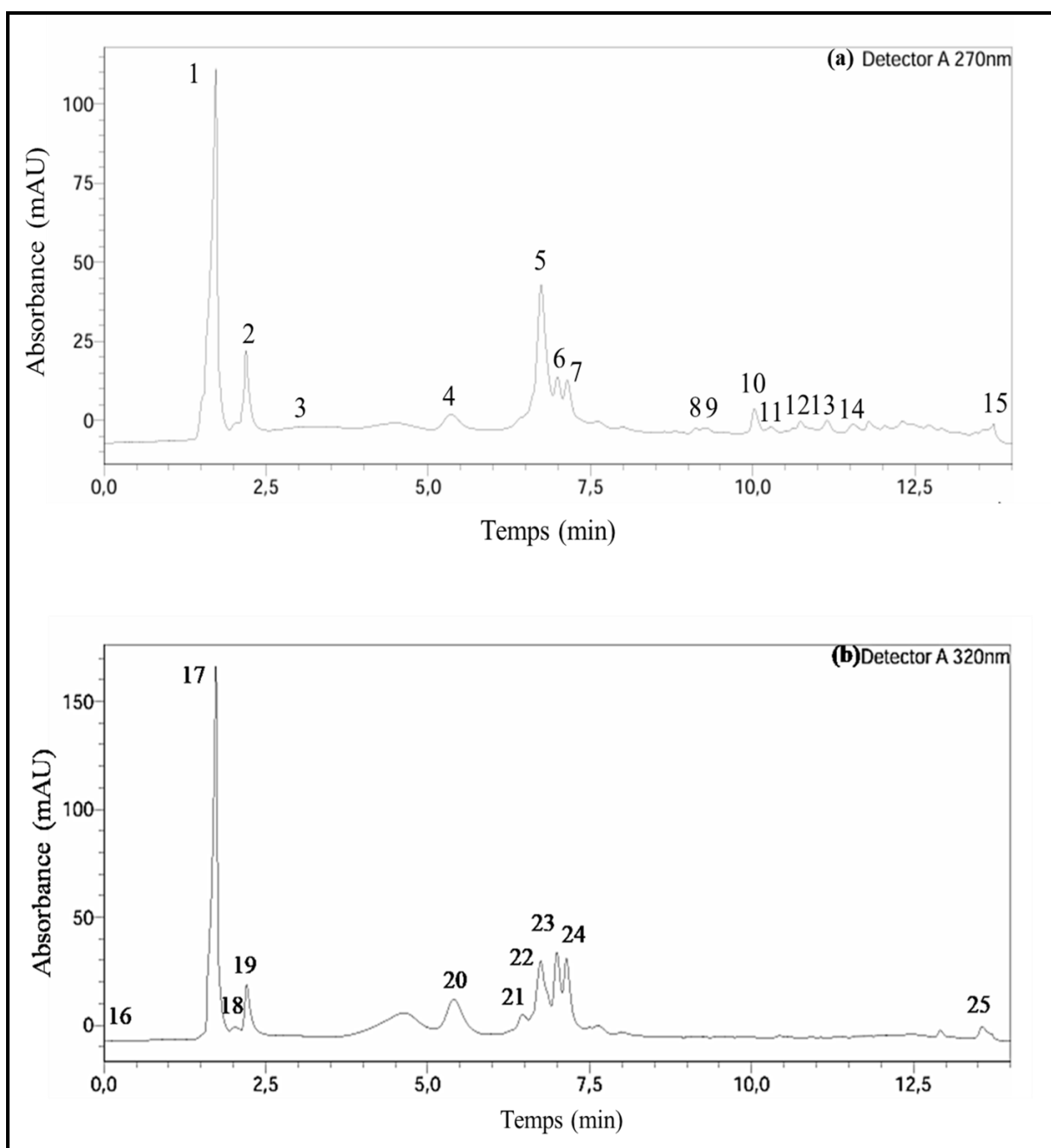


Figure 25 : Chromatogramme par HPLC/UV d'extract EMG de *B. incrassatum* à 270 nm (a) et à 320 nm (b)

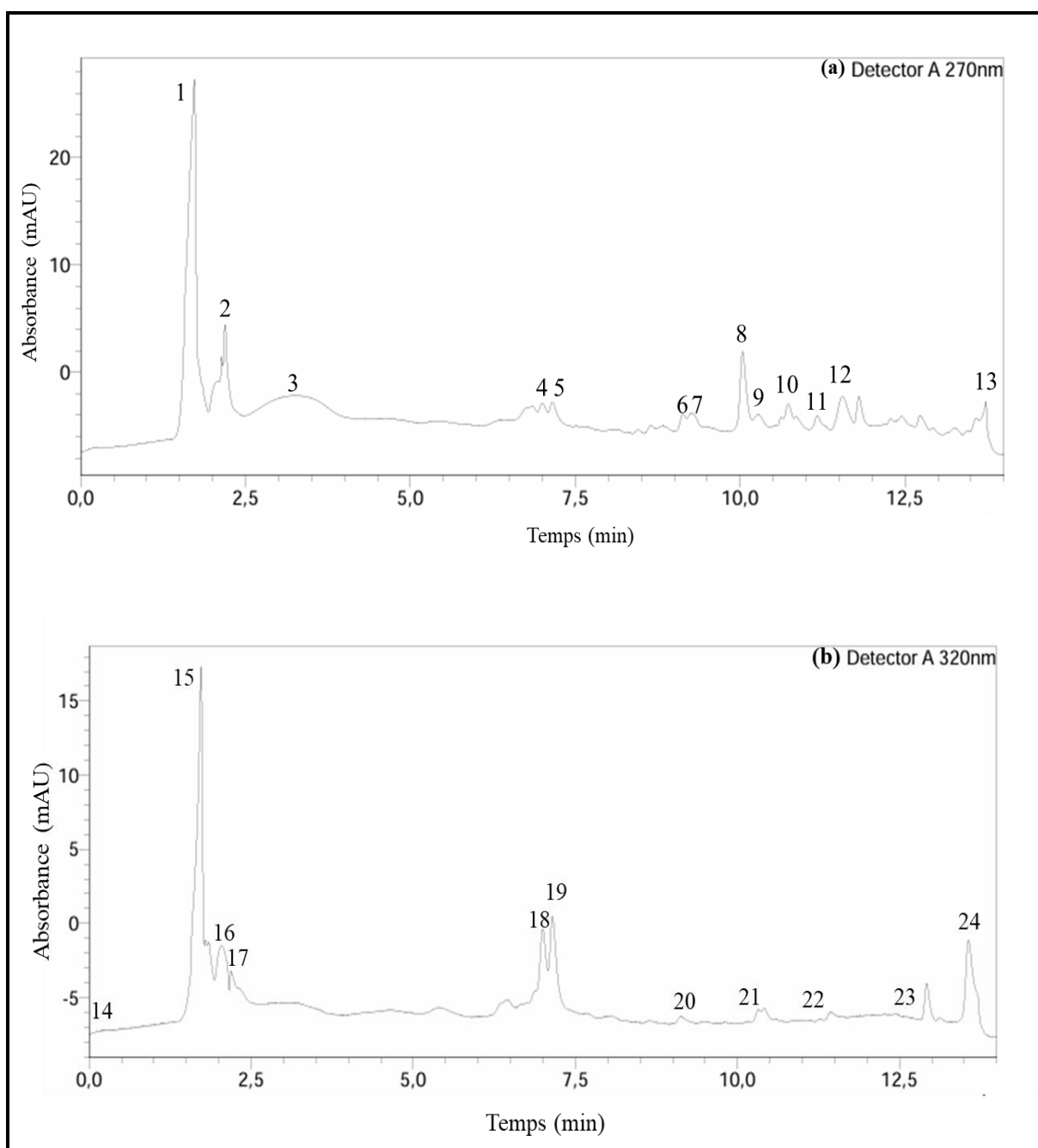


Figure 26 : Chromatogramme par HPLC/UV d'extrait EMR de *B. incrassatum* à 270 nm (a) et à 320 nm (b)

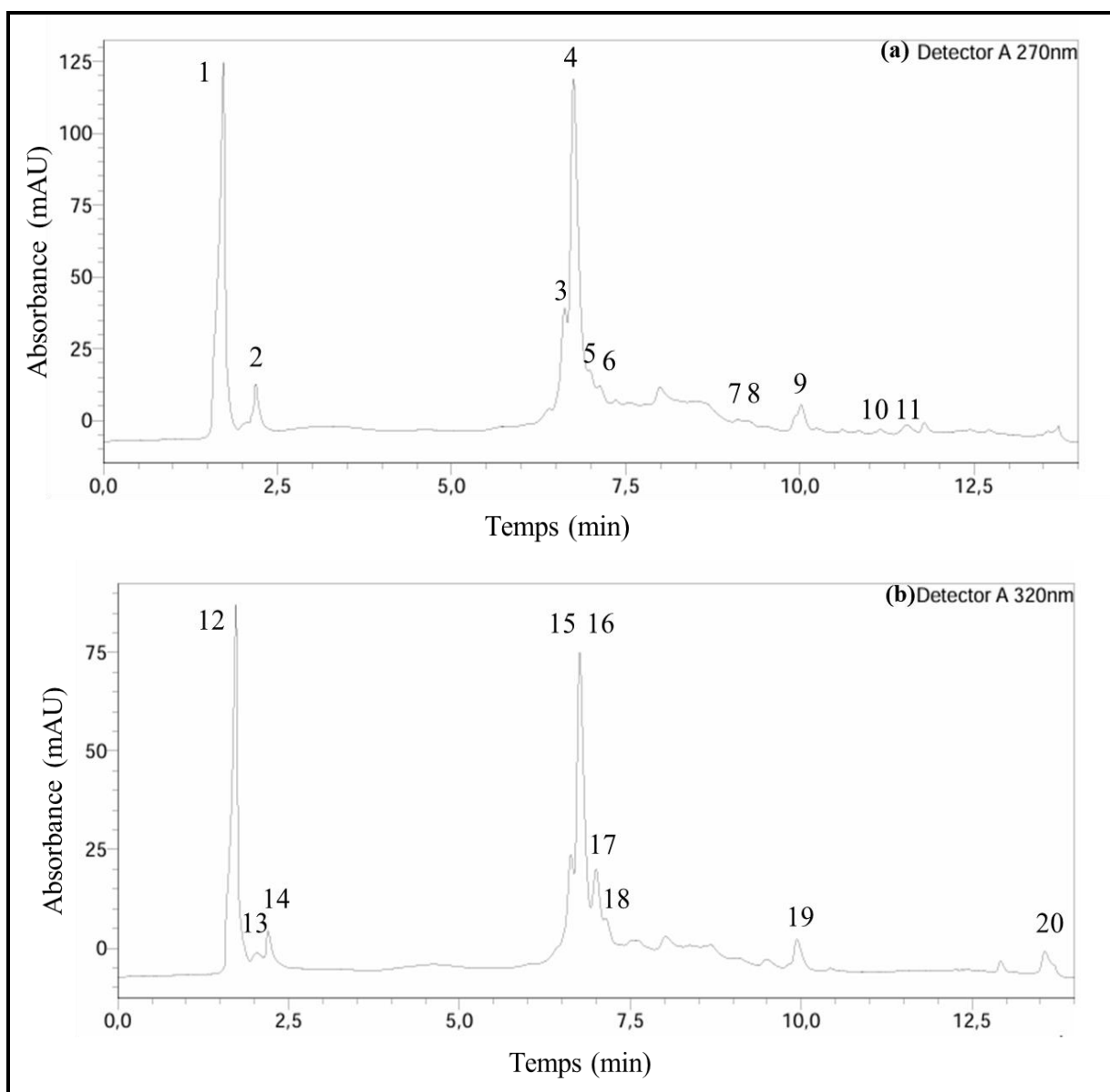


Figure 27 : Chromatogramme par HPLC/UV d'extrait EMT de *B. incrassatum* à 270 nm (a) et à 320 nm (b)

Tableau 2 : Composition chimique (mg/g) de l'extrait EMG de *B. incrassatum* par HPLC/UV.

N° du pic	Constituant	Rt (min)	Teneur (mg/g EMG)
1	Quercétine	1.72	10.38
2	Kaempférol	2.19	4.26
3	Luteoline	3.20	0.03
4	Acacétine	5.35	0.11
5	Naringine	6.74	6.47
6	Bis-methylated quercétine	6.99	2.10
7	Chrysine	7.14	2.03
8	Catéchine	9.12	0.44
9	Epicatéchine	9.27	0.40
10	Galangine	10.03	0.65
11	Pinocembrine	10.28	0.13
12	Carnosol	10.74	0.16
13	Thymol	11.15	0.11
14	Menthol	11.55	0.12
15	Myricétine	13.71	0.68
16	Acide ascorbique	0.45	0.01
17	Acide gallique	1.73	7.13
18	Acide caféique	2.03	0.73
19	Acide <i>p</i> -coumarique	2.21	0.58
20	Acide chlorogénique	5.41	0.56
21	Acide quinique	6.47	0.94
22	Acide vanillique	6.75	0.98
23	Acide ferrulique	6.99	2.17
24	Acide ellagique	7.14	2.02
25	Trans-cinnamique	13.56	0.01

Tableau 3 : Composition chimique (mg/g) de l'extrait EMR de *B. incrassatum* par HPLC/UV.

N° du pic	Constituant	Rt (min)	Teneur (mg/g EMR)
1	Quercétine	1.72	8.36
2	Kaempférol	2.19	3.12
3	Luteoline	3.24	0.89
4	Bis-methylated quercétine	7.00	0.96
5	Chrysine	1.15	0.94
6	Catéchine	9.13	0.81
7	Epicatechine	9.26	0.85
8	Galangine	10.04	2.86
9	Pinocembrine	10.27	0.99
10	Carnosol	10.73	1.12
11	Thymol	11.17	1.19
12	Menthol	11.55	1.22
13	Myricétine	13.72	1.23
14	Acide ascorbique	0.36	0.06
15	Acide gallique	1.73	5.11
16	Acide caféique	2.04	0.84
17	Acide <i>p</i> -coumarique	2.19	0.70
18	Acide ferrulique	6.99	1.38
19	Acide ellagique	7.15	1.87
20	Acide sinapique	9.13	0.01
21	Acide tannique	10.33	0.01
22	Acide carnosique	11.27	0.02
23	Acide syringique	12.60	0.97
24	Trans-cinnamique	13.57	1.42

Tableau 4 : Composition chimique (mg/g) de l'extrait EMT de *B. incrassatum* par HPLC/UV.

N° du pic	Constituant	Rt (min)	Teneur (mg/g EMT)
1	Quercétine	1.72	9.41
2	Kaempférol	2.19	1.85
3	Rutine	6.40	3.12
4	Fisetine	6.62	3.25
5	Naringine	6.75	8.06
6	Chrysine	7.12	1.74
7	Catéchine	9.11	0.06
8	Epicatéchine	9.24	0.05
9	Galangine	10.02	0.52
10	Thymol	11.15	0.03
11	Menthol	11.54	0.04
12	Myricétine	13.71	0.80
13	Acide gallique	1.73	3.62
14	Acide caféique	2.04	0.54
15	Acide <i>p</i> -coumarique	2.19	0.71
16	Catéchol	6.63	1.26
17	Acide vanillique	6.76	3.05
18	Acide ferrulique	6.99	1.02
19	Acide ellagique	7.14	0.74
20	Acide protocatéchique	9.93	0.2
21	Trans-cinnamique	13.57	0.45

Nos résultats sont cohérents avec les études antérieures d'Appendino *et al.* (1994), qui ont démontré la présence de coumarines dans l'extrait méthanolique des racines du genre *Bunium*. En outre, les résultats de Boussetla *et al.* (2015) ont également corroboré cette observation en mettant en évidence la présence de réserves de coumarines dans les racines de *B. incrassatum*.

D'autres recherches menées par Toul *et al.* (2022) ont relevé une diversité de composés phénoliques dans les graines de *B. incrassatum*, comprenant notamment la naringine, la catéchine, le kaempférol, la quercétine, l'acide caféique, l'acide férulique, l'acide chlorogénique, l'acide gallique, l'acide p-coumarique et l'acide ellagique.

III.3. Activité antioxydante *in vitro* de *Bunium incrassatum*

III.3.1. Dosage quantitatif des composés phénoliques de *Bunium incrassatum*

La figure 28 illustre la teneur en constituants phénoliques des extraits méthanoliques de *B. incrassatum* (EMG, EMT et EMR).

L'extrait EMG a révélé la proportion phénolique la plus élevée de polyphénols totaux (PT) et de flavonoïdes totaux (FT), avec 70.80 mg d'EAG/g ES et 18.44 mg d'EQ/g ES, respectivement, en comparaison avec les autres extraits de la plante.

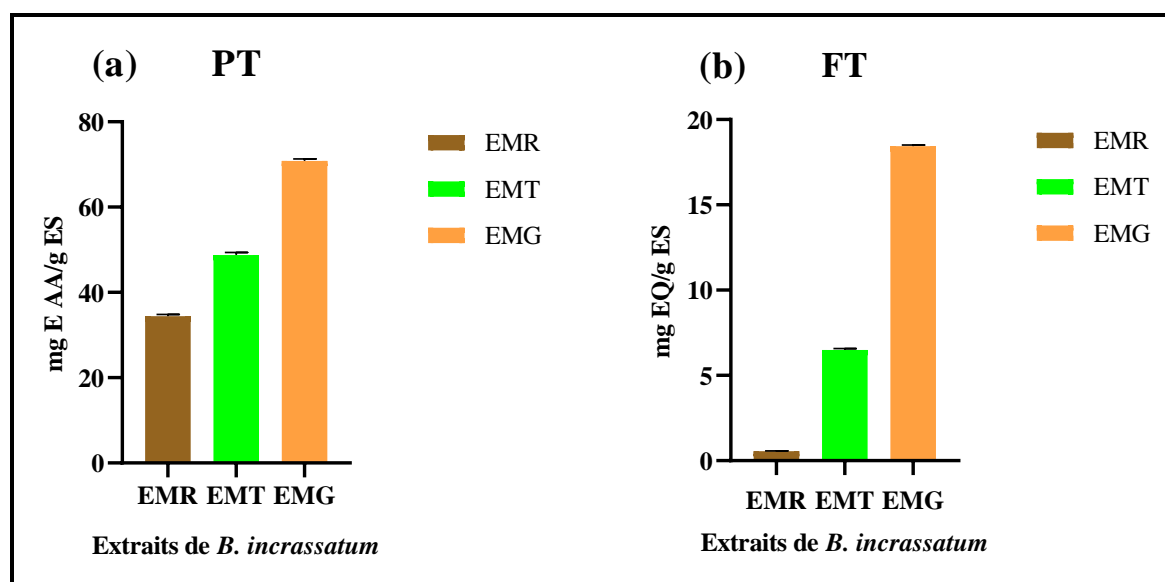


Figure 28 : Teneurs en composés phénoliques des extraits méthanoliques de *B. incrassatum* : (a) : taux des polyphénols totaux (PT), (b) : taux des flavonoïdes totaux (FT). Les données obtenues indiquent la moyenne (m) sur l'ensemble des trois essais \pm SEM.

Notre investigation maintient un taux en polyphénols plus important que celui de

Dehimi et al. (2020) pour l'extrait méthanolique racinaire de *B. incrassatum*, avec 13.00 mg EAG/g ES.

Nos résultats présentent une similitude avec celle menée par Aiouaz et Bitam (2022), où l'extrait méthanolique de racines de *B. incrassatum* a montré des concentrations phénoliques d'environ 37.37 mg EAG/g ES et 2.36 mg EQ/g ES. Inversement, Toul et al. (2022), ont repéré un taux phénolique élevé dans l'EMG de *B. incrassatum* égale à 185.04 mg EAG/g ES et à 72.07 mg EC/g ES.

La diversité phénolique des plantes provient de la constitution génétique, de facteurs environnementaux et des conditions du sol (Khiya et al., 2021). La variation du métabolisme observée dans les différentes parties de la plante lors de la phase de croissance (Fadili et al., 2017). La maturité et la période de conservation des végétaux (Ebrahimzadeh et al., 2008 ; Falleh et al., 2008), ainsi que la méthodologie d'extraction et le solvant utilisés, ont un fort impact sur les taux phénoliques (Brglez Mojzer et al., 2016).

Les polyphénols ont été mesurés avec le RFC via une réaction redox, évaluant également les propriétés antioxydantes de l'extrait. Les extraits riches en composants phénoliques ont l'effet antioxydant le plus intense (Prior et al., 2005), notamment l'acide gallique (Sharma et al., 2004).

III.3.2. Test au DPPH

Le test DPPH a évalué l'activité anti-radicalaire (Radical Scavenging Activity %RSA) de l'EMG, de l'EMT et de l'EMR de *B. incrassatum* ainsi que des standards synthétiques (trolox et acide ascorbique), comme le montrent le tableau 5 et la figure 29.

Les pourcentages RSA de DPPH par les extraits de *B. incarassatum* et les étalons testés augmentent proportionnellement à leur concentration dans le milieu réactionnel jusqu'à un certain seuil, où ils se stabilisent, démontrant un effet dose-dépendant sur les radicaux libres et mettant en valeur des antioxydants testés.

L'extrait EMG présente un plateau d'inhibition du DPPH plus prononcé par rapport aux autres extraits testés. À 1 mg/mL, cet effet atteint 97.46%, avec une CE₅₀ d'environ 0.23 mg/mL. Ces résultats correspondent également à une teneur d'antioxydants totaux de 36.02 mg ET/g ES et à 214.50 mg EAA/g ES. En comparaison, les antioxydants synthétiques tels que le trolox et l'acide ascorbique montrent par l'ordre respectif des valeurs de CE₅₀ de 0.01 mg/mL et 0.05 mg/mL.

Tableau 5 : Valeurs des CE₅₀ des extraits de *B. incrassatum* et des antioxydants synthétiques obtenues par le test de DPPH. Les données obtenues indiquent la moyenne (m) sur l'ensemble des trois essais ±SEM.

Antioxydants	CE ₅₀ DPPH		
	mg/mL	mg EAA/g ES	mg ET/g ES
EMR	1.68 ± 0.08	29.19 ± 1.72	4.90 ± 0.21
EMT	0.30 ± 0.01	163.93 ± 5.71	27.51 ± 0.57
EMG	0.23 ± 0.01	214.50 ± 5.96	36.02 ± 1.47
Acide ascorbique	0.05 ± 0.00	/	/
Trolox	0.02 ± 0.00	/	/

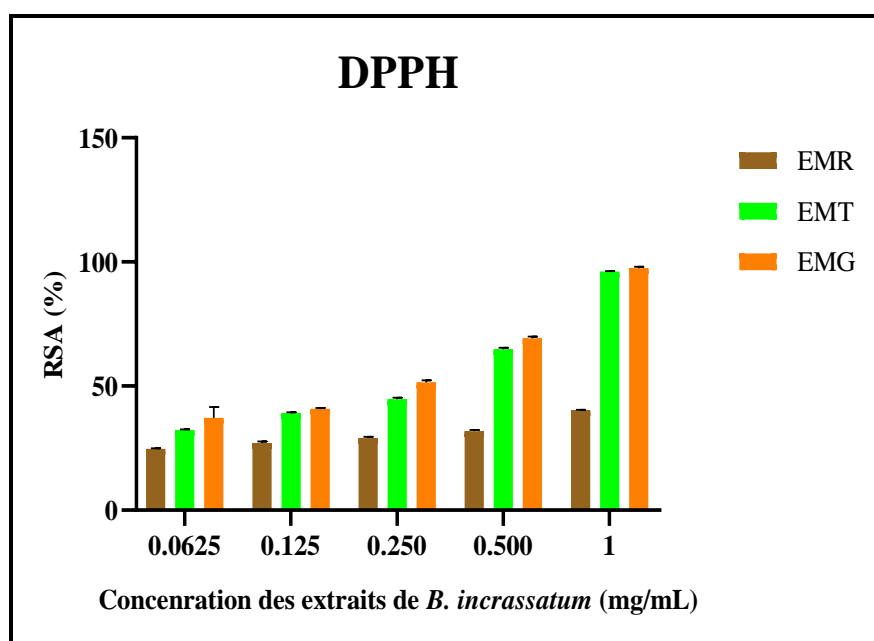


Figure 29 : Activité anti-radicalaire (%RSA) des extraits méthanoliques de *B. incrassatum* par le test de DPPH. Les données obtenues indiquent la moyenne (m) sur l'ensemble des trois essais ±SEM.

Le radical libre DPPH se caractérise par sa couleur pourpre intense et son absorption spectrale à 517 nm. Son électron supplémentaire le rend très réactif et impliqué dans les processus d'oxydation. L'efficacité des antioxydants est souvent déterminée par leur capacité à neutraliser ce radical libre, ce qui est crucial pour évaluer leur impact antioxydant (Krishnaraju et al., 2009).

L'activité de piégeage des radicaux libres d'un extrait peut être quantifiée par la CE₅₀, qui est la teneur requise pour détruire la moitié des radicaux libres (Cuvelier *et al.*, 1992).

Les polyphénols inclus dans les extraits méthanoliques de *B. incrassatum* ont de notables vertus anti-radicalaires. Cependant, les plantes couramment utilisées dans les médecines alternatives présentent des bénéfices antioxydants (Scartezzini et Speroni, 2000).

D'après Amessis-Ouchemoukh *et al.* (2014), les divers polyphénols agissent comme d'excellents catalyseurs d'atomes d'hydrogène du radical DPPH en raison de leur structure chimique particulière. Les recherches menées par Zhang *et al.* (2019) ont établi que l'effet de piégeage des radicaux libres est attribué aux composés chimiques phénoliques, notamment les flavonoïdes.

Une activité similaire de piégeage des radicaux DPPH (CE₅₀ = 1.60 mg/mL) a été décrite pour l'extrait méthanolique racinaire de *B. incrassatum* par Aiouaz et Bitam (2022).

Selon Toul *et al.* (2022), l'extrait méthanolique des graines de la même espèce a présenté un effet de piégeage sur le radical libre DPPH légèrement supérieur à la nôtre, avec une CE₅₀ de 0.15 mg/mL, tandis que Dehimi *et al.* (2020) ont observé une activité anti-radicalaire plus faible, avec une CE₅₀ de 21.18 mg/mL.

III.3.3. Test scavenging du radical ABTS^{•+}

Les résultats du test scavenging du radical ABTS^{•+} des extraits de *B. incrassatum*, ainsi que des standards de référence (l'acide ascorbique et le trolox), ont été présentés dans le tableau 6, et dans la figure 30.

Les taux d'inhibition des extraits de plantes testés et des références synthétiques ont démontré un effet dose-dépendant sur le radical libre ABTS^{•+}. La CE₅₀ de l'EMG par le test d'ABTS est d'environ 0.40 mg/mL, ce qui correspond également à 21.56 mg ET/g ES et 51.37 mg EAA/g ES. La CE₅₀ de trolox et d'acide ascorbique a été respectivement de 0.01 mg/mL et 0.02 mg/mL.

Tableau 6 : Valeurs des CE₅₀ d'inhibition des différents extraits de *B. incrassatum* et des standards obtenues par le test ABTS. Les données obtenues indiquent la moyenne (m) sur l'ensemble des trois essais ±SEM.

Antioxydants	CE50 ABTS (mg/mL)	mg ET/g ES	mg EAA/g ES
EMR	1.43 ± 0.12	5.99 ± 0.53	14.27 ± 1.34
EMT	0.74 ± 0.01	11.48 ± 0.15	27.34 ± 0.11
EMG	0.40 ± 0.00	21.56 ± 0.26	51.37 ± 0.34
Acide ascorbique	0.02 ± 0.00	/	/
Trolox	0.01 ± 0.00	/	/

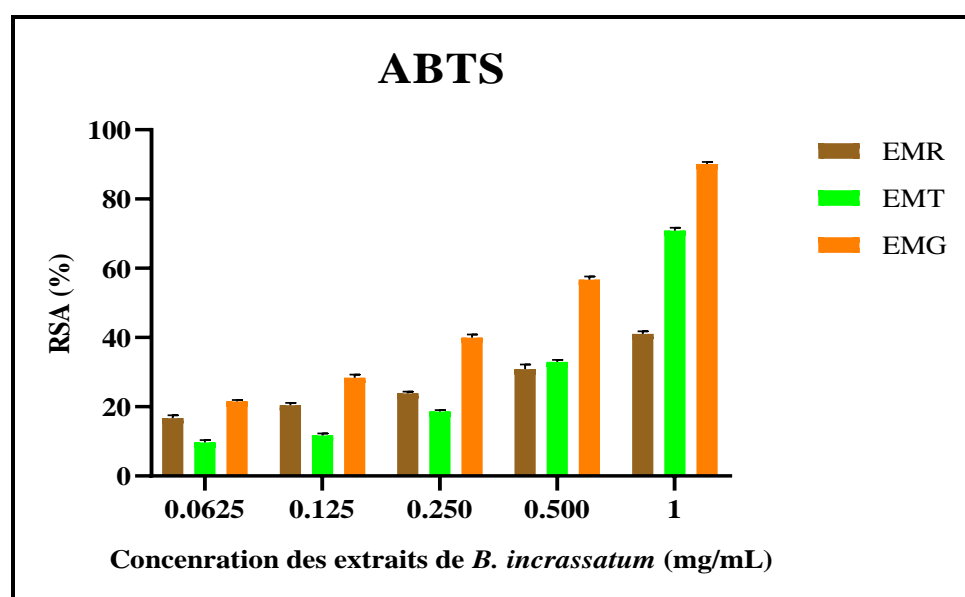


Figure 30 : Activité anti-radicalaire (%RSA) des extraits méthanoliques de *B. incrassatum* par le test d'ABTS. Les données obtenues indiquent la moyenne (m) sur l'ensemble des trois essais ±SEM.

Selon les recherches d'[Aiouaz et Bitam \(2022\)](#), l'extrait méthanolique de racine de *B. incrassatum* a exhibé une meilleure capacité de piégeage du radical libre ABTS par rapport à la nôtre, affichant une CE50 de 0.74 mg/mL.

III.3.4. Test de FRAP

Les résultats du test de FRAP des extraits EMG, EMT et EMR de *B. incrassatum*, ainsi que des standards de référence tels que l'acide ascorbique et le trolox, ont été exposés dans le [tableau 7](#), et illustrés dans la [figure 31](#).

Lors du test FRAP, les extraits de *B. incrassatum* ont révélé des capacités de libération d'électrons variant en fonction de leur concentration. L'ordre décroissant de puissance observé, EMG, EMT et EMR, a montré une diminution de l'activité réductrice en fonction de

leur teneur totale en composés phénoliques. L'extrait EMG s'est distingué en affichant un pouvoir réducteur supérieur aux autres, avec une CE50 de 0.66 mg/mL, également exprimée en 108.88 mg EAA/g ES et 15.49 mg ET/g ES. En comparaison, le trolox et l'acide ascorbique ont respectivement enregistré des CE50 de 0.01 mg/mL et 0.07 mg/mL.

Tableau 7 : Valeurs de CE50 des extraits de *B. incrassatum* et des antioxydants standards obtenues par le test de FRAP. Les données obtenues indiquent la moyenne (m) sur l'ensemble des trois essais \pm SEM.

Antioxydants	CE50 FRAP		
	mg/mL	mg EAA/g ES	mg ET/g ES
EMR	1.09 \pm 0.02	67.50 \pm 02.64	9.34 \pm 0.44
EMT	0.73 \pm 0.01	98.01 \pm 2.37	13.94 \pm 0.77
EMG	0.66 \pm 0.05	108.88 \pm 7.58	15.49 \pm 1.41
Acide ascorbique	0.07 \pm 0.00	/	/
Trolox	0.01 \pm 0.00	/	/

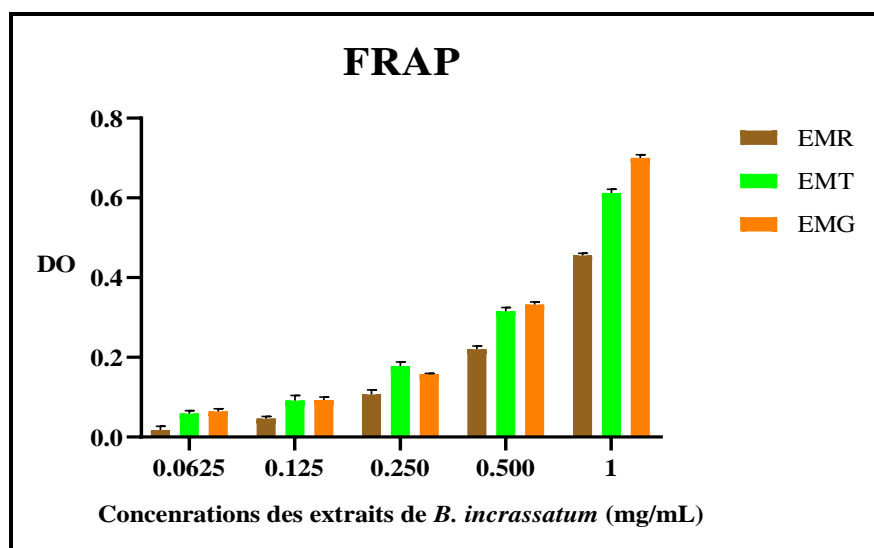


Figure 31 : Pouvoir réducteur des extraits méthanoliques de *B. incrassatum* par le test de FRAP. Les données obtenues indiquent la moyenne (m) sur l'ensemble des trois essais \pm SEM.

Dans le test FRAP, les antioxydants cèdent un électron pour réduire les ions ferriques (Fe^{3+}) en ions ferreux (Fe^{2+}), ce qui fait passer le milieu réactionnel du jaune au bleu, observé

à 700 nm. L'absorbance dépend de la capacité antioxydante, offrant la mesure de l'activité réductrice des échantillons testés (Li *et al.*, 2011).

Les substances phénoliques des extraits testés ont prouvé une capacité significativement réductrice de fer. Grâce à leurs propriétés redox, ces composés agissent en tant qu'agents réducteurs, fournissant des atomes d'hydrogène et neutralisant l'oxygène singulet. Leur potentiel redox revêt ainsi une importance capitale dans l'évaluation de leur capacité antioxydante (Rice-Evans *et al.*, 1997). Cependant, Aiouaz et Bitam (2022) ont révélé un FRAP plus élevé, avec 2.85 µg/mL comme CE50, en comparaison avec nos propres résultats.

III.3.5. Test antioxydant de CAT

Les taux des antioxydants par le test CAT dans les extraits méthanoliques de *B. incrassatum* ont été dévoilés dans le [tableau 8](#).

L'extrait méthanolique de graine a affiché le taux le plus élevé d'antioxydants, avec 55.10 mg EAA/g ES et 117.22 mg ET/g ES, comparativement aux extraits méthanoliques des tiges et des racines. Les résultats de ce test sont cohérents avec les trois tests anti-radicalaires précédents, ce qui confirme la fiabilité des observations concernant l'activité antioxydante de ces extraits.

Tableau 8 : Taux des antioxydants par le test CAT dans les extraits méthanoliques de *B. incrassatum*. Les données obtenues indiquent la moyenne (m) sur l'ensemble des trois essais \pm SEM.

Extraits	mg EAA/g ES	mg ET/g ES
EMR	12.35 \pm 1.16	26.28 \pm 2.47
EMT	36.67 \pm 2.38	78.01 \pm 5.06
EMG	55.10 \pm 2.96	117.22 \pm 6.30

La capacité antioxydante totale dépend de divers facteurs, notamment les concentrations, les structures isomériques et les interactions synergiques avec d'autres molécules phénoliques (Almela *et al.*, 2006).

Selon [Hayouni et al. \(2007\)](#) ; [Turkmen et al. \(2007\)](#), les solvants d'extraction de haute polarité ont démontré une efficacité nettement supérieure à celle des solvants de basse polarité. Cette observation souligne l'importance capitale de la polarité des solvants dans leur capacité à dissoudre certains groupes piégeant les radicaux libres, avec un impact immédiat sur la détermination précise de leur effet anti-radicalaire des extraits.

Il est difficile de comparer les tests antioxydants sur les extraits de plantes en raison des différences dans les substrats, les conditions de réaction, les sondes et les méthodes quantitatives ([Frankel et Meyer, 2000](#)).

Les composés phénoliques dérivés des plantes jouent un rôle crucial dans les capacités redox, en neutralisant les radicaux libres ([Shahidi et Ambigaipalan, 2015](#)).

L'action synergique des composés phénoliques d'EMG pourrait être responsable du pouvoir anti-radicalaire puissant à neutraliser les radicaux libres DPPH, ABTS et à réduire les ions de fer.

III.3.6. Corrélation entre les constituants bioactifs phénoliques et les capacités antioxydantes de *Bunium incrassatum*.

Les facteurs Pearson de corrélation (r) entre les composés phénoliques bioactifs de trois extraits méthanoliques (EMG, EMT et EMR) de *B. incrassatum* et les activités antioxydantes (DPPH, ABTS, FRAP et CAT) ont été illustrés dans la [figure 32](#).

Les PT et les FT ont montré une corrélation négative importante avec les valeurs CE_{50} de DPPH, ABTS et FRAP, avec des coefficients respectifs de $r = -0.82$ pour PT et $r = -0.78$ pour FT, $r = -0.95$ pour PT et $r = -0.93$ pour FT, $r = -0.88$ pour PT et $r = -0.85$. Cependant, une corrélation élevée positive a été enregistrée entre le PT ($r = 0.98$), le FT ($r = 0.96$) et le test TAC, indiquant que les composés phénoliques sont proportionnels aux activités antioxydantes des extraits méthanoliques de *B. incrassatum* (EMG, EMR et EMT).

Les résultats ont mis en évidence une richesse en composés phénoliques totaux dans les trois extraits testés, traduisant des fortes activités anti-radicalaires.

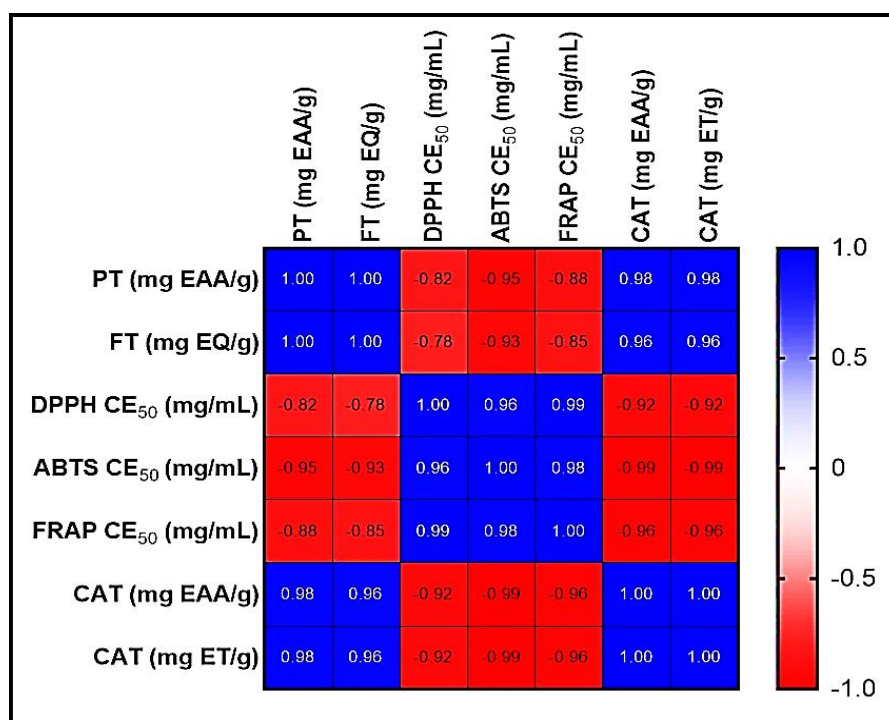


Figure 32 : Corrélation entre les constituants bioactifs phénoliques (PT et FT) et les capacités antioxydantes (DPPH, ABTS, FRAP et CAT) de *B. incrassatum*.

Les activités antioxydantes peuvent être déterminées par divers tests *in vitro*, notamment DPPH, ABTS et FRAP. Nuutila *et al.* (2003) soulignent qu'une seule méthode ne suffit pas pour évaluer la complexité des composés végétaux.

Cai *et al.* (2004) ont attribués les principaux effets antioxydants des sources végétales aux composés phénoliques tels que les polyphénols totaux (PT) et les flavonoïdes totaux (FT).

L'efficacité anti-radicalaire dépend de la composition et de le taux bioactif phénolique, comme le montrent Karamać *et al.* (2005) ; Popovici *et al.* (2009), en accord avec nos constatations.

III.4. Action inhibitrice de *Bunium incrassatum* sur l' α -amylase

III.4.1. Alpha-amylase *in vitro*

Les données relatives à l'activité inhibitrice des extraits méthanoliques de *B. incrassatum* (EMG, EMR et EMT) sur l' α -amylase ont été résumées dans le [tableau 9](#).

Dans le présent travail, nous avons signalé que les trois extraits et l'étalon (acarbose) augmentaient l'action inhibitrice de l' α -amylase en fonction de la dose. L'EMG s'est révélé le plus actif, avec un pourcentage d'inhibition de 80.24%, par rapport aux autres extraits à 1

mg/mL, avec une CI₅₀ de 0.76 mg/mL. Cependant, le standard acarbose a montré une efficacité de 98.36%, avec une CI₅₀ de 0.05 mg/mL à 0.10 mg/mL. La propriété antidiabétique *in vitro* de *B. incrassatum* en évaluant la concentration inhibitrice (CI₅₀) de l'enzyme α -amylase, indispensable à la conversion de l'amidon en maltose.

Tableau 9 : Activité inhibitrice d'acarbose et des extraits de *B. incrassatum in vitro* sur l' α -amylase. Les données obtenues indiquent la moyenne (m) sur l'ensemble des trois essais \pm SEM.

Hypoglycémiant	Concentration (mg/mL)	Inhibition (%)	CI ₅₀ (mg/mL)
EMG	0.0625	18.98 \pm 0.43	0.53 \pm 0.02
	0.125	24.96 \pm 2.89	
	0.250	32.48 \pm 1.27	
	0.500	47.59 \pm 3.01	
	1	80.24 \pm 0.11	
EMT	0.0625	28.97 \pm 0.86	1.27 \pm 0.14
	0.125	31.67 \pm 0.87	
	0.250	35.59 \pm 1.06	
	0.500	39.03 \pm 2.51	
	1	44.89 \pm 1.45	
EMR	0.0625	32.43 \pm 0.30	1.81 \pm 0.07
	0.125	33.10 \pm 0.61	
	0.250	34.26 \pm 0.39	
	0.500	36.77 \pm 0.68	
	1	41.86 \pm 0.54	
Acarbose	0.10	98.36 \pm 0.07	0.05 \pm 0.00

L'abaissement de la glycémie postprandiale peut être atteint par l'inhibition efficace de l'enzyme α -amylase. Cette stratégie de régulation métabolique permet de limiter la dégradation de l'amidon et des polysaccharides et de réguler avec précision la résorption du glucose par le tractus intestinal (Hanhineva et al., 2010).

Bien qu'elle permette de prévenir l'hyperglycémie causée par le diabète en inhibant de manière excessive l' α -amylase, une douleur abdominale et une distension de l'estomac se manifestent parfois (Cheplick et al., 2010).

L'effet de cette inhibition est relié à une réduction glycémique remarquable, ce qui suggère un potentiel de traitement précoce de l'hyperglycémie accompagnée du diabète. Kwon et al. (2006) et Hanhineva et al. (2010a) ont corroboré nos résultats en démontrant que

les extraits végétaux possèdent la capacité d'inhiber cette enzyme *in vitro*. L'inhibition de l'alpha-amylase par des composés d'origine végétale offre une méthode relativement sûre pour réduire les pics de glycémie, comme l'ont souligné précédemment (Mahomoodally et al., 2012).

III.4.2. Alpha-amylase par dispersion sur agar gélosé

En outre, cette technique de dispersion en agar gélosé a permis de déterminer l'effet inhibiteur de l'extrait de graines de *B. incrassatum*. L'hydrolyse de l'amidon par l'alpha-amylase pancréatique a été inhibée par les extraits de *B. incrassatum*. À 1 mg/mL, EMG a présenté la plus forte capacité d'inhibition (84.17%) et le plus faible taux d'hydrolyse (15.83%) (Tableau 10, fig. 33).

Cette méthode a mis en évidence une inhibition de l'alpha-amylase similaire à celle obtenue par la méthode *in vitro*. L'inhibition enzymatique observée est attribuable aux composés phénoliques présents dans l'extrait EMG, impliqués dans la gestion de l'hyperglycémie précoce causée par le diabète.

Tableau 10 : Action inhibitrice des extraits de *B. incrassatum* sur l'alpha-amylase par la méthode de dispersion sur disque d'agar gélosé. Les données obtenues indiquent la moyenne (m) sur l'ensemble des trois essais \pm SEM.

Extraits	Concentration (mg/mL)	Hydrolyse (%)	Inhibition (%)
EMG	0.0625	70.83 \pm 1.44	29.17 \pm 1.44
	0.125	65.83 \pm 1.44	34.17 \pm 1.44
	0.250	58.33 \pm 3.82	41.67 \pm 3.82
	0.500	52.50 \pm 9.01	47.50 \pm 9.01
	1	15.83 \pm 8.04	84.17 \pm 8.04
EMT	0.0625	67.50 \pm 2.50	32.50 \pm 2.50
	0.125	63.33 \pm 1.44	36.67 \pm 1.44
	0.250	61.67 \pm 1.44	38.33 \pm 1.44
	0.500	57.50 \pm 6.61	42.50 \pm 6.61
	1	53.33 \pm 1.44	46.67 \pm 1.44
EMR	0.0625	71.67 \pm 1.44	28.33 \pm 1.44
	0.125	67.50 \pm 4.33	32.50 \pm 4.33
	0.250	66.67 \pm 1.44	33.33 \pm 1.44
	0.500	65.83 \pm 1.44	34.17 \pm 1.44
	1	60.63 \pm 1.44	39.17 \pm 1.44

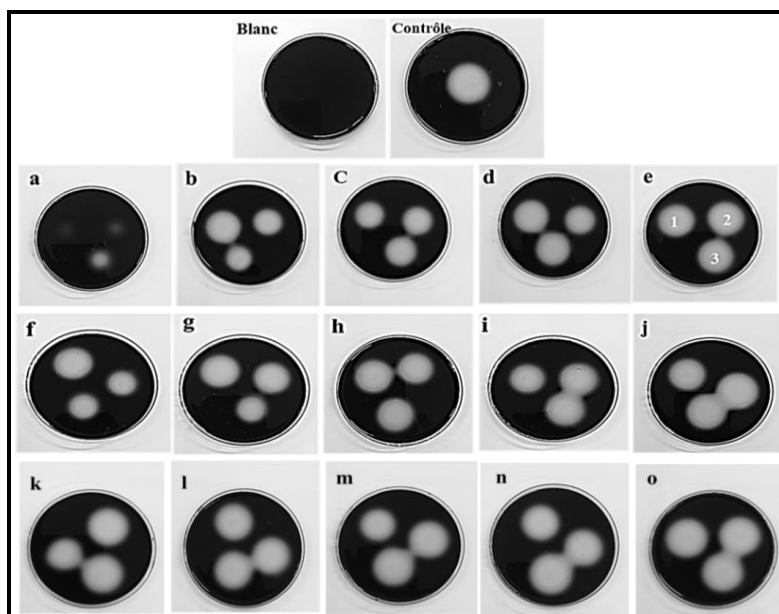


Figure 33 : Inhibition dose-dépendante de l' α -amylase par les extraits méthanoliques de *B. incrassatum* via dispersion sur disque d'agar gélosé : Blanc ; Contrôle ; EMG : (a) : 1 mg/mL; (b) : 0.5 mg/mL; (c) : 0.250 mg/mL; (d) : 0.125 mg/mL ; (e) : 0.0625 mg/mL ; EMT : (f) : 1 mg/mL ; (g) : 0.5 mg/mL ; (h) : 0.250 mg/mL ; (i) : 0.125 mg/mL ; (j) : 0.0625 mg/mL ; EMR : (k) : 1 mg/mL ; (l) : 0.5 mg/mL ; (m) : 0.250 mg/mL ; (n) : 0.125 mg/mL ; (o) : 0.0625 mg/mL. (1) ; (2) ; (3), répétition de chaque concentration d'extrait.

Actuellement, il existe une variété de thérapies pour les différents types de diabète. L'une des approches antidiabétiques courantes consiste à inhiber les enzymes digestives (alpha-amylase, alpha-glucosidase) (Narkhede *et al.*, 2011).

Les amidons complexes ont d'abord été soumis à l'action de l' α -amylase, qui les a hydrolysés en oligosaccharides, puis à celle de l' α -glucosidase, qui a transformé ces oligosaccharides en glucose et autres monosaccharides. Après l'inhibition de ces enzymes, un effet hypoglycémique après repas se produit, ralentissant et diminuant l'absorption du glucose dans l'intestin grêle (Hanhineva *et al.*, 2010).

Selon Tundis *et al.* (2010), les agents actifs bloquant les enzymes digestifs ont tendance à provoquer moins de conséquences indésirables que les alternatives synthétiques. Les plantes médicinales ayant des propriétés inhibitrices de l'alpha-amylase sont des sources non synthétiques bénéfiques pour le traitement du diabète (Hanhineva *et al.*, 2010 ; Kwon *et al.*, 2006).

En outre, [Hanhineva et al. \(2010\)](#) ont démontré que les substances de type phénolique inhibent l'action enzymatique digestive modulant ainsi le métabolisme de l'organisme.

Selon [Grussu et al., 2011](#), *Rubus idaeus* L. et *Sorbus aucuparia* L. ont démontré une efficacité notable sur l'alpha-amylase, en raison de leurs puissants bio-inhibiteurs.

L'exclusion excessive de l'alpha-amylase peut entraîner une gêne gastro-intestinale, en dépit de ses effets bénéfiques sur la prévention de l'hyperglycémie liée au diabète ([Cheplick et al., 2010](#)).

Les résultats obtenus concordent avec ceux rapportés par [Chung et al. \(2011\)](#), qui ont établi une inhibition dose-dépendante de l'alpha-amylase par dispersion sur agar gélosé. Cette inhibition peut réduire l'absorption postprandiale de glucose provenant de la digestion de l'amidon.

III.5. Activité litholytique *in vitro* de *Bunium incrassatum*

III.5.1. Analyse des calculs biliaires

La [figure 34](#) illustre l'analyse spectroscopique FTIR-ATR des calculs biliaires de cholestérol. Les calculs biliaires massifs sont répartis en trois groupes de 12 calculs chacun. Calculs biliaires de cholestérol de faible poids (CCPF) de 47.25 mg, calculs biliaires de poids moyen (CCPM) de 106.58 mg et calculs biliaires de poids élevé (CCPE) de 193.67 mg.

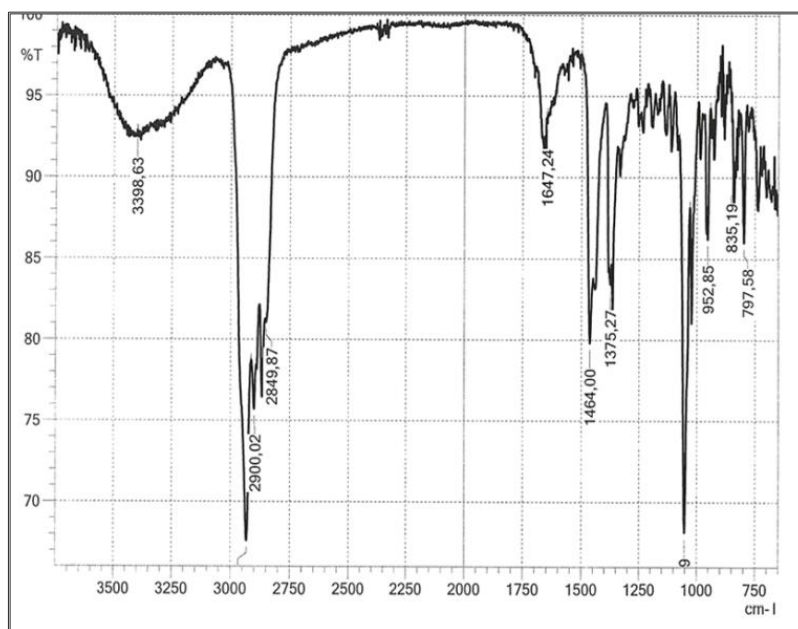


Figure 34 : Spectre FTIR-ATR de calculs biliaires de cholestérol, acquis entre 4000 et 725 cm^{-1} .

III.5.2. Effet de dissolution de *Bunium incrassatum* sur les groupes des calculs biliaires de cholestérol

L'effet de dissolution des extraits de *B. incrassatum* a été évalué *in vitro* pendant une période de 9 semaines en présence de trois groupes de calculs : CCPF, CCPM, et CCPE (fig. 35 et 36).

III.5.2.1. Groupe des calculs de cholestérol de poids faible (CCPF)

La masse initiale des calculs biliaires de cholestérol de poids faible (CCPF) était de 53 mg pour EMR, 46.33 mg pour EMG, 42.33 mg pour EMT et 47.33 mg pour le contrôle au NaCl.

Une dissolution complète de ce type de calcul a été observée dans l'EMR en S1, dans l'EMG en S2 et dans l'EMT en S4. Cependant, le contrôle NaCl a montré une perte de 6.33 mg, avec un pourcentage de dissolution de 13.29% en S4.

Dans toutes les conditions de traitement, les CCPF ont enregistré une diminution hautement significative de leur poids au cours du temps ($P < 0.001$). Les extraits de *B. incrassatum* ont hautement significativement augmenté ($P < 0.001$) la perte de masse des CCPF par rapport au contrôle NaCl (fig. 35 a, b et 36 a).

III.5.2.2 Groupe des calculs de cholestérol de poids moyen (CCPM)

Les calculs biliaires de cholestérol de poids moyen (CCPM) avaient des masses initiales respectives de 97.33 mg pour EMR, 113.33 mg pour EMG, 112.33 mg pour EMT, et 103.3 mg pour NaCl.

EMR a complètement réduit son poids et les calculs biliaires de poids moyen ont été totalement dissous en S4, EMG en S5 et EMT en S8, tandis que le contrôle a présenté une perte de poids de 18.00 mg et une dissolution de 17.46% dans l'essai final (S9). La chute de poids des CCPM a hautement progressé significativement ($P < 0.001$) dans tous les contextes de traitement au fil du temps. En comparaison avec le groupe contrôle, les extraits ont hautement significativement augmenté la perte de masse des CCPM ($P < 0.001$) (fig. 35 c, d et 36 b).

III.5.2.3. Groupe des calculs de cholestérol de poids élevé (CCPE)

D'après les figures 35 e, f et 36 c, les masses initiales des solutions EMR, EMG, EMT et NaCl pour les CCPE étaient respectivement de 192.33 mg, 190.67 mg, 192.67 mg et 199.00 mg.

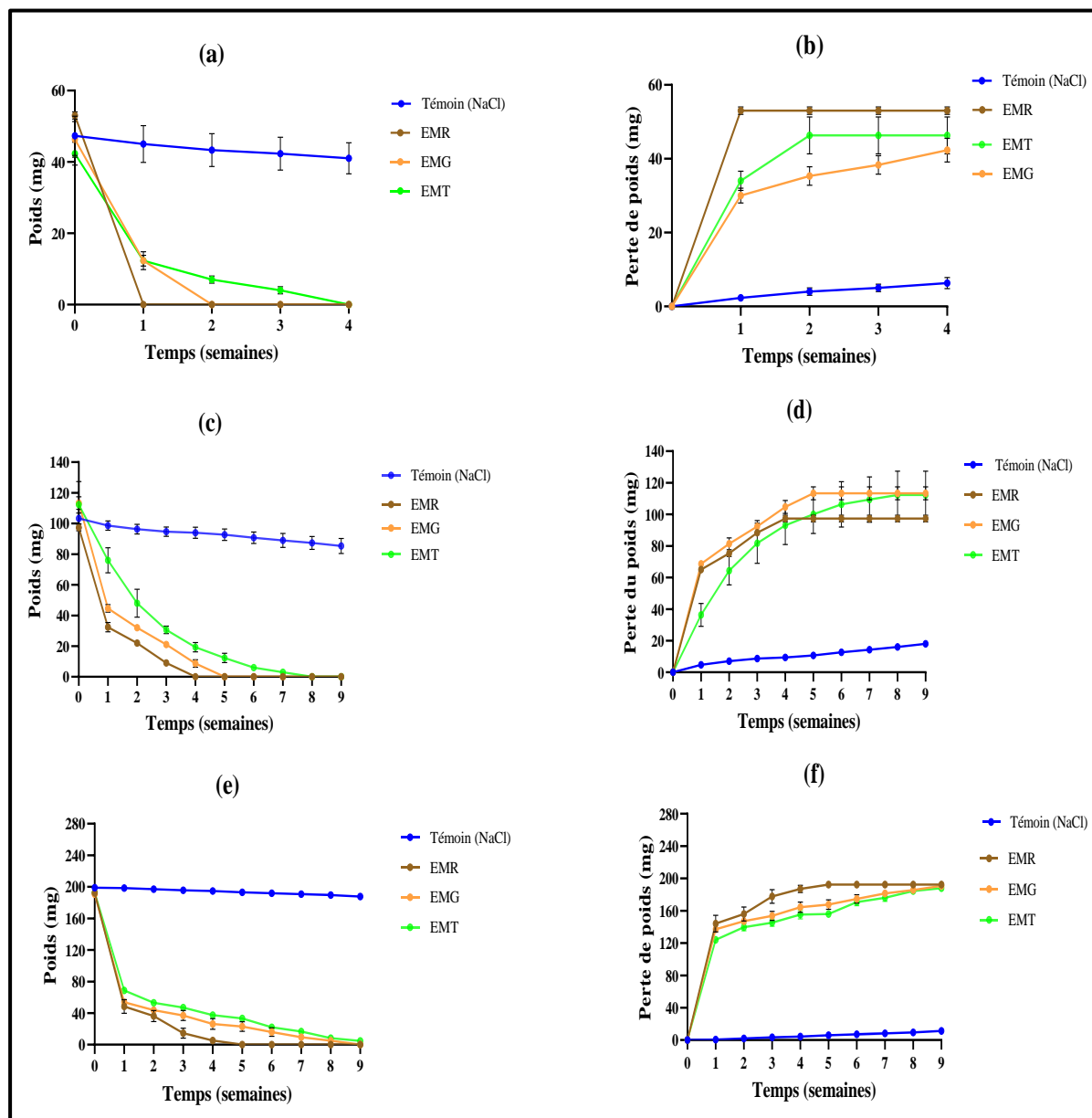


Figure 35 : Évolution de masse des calculs cholestéroliques des groupes par les extraits de *B. incracassatum* en fonction du temps : (a) : masse des calculs biliaires de cholestérol de faible poids (CCPF) ; (b) : perte de masse des CCPF ; (c) : masse des calculs cholestéroliques de poids moyen (CCPM) ; (d) : perte de masse des CCPM ; (e) : masse des calculs cholestéroliques de poids élevé (CCPE) et (f) : perte de masse des CCPE. Les données obtenues indiquent la moyenne (m) sur l'ensemble des trois essais \pm SEM.

HWCG s'est entièrement dissoute en S5 avec EMR et en S9 avec EMG. L'extrait EMT et NaCl ont enregistré respectivement, 188.00 mg, 11.33 mg de perte de masse, et

97.58%, 5.70 % comme taux de dissolution (S9). CCPE a montré une réduction de masse hautement significative ($P<0.001$) dans toutes les circonstances de traitement en fonction du temps. Les pertes de masse du CFPC ont été plus élevées dans les extraits évalués ($P<0.001$) que dans le contrôle.

L'impact litholytique des extraits de *Bunium incrassatum* sur les calculs de cholestérol est probablement attribuable à leur teneur phénolique accrue.

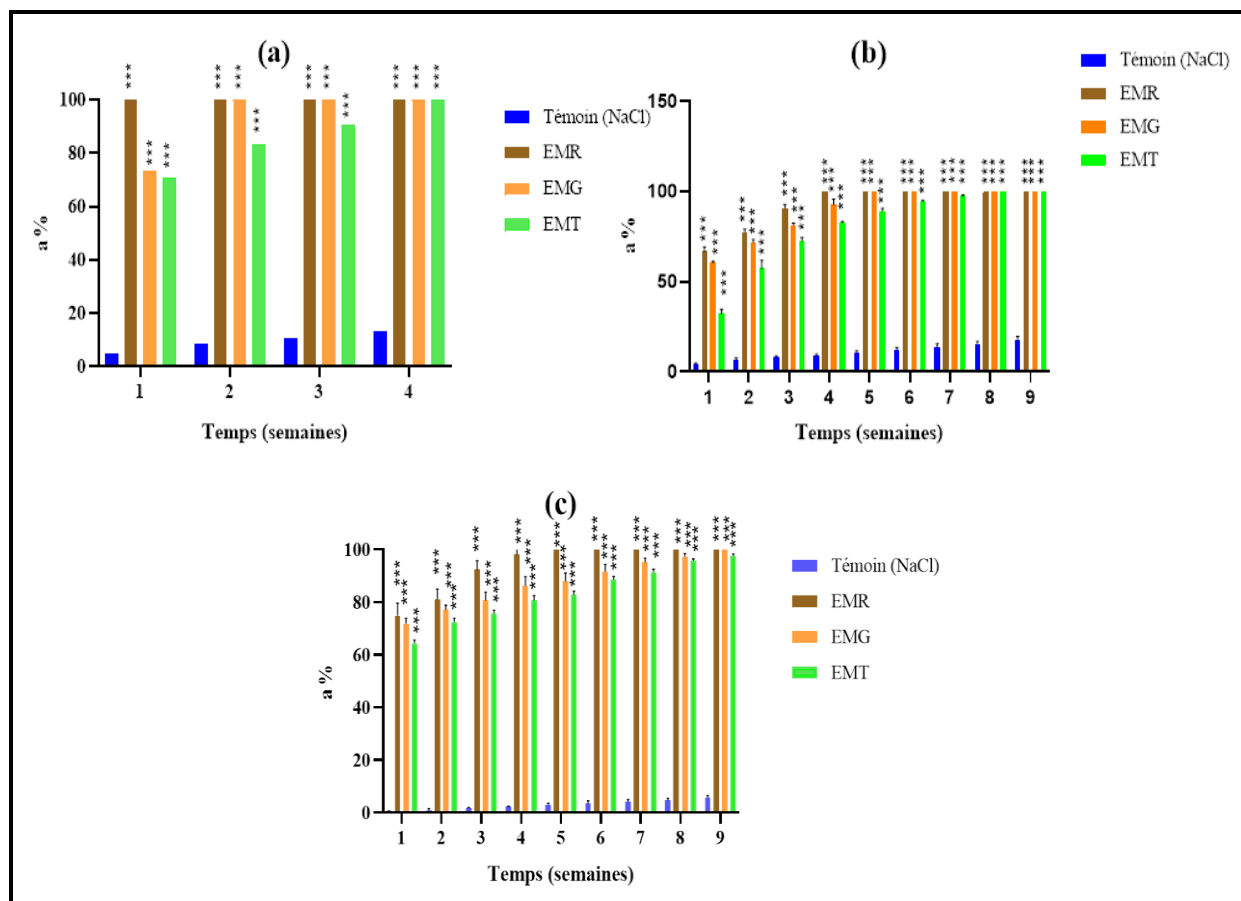


Figure 36 : Évolution cinétique du taux de dissolution (a %) de poids des calculs cholestéroliques des groupes par les extraits de *B. incrassatum* en fonction du temps : (a) : CCPF ; (b) : CCPM ; (c) : CCPE. Les données obtenues indiquent la moyenne (m) sur l'ensemble des trois essais \pm SEM. * comparativement au G1 témoin. * $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$.

Pour prévenir la dissociation des calculs biliaires due au barreau magnétique, ils ont été placés à l'intérieur d'une poche en fibre tressée poreuse (Meiouet et al., 2011 ; Hannache et al., 2012).

L'importance cruciale d'une période de contact adéquate dans le processus de dissolution des calculs cholestéroliques, offrant ainsi des implications prometteuses pour le développement de thérapies efficaces (Hannache et al., 2012). Cette constatation renforce la crédibilité et la validité de notre démonstration.

Notre présente étude souligne de manière significative que la dissolution des calculs de cholestérol est plus rapide en présence d'EMR, suivi d'EMG, et enfin d'EMT, par rapport à la solution de contrôle durant l'expérimentation. Cette différence peut être attribuée à la composition phénolique distincte des extraits analysés. Cela est corroboré par les travaux de Chekroune et Benamara (2017).

Les extraits de plantes comprennent des substances chimiques phénoliques qui s'associent aux calculs cholestéroliques pour former un composé actif, démontrant ainsi le principe de dissolution (Amoura et al., 2018).

Les composés phénoliques, notamment l'acide caféique et la quercétine, ont une incidence déterminante sur la lutte contre la lithiase biliaire cholestérolique, grâce à leurs propriétés antioxydantes et à leur capacité à moduler le métabolisme lipidique (Hajimehdipoor et al., 2014).

Ces substances agissent en inhibant l'enzyme hydroxyméthylglutaryl-CoA réductase (HMG-CR), ce qui limite la formation de cholestérol au niveau du foie et sa saturation dans la bile, réduisant ainsi les risques de formation de calculs (Chambers et al., 2019).

Parallèlement, elles stimulent la lipoprotéine lipase (LPL), favorisant la dégradation des lipides sanguins et l'élimination du cholestérol excédentaire vers le foie (Wheless et al., 2024).

De plus, elles activent l'expression de cholestérol 7-alpha-hydroxylase (CYP7A1), facilitent la transformation du cholestérol en acides biliaires, optimisant son élimination et abaissant sa concentration dans la bile (Avhandling, 2013).

Par ailleurs, ces composés bioactifs améliorent la fluidité de la bile, empêchent l'agrégation des calculs de cholestérol et réduisent les réactions inflammatoires associées (Fan et al., 2020).

Les effets synergiques des composés phénoliques participent non seulement à la prévention de la formation de nouveaux calculs cholésteroliques, mais également à la dissolution progressive de lithiase biliaire existante (Şahin, 2024).

Nos résultats ont indiqué que les calculs biliaires de cholestérol de différents poids présentent des taux de perte de masse distincts. Les calculs biliaires de cholestérol présentant un poids faible, moyen et élevé se désintègrent de manière différente, ce qui est conforme aux approches réalisées par Amoura et al. (2018).

Chekroune et Benamara (2017) ont constaté que les taux de dissolution des calculs biliaires de cholestérol de poids élevé dans le jus de Citrus limon et les extraits de *Herniaria hirsuta* L. étaient de 72% et 26%, respectivement, après deux semaines d'immersion. Il semble que ces taux de dissolution soient inférieurs à ceux de nos résultats.

III.5.3. Évolution du pH

Les valeurs initiales du pH pour les solutions EMR, EMG, EMT et les solutions de contrôle au NaCl étaient respectivement de 6.86, 6.41, 6.32 et 6.50, comme indiqué dans la figure 37 qui représente l'évolution du pH du milieu expérimental.

Après 4 semaines de recherche, le pH du CCPF a diminué à 4.63 pour EMR, 4.81 pour EMG, 5.10 pour EMT, et 4.07 pour le contrôle NaCl. Le pH de CCPM baisse à 4.12 pour EMR, 4.04 pour EMG, 4.31 pour EMT et 2.92 du contrôle NaCl. Les solutions EMR, EMG, EMT et NaCl ont réduit les valeurs de pH de l'CCPE à 5.03, 4.64, 4.86 et 3.36, respectivement, au S9.

Tous les traitements ont enregistré une chute substantielle du pH ($P < 0.05$) en fonction du temps. Cependant, ces valeurs de pH étaient approximativement similaires.

La dissolution des calculs biliaires de cholestérol n'est pas intrinsèquement liée au pH du milieu immergé.

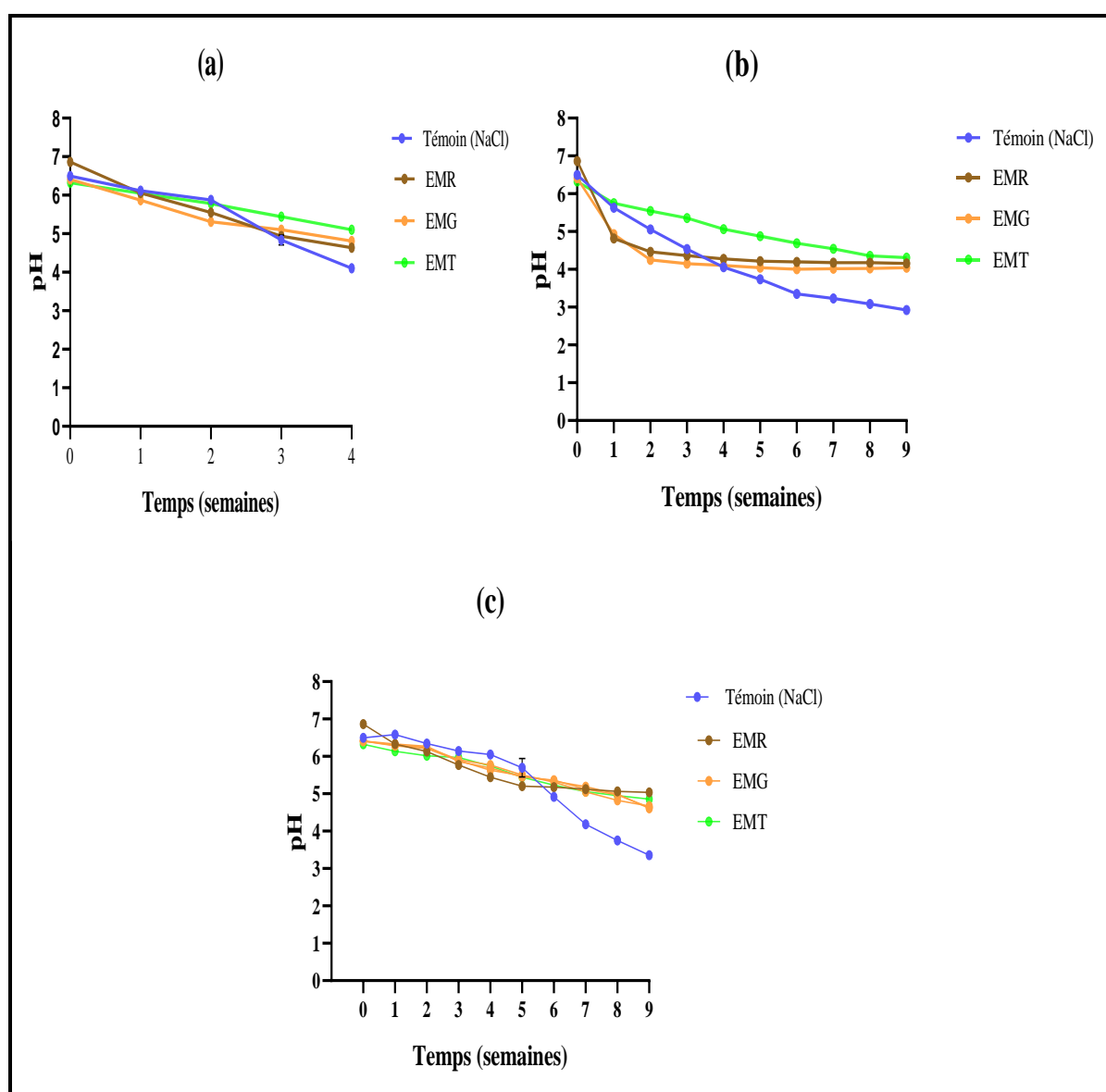


Figure 37 : Évolution du pH dans les extraits de *B. incrassatum* en présence des groupes de poids de calculs biliaires cholestéroliques en fonction du temps : (a) : CCPF ; (b) : CCPM et (c) : CCPE. Les données obtenues indiquent la moyenne (m) sur l'ensemble des trois essais \pm SEM.

Les travaux d'Amoura *et al.* (2018) mettent en évidence que la cinétique de dissolution des calculs biliaires de cholestérol ne semble pas être influencée par le pH du milieu, mais plutôt par des facteurs tels que la composition chimique phénolique des extraits de la plante, le poids des calculs biliaires utilisés et la durée du traitement.

L'extrait EMG, ayant montré la meilleure composition phénolique la plus prometteuse et des propriétés biologiques optimales *in vitro*, a été sélectionné pour des tests *in vivo* sur des rats Wistar.

III.6. Toxicité aiguë d'EMG de *Bunium incrassatum* sur des rats Wistar

Le test de toxicité aiguë de l'extrait EMG a été mené *in vivo* sur des rats Wistar. Les doses d'EMG évaluées étaient de 250, 500, 1000, 2000, 4000, 6000 et 8000 mg/kg PC. Une prise unique d'EMG a été administrée par voie orale pour chaque dose. 50% des animaux traités dans le cadre d'un test de toxicité aiguë mourront dans les premières heures (48 h) jusqu'à 14 jours, ce qui permet d'établir la dose létale (DL₅₀) (Dubick *et al.*, 1993).

Au cours de cette période, aucun changement de comportement et aucune mortalité n'ont été enregistrés chez les groupes expérimentaux testés par les différentes doses administrées de 250 à 8 000 mg/Kg. Leur comportement était semblable à celui des rats témoins. Cela suggère que la DL₅₀ est plus de 8000 mg/kg.

III.7. Acte analgésique *in vivo* de l'extrait EMG chez des rats Wistar

L'extrait EMG a été testé pour l'analgésie chez des rats Wistar en procédant au test de contraction abdominale sous acide acétique (Writhing test) (fig. 38).

L'efficacité analgésique du groupe G3 traité avec EMG à 200 mg/kg a été comparée à celle du groupe G2 de référence traité avec l'ibuprofène (200 mg/kg). Une réduction hautement significative ($P < 0.001$) du NC engendré par l'acide acétique dans les groupes G2 (9) et G3 (7) par opposition au G1 (39). G2 et G3 ont montré des taux de protection similaires, 76.92% et 82.05%, respectivement ($P > 0.05$).

L'extrait méthanolique des graines de *B. incrassatum* exerce une action analgésique importante sur les contractions abdominales des rats Wistar, induites par l'acide acétique. Les flavonoïdes et les acides phénoliques inclus dans leurs composés bioactifs expliquent ce mécanisme d'action.

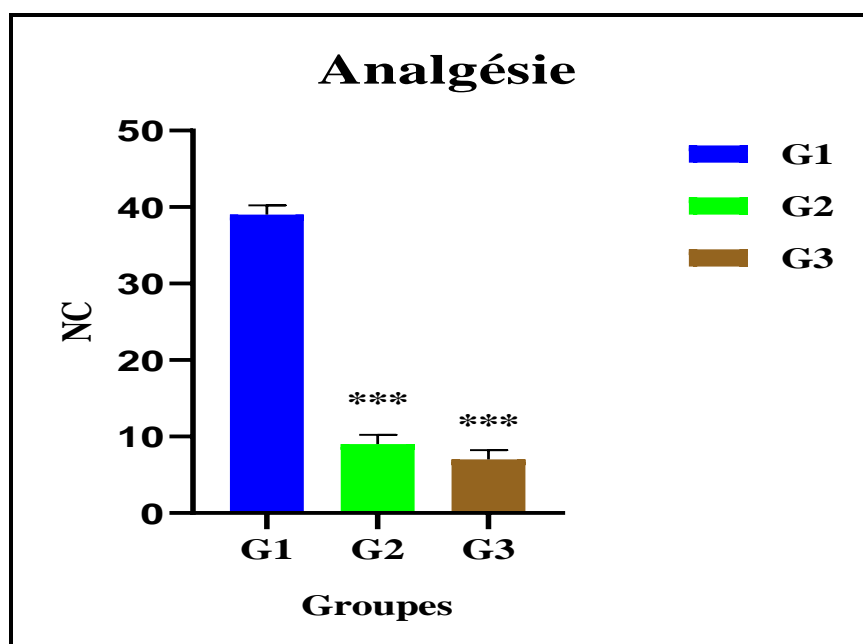


Figure 38 : Nombre des contorsions (NC) par les groupes expérimentaux de rats Wistar. Les résultats correspondent à la moyenne (m) des cinq essais \pm SEM.

G1 : témoin positif, traité uniquement avec 1 mL à 1% d'acide acétique (*i.p.*) ; G2 : référence, traité par voie orale avec 200 mg/kg d'ibuprofène (5 jours), ensuite 1 mL à 1% d'acide acétique (*i.p.*) ; G3 : traité avec 200 mg/kg d'EMG par voie orale (5 jours), puis 1 mL à 1% d'acide acétique (*i.p.*). * comparé au G1, témoin positif. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$.

Les analgésiques périphériques inhibent la douleur à la terminaison des neurones périphériques sans affecter la perception. La plupart des tests d'efficacité des analgésiques périphériques utilisent la technique de l'acide acétique (Duraisankar et Ravichandran, 2012).

Selon Zhang *et al.* (2013), la synthèse des agents médiateurs pro-inflammatoires tels que les prostaglandines (PGE 2α et PGF 2α), la bradykinine, l'histamine et la sérotonine est responsable des contorsions douloureuses provoquées par une injection intra-péritonéale de 1 mL d'acide acétique à 1%.

Ces médiateurs chimiques, comme le souligne Choi *et al.* (2006), induisent la contraction et la séparation des cellules endothéliales. Par ailleurs, les études d'Ouédraogo *et al.* (2012) ont démontré que ces médiateurs augmentent la perméabilité vasculaire, excitent les neurones nociceptifs périphériques et élargissent les artérioles et les veinules.

Zhang *et al.* (2013) ; Rahmani *et al.* (2014) ; Kehili *et al.* (2016) ont établi un intéressant corrélat entre les caractéristiques biologiques des différents extraits de végétaux, telles que leur activité anti-inflammatoire, et les niveaux de composés phénoliques, en particulier les flavonoïdes.

Dans les mastocytes sensibilisés aux IgE, les flavonoïdes bloquent la production des agents médiateurs d'inflammation, ce qui permet de traiter la douleur (Manthey, 2000 ; Middleton *et al.*, 2000 ; Cho *et al.*, 2001 ; Kim *et al.*, 2005).

La quercétine est mis en évidence pour son effet inhibiteur sur la production d'ICAM-1, limitant l'interaction des leucocytes avec l'endothélium des vaisseaux sanguins, en particulier dans le contexte de la veine ombilicale. La capacité de la quercétine à réguler la réponse inflammatoire laisse entrevoir des applications potentielles en matière de modulation de l'adhésion cellulaire et de contrôle de la réponse immunitaire (Cho *et al.*, 2001).

III.8. Acte antidiabétique *in vivo* de l'extrait EMG sur des rats Wistar

Le traitement de l'alloxane intra-péritonéal (150 mg/kg) et de l'extrait méthanolique de graines de *B. incrassatum* par voie orale (200 mg/kg) ont affecté les observations cliniques, le taux de glucose, le poids corporel, les marqueurs biochimiques et l'histologie des rats Wistar mâles après le sacrifice.

III.8.1. Observations des symptômes cliniques

Les symptômes cliniques des rats des groupes expérimentaux ont été surveillés après l'injection intra-péritonéale de 150 mg/kg d'alloxane afin de déterminer ses conséquences et les effets protecteurs de l'extrait méthanolique des graines de *B. incrassatum* sur le comportement de l'animal (tableau 11).

Les rats diabétiques de G2 (150 mg/kg d'alloxane) et de G3 (200 mg/kg d'EMG) ont présenté des perturbations comportementales physiques. En revanche, le groupe témoin (G1) et le groupe 4 (ne recevant que 200 mg/kg d'EMG) n'ont présenté aucune anomalie.

Tableau 11 : Symptômes cliniques des rats expérimentaux. Les résultats correspondent à la moyenne (m) des cinq essais \pm SEM.

G1 : rats témoins ; G2 : rats traités par 150 mg/kg d'alloxane (*i.p.*) ; G3 : traités par 150 mg/kg d'alloxane (*i.p.*) puis 200 mg/kg (59 jours) ; G4 : traités seulement par 200 mg/kg d'EMG (59 jours).

Groupes	Symptômes cliniques
G1	Normal.
G2	Polyurie, polydipsie, polyphagie, somnolence, hypoactivité, isolement, tachycardie, difficulté respiratoire, perte d'équilibre, et perte de poids.
G3	Polyurie, polydipsie, polyphagie.
G4	Normal.

III.8.2. Évolution du poids corporel

La [figure 39](#) présente l'évolution pondérale des rats diabétiques et non diabétiques soumis à une alimentation standard ainsi qu'un traitement d'extrait méthanolique de graines de *B. incrassatum* (EMG) pendant une période de 59 jours d'expérimentation.

Initialement, le poids corporel de tous les groupes était pratiquement similaire au début de l'essai. Cependant, l'injection intra-péritonéale (*i.p.*) d'alloxane (150 mg/kg) a induit un diabète chez le groupe de rats diabétiques (G2), entraînant une perte de poids corporel dès le troisième jour d'expérimentation. Cette réduction a été extrêmement significative ($P < 0.001$), atteignant 42.38% comparativement au témoin G1 après 59 jours d'étude.

Par ailleurs, le G3 (traité par 150 mg/kg d'alloxane (*i.p.*) puis 200 mg/kg) et le G4 (recevant uniquement d'EMG à 200 mg/kg) augmentent hautement significativement ($P < 0.001$) leur poids de 38.15% et 40.91%, respectivement, par rapport au G2 pendant la durée expérimentale.

Il est possible que la thérapie à base d'EMG protège les rats diabétiques contre une perte de poids significative. Une évolution pondérale typique constatée chez les rats de groupe 1 au cours du temps.

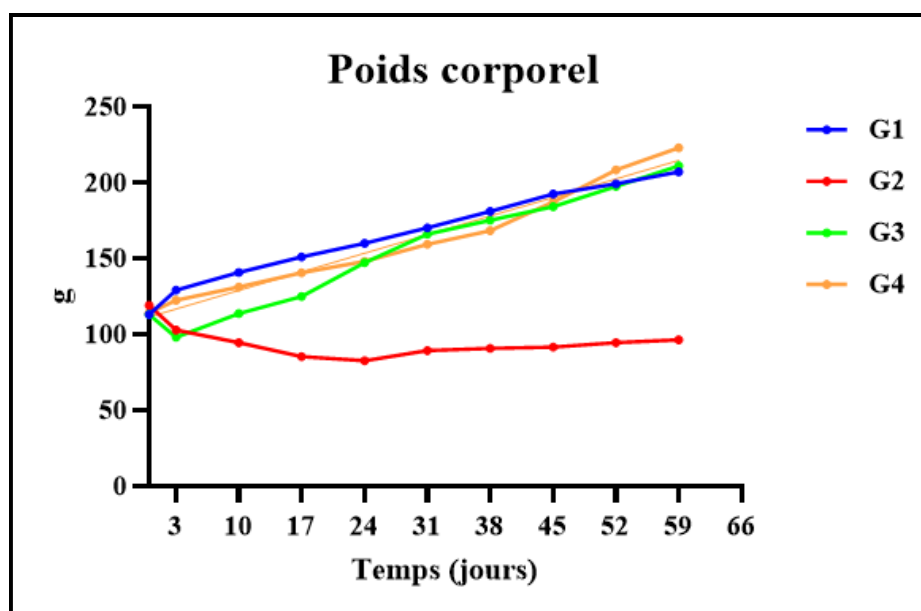


Figure 39 : Évolution du poids corporel du rat (g) après traitement/non traitement à l'extrait méthanolique des grains de *B. incrassatum* et/ou de l'alloxane durant la période expérimentale. Les résultats correspondent à la moyenne (m) des cinq essais \pm SEM.

G1 : rats témoins ; G2 : rats traités par 150 mg/kg d'alloxane (*i.p.*) ; G3 : rats traités par 150 mg/kg d'alloxane (*i.p.*) puis 200 mg/kg (59 jours) ; G4 : rats traités par EMG (200 mg/kg) durant 59 jours.

La surabondance du glucose sanguin est due à une carence en insuline, car l'organisme est inapte à utiliser ou à stocker le glucose. Chez les rats diabétiques traités à l'alloxane, une augmentation du catabolisme des lipides et des protéines est notée en raison de la carence en glucides, ce qui explique leur perte de poids chez les rats diabétiques. Ces conclusions sont étayées par des études précédentes menées par Saravanan et Pari (2005) ; Jemai et al. (2009) ; Guo et al. (2018) ; Wen et al. (2019).

La progression pondérale observée dans les groupes 1 et 4 peut être justifiée comme une suite du développement normal des animaux au travers du temps. Pieme et al. (2006) ainsi que Tra-Bi et al. (2010) ont constaté des résultats semblables avec des extraits de *Senna alata* et de *Morinda morindoides*.

Nos résultats sont comparables aux travaux de Dhandapani et al. (2002), qui ont également marqué une progression de la croissance pondérale des rats diabétiques traités à

l'alloxane suite à l'utilisation de *Cuminum cyminum* (Apiaceae). Ces effets pourraient être liés aux propriétés hypoglycémiques et hypolipidémiques de cette plante.

III.8.3. Évolution de la glycémie

La glycémie a été influencée par l'alloxane (150 mg/kg) et l'EMG (200 mg/kg) chez des rats diabétiques et non diabétiques soumis à un régime alimentaire normal et à un traitement par EMG pendant 59 jours (fig. 40).

Au début de l'expérimentation (J0), le taux de glucose sanguin était normal dans tous les groupes. Chez les rats diabétiques du groupe G2, le traitement à l'alloxane seul a entraîné une progression glycémique hautement significative ($P < 0.001$) de 73.96%, avec une concentration de 3.61 g/L par opposition au G1 (0.94 g/L). Par ailleurs, la thérapie par 200 mg/kg d'EMG au G3 et G4 a entraîné une réduction hautement significative ($P < 0.001$) de 60.94%, avec un taux de 1.41 g/L et 72.02% avec 1.01 g/L, respectivement, comparativement au groupe G2. Aucune différence significative ($P > 0.05$) n'a été notée chez le groupe G4 par rapport à G1. L'extrait méthanolique des grains de *B. incrassatum* a causé une hypoglycémie remarquable chez les rats diabétiques du groupe G3.

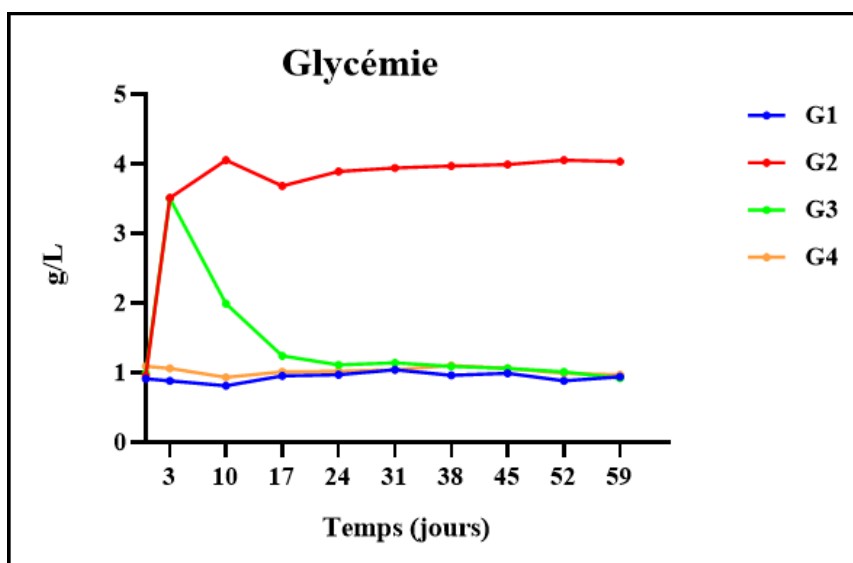


Figure 40 : Évolution du taux de la glycémie (g/L) des rats après traitement/non traitement à l'extrait méthanolique de grains de *B. incrassatum* /ou à l'alloxane durant la période expérimentale. Les résultats correspondent à la moyenne (m) des cinq essais \pm SEM.

G1 : rats témoins ; G2 : rats traités par 150 mg/kg d'alloxane (*i.p.*) ; G3 : rats traités par 150 mg/kg d'alloxane (*i.p.*) puis 200 mg/kg (59 jours) ; G4 : rats traités par 200 mg/kg d'EMG (59 jours).

Les rats diabétiques non traités peuvent développer une hyperglycémie à la suite de déficiences dans la production d'insuline ou à des anomalies des récepteurs ou des post-récepteurs dans le diabète de premier type induit par l'alloxane (Deshmukh, et al., 2015).

Idakwoji et al. (2021) ont démontré que les substances phytochimiques phénoliques telles que la lutéoline, la quercétine, l'acide cinnamique et la catéchine pourraient contribuer à neutraliser les radicaux libres générés suite à l'induction d'alloxane chez les rats et favoriser la régénération des cellules bêta et la libération d'insuline. Cette action contribue à abaisser la concentration de glucose et à augmenter le niveau d'insuline. Les résultats sont semblables aux nôtres.

En outre, les polyphénols et les flavonoïdes stimulent également les enzymes glycolytiques en transférant le glucose dans les cellules ou en bloquant la G6P dans le foie, diminuant la présence du glucose dans le sang (Tang et al., 2017).

Les antioxydants naturels abaissent la glycémie en diminuant la consommation de glucose par les cellules intestinales, l'efflux de calcium, la dépolarisation membranaire cellulaire et le blocage des conduits K^+ -ATP (Morajhar et al., 2015 ; Tafesse et al., 2017).

III.8.4. Effet de l'alloxane sur les marqueurs biochimiques

Les paramètres biochimiques après le sacrifice des rats expérimentaux ont été représentés dans les figures 41 à 46.

III.8.4.1. Effet de l'alloxane sur les marqueurs glycémiques et l'impact protecteur d'EMG de *Bunium incrassatum*

- **Glucose sanguin**

Chez G2, la glycémie est hautement significativement augmentée ($P < 0.001$) de 3.46 g/L (74.57%) par rapport aux rats témoins (G1) (0.88 g/L). Par contre, la thérapie par 200 mg/kg d'EMG durant 59 jours chez G3 et G4 a doué d'une baisse extrêmement substantielle ($P < 0.001$) du glucose sanguin de 0.98 g/L (71.68%) et 0.88 g/L (74.57%), respectivement, par comparaison avec les rats diabétiques (G2). Pas de distinction significative ($P > 0.05$) entre G4 et G1 (fig. 41 a).

L'analyse post-sacrifice du taux de glucose sanguin des rats diabétiques a révélé que l'extrait EMG a un effet hypoglycémiant. Ces données confirment notre étude sur l'évolution de la glycémie durant 59 jours.

• **Hémoglobine glyquée (HbA1 C)**

La figure 41 b fait apparaître un taux de l'hémoglobine glyquée de 9.28% avec une élévation hautement significative ($P<0.001$) de 73.28% chez le G2 comparé à G1 (2.48%). Par contre, le traitement par EMG (200 mg/kg) chez G3 et G4 a enregistré de l'ordre respectif des niveaux l'hémoglobine glyquée de 2.65% et 2.22%. EMG a baissé l'HbA1 C hautement significativement ($P<0.001$) de 71.44% et 76.08% pour G3 et G4, respectivement, au regard de G2. Aucune différence significative ($P>0.05$) n'a été marquée chez G4 par rapport à G1.

L'extrait EMG a réduit notablement le taux d'HbA1 C chez les rats exposés au stress oxydatif provoqué par l'alloxane.

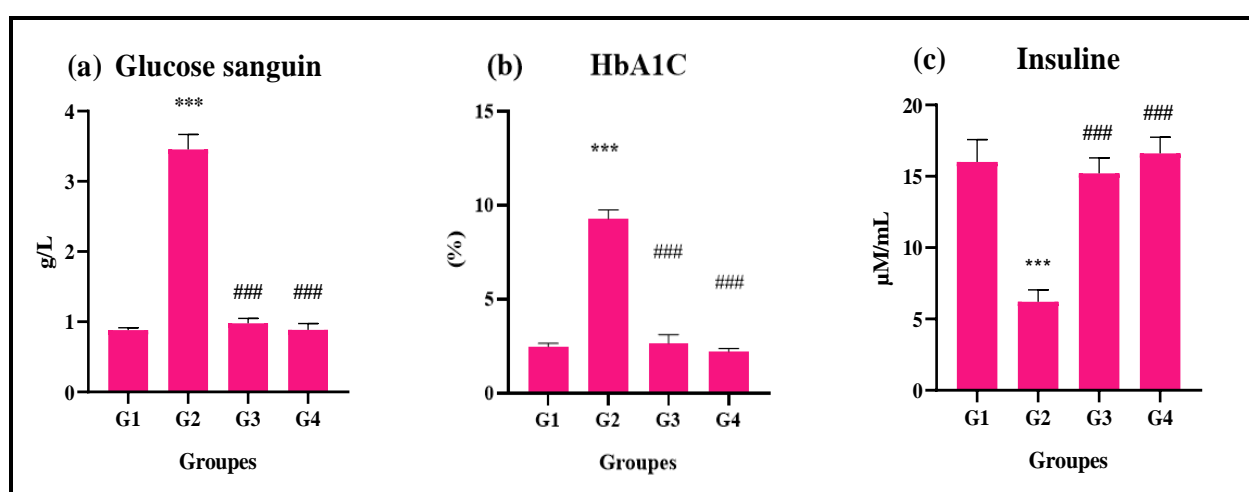


Figure 41 : Marqueurs glycémiques des groupes expérimentaux des rats après traitement/sans traitement avec l'EMG /ou l'alloxane : (a) : glucose sanguin, (b) : HbA1 C ; (c) : insuline. Les résultats correspondent à la moyenne (m) des cinq essais \pm SEM.

G1 : rats témoins ; G2 : rats traités par 150 mg/kg d'alloxane (*i.p.*) ; G3 : rats traités par 150 mg/kg d'alloxane (*i.p.*) puis 200 mg/kg (59 jours) ; G4 : rats traités par 200 mg/kg d'EMG (59 jours). * Comparativement au G1 témoin, # comparativement au G2 traité par l'alloxane. * $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$, # $P<0.001$, ## $P<0.001$, ### $P<0.001$.

• **Insuline**

Les rats diabétiques du groupe 2 ont signalé une chute hautement significative ($P<0.001$) des concentrations en insuline de 6.20 U/L (61.25%) par rapport au G1 (16 U/L).

En revanche, les groupes 3 et 4 qui ont reçu de l'EMG (200 mg/kg) ont présenté des taux d'insuline hautement significatifs ($P < 0.001$) de 15.20 U/L (59.21%) et de 16.60 U/L (62.65%), respectivement, que le groupe 2. Le groupe G4 n'a enregistré aucune différence significative ($P > 0.05$) contre G1 (fig. 41 c).

L'extrait EMG s'est distingué par son efficacité hyper-insulinémie chez les rats diabétiques subissant un stress oxydant par l'alloxane.

L'alloxane agit comme un agent bêta-cytotoxique, couramment utilisé pour induire le diabète expérimental de type 1, en raison de sa capacité à cibler les cellules β pancréatiques chez de nombreuses espèces animales (Bopanna et al., 1997).

L'alloxane est structuralement semblable au glucose, il traverse les membranes cellulaires via les transporteurs GLUT2. Une fois dans le cytoplasme, l'alloxane est transformé en acide dialurique par certains agents spécifiques (le glutathion réduit, la cystéine et l'acide ascorbique). Il interagit également avec les groupes thiol, affectant particulièrement la glucokinase (une enzyme riche en thiols dans les cellules bêta-pancréatiques, catalysant la convertibilité du glucose en G6P, déclenchant ainsi la sécrétion d'insuline pour réguler la glycémie), formant des ponts disulfures au niveau de leur site actif et inhibant leur activité enzymatique catalytique (Lenzen, 2008).

L'alloxane abaisse le processus d'oxydation du glucose et diminue ainsi sa productivité en ATP. Cette baisse d'ATP perturbe le signal énergétique nécessaire à la sécrétion d'insuline. De plus, l'alloxane augmente la perméabilité des membranes des cellules β , amplifiant ainsi l'inhibition de la libération d'insuline (Watkins et al., 1964).

Ces altérations conduisent à une hyperglycémie marquée, qui apparaît dès le troisième jour suivant une injection intra-péritonéale. La glycémie des rats diabétiques est trois à quatre fois supérieure à celle des rats normaux non traités (Aruna et al., 1999 ; Nagappa et al., 2003). Ces observations correspondent à nos propres constatations.

Des autres études antérieures menées par Stanely et al. (2000) ; Szkudelski, (2001) ; Yadav et al. (2002) ont aussi noté l'effet dépressif et stressant de l'alloxane sur la glycémie chez les rats, montrant que les radicaux libres de l'alloxane endommagent les cellules β de Langerhans.

L'hyperglycémie, principal symptôme du diabète, résulte de la surproduction de glucose (néoglucogenèse et glycogénolyse) et de son utilisation réduite par les tissus périphériques, comme l'ont souligné les études de [Shirwaikar et al. \(2004\)](#).

[Karthik et al. \(2014\)](#) ; [Tiwari et al. \(2014\)](#) ont constaté que l'alloxane (150 mg/kg *i.p.*) inhibait la sécrétion d'insuline et provoquait une hyperglycémie chez les rats. Nos résultats confirment ces affirmations.

Au cours du diabète, l'hémoglobine subit une glycosylation accrue en cas de contrôle glycémique insuffisant ou de traitement inadéquat. La glycosylation de l'hémoglobine est directement proportionnelle à la glycémie et est un indice majeur de diabète sucré. Les animaux présentant un diabète induit par l'alloxane ont manifesté des niveaux d'hémoglobine totale plus faibles ([Pari et Amarnath Satheesh, 2004](#)). Nos analyses corroborent ces résultats.

Diverses plantes médicinales ont des effets hypoglycémiques dans ce contexte ([Prasanna, 2000](#) ; [Zanatta et al., 2007](#)). Des recherches ont décelé un possible corrélât entre la baisse de la glycémie et les composés phytochimiques des végétaux ([Bi et al., 2008](#)).

Les composés phénoliques ont bien établis pour leurs effets hypoglycémisants ([Mangambu et al., 2014](#)).

Cet effet pourrait être comparable à celui des sulfamides hypoglycémisants, tels que la glibenclamide, qui agissent en se fixant à des récepteurs cellulaires β spécifiques du pancréas, provoquant la fermeture des canaux de potassium ATP-dépendants, suivie d'une dépolarisation de la membrane, de l'ouverture des canaux de calcium et d'un afflux de ce dernier, déclenchant l'exocytose de l'insuline ([Ragunathan et Sulochana, 1996](#) ; [Grimaldi et al., 2009](#)).

Alternativement, cet impact peut également découler d'une montée du flux de glucose sanguin à travers les tissus de la périphérie, comme le suggèrent les travaux de [Pari et Latha \(2002\)](#).

[Dhandapani et al. \(2002\)](#) ont constaté que l'extrait de *Cuminum cyminum* (Apiaceae) réduit les indices de glycémie chez les rats diabétiques alloxaniques, validant ainsi notre approche.

L'extrait de graines de *B. incrassatum* semble contribuer à réguler les indicateurs glycémiques et à moduler le métabolisme du glucose.

III.8.4.2. Effet de l'alloxane sur les marqueurs lipidiques et l'impact protecteur de l'EMG de *Bunium incrassatum*

- **Triglycérides (TG)**

Les rats diabétiques (G2) ont présenté une très nette progression ($P<0.001$) de niveau de triglycéride de l'ordre de 1.04 g/L (65.38%) par opposition aux rats témoins (G1) (0.36 g/L). Les groupes G3 et G4 ont manifesté une régression hautement significative ($P<0.001$) de triglycérides de 0.41 g/L (60.58%) et 0.17 g/L (83.85%), respectivement, par rapport au groupe 2. Pas de changement significatif ($P>0.05$) dans le G4 par rapport au G1 (fig. 42 a).

- **Cholestérol total (TC)**

Une remontée très substantielle ($P<0.01$) du taux de cholestérol total de 0.85 g/L (37.65%) a été constatée chez les rats diabétiques (G2) par opposition au G1 (0.53 g/L). Contrairement, le groupe G3 traité avec EMG à 200 mg/kg a présenté un taux de cholestérol significativement ($P<0.05$) inférieur de 0.68 g/L (20%) et un autre très significatif ($P<0.01$) de 0.52 g/L (38.82%) dans le G4, par regard des rats diabétiques (G2). Aucune variation substantielle ($P>0.05$) n'a été constatée entre le G4 et le G1 (fig. 42 b).

- **Lipoprotéine de haute densité (HDL)**

Une chute hautement significative ($P<0.001$) des concentrations de l'HDL, atteignant 0.16 g/L (56.76%), a été constatée par rapport aux valeurs obtenues par le groupe témoin (0.37 g/L). Le traitement à l'EMG (200 mg/kg) chez les rats de G3 a démontré une augmentation très significative ($P<0.01$) de 0.30 g/L (46.67%) de l'HDL et hautement significative ($P<0.001$), d'environ 0.44 g/L (63.64%) chez les rats G4 pour ce paramètre, par rapport aux rats G2. Absence de modification notable ($P>0.05$) entre les groupes G4 et G1 (fig. 42 c).

- **Lipoprotéine de basse densité (LDL)**

Chez le groupe 2, une évolution hautement substantielle ($P<0.001$) des LDL de 0.91 g/L (74.73%) par rapport aux rats normaux (0.23 g/L). Cependant, la thérapie par EMG à 200 mg/kg dans les groupes 3 et 4 a causé une inversion hautement significative ($P<0.001$) de ce changement de 0.46 g/L (49.45%) et 0.11 g/L (87.91%), respectivement, par comparaison avec les rats G2. Pas de variation significative ($P>0.05$) entre G4 et G1 (fig. 42 d).

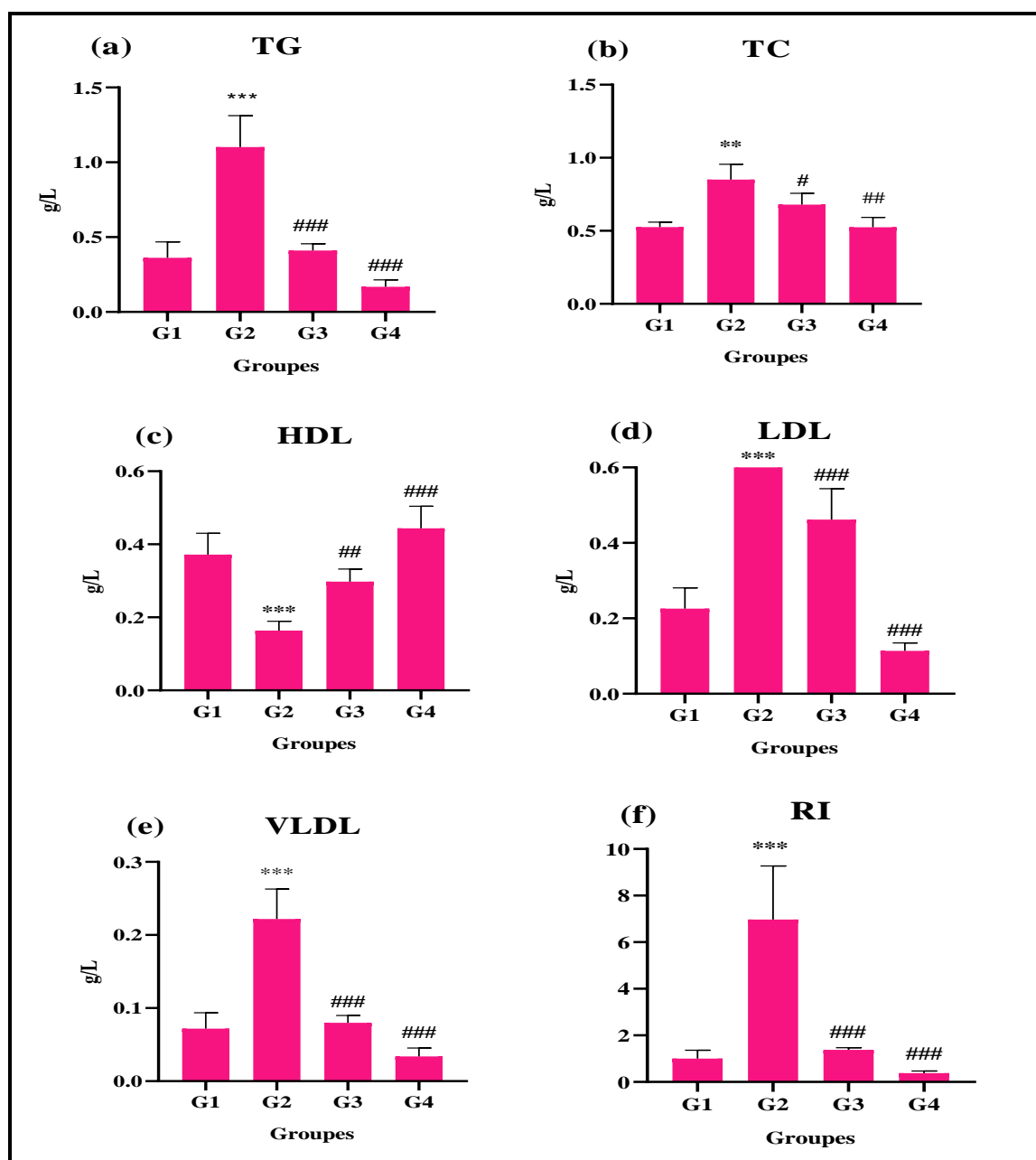


Figure 42 : Marqueurs lipidiques des groupes expérimentaux des rats après traitement/sans traitement avec l'EMG /ou l'alloxane : (a) : TG ; (b) : TC ; (c) : HDL ; (d) : LDL ; (e) : VLDL ; (f) : RI. Les résultats correspondent à la moyenne (m) des cinq essais \pm SEM.

G1 : rats témoins ; G2 : rats traités par 150 mg/kg d'alloxane (*i.p.*) ; G3 : rats traités par 150 mg/kg d'alloxane (*i.p.*) puis 200 mg/kg (59 jours) ; G4 : rats traités par 200 mg/kg d'EMG (59 jours). * Comparé au G1 témoin, # comparé au G2 traité par l'alloxane. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, # $P < 0.001$, ## $P < 0.001$, ### $P < 0.001$.

- **Lipoprotéines de très faible densité (VLDL)**

Les niveaux de VLDL de G2 ont été hautement significativement accrus ($P < 0.001$) de 0.22 g/L (68.18%) par rapport aux rats témoins G1 (0.07 g/L). Dans les groupes 3 et 4, le traitement par EMG (200 mg/kg) a entraîné une diminution hautement significative ($P < 0.001$) des VLDL de 0.08 g/L (63.64%) et de 0.03 g/L (86.36%), respectivement, par rapport aux rats diabétiques G2. Manque de différence notable ($P > 0.05$) entre les groupes G4 et G1 (fig. 42 e).

- **Résistance à l'insuline (RI)**

Les rats G2 ont enregistré une signification hautement ($P < 0.001$) élevée de 6.97 (85.51%) d'IR par rapport au groupe témoin (1.01). G3 et G4 ont vu une baisse hautement substantielle ($P < 0.001$) de l'IR à l'ordre de 1.38 (80.20%) et 0.38 (94.55%), respectivement, par comparaison avec le groupe 2. Aucun changement substantiel ($P > 0.05$) n'a été observé entre G4 et G1 (fig. 42 f).

EMG a induit un effet hypolipémiant, qui semble également contribuer à l'amélioration de l'état du groupe diabétique tout en assurant une action préventive au niveau du groupe 4.

La perturbation du profil lipidique, caractérisée par une progression substantielle de cholestérol total, de triglycérides, de LDL, de VLDL ainsi que des IR, accompagnée d'une réduction des HDL chez le G2 par rapport aux autres groupes expérimentaux, constitue des marqueurs de la dyslipidémie. Cette anomalie peut être attribuée à l'interaction directe entre le métabolisme glucidique et lipidique, reflétant leur dynamique métabolique. En effet, le déficit en insuline favorise la libération accrue d'acides gras libres (AGL), entraînant ainsi une altération du métabolisme de lipides (Lemhadri et al., 2006 ; Antwi-Baffour et al., 2018). Ces conclusions corroborent pleinement nos constatations expérimentales.

Mullugeta et al. (2012) ont établi que les déséquilibres lipidiques aggravent le risque cardiovasculaire lié au diabète de premier type. La formation des plaques athérosclérotiques est liée à l'oxydation des LDL.

Dobiášová et Frohlich (2001) ont dévoilé que l'indice athérogène du plasma, une corrélation entre les triglycérides et le HDL, se révélait être un marqueur efficace du risque cardiovasculaire. Nos résultats ont été validés par ces investigations.

Les agents anti-athérogènes semblent également avoir une action préventive sur la peroxydation lipidique et la lutte contre les troubles cardio-vasculaires (Shah *et al.*, 2001 ; Young, 2005 ; Tandon, 2005).

Des travaux antérieurs, dont celui de Lemhadri *et al.* (2006), attestent de cette efficacité en raison de la riche teneur en composés phénoliques de l'extrait de *Carum carvi* (Apiaceae), dont les vertus antidiabétiques ont été démontrées. Ces derniers confirment ainsi les résultats de celle-ci.

EMG a marqué par son influence notable sur le métabolisme lipidique chez les rats diabétiques agressés par l'alloxane, attestant de son effet protecteur.

III.8.4.3. Effet de l'alloxane sur les marqueurs hépatiques et l'impact hépato-protecteur d'EMG de *Bunium incrassatum*

- **Alanine aminotransférase (ALAT)**

Une progression hautement significative ($P < 0.001$) de 67.58 UI/L (58.86%) des concentrations d'ALAT chez le G2 contre G1 (27.8 UI/L).

En outre, des diminutions hautement significatives ($P < 0.001$) de ce paramètre de 33.84 UI/L (49.93%) et 21.08 UI/L (68.81%) du G3 et G4, respectivement, par rapport aux rats G2. Aucune variation significative ($P > 0.05$) entre G1 et G4 n'a été marquée (fig. 43 a).

- **Aspartate aminotransférase (ASAT)**

L'AST a notablement évolué avec une élévation hautement substantielle ($P < 0.001$) en G2 de 89.60 UI/L (52.01%) par rapport à G1 (43 UI/L). Ces données indiquent une progression des lésions hépatocellulaires. Chez les rats G3 et G4, l'EMG 200 mg/kg a atténué cette mesure hautement significativement ($P < 0.001$) à 48.12 UI/L (46.29%) et 37.80 UI/L (57.81%), respectivement, par rapport au G2. Pas de distinction significative ($P > 0.05$) entre G4 et G1 (fig. 43 b).

- **Phosphatase alcaline (PAL)**

Les niveaux de PAL de G2 ont augmenté hautement significativement ($P < 0.001$) 1031.80 UI/L (36.65%) par comparaison avec le groupe témoin (653.6 UI/L). L'EMG (200 mg/kg) dans les groupes 3 et 4, a fait baisser la PAL hautement significativement à 696.2 UI/L (15.43%) et 647.4 UI/L (56.64%), respectivement, par rapport au G2. Absence de changement significatif ($P > 0.05$) dans le G4 par rapport au G1 (fig. 43 c).

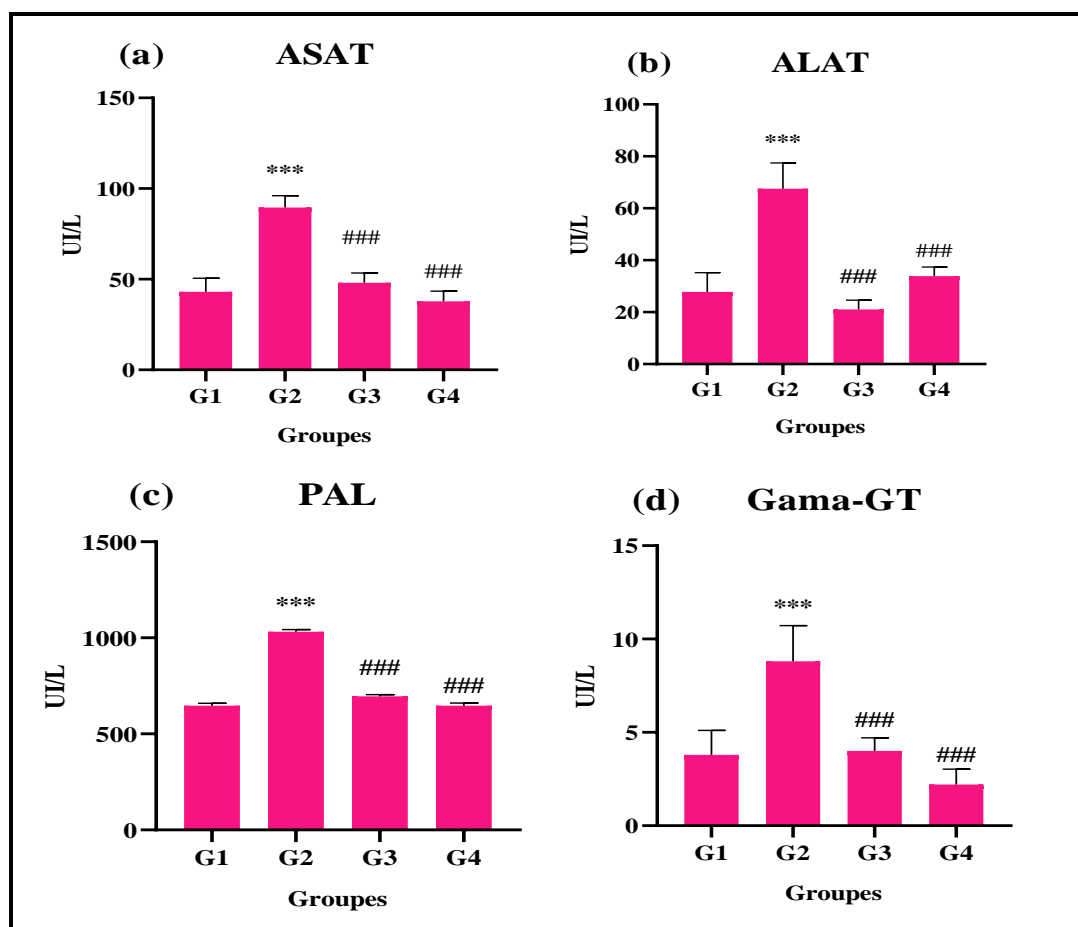


Figure 43 : Marqueurs hépatiques des groupes expérimentaux des rats après traitement/sans traitement avec l'EMG /ou l'alloxane : (a) : ALAT ; (b) : ASAT ; (c) : PAL ; (d) : γ -GT. Les résultats correspondent à la moyenne (m) des cinq essais \pm SEM.

G1 : rats témoins ; G2 : rats traités par 150 mg/kg d'alloxane (*i.p.*) ; G3 : rats traités par 150 mg/kg d'alloxane (*i.p.*) puis 200 mg/kg (59 jours) ; G4 : rats traités par 200 mg/kg d'EMG (59 jours). * Comparé au G1 témoin, # comparativement au G2, traité par l'alloxane. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, # $P < 0.001$, ## $P < 0.001$, ### $P < 0.001$.

- **Gamma-glutamyl transférase (γ -GT)**

Le groupe 2 a marqué une élévation hautement significative ($P < 0.001$) de γ -GT de 9.71 UI/L (62.20%) par rapport au groupe G1 (3.67 UI/L). Comparativement au G2, les animaux du groupe 3 et 4 ont présenté de l'ordre respectif, une diminution hautement

substantielle ($P < 0.001$) de 6 UI/L (58.81%) et 2.2 UI/L (77.34%). Le groupe G4 n'a marqué aucune différence significative ($P > 0.05$) par comparaison au G1 (fig. 43 d).

En conséquence, l'extrait d'EMG a abaissé les niveaux d'enzymes hépatiques (ASAT, ALAT, PAL et γ -GT) chez les animaux intoxiqués par l'alloxane.

Les transaminases sont des indicateurs cruciaux de la santé hépatocellulaire, utilisées pour évaluer l'état du foie des rats diabétiques (Azri et al., 1992).

L'augmentation des transaminases résulte de leur diffusion dans la circulation sanguine et/ou d'un dysfonctionnement de leur synthèse, accompagné d'une détérioration de la perméabilité membranaire des hépatocytes (Newairy et al., 2009).

De plus, la lipoperoxydation au sein des membranes biologiques entraîne une perte de la fluidité membranaire, modifiant ainsi le potentiel membranaire et augmentant leur perméabilité (Nehru et Anand, 2005).

Un stress oxydatif sévère peut amener à une fuite des transaminases, combinée à une nécrose hépatique (Shati et Alamri, 2010 ; Yeh et al., 2009).

L'ALAT, une enzyme principalement présente dans le foie, est circulée dans le sang, sert de marqueur de dommages hépatiques (Dufour et al., 2000 ; Pratt et Kaplan, 2000 ; Al-Habori et al., 2002 ; Kaneko et al., 2008).

L'ASAT, bien que présente dans le cœur et les reins, augmente également lors de la dégradation des hépatocytes. Les concentrations de ces enzymes sont élevées dans diverses pathologies hépatiques, telles que les nécroses cellulaires, l'hépatite, la cirrhose et les lésions hépatiques induites par certains médicaments (Dufour et al., 2000).

Les lésions hépatiques et la dégradation de l'intégrité membranaire des hépatocytes augmentent les niveaux d'enzymes sanguines, notamment après l'administration d'alloxane. Ces élévations indiquent des dommages hépatiques et peuvent suggérer une hyperglycémie et/ou une résistance à l'insuline (Al Shehri, 2017).

L'augmentation des transaminases (ALAT, ASAT, PAL et γ -GT) a été observée chez des rats diabétiques non traités, comme rapporté par BelHadj et al. (2013) ; Rath et al. (2016) ; Idakwoji et al. (2021) ; Ossai et al. (2021). Ces constatations sont en accord avec les nôtres.

L'extrait d'EMG fait chuter les niveaux des transaminases chez les rats diabétiques, jouant le rôle d'un hépato-protecteur contre les altérations oxydatives engendrées par l'alloxane.

III.8.4.4. Effet de l'alloxane sur les marqueurs rénaux et l'impact néphroprotecteur d'EMG de *Bunium incrassatum*

- Urée

Le taux d'urée présent dans le plasma des rats diabétiques (G2) était de 0.59 g/L (50.85%), hautement significatif ($P < 0.001$) que G1 (0.29 g/L). Cette mesure a mis en évidence une régression hautement significative ($P < 0.001$) chez G3 de 0.32 g/L (45.76%) et 0.26 g/L (55.93%) chez le groupe 4, après leur avoir administré 200 mg/kg d'EMG, par rapport aux rats G2. Aucune modification substantielle ($P > 0.05$) n'a été observée entre G4 et G1 (fig. 44 a).

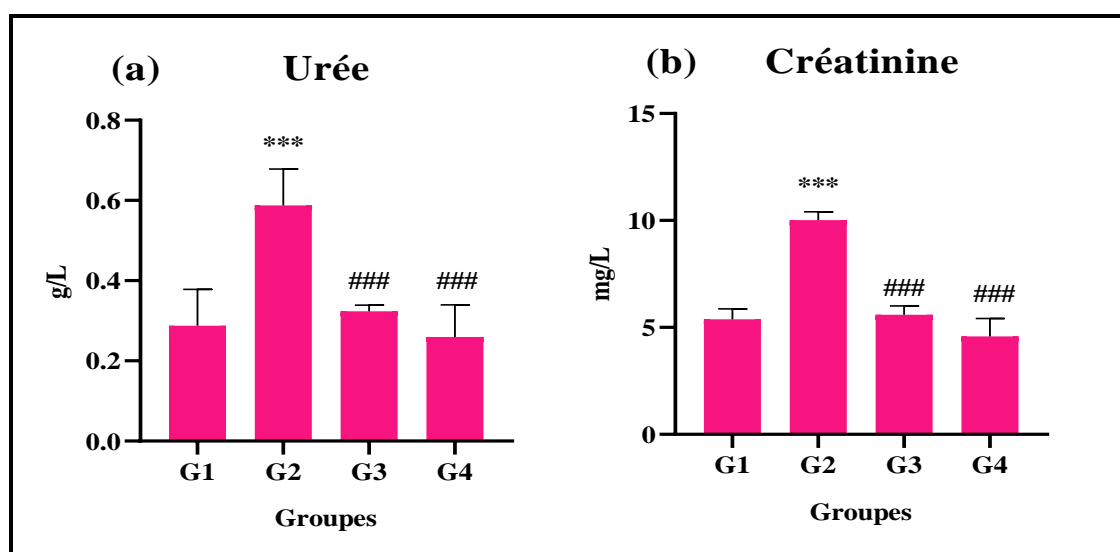


Figure 44 : Marqueurs rénaux des groupes expérimentaux des rats après traitement/sans traitement avec l'EMG/ou l'alloxane : (a) : urée ; (b) : créatinine. Les résultats correspondent à la moyenne (m) des cinq essais \pm SEM.

G1 : rats témoins ; G2 : rats traités par 150 mg/kg d'alloxane (*i.p.*) ; G3 : rats traités par 150 mg/kg d'alloxane (*i.p.*) puis 200 mg/kg (59 jours) ; G4 : rats traités par 200 mg/kg d'EMG (59 jours). * Comparé au G1 témoin, # comparativement au G2 traité par l'alloxane. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, # $P < 0.001$, ## $P < 0.001$, ### $P < 0.001$.

- **Créatinine**

Les rats du groupe 2 ayant un taux de créatinine hautement significativement ($P < 0.001$) inférieur de 10.02 mg/L (46.31%) à celui du groupe 1 (5.38 mg/L). Une réduction de 5.60 mg/L (44.11%) et de 4.59 mg/mL (44.23%) du taux de créatinine hautement significativement ($P < 0.001$) a été remarquée respectivement, chez G3 et G4 par rapport au G2. Absence de différence significative ($P > 0.05$) entre G1 et G4 (fig. 44 b).

L'administration de l'extrait EMG avec l'alloxane a entraîné une régression des marqueurs rénaux (urée et créatinine), indiquant les fonctions rénales protectrices de *B. incrasatum*.

Le rein remplit une fonction essentielle en éliminant les déchets métaboliques, notamment l'urée et la créatinine, via la production d'urine. Il contribue également à l'équilibre hydrique et électrolytique de l'organisme (James et Mitchel, 2006).

La créatinine résulte de la lyse de la créatine et de la phosphocréatine, qui sont deux composés servant de réserves d'énergie dans les muscles. Sa teneur sérique dépend de l'alimentation, la masse musculaire et le sexe. Elle est aussi influencée par son élimination par les reins, ce qui en fait un marqueur utile pour évaluer la déficience rénale (Stevens et al., 2006).

Toute perturbation des processus rénaux, telles que la filtration et la rétention des glomérules ou l'excrétion des tubules, se traduit par des modifications des taux plasmatiques d'urée et de créatinine (Tsinalis et Binet, 2006 ; Gowda et al., 2010).

Ces paramètres sont des indicateurs clés de la fonction rénale, et une hausse de leurs niveaux signale un dysfonctionnement rénal (Sirwal et al., 2004).

L'élévation des niveaux de créatinine s'accompagne souvent d'une hausse de l'azote urique sanguin. La créatininémie est couramment employée comme un indicateur clinique pour détecter les dommages rénaux induits par des substances toxiques, notamment chez les animaux expérimentaux (Travlos et al., 1996).

La dégradation des protéines dans le foie peut augmenter l'urée et la créatinine sérique chez les animaux diabétiques, les acides aminés étant convertis en ces composés et, sous

l'action des transaminases, en acide pyruvique (Bergmeyer, 1980). Cela suggère une activité de transaminase accrue au sein groupe diabétique dans le cadre de notre recherche.

De manière similaire à nos résultats, Ekpo et al. (2020) ont montré que les molécules polyphénoliques bioactives peuvent prévenir l'oxydation des lipides, protéger les tissus rénaux du stress oxydatif.

Dans les modèles expérimentaux de dysfonctionnement rénal, le traitement antioxydant peut prévenir ou minimiser les dommages rénaux. La quercétine et la lutéoline sont des antioxydants réno-protecteurs (Kalbolandi et al., 2019 ; Ekpo et al., 2020). Ceci est cohérent avec nos résultats.

L'acide caféique, un antioxydant, peut servir de protection contre l'élévation de la glycémie et la lipidémie, ainsi que contre l'urémie et les altérations rénales, grâce à ses propriétés anti-inflammatoires et antioxydantes, tout en contribuant à la prévention des risques associés au diabète et aux désordres métaboliques (Özen et al., 2004 ; Oršolić et al., 2021).

Ces effets observés pourraient être dus à une amélioration des lésions rénales chez les rats alloxaniques ou à une réduction du catabolisme de la créatine et de la phosphocréatine musculaire, via les composés phénoliques bioactifs de *B. incrassatum*. Ces composés pourraient donc jouer un rôle dans la gestion des fonctionnements rénaux et musculaires.

III.8.4.5. Effet de l'alloxane sur les protéines totales et l'impact protecteur d'EMG de *Bunium incrassatum*

Une chute hautement significative ($P < 0.001$) des niveaux des protéiques totaux de 35.40 g/L (41.88%) a été marquée par G2, comparativement au groupe témoin (60.91 g/L). Par contre, l'EMG (200 mg/kg) dans les groupes 3 et 4, a engendré une progression hautement substantielle ($P < 0.001$) des protéines totales de 58.29 g/L (39.27%) et 67.80 g/L (47.79%), respectivement, par rapport au groupe 2. Cependant, les rats du groupe G4 n'ont enregistré aucune variation substantielle ($P > 0.05$) par comparaison au G1 (fig. 45).

Ces résultats démontrent que la thérapie des rats diabétiques pendant 59 jours par l'extrait EMG a augmenté les taux de protéines totales, tout en préservant ces niveaux chez le groupe G4.

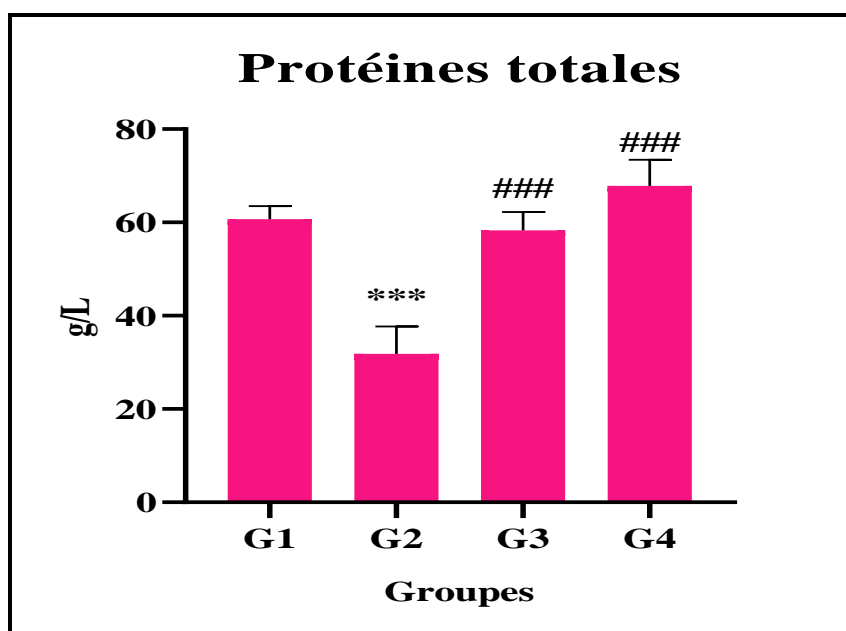


Figure 45 : Les taux de protéines totales dans les groupes expérimentaux des rats après traitement/sans traitement avec l'EMG/ou l'alloxane. Les résultats correspondent à la moyenne (m) des cinq essais \pm SEM.

G1 : rats témoins ; G2 : rats traités par 150 mg/kg d'alloxane (*i.p.*) ; G3 : rats traités par 150 mg/kg d'alloxane (*i.p.*) puis 200 mg/kg (59 jours) ; G4 : rats traités par 200 mg/kg d'EMG (59 jours). * Comparé au G1 témoin, # comparativement au G2 traité par l'alloxane. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, # $P < 0.001$, ## $P < 0.001$, ### $P < 0.001$.

L'absorption des enzymes du cytosol hépatique dans la circulation sanguine pourrait affecter l'hépatotoxicité de l'alloxane en réduisant les taux de protéines totales et d'albumine (Soon et Tan, 2002).

Les plantes médicinales renfermant des principes phénoliques bioactifs ont amélioré le taux de protéines totales des rats diabétiques alloxaniques (Rath et al., 2016 ; Idakwoji et al., 2021). Cela valide nos constatations.

III.8.4.6. Effet de l'alloxane sur l'albumine et l'impact protecteur d'EMG de *Bunium incrassatum*

Une perte hautement significative ($P < 0.001$) de 21.08 g/L (47.35%) de la teneur en albumine a été notée dans le G2, par contraste avec le G1 (40.04 g/L). D'autre part, l'albuminémie du groupe 3, a augmenté très significative ($P < 0.01$) de 35.40 g/L (40.45%) et

hautement significativement ($P < 0.001$), d'environ 41.30 g/L (48.96%) dans le G4, par rapport au G2. Pas de différence ($P > 0.05$) entre les groupes 1 et 4 (fig. 46).

L'extrait méthanolique de *Bunium incrassatum* accroît les niveaux d'albumine chez les animaux souffrant d'un stress oxydant créé par l'alloxane, et procure un pouvoir hyperalbuminant.

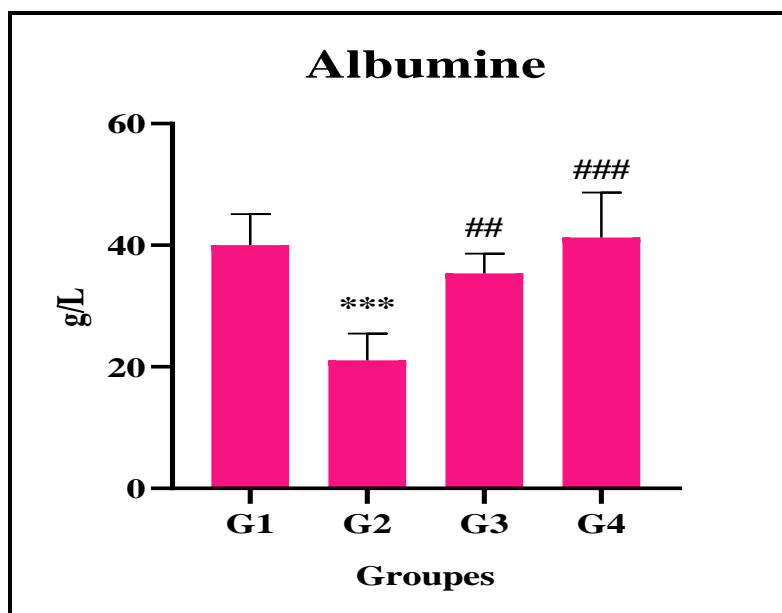


Figure 46 : Albumine des groupes expérimentaux des rats après traitement/sans traitement avec l'EMG/ou l'alloxane. Les résultats correspondent à la moyenne (m) des cinq essais \pm SEM.

G1 : rats témoins ; G2 : rats traités par 150 mg/kg d'alloxane (*i.p.*) ; G3 : rats traités par 150 mg/kg d'alloxane (*i.p.*) puis 200 mg/kg (59 jours) ; G4 : rats traités par 200 mg/kg d'EMG (59 jours). * Comparé au G1 témoin, # comparativement au G2 traité par l'alloxane. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, # $P < 0.001$, ## $P < 0.001$, ### $P < 0.001$.

Nos travaux renforcent ceux d'Idakwoji *et al.* (2021), qui ont constaté que les antioxydants phytochimiques issus des plantes permettaient un accroissement du taux d'albumine chez les rats diabétiques.

Les plantes médicinales possèdent des propriétés hypoglycémiantes qui peuvent moduler la réponse à l'insuline, réguler les processus de glycolyse et de gluconéogenèse,

contribuant ainsi à la stabilité des paramètres biochimiques et au bon équilibre fonctionnel de l'organisme (Arya, 2012 ; Mao-Ying *et al.*, 2014).

L'extrait d'EMG est un agent clef dans la régulation du métabolisme des glucides, lipides et protéines, contribuant à réduire le risque de complications associées à ces troubles, comme le diabète et les dyslipidémies.

III.8.5. Étude histologique

Les sections histologiques des pancréas, des foies et des reins, préalablement colorées à l'hématoxyline éosine, ont été examinées chez les rats normaux et ceux du groupe traité/ non traité avec l'EMG/ou l'alloxane. L'objectif était de mettre en évidence toute altération tissulaire éventuelle causée par ce traitement, tout en évaluant les possibles mesures préventives sur ces altérations.

III.8.5.1. Histologie du pancréas

La [figure 47](#) illustre l'histologie pancréatique de tous les groupes de rats expérimentaux. Le parenchyme pancréatique chez le rat normal révélait des îlots de Langerhans contenant des cellules β endocrines présentant une taille, une forme et un nombre normaux. Ces îlots étaient entourés de cellules acineuses et zymogènes séreuses, caractérisées par un cytoplasme abondant et granuleux, des noyaux proéminents et un tissu conjonctif interlobulaire typique ([fig. 47 A](#)).

En outre, dans le pancréas diabétique résultant de l'injection unique de 150 mg/kg d'alloxane, on a observé des îlots de Langerhans, caractérisés par une diminution non régulée et incohérente de la quantité et de la taille, accompagnées d'une désorganisation et d'une dégradation pancréatique ([fig. 47 B](#)).

Les rats diabétiques du G3 (200 mg/kg) ont révélé une architecture pancréatique proche de celle typique du G1 témoin. En effet, cet extrait a prouvé un pouvoir élevé de régénérer les cellules bêta pancréatiques au niveau des îlots de Langerhans, en optimisant leur taille et leur nombre par rapport au groupe de diabète non traité G2 ([fig. 47 C](#)).

Les animaux normaux recevant seulement 200 mg/kg d'EMG avaient la même structure que le groupe témoin ([fig. 47 D](#)).

L'extrait d'EMG a démontré un rôle régénératif et préventif crucial pour les cellules bêta du pancréas contre la toxicité inductible à l'alloxane chez les rats diabétiques. Cela permis de stabiliser la glycémie, l'insulinémie ainsi que les autres marqueurs associés.

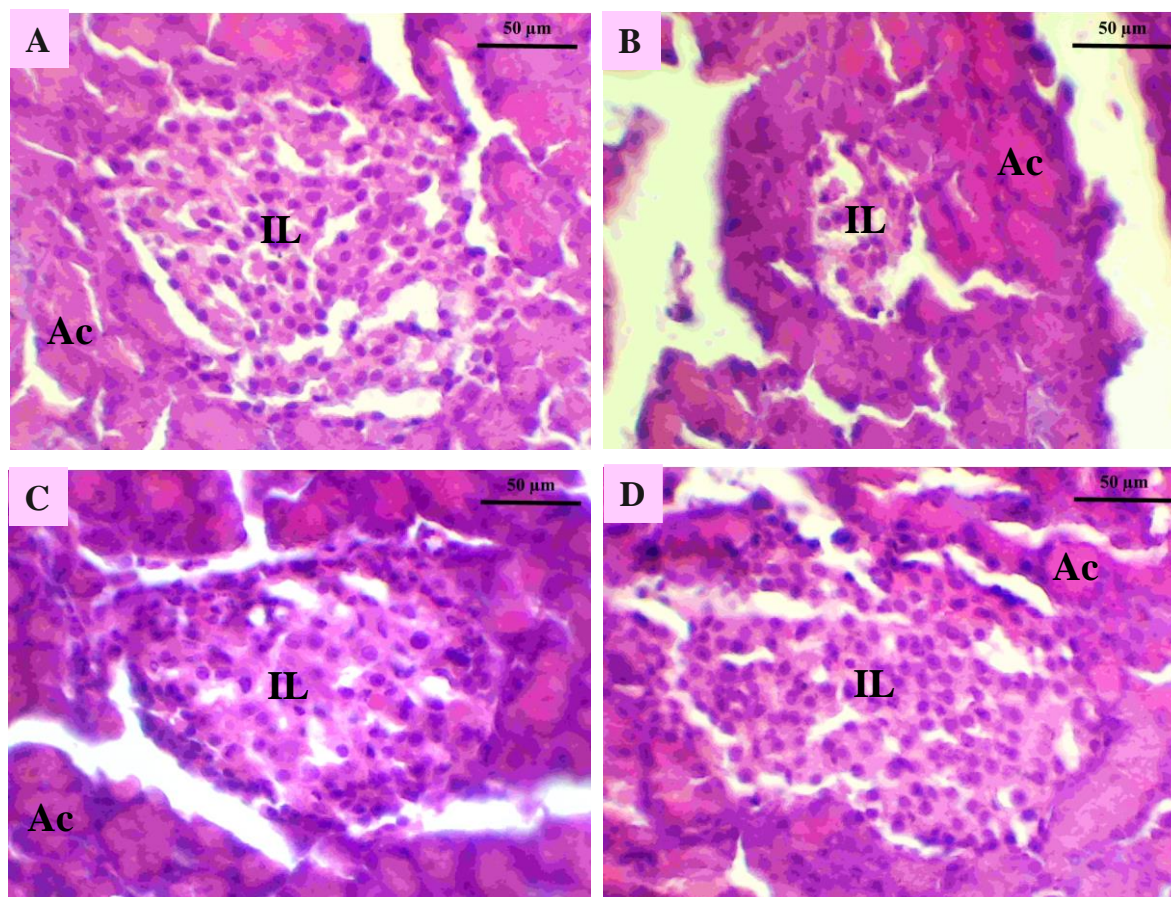


Figure 47 : Coupes histologiques du pancréas (H&E) des rats des groupes expérimentaux : (A) G1 : rats témoins ; (B) G2 : rats traités par 150 mg/kg d'alloxane (*i.p.*) ; (C) G3 : rats traités par 150 mg/kg d'alloxane (*i.p.*) puis 200 mg/kg d'EMG (59 jours) ; (D) G4 : rats traités par 200 mg/kg d'EMG (59 jours).

IL : îlot de Langarhans ; Ac : Acini.

Les complications du diabète affectent le pancréas, le foie et les reins, entraînant des altérations histologiques notées chez les animaux en diabète (Hamden *et al.*, 2008 ; Mohammadi *et Naik*, 2012).

Nos résultats de l'histologie s'alignent sur ceux de (Lenzen, 2008), indiquant que l'alloxane (150 mg/kg) a réduit la production d'insuline et provoqué un diabète de premier

type, endommageant des cellules β de Langerhans du pancréas, alors que les rats témoins n'ont présenté aucun de ces changements.

L'efficacité de l'extrait EMG à régénérer les cellules β et à réparer le tissu pancréatique endommagé pourrait s'expliquer par l'action des composés phénoliques bioactifs, qui agissent potentiellement comme précurseurs de facteurs de croissance stimulant, accélérant la division cellulaire et restaurant leur morphologie.

III.8.5.2. Histologie du foie

Les coupes histologiques des foies des groupes expérimentaux sont présentées dans les figures 48 et 49. L'examen de l'histologie du foie du groupe témoin a mis en évidence un tissu hépatique sain, où les hépatocytes normaux sont clairement séparés par des capillaires sinusoïdes, avec une veine centrale et des espaces portes distincts (artère, veine cave et capillaire biliaire) (fig. 48 A et B).

Le tissu hépatique des rats diabétiques a présenté des sévères altérations par rapport au groupe de témoin, avec des anomalies structurelles hépatiques, telles que la dilatation des capillaires sinusoïdaux, l'infiltration inflammatoire, l'apparition des cellules en bague à chaton (accumulation lipidique : stéatose) et des noyaux condensés fragmentés des hépatocytes (signes d'apoptose ou bien nécrose) (fig. 48 C, D, E et F).

Suite à l'administration de 200 mg/kg d'EMG à des rats diabétiques pendant 59 jours, ces effets secondaires ont notablement diminué, avec des légères congestions observées (fig. 49 G, H).

La morphologie constatée chez le groupe G4 correspond à celle du groupe témoin normal après un traitement exclusif à l'EMG (fig. 49 I et J).

EMG a démontré un potentiel puissant de minimiser les endommages hépatiques générés par l'alloxane chez le G2, mettant en évidence leur effet hépato-protecteur.

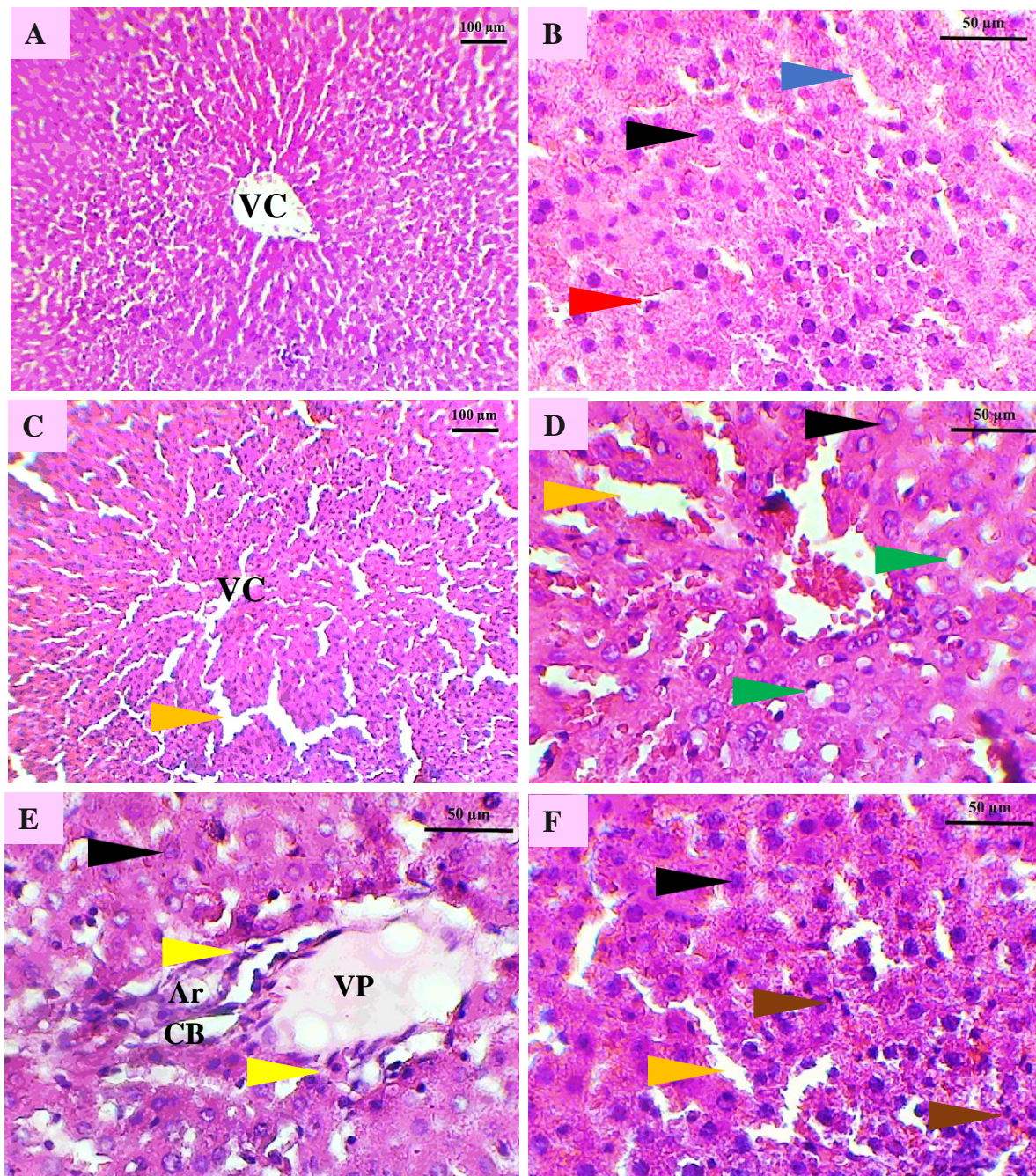


Figure 48 : Coupes histologiques du foie (H&E) chez le groupe G1 témoin (A et B) et le groupe G2, traité uniquement avec 150 mg/kg d'alloxane (*i.p.*) (C, D, E et F).

Ar : artère ; CB : canal biliaire ; VC : veine centrale ; VP : veine porte, flèche bleue : capillaire sinusoidale, flèche noire : hépatocyte, flèche rouge : cellule de Kupffer, flèche orange : dilatation des capillaires sinusoides, flèche verte : cellules en bague à chaton (stéatose), flèche jaune : infiltration inflammatoire, flèche marron : noyaux condensés fragmentés.

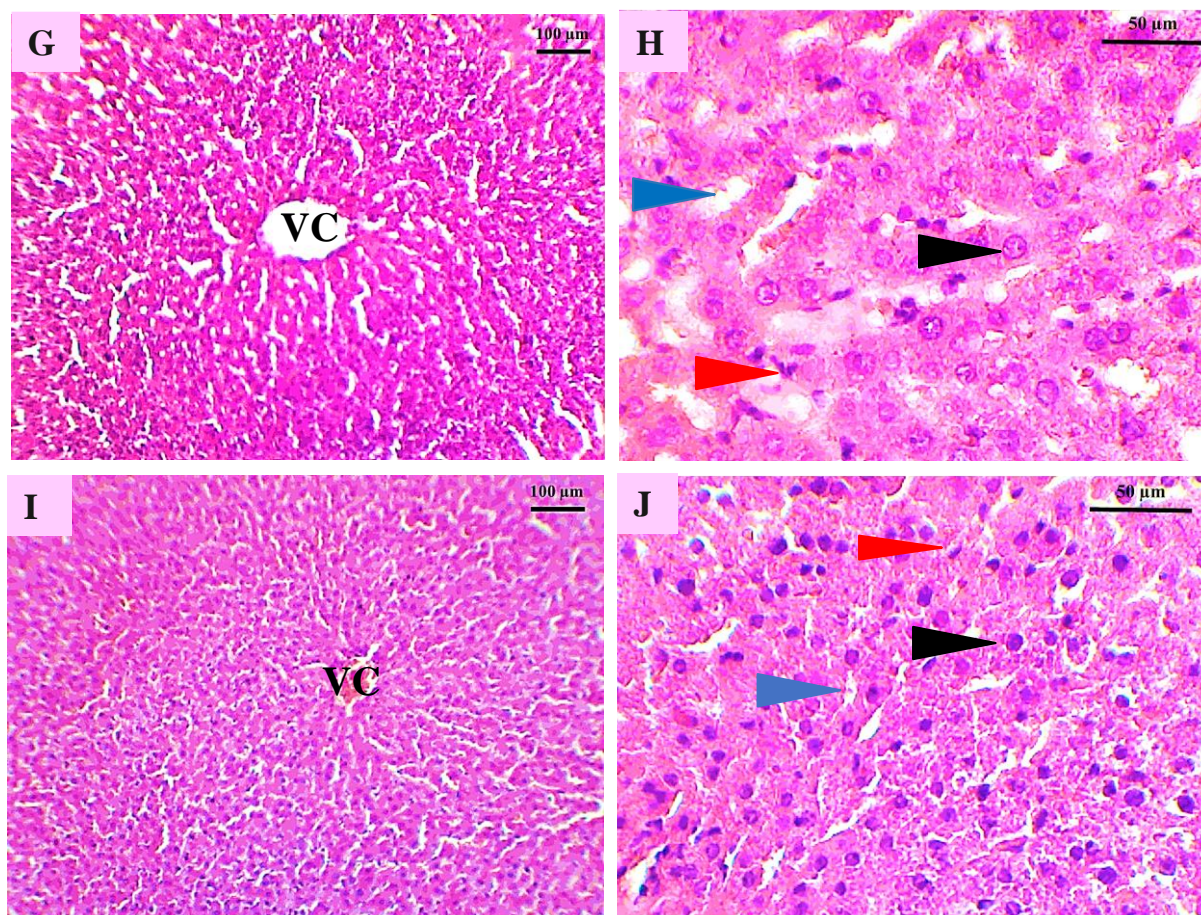


Figure 49 : Coupes histologiques du foie (H&E) chez le groupe G3 (G et H), traités par 150 mg/kg d'alloxane (*i.p.*) puis 200 mg/kg d'EMG (59 jours) et le groupe G4 (I, J), traités seulement par 200 mg/kg d'EMG (59 jours).

VC : veine centrale, flèche bleue : capillaire sinusöide, flèche noire : hépatocyte, flèche rouge : cellule de Kupffer.

Khalil *et al.* (2010) ; BelHadj *et al.* (2013) ; AlRawi, (2007) qui ont constaté une dilatation sinusöidale, une stéatose et des infiltrations lymphocytaires avec une dose plus simple de streptozotocine (50 mg/kg). Cela confirme nos résultats.

De même, Oršolić *et al.* (2012) ont instillé le diabète chez des souris Albinos suisses avec une dose unique de monohydrate d'alloxane (75 mg/kg *i.v.*). Les tissus hépatiques des souris diabétiques ont exhibé les mêmes altérations que celles précédemment décrites.

Les composés phénoliques de l'extrait EMG peuvent réduire le cumul de TG, la lipogenèse dans les cellules hépatocytes et atténuer la toxicité hépatique engendrée par l'alloxane, normalisant ainsi les marqueurs lipidiques et hépatiques.

III.8.5.3. Histologie des reins

Les figures 50, 51 et 52 présentent l'aspect histologique des reins des rats de l'étude. La section normale du rein a révélé la présence des glomérules et des tubules contournés, sans aucune anomalie pathologique apparente (fig. 50 A, B).

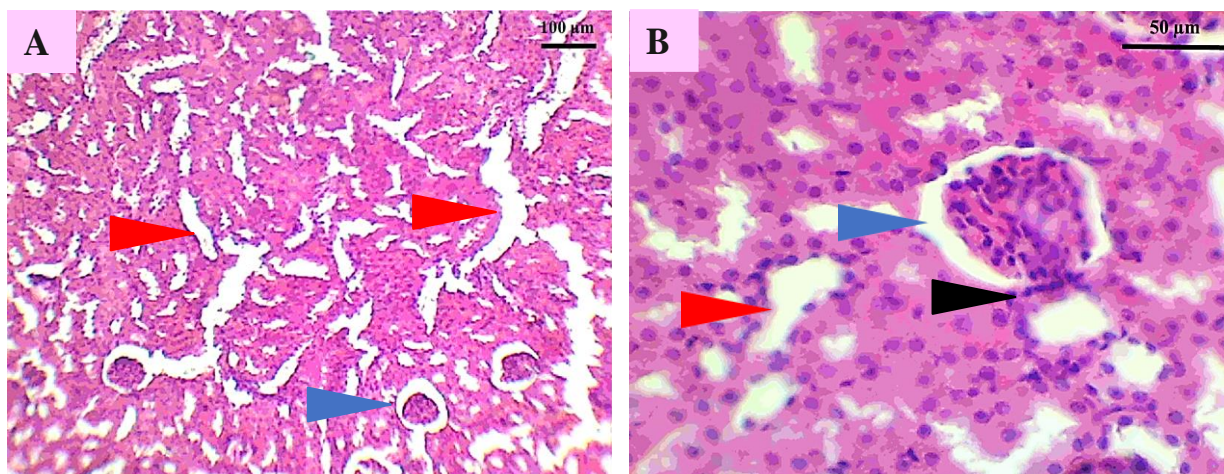


Figure 50 : Coupes histologiques des reins (H&E) chez le groupe G1 témoin (A et B).

Flèche bleue : glomérulaire, flèche rouge : tubule contourné, flèche noire : appareil juxta-glomérulaire.

À la suite d'une injection unique de 150 mg/kg d'alloxane, des altérations glomérulaires sont apparues chez les rats diabétiques non traités, notamment une condensation glomérulaire, une expansion de l'espace capsulaire de Bowman, et une fragmentation des glomérules (fig. 51 C, D, E, F, G et H).

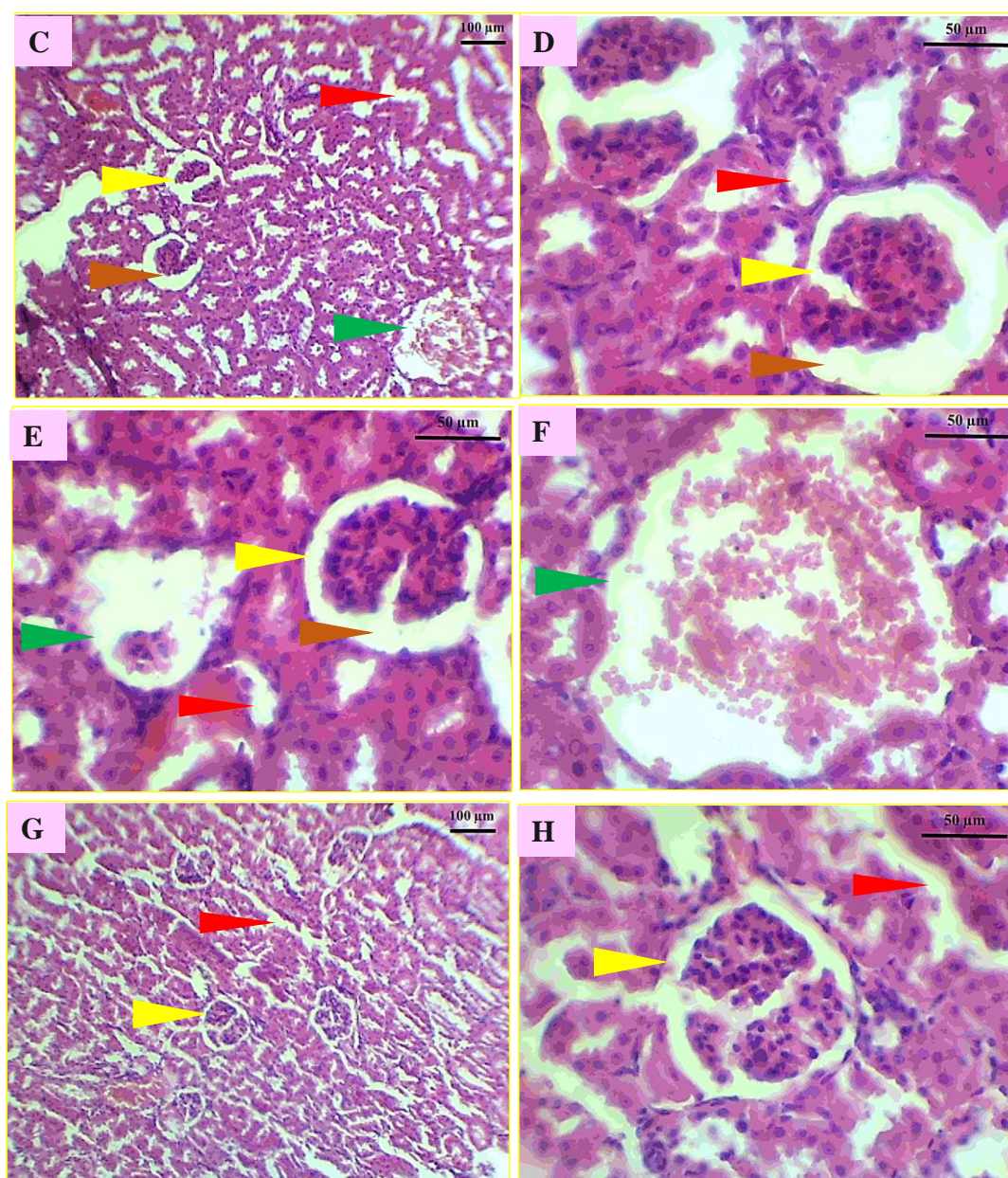


Figure 51 : Coupes histologiques du foie (H&E) chez le groupe G2, traité uniquement avec 150 mg/kg d'alloxane (*i.p.*) (C, D, E, F, G et H).

Flèche jaune : glomérule fragmenté, flèche rouge : tubule contourné, flèche verte : glomérule dégénéré, flèche marron : augmentation de l'espace capsulaire de Bowman.

Cependant, l'extrait EMG (200 mg/kg) a réparé effectivement la quasi-totalité des lésions rénales chez les rats diabétiques du groupe G3, en diminuant la condensation glomérulaire et l'expansion de l'espace capsulaire de Bowman par rapport au groupe G2 (fig.

52 I, J). Une structure rénale normale des rats du groupe 4 a été maintenue après 59 jours de traitement par EMG (200 mg/kg) (fig. 52 K, L).

L'extrait EMG a prouvé une forte action réductrice des lésions rénales causées par l'alloxane chez le groupe diabétique G2. Aucun signe de toxicité d'EMG n'a été exercé sur les tissus rénaux des rats G4.

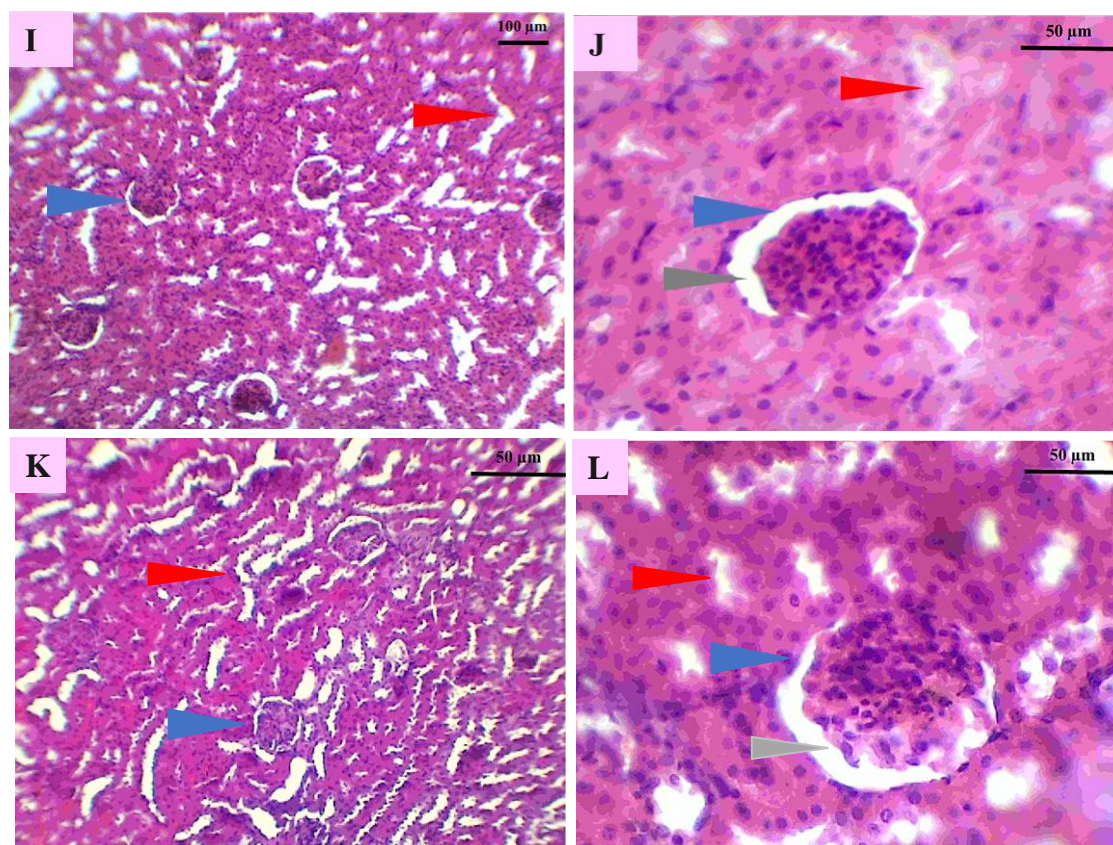


Figure 52 : Coupes histologiques du foie (H&E) chez le groupe G3 (I et J), traités par 150 mg/kg d'alloxane (*i.p.*) puis 200 mg/kg d'EMG (59 jours) et le groupe G4 (K, L), traités seulement par 200 mg/kg d'EMG (59 jours).

Flèche bleue : glomérule, flèche rouge : tubule contourné, flèche grise : espace capsulaire de Bowman normal.

Guan *et al.* (2005) ; Mahendran *et al.* (2011) et Ben Younes *et al.* (2018) ont révélé des lésions histologiques structurelles au niveau des reins, incluant des altérations glomérulaires, une condensation glomérulaire et une augmentation de l'espace capsulaire de Bowman chez les reins des rats diabétiques. Ces conclusions rejoignent celles de notre étude actuelle.

Conformément aux découvertes précédentes (Alarcon et al., 2002), les lésions rénales chez les rats hyperglycémiques induits par l'alloxane se traduisent par des niveaux plasmatiques élevés d'urée et de créatinine. Ces altérations pourraient résulter des dommages oxydatifs causés aux reins par l'alloxane, de la peroxydation des lipides ou des perturbations de la destruction des protéines dans les membranes cellulaires et dans le tissu musculaire ou du métabolisme de la phosphocréatine. Ces constatations suggèrent une possible altération de la fonction rénale.

La thérapie par des composés phénoliques bioactifs présents dans les plantes médicinales a notablement réduit les lésions tissulaires, pancréatiques, hépatiques et rénales chez les rats alloxaniques (Idakwoji et al., 2021).

L'acide ellagique, l'acide caféique, l'acide chlorogénique, la quercétine, et la myricétine, se distinguent par leurs propriétés puissantes, antioxydantes, anti-inflammatoires et hypoglycémiantes. En soutenant la division cellulaire, inhibant l'apoptose et réduisant les effets du stress oxydatif et contribuant à la régénération des organes lésés et à l'équilibre métabolique (Arya, 2012 ; Mao-Ying et al., 2014 ; Rahimifard et al., 2018 ; Gurav et al., 2018 ; Mahmud et al., 2023 ; Baptista et al., 2024 ; Li et al., 2024). Ces constats sont en concordance avec ceux de nos travaux.

Les composés phénoliques activent la voie de signalisation intracellulaire par la phosphoinositide 3-kinase (PI3K) phosphoryle et la protéine kinase B (PKB), modulant les facteurs de croissance, notamment le facteur de croissance 1 analogue à l'insuline (IGF-1) ou somatomédine C, le facteur de croissance de l'endothélium vasculaire (VEGF) et le facteur de croissance des hépatocytes (HGF). Ces mécanismes ont une fonction vitale dans la régénération, la réparation et la survie des tissus pancréatiques, hépatiques et rénaux endommagés (Liu et al., 2023 ; Pannucci et al., 2023 ; Hu et al., 2024 ; Baptista et al., 2024).

L'EMG est un agent hypoglycémiant, hypolipidémiant préventif contre les atteintes pancréatiques, hépatiques et rénales expérimentalement générées par l'alloxane chez les rats.

III.9. Acte anti-hyperthyroïdien *in vivo* de l'extrait EMG sur des rats Wistar

Le traitement oral par la thyroxine (600 µg/kg) et l'EMG (200 mg/kg) ont affecté les marqueurs thyroïdiens et l'histologie de la glande thyroïde des rats Wistar (fig. 53).

III.9.1. Effet de la thyroxine sur les marqueurs thyroïdiens et l'impact protecteur d'EMG de *Bunium incrassatum*

III.9.1.1. Triiodothyronine (T3)

Aucune divergence significative ($p>0.05$) n'a été décelée entre les quatre groupes expérimentaux à J0.

À J14 (après l'administration de thyroxine 600 µg/mL), une élévation hautement significative ($P<0.001$) de la T3, dans G2, G3, de 7.45 pg/mL (59.33%), 7.56 pg/mL (59.92%), respectivement, par rapport au témoin G1 (3.03 pg/mL). Le groupe G4 n'a pas manifesté de changement statistiquement significatif ($P>0.05$), comparativement au groupe G1. Un changement hautement substantiel ($P<0.001$) de ce paramètre a été constaté dans le groupe G4 (2.29 pg/mL, 69.22%) vis-à-vis du G2.

À J44, une progression hautement significative ($P<0.001$) de 10.77 pg/mL (74%) a été marquée dans le G2 contre G1 (2.80 pg/mL). En contraste, le traitement à l'extrait d'EMG (200 mg/kg) dans les groupes G3 et G4 a réduit la T3 de manière hautement significative ($P<0.001$) de 4.61 pg/mL (57.20%) et de 2.10 pg/mL (80.79%), respectivement, par rapport au groupe G2. Aucune variation notée ($P>0.05$) entre G4 et G1 (fig. 53 a).

III.9.1.2. Thyroxine (T4)

À J0, absence de changement substantiel ($p>0.05$) entre les groupes expérimentaux a été observée.

À J14, une montée hautement significative ($P < 0.001$) de la T4 a été détectée par les groupes 2 et 3, de 6.52 ng/dL (82.52%), 6.70 ng/dL (82.96%), soit respectivement, par rapport au groupe G1 (1.14 ng/dL). Les groupes G4 et G1 n'ont pas différemment manifesté ($P>0.05$). Par contre, une variation hautement substantielle a été révélée ($P<0.001$) pour cet indicateur, dans le groupe G4 (1.09 ng/dL, 83.14%) comparé au groupe G2.

À J44, une ascension hautement significative ($P<0.001$) des taux de T4 de 8.07 ng/dL (87.31%) a été obtenue chez les rats hyperthyroïdiens (G2) par opposition au G1 (1.02 ng/dL). Contrairement, les groupes G3 et G4 traités avec l'EMG ont affiché une réduction hautement significative ($P<0.001$) de 2.26 ng/dL (72%) et 1.11 ng/dL (86.25%), de façon respective à celle des rats hyperthyroïdiens G2. Les animaux traités uniquement avec l'EMG (G4) ont affiché des valeurs de T4 comparables à celles des témoins ($P>0.05$) (fig. 53 b).

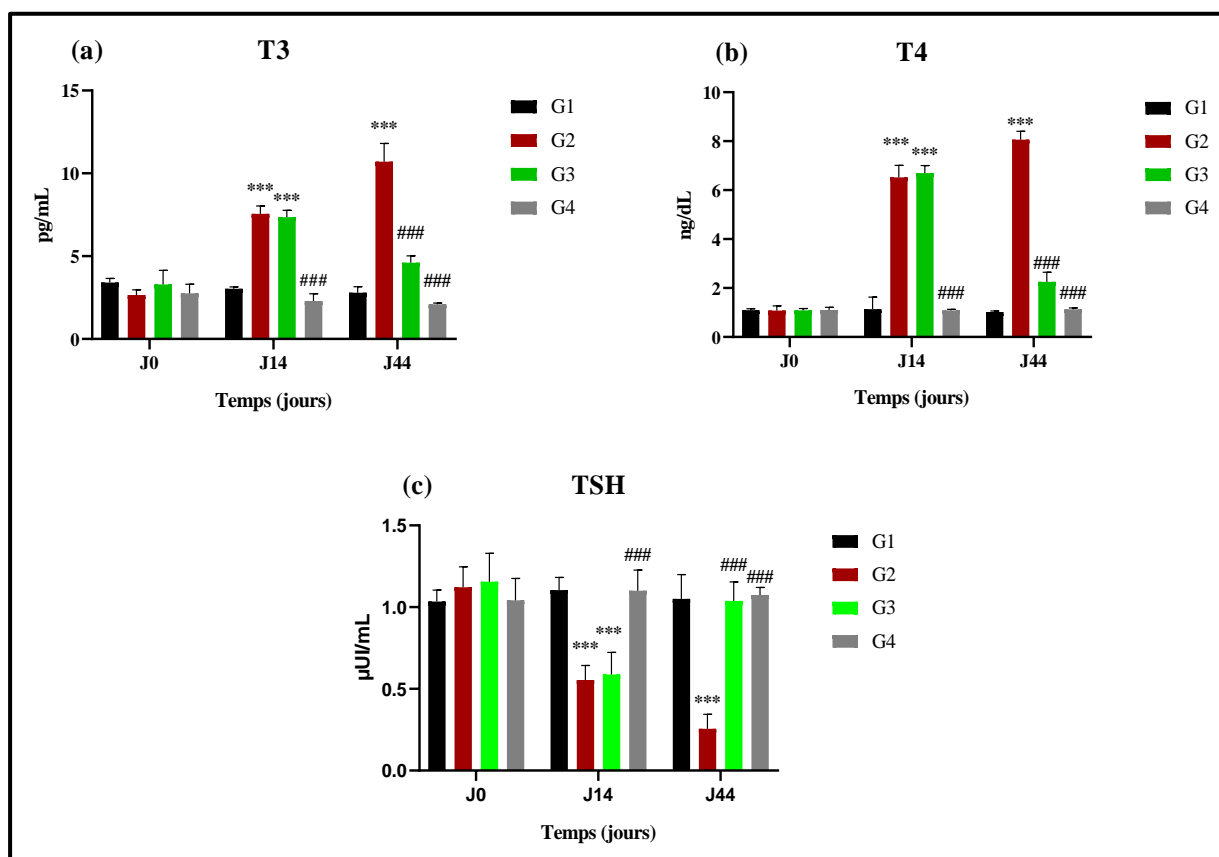


Figure 53 : Marqueurs thyroïdiens des groupes expérimentaux des rats après traitement/sans traitement avec l'EMG/ou la thyroxine : (a) : T3 ; (b) : T4 ; (c) : TSH. Les résultats correspondent à la moyenne (m) des cinq essais \pm SEM.

G1 : rats témoins ; G2 : rats traités par 600 μ g/kg de thyroxine (14 jours) ; G3 : rats traités par 600 μ g/kg de thyroxine (14 jours) puis par EMG à 200 mg/kg (30 jours) ; G4 : rats reçoivent EMG à 200 mg/kg (30 jours). * Comparé au G1 témoin, # comparativement au G2 traité par la thyroxine. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, # $P < 0.001$, ## $P < 0.001$, ### $P < 0.001$, #### $P < 0.001$.

III.9.1.3. Thyroïdostimuline (TSH)

Le changement n'a pas eu lieu ($P > 0.05$) entre les groupes expérimentaux à J0. À J14, les rats G2 et G3 ont signalé une chute hautement significative ($P < 0.001$) des concentrations en TSH de 0.55 μ UI/mL (49.07%), 0.59 μ UI/mL (45.37%), respectivement, par rapport au G1 (1.08 μ UI/mL). En inverse, le groupe G4 a présenté un taux de TSH de 1.10 μ UI/mL (50%) hautement substantiel ($P < 0.001$) que celui du groupe 2. Aucune distinction significative ($P > 0.05$) entre les valeurs de TSH des groupes G4 et G1.

À J44, une baisse hautement significative ($P < 0.001$) des taux de TSH de 0.23 $\mu\text{UI/mL}$ (78.10%) a été obtenue chez G2 par contre G1 (1.05 $\mu\text{UI/mL}$).

En conséquence, les groupes G3 et G4 recevant EMG ont démontré une progression hautement significative ($P < 0.001$) par ordre respectif de 1.06 $\mu\text{UI/mL}$ (78.30%) et de 1.07 $\mu\text{UI/mL}$ (78.50%) par rapport aux rats G2 atteints d'hyperthyroïdie. Les rats ayant reçu uniquement de l'EMG (G4) ont manifesté des teneurs en T4 similaires à celles des rats témoins ($P > 0.05$) (fig. 53 c).

Les composés phénoliques de *B. incrassatum* ont restauré la sécrétion altérée des hormones thyroïdiennes dans notre modèle d'hyperthyroïdie.

La thyroglobuline, l'iode et la thyroperoxydase sont les trois éléments principaux du processus de synthèse des hormones thyroïdiennes. Les tissus périphériques convertissent l'hormone T4 libérée en sa forme physiologiquement active, la T3 (Uduak et al., 2014).

En tant qu'effet de rétroaction négatif, la thyroxine augmente la conversion périphérique de T4 en T3, stimulant l'expression des récepteurs de la TSH dans la glande thyroïde, ainsi que la synthèse de T3 et T4 et abaissant l'hormone de libération de la rotropine et la TSH (Davies et al., 2016).

Les résultats de notre investigation corroborent ceux d'Aiouaz et Bitam (2022) et d'Azharuddin et al. (2015), qui ont établi que la thyroxine accroît la production de T3 et T4, tout en décroissant la TSH.

Parallèlement à nos travaux, Aiouaz et Bitam (2022) ont démontré que le traitement par des extraits de racines de *B. incrassatum* réduisait considérablement les niveaux de T3 et T4 et augmentait la TSH.

Dos Santos et al. (2011) ont confirmé nos résultats en montrant que les flavonoïdes et les acides phénoliques améliorent les processus hormonaux thyroïdiens altérés. Ils diminuent les niveaux d'hormones thyroïdiennes T3, T4 en inhibant les activités de la thyroperoxydase qui sont responsables de l'organification de l'iode. Les acides phénoliques, qui font partie de *Citrus sinensis*, ont également un impact hypothyroïdien (Uduak et al., 2014).

III.9.2. Étude histologique des glandes thyroïdiennes

L'histologie des sections des glandes thyroïdiennes colorée à l'hématoxyline et à l'éosine a été étudiée chez des rats normaux et des rats traités/ non traités avec l'EMG/ou la

thyroxine. Cette étude a permis d'examiner les changements tissulaires causés par cette thérapie et d'évaluer les mesures préventives (fig. 54, 55).

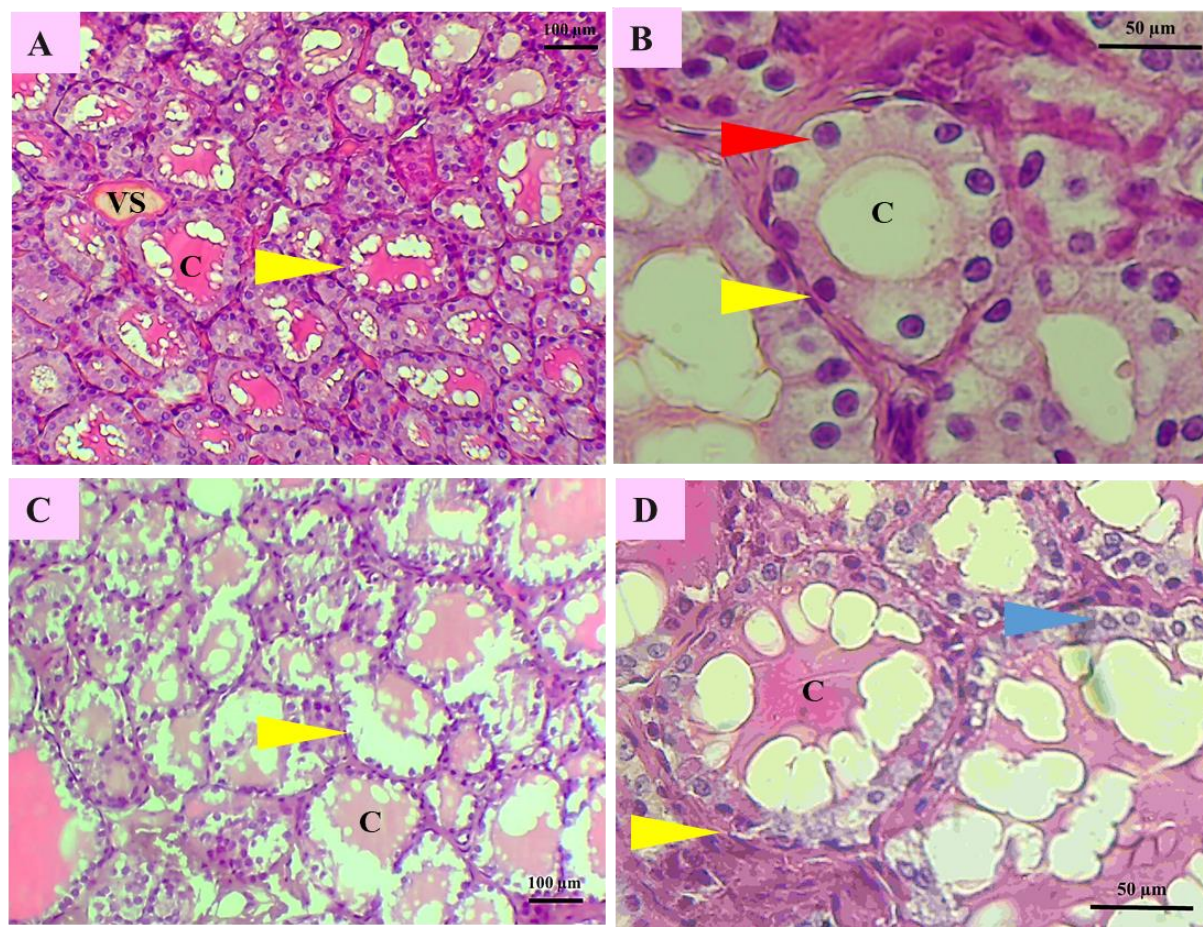


Figure 54 : Coupes histologiques des glandes thyroïdiennes (H&E) des groupes de rats expérimentaux : (A, B) G1 : témoin ; (C, D) G2 : traités oralement par 600 µg/kg de thyroxine (14 jours).

C : colloïde ; VS : vaisseau sanguin, flèche jaune : follicule, flèche rouge : thérocyte cubique avec noyau arrondi, flèche bleu : thérocyte cubique à cylindrique avec noyau arrondi.

Les glandes thyroïdiennes des rats témoins (G1) ont révélé une architecture typique, avec de nombreux follicules (F) uniformes, bordés par un épithélium para-folliculaire pavimenteux, des thérocytes cubiques avec noyau arrondi et un colloïde (C) de volume normal (fig. 54 A, B).

Le groupe G2, en inverse, a montré une structure thyroïdienne caractérisée par la présence des thérocytes de forme cubique à cylindrique avec noyaux arrondis et une réduction colloïdale irrégulière (fig. 54 C, D).

Cependant, les lésions histologiques ont été remarquablement atténuées dans le groupe G3 traité par EMG (200 mg/kg) par rapport au groupe G2, et le tissu thyroïdien est réapparu normal, avec des follicules thyroïdiens de taille et de forme ordinaires, des théreocytes cubiques avec noyaux arrondis (fig. 55 E, F).

Chez les rats G4, le maintien d'une morphologie thyroïdienne typique a été préservé après une thérapie avec 200 mg/kg d'EMG (fig. 55 G, H).

Compte tenu de sa forte teneur en composés phénoliques, EMG a efficacement restauré les dommages folliculaires chez les rats hyperthyroïdiens, préservant ainsi la fonction et la structure de la glande thyroïde.

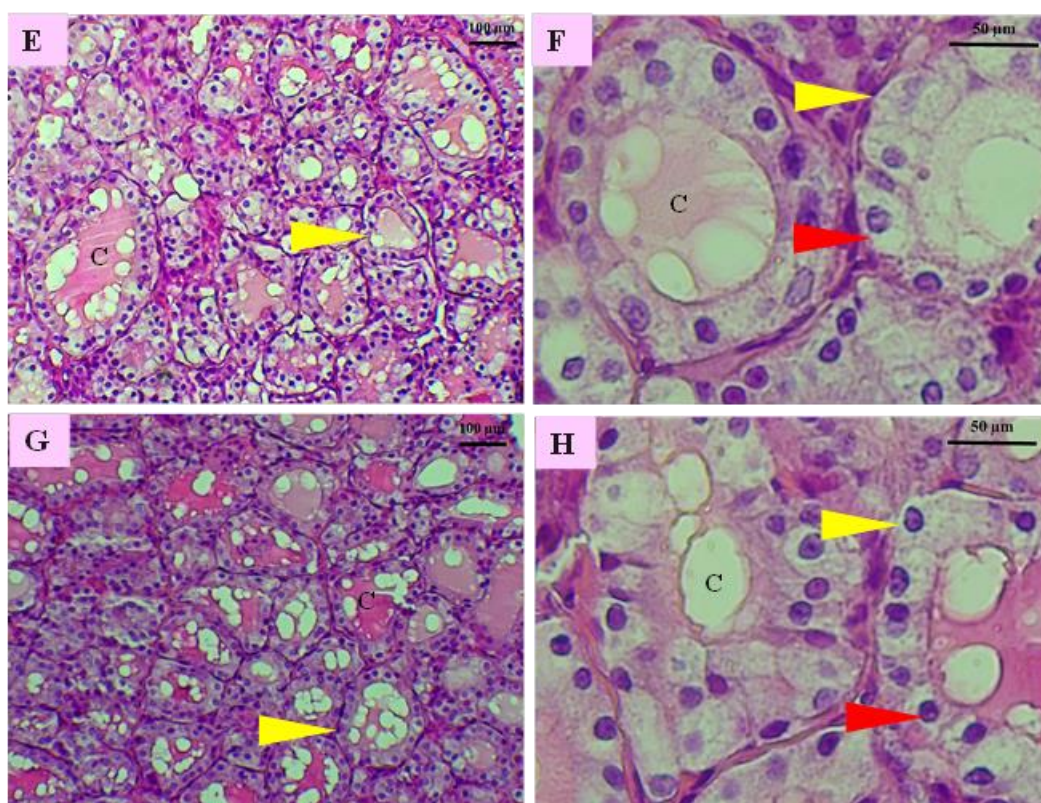


Figure 55 : Coupes histologiques des glandes thyroïdiennes (H&E) des groupes de rats expérimentaux : (E, F) G3 : traités oralement par 600 µg/kg de thyroxine (14 jours) puis 200 mg/kg d'EMG (30 jours) ; (G, H) G4 : traités par 200 mg/kg d'EMG (30 jours).

C : colloïde, flèche jaune : follicule, flèche rouge : théreocyte cubique avec noyau arrondi.

Nos résultats histopathologies s'alignent sur ceux de [Vaidya et Pearce \(2008\)](#) ; [Aiouaz et Bitam \(2022\)](#), indiquant que le modèle d'hyperthyroïdie causée par l'augmentation de T3, T4 et par la suppression de la TSH est lié aux changements atrophiques de la glande thyroïde.

Selon [Dos Santos et al. \(2011\)](#) ; [Uduak et al. \(2014\)](#) ; [Aiouaz et Bitam \(2022\)](#), les composés phénoliques bioactifs ont une action anti-hyperthyroïdienne, régulant la production de T3, T4 et TSH et atténuant les altérations histologiques de la thyroïde causées par la thyroxine.

Ces composés favorisent la sécrétion de la TSH, régulateur de la croissance de la thyroïde. Ils agissent en synergie avec divers facteurs de croissance, influençant ainsi l'activité fonctionnelle des cellules thyroïdiennes ([Konturek et Barczynski, 2012](#)).

Ils modulent les hormones thyroïdiennes en facilitant leur interaction avec des intégrines, notamment l' $\alpha\beta3$, un récepteur d'adhésion cellulaire. Ces intégrines interviennent de manière cruciale dans la signalisation des facteurs de croissance, régulant ainsi des processus essentiels tels que l'angiogenèse, la différenciation des cellules et leur survie ([Cohen et al., 2011](#) ; [Ahmed, 2018](#)).

Ils stimulent divers facteurs de croissance, tels que l'IGF-I, assurant la fonction de la thyroïde et la biosynthèse hormonale thyroïdienne ([Smith, 2021](#)) et le facteur de croissance épidermique (EGF), accélérant la prolifération des cellules thyroïdiennes. Cependant, leurs actions varient selon le type de cellule ([Gärtner, 1992](#)).

En plus, ils activent les facteurs de croissance transformant TGF- α et TGF- β , modulant la croissance cellulaire et l'apoptose dans la thyroïde ([Konturek et Barczynski, 2012](#)).

L'extrait EMG de *B. incrassatum* favorise la restauration des tissus thyroïdiens endommagés par la thyroxine, assumant ainsi un rôle capital dans le maintien d'une fonction thyroïdienne optimale et manifestant des propriétés préventives.

*Conclusion et
perspectives*

Conclusion et perspectives

Cette étude a montré que la phytothérapie reste couramment appliquée à travers le monde pour traiter et prévenir un large éventail de situations pathologiques, compte tenu du développement important de la médecine moderne.

L'objectif était d'analyser le profil chimique et d'évaluer les vertus thérapeutiques des extraits méthanoliques de trois parties distinctives de *B. incrassatum* : les racines (EMR), les tiges (EMT), et les graines (EMG).

Les extraits de *B. incrassatum* comprennent une diversité d'acides polyphénoliques (l'acide gallique, l'acide férulique et l'acide ellagique, etc.) et de flavonoïdes (la quercétine, la naringine, le kaempférol, la chrysin, etc.) identifiés par HPLC/UV.

Les composants phénoliques de cette plante assurent *in vitro* des activités anti-radicalaires (DPPH, FRAP, ABTS et phosphomolybdate), des capacités litholytiques vésiculaires sur les calculs de cholestérol, une inhibition enzymatique remarquable de l'alpha-amylase et notamment sur les disques d'agar gélosé.

En effet, l'extrait EMG se caractérise par sa richesse phénolique comparée aux autres extraits testés, ce qui lui procure des effets biologiques *in vitro* les plus accentués. En conséquence, il a été sélectionné en tant que base d'étude afin d'évaluer les impacts biologiques *in vivo*.

Les doses d'EMG de 250 à 8 000 mg/kg administrées par voie orale ont entraîné une DL₅₀ supérieure à 8 000 mg/kg PC. Une injection intra-péritonéale (*i.p.*) d'acide acétique à 1% a notablement stimulé les contractions de l'abdomen chez les rats, ce qui illustre une inflammation aiguë.

Après une administration d'alloxane (150 mg/kg, *i.p.*), les rats Wistar ont également manifesté des désordres métaboliques, des dommages pancréatiques, hépatiques et néphrotiques, ainsi que des congestions capillaires et des infiltrats inflammatoires et des nécroses cellulaires, attestés par une analyse histologique des organes (foie, pancréas et reins).

En outre, les rats recevant de la thyroxine oralement (600 µg/kg) ont développé une hyperthyroïdie résultant d'un dysfonctionnement hormonal thyroïdien, accompagné de lésions oxydatives de la glande thyroïdienne.

Dans ce contexte, nos résultats démontrent que l'extrait EMG (200 mg/kg) a atténué de façon remarquable des conséquences inflammatoires nocives de l'acide acétique, le degré de toxicité de l'alloxane et de la thyroxine, en régulant les taux des indices biochimiques, dévoilant ainsi une amélioration métabolique.

Sur le plan histologique, cet extrait a assuré une protection tissulaire perfectible dans les organes (foie, pancréas, reins, thyroïde) affectés par la toxicité de l'alloxane et de la thyroxine. La dose d'extrait d'EMG (200 mg/kg) a prouvé une prévention optimale des effets toxiques précités, affirmant que cette action résulte de la synergie spécifique des polyphénols existants dans l'extrait d'EMG.

B. incrassatum, ou Talghouda, est une source potentiellement riche en composés bioactifs, mais ses processus d'action et ses propriétés pharmacocinétiques ont été encore peu étudiés. Cependant, il est nécessaire de soulever le point du manque de recherches cliniques sur les effets de cette plante chez les humains. Vu le déficit de consensus sur la normalisation des produits thérapeutiques dérivés de *B. incrassatum*, des recherches ultérieures sont indispensables pour résoudre cette lacune scientifique.

*Références
bibliographiques*

Références bibliographiques

-A-

1. ADA, A. D. (2015). *Standards Of Médical Care In Diabètes Care*.
2. Agarwal, M. M. (2015). Gestational diabetes mellitus: An update on the current international diagnostic criteria. *World Journal of Diabetes*, 6(6), 782. <https://doi.org/10.4239/wjd.v6.i6.782>
3. Agyemang, C., Boatemaa, S., Agyemang Frempong, G., & de-Graft Aikins, A. (2016). Obesity in Sub-Saharan Africa. *Metabolic Syndrome*, 41–53. https://doi.org/10.1007/978-3-319-11251-0_5
4. Ahmed, R. G. (2018). Interactions between thyroid and growth factors during development. *ARC Journal of Diabetes and Endocrinology*, 4(1), 1–4.
5. Aichour, R., Benzidane, N., Arrar, L., Charef, N., & Baghiani, A. (2018). Hepatoprotective and Anti-inflammatory Activities of Algerian *Capparis spinosa*. L. *Annual Research & Review in Biology*, 25(3), 1–12. <https://doi.org/10.9734/arrb/2018/40410>
6. Aiouaz, M., & Bitam, A. (2022). The improvement of thyroid tissue damages in female rats. *Fundamental and Applied Pharmaceutical Science*. <https://doi.org/10.18196/jfaps.v2i1.13905>
7. Akkal, S., & Lefahal, M. (2014). *Etude phytochimique, biologique et activité anticorrosion de trois plantes médicinales Algériennes appartenant aux familles Plumbaginaceae, Tamaricaceae et Apiaceae*.
8. Al Baitar, I. (1996). The book of medical and nutritional terms. In *Dar El koutoub El ilmiya: Bairut, Liban*.
9. Al-Habori, M., Al-Aghbari, A., Al-Mamary, M., & Baker, M. (2002). Toxicological evaluation of *Catha edulis* leaves: a long term feeding experiment in animals. *Journal of Ethnopharmacology*, 83(3), 209–217.
10. Al Shehri, Z. S. (2017). The relationship between some biochemical and hematological changes in type 2 diabetes mellitus. *Biomedical Research and Therapy*, 4(11), 1760–1774. <https://doi.org/10.15419/bmrat.v4i11.382>
11. Alarcon, C., Wicksteed, B., Prentki, M., Corkey, B. E., & Rhodes, C. J. (2002). Succinate is a preferential metabolic stimulus-coupling signal for glucose-induced proinsulin biosynthesis translation. *Diabetes*, 51(8), 2496–2504. <https://doi.org/10.2337/diabetes.51.8.2496>
12. Almela, L., Sánchez-Muñoz, B., Fernández-López, J. A., Roca, M. J., & Rabe, V. (2006). Liquid chromatographic-mass spectrometric analysis of phenolics and free radical scavenging activity of rosemary extract from different raw material. *Journal of Chromatography A*, 1120(1–2), 221–229. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2006.02.056>
13. AlRawi, M. M. (2007). Effect of *Trifolium sp.* flowers extracts on the status of liver histology of streptozotocin-induced diabetic rats. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 14.
14. Amessis-Ouchemoukh, N., Madani, K., Falé, P. L. V., Serralheiro, M. L., & Araújo, M. E. M. (2014).

- Antioxidant capacity and phenolic contents of some Mediterranean medicinal plants and their potential role in the inhibition of cyclooxygenase-1 and acetylcholinesterase activities. *Industrial Crops and Products*, 53, 6–15. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.12.008>
15. Amoura, N. B., Benkirat, N. el I., Boughendjioua, H., & Adjailia-Farah, I. (2018). Évaluation de la capacité de dissolution des calculs biliaires de *Malva sylvestris* L. *Bulletin de La Société Royale Des Sciences de Liège*, 56–61. <https://doi.org/10.25518/0037-9565.7936>
16. Ankur, R., & Shahjad, A. (2012). Alloxan induced diabetes: mechanisms and effects. *International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences*, 3(2), 819–823.
17. Antwi-Baffour, S., Kyeremeh, R., Boateng, S. O., Annison, L., & Seidu, M. A. (2018). Haematological parameters and lipid profile abnormalities among patients with Type-2 diabetes mellitus in Ghana. *Lipids in Health and Disease*, 17(1), 1–9. <https://doi.org/10.1186/s12944->
18. Aruna, R. V, Ramesh, B., & Kartha, V. N. R. (1999). *Effect of betacarotene on protein glycosylation in alloxan induced diabetic rats.*
19. ARYA, A. (2012). *Studies on Antidiabetic and Other Biological Activities of Centratherum Anthelminticum Aditya Arya Faculty of Medicine.*
20. Aymard, D. J. (2010). *No Title Problématique de la détermination des facteurs de risques de la lithiase biliaire.* Mahajanch.
21. Avhandling, A. (2013). *Functional study of nuclear receptors and bile acids in the modulation of cholesterol homeostasis av.*
22. Azharuddin, M., Atif, M., Ahmed, M. I., Bakhtiary, S. A., & Ibrahim, M. (2015). Evaluation of anti-thyroid activity of *Ficus Racemosa* Linn bark in male rats. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 7(3), 118–122.
23. Azri, S., Mata, H. P., Reid, L. L., Gandolfi, A. J., & Brendel, K. (1992). Further examination of the selective toxicity of CCl₄ in rat liver slices. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 112(1), 81–86.
- B-**
24. Baptista, F., Paié-Ribeiro, J., Almeida, M., & Barros, A. N. (2024). Exploring the Role of Phenolic Compounds in Chronic Kidney Disease: A Systematic Review. *Molecules*, 29(11), 2576.
25. Barbarić, M., Mišković, K., Bojić, M., Lončar, M. B., Smolčić-Bubalo, A., Debeljak, Ž., & Medić-Šarić, M. (2011). Chemical composition of the ethanolic propolis extracts and its effect on HeLa cells. *Journal of Ethnopharmacology*, 135(3), 772–778. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2011.04.015>
26. Belaïch, R., & Boujraf, S. (2016). Facteurs inflammatoires et stress oxydant chez les hémodialysés: effets et stratégies thérapeutiques. *Médecine Des Maladies Métaboliques*, 10(1), 38–42.
27. BelHadj, S., Hentati, O., Elfeki, A., & Hamden, K. (2013). Inhibitory activities of *Ulva lactuca* polysaccharides on digestive enzymes related to diabetes and obesity. *Archives of Physiology and Biochemistry*, 119(2), 81–87. <https://doi.org/10.3109/13813455.2013.775159>

28. Ben Younes, A., Ben Salem, M., El Abed, H., & Jarraya, R. (2018). Phytochemical screening and antidiabetic, antihyperlipidemic, and antioxidant properties of *Anthyllis henoniana* (Coss.) flowers extracts in an alloxan-induced rats model of diabetes. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2018. <https://doi.org/10.1155/2018/8516302>
29. Benhamou, J.-P. (2008). *Maladies du foie et des voies biliaires*. Médecine-sciences Flammarion.
30. Benmeddour, Z., Mehinagic, E., Le Meurlay, D., & Louaileche, H. (2013). Phenolic composition and antioxidant capacities of ten Algerian date (*Phoenix dactylifera* L.) cultivars: a comparative study. *Journal of Functional Foods*, 5(1), 346–354.
31. Benrahhah, S. (2018). *Prise en charge de la lithiase de la vésicule biliaire à l'hôpital Ibn Tofail de Marrakech*. Marrakech, Maroc.
32. Bergmeyer, H. U., Scheibe, P., & Wahlefeld, A. W. (1978). Optimization of methods for aspartate aminotransferase and alanine aminotransferase. *Clinical Chemistry*, 24(1), 58–73.
33. Bergmeyer, H. (1980). Dietary nitrate in man: friend or foe. *Clin Chim Acta.*, 105, 147–152.
34. Bhattacharya, S. (2009). Sushrutha-our proud heritage. *Indian Journal of Plastic Surgery*, 42(02), 223–225.
35. Bi, F. H. T., Irie, G. M., N'Gaman, K., & Mahou, C. H. B. (2008). Études de quelques plantes thérapeutiques utilisées dans le traitement de l'hypertension artérielle et du diabète: deux maladies émergentes en Côte d'Ivoire. *Sciences & Nature*, 5(1), 39–48.
36. Bopanna, K. N., Kannan, J., Gadgil, S., Balaraman, R., & Rathod, S. P. (1997). Antidiabetic and antihyperlipaemic effects of neem seed kernel powder on alloxan diabetic rabbits. *Indian Journal of Pharmacology*, 29(3), 162–167.
37. Borie, F., & Millat, B. (2003). Cholécystectomie et exploration de la voie biliaire principale par coelioscopie: traitement coelioscopique de la lithiase de la voie biliaire principale. *Encycl Méd Chir, Techniques Chirurgicales-Appareil Digestif*, 40–950.
38. Boualiten, K. (2019). *La lithiase vésiculaire chez l'enfant*. Rabat.
39. Bousetla, A., Zellagui, A., Derouiche, K., & Rhouati, S. (2015). Chemical constituents of the roots of algerian *Bunium incrassatum* and evaluation of its antimicrobial activity. *Arabian Journal of Chemistry*, 8(3), 313–316. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2011.01.022>
40. Brahem, A., Selmi, I., Boughattas, W., Gaddour, A., Maoua, M., Kalboussi, H., El Maalel, O., Chatti, S., Debbabi, F., & Mrizak, N. (2016). Impact du diabète sur l'activité professionnelle: résultats d'une enquête réalisée dans un centre hospitalier à Sousse, Tunisie. *Archives Des Maladies Professionnelles et de l'Environnement*, 77(6), 982–989.
41. Brglez Mojzer, E., Knez Hrnčič, M., Škerget, M., Knez, Ž., & Bren, U. (2016). Polyphenols: Extraction methods, antioxidative action, bioavailability and anticarcinogenic effects. *Molecules*, 21(7), 901.
42. Brouet, C. (2011). *Les pathologies thyroïdiennes: enquêtes sur le ressenti des Patients*. UHP-Université Henri Poincaré.

-C-

43. Cai, Y., Luo, Q., Sun, M., & Corke, H. (2004). Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. *Life Sciences*, *74*(17), 2157–2184.
44. Chambers, K. F., Day, P. E., Aboufarrag, H. T., & Kroon, P. A. (2019). Polyphenol effects on cholesterol metabolism via bile acid biosynthesis, CYP7A1: A review. *Nutrients*, *11*(11), 1–23. <https://doi.org/10.3390/nu11112588>
45. Carillon, A. (2009). Place de la Phytothérapie dans les systèmes de santé au XXIème siècle. *Séminaire International Sur Les Plantes Aromatiques et Médicinales. Djerba, Mars*.
46. Cha, W. S., Ju, I. S., Yun, D. H., Chun, S. S., Kim, J. H., & Cho, Y. J. (2009). Biological activity of extracts from cherry sage (*Salvia officinalis* L.). *Journal of Life Science*, *19*(3), 390–396.
47. Chekroune, M., & Benamara, S. (2017). Gallstones-dissolving capacity of lemon (*Citrus limon*) juice, *Herniaria hirsuta* L. extract and lemon juice-based natural vinaigrette *in vitro*. *Indian Journal of Traditional Knowledge*, *16*(2), 197–202.
48. Chentouh S.1, Boulahbel S.1, Adjal F.2, T. M. ., & Alloua N.2, M. Y. . et B. Y. . (2018). EFFETS DES EXTRAITS ORGANIQUES DE *Bunium incrassatum* SUR LAPINES DE POPULATION. *LA RACE LOCALE*. *8*(2), 34–42.
49. Cheplick, S., Kwon, Y. I., Bhowmik, P., & Shetty, K. (2010). Phenolic-linked variation in strawberry cultivars for potential dietary management of hyperglycemia and related complications of hypertension. *Bioresource Technology*, *101*(1), 404–413. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.07.068>
50. Cho, K. J., Yun, C. H., Packer, L., & Chunga, A. S. (2001). Inhibition mechanisms of bioflavonoids extracted from the bark of *Pinus maritima* on the expression of proinflammatory cytokines. *Annals of the New York Academy of Sciences*, *928*, 141–156. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2001.tb05644.x>
51. Choi, J. H., Jung, B. H., Kang, O. H., Choi, H. J., Park, P. S., Cho, S. H., Kim, Y. C., Sohn, D. H., Park, H., Lee, J. H., & Kwon, D. Y. (2006). The anti-inflammatory and anti-nociceptive effects of ethyl acetate fraction of *Cynanchi paniculati* radix. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, *29*(5), 971–975. <https://doi.org/10.1248/bpb.29.971>
52. Chung, I. M., Kim, E. H., Yeo, M. A., Kim, S. J., Seo, M. C., & Moon, H. I. (2011). Antidiabetic effects of three Korean sorghum phenolic extracts in normal and streptozotocin-induced diabetic rats. *Food Research International*, *44*(1), 127–132. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.10.051>
53. Cohen, K., Ellis, M., Khoury, S., Davis, P. J., Herbergs, A., & Ashur-Fabian, O. (2011). Thyroid hormone is a MAPK-dependent growth factor for human myeloma cells acting via $\alpha v \beta 3$ integrin. *Molecular Cancer Research*, *9*(10), 1385–1394.
54. Collier, H. J., Dinneen, L. C., Johnson, C. A., & Schneider, C. (1968). *ic tests based upon experimentally induced acute abdominal pain in rats*. In *Fed Proc.* *15*, 295–310.
55. Collins, E., Emmanuel, E., & Nwoke, E. (2016). Effect of seven keys herbal formulation on plasma

- concentrations of liver transaminases of alloxan-induced diabetic rats. *British Journal of Pharmaceutical Research*, 11(4), 1–11.
56. Corpechot, C. (2013). Lithiase biliaire. *EMC-AKOS (Traité de Médecine)*, 8(1), 1–10.
57. Cortey, A., Renesme, L., Raignoux, J., Bedu, A., Casper, C., Tourneux, P., & Truffert, P. (2017). Ictère à bilirubine non conjuguée du nouveau-né de 35 semaines et plus: du dépistage au suivi après sortie de la maternité. Recommandations pour la pratique clinique. *Archives de Pédiatrie*, 24(2), 192–203.
58. Coujard, R. (1980). *Précis d'histologie humaine*. Presses Université Laval.
59. Crook, M. A. (2006). *Plasma lipids and lipoproteins* (7th edn). Edward Arnold publishers Ltd.
60. Cuvelier, M.-E., Richard, H., & Berset, C. (1992). Comparison of the antioxidative activity of some acid-phenols: structure-activity relationship. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 56(2), 324–325.

-D-

61. Davies, T. F., Laurberg, P., & Bahn, R. S. (2016). Hyperthyroid disorders. In *Williams textbook of endocrinology* (pp. 369–415). Elsevier.
62. Debray, D., Franchi-Abella, S., Irtan, S., & Girard, M. (2011). Cholelithiasis in infants, children and adolescents. *Presse Medicale (Paris, France: 1983)*, 41(5), 466–473.
63. Dehimi Khadidja, Djoudi Zouina Boulaouad Anis, Maadadi Abd Raouf, D., & Saliha, K. S. (2020). Indian Journal of Novel Drug Delivery. *Indian Journal of Novel Drug Delivery*, 12(4), 208–216.
64. Delluc, G., Delluc, B., & Roques, M. (1995). *La nutrition préhistorique*. Pilote 24.
65. Deshmukh, Chinmay. D., Jain, Anureha., & Nahata, B. (2015). Diabetes mellitus. . . *Int. J. Pure Appl.*, 3(3), 224–230.
66. Dhandapani, S., Subramanian, V. R., Rajagopal, S., & Namasivayam, N. (2002). Hypolipidemic effect of *Cuminum cyminum* L. on alloxan-induced diabetic rats. *Pharmacological Research*, 46(3), 251–255.
67. Di Dalmazi, G., & Giuliani, C. (2021). Plant constituents and thyroid: A revision of the main phytochemicals that interfere with thyroid function. *Food and Chemical Toxicology*, 152, 112158.
68. Dobiášová, M., & Frohlich, J. (2001). The plasma parameter log (TG/HDL-C) as an atherogenic index: correlation with lipoprotein particle size and esterification rate in apob-lipoprotein-depleted plasma (FERHDL). *Clinical Biochemistry*, 34(7), 583–588.
69. Dos Santos, M. C. de S., Gonçalves, C. F. L., Vaisman, M., Ferreira, A. C. F., & de Carvalho, D. P. (2011). Impact of flavonoids on thyroid function. *Food and Chemical Toxicology*, 49(10), 2495–2502.
70. Dumas, B. T., Biggs, H. G., Arends, R. L., & Pinto, P. V. C. (1977). Determination of serum albumin. Standard Methods. *Clinical Chemistry*, 7, 175–188.
71. Drury, R. A. B., & Wallington, E. A. (1980). Carleton's histological technique 5th ed. *New York: Churchill Livingstone*.
72. Dubick, M. A., Zaucha, G. M., Korte Jr, D. W., & Wade, C. E. (1993). Acute and subacute toxicity of 7.5%

hypertonic saline–6% dextran-70 (HSD) in dogs 2. biochemical and behavioral responses. *Journal of Applied Toxicology*, 13(1), 49–55.

73. Dufour, D. R., Lott, J. A., Nolte, F. S., Gretch, D. R., Koff, R. S., & Seeff, L. B. (2000). Diagnosis and monitoring of hepatic injury. II. Recommendations for use of laboratory tests in screening, diagnosis, and monitoring. *Clinical Chemistry*, 46(12), 2050–2068.

74. Duraisankar, M., & Ravichandran, V. (2012). *Antipyretic potential of polyherbal ayurvedic products*.

75. Durand, D., Damon, M., & Gobert, M. (2013). Le stress oxydant chez les animaux de rente: principes généraux. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, 48(5), 218–224.

-E-

76. Ebrahimzadeh, M. A., Pourmorad, F., & Bekhradnia, A. R. (2008). Iron chelating activity, phenol and flavonoid content of some medicinal plants from Iran. *African Journal of Biotechnology*, 7(18).

77. Ekpo, D. E., Joshua, P. E., Ogidigo, J. O., & Nwodo, O. F. C. (2020). High resolution UPLC-PDA-QTOF-ESI-MS/MS analysis of the flavonoid-rich fraction of *Lasianthera africana* leaves, and *in vivo* evaluation of its renal and cardiac function effects. *Heliyon*, 6(7).

78. El kadi, I. (2016). *Prise en charge des angiocholites lithiasiques*. Rabat.

79. El Kolli, H., Laouer, H., & El Kolli, M. (2017). Chemical composition and biological activities of the essential oils and the methanolic extracts of *Bunium incrassatum* and *Bunium alpinum* from Algeria. *Journal of the Chilean Chemical Society*, 62(1), 3335–3341.

80. El Ouadghiri, R. (2016). *Lithiase de la vésicule biliaire: complications et aspects évolutifs (à propos de 2297 cas)*. Maroc. Bray, F.

81. Erlinger, S. (2002). La lithiase biliaire. *Gastroentérologie Clinique et Biologique*, 26(11), 1018–1025.

82. Etuk, E. U. (2010). Animals models for studying diabetes mellitus. *Agric Biol JN Am*, 1(2), 130–134.

-F-

83. Fadili, K., Zerkani, H., Amalich, S., & Zair, T. (2017). Phytochemical study and evaluation of antioxidant activity of leaves and fruits of *Capparis spinosa* L. *American Journal of Innovative Research and Applied Sciences*, 5(2), 108–118.

84. Falleh, H., Ksouri, R., Chaieb, K., Karray-Bouraoui, N., Trabelsi, N., Boulaaba, M., & Abdelly, C. (2008). Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities. *Comptes Rendus. Biologies*, 331(5), 372–379.

85. Fan, N., Meng, K., Zhang, Y., Hu, Y., Li, D., Gao, Q., Wang, J., Li, Y., Wu, S., & Cui, Y. (2020). The effect of ursodeoxycholic acid on the relative expression of the lipid metabolism genes in mouse cholesterol gallstone models. *Lipids in Health and Disease*, 19(1), 1–11. <https://doi.org/10.1186/s12944-020-01334-3>

86. Fasce, C. . (1982). Serum cholesterol determined colorimetrically with enzyme. *Chim Chem*, 18, 901.

87. Favier, A. (2003). Le stress oxydant. *L'actualité Chimique*, 108(10), 832–863.
88. Fawcett, J., & Scott, J. (1960). A rapid and precise method for the determination of urea. *Journal of Clinical Pathology*, 13(2), 156–159.
89. Fernandes, L., Pereira, J. A., López-Cortés, I., Salazar, D. M., González-Álvarez, J., & Ramalhosa, E. (2017). Physicochemical composition and antioxidant activity of several pomegranate (*Punica granatum* L.) cultivars grown in Spain. *European Food Research and Technology*, 243, 1799–1814.
90. Finech, B., Najib, I.J., Dafali, A. (2008). *La cholecystectomie laparoscopique : A propos de 712 cas.* Marakkeche.
91. Fofana, S. (2011). (2011). *Etude des effets antiradicalaires et anti-lipooxygénases des extraits d' Erythrina senegalensis DC (Fabaceae).* Ougadougou, Burkina Faso.
92. Fossati, P., & Prencipe, L. (1982). Serum triglycerides determined colorimetrically with an enzyme that produces hydrogen peroxide. *Clinical Chemistry*, 28(10), 2077–2080. <https://doi.org/10.1093/clinchem/28.10.2077>
93. Frankel, E. N., & Meyer, A. S. (2000). The problems of using one-dimensional methods to evaluate multifunctional food and biological antioxidants. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80(13), 1925–1941.
94. Friedewald, W. T., Levy, R. I., & Fredrickson, D. S. (1972). Estimation of the Concentration of Low-Density Lipoprotein Cholesterol in Plasma, Without Use of the Preparative Ultracentrifuge. *Clinical Chemistry*, 18, 499–502.
- G-**
95. Gärtner, R. (1992). Thyroid growth in vitro. *Experimental and Clinical Endocrinology & Diabetes*, 100(04/05), 32–35.
96. Gainant, A., & Sautereau, D. (1996). *Pathologie digestive et abdominale.* Ellipses Ed. Marketing.
97. Ghalandari, H., Hosseini-Esfahani, F., & Mirmiran, P. (2015). The association of polymorphisms in leptin/leptin receptor genes and ghrelin/ghrelin receptor genes with overweight/obesity and the related metabolic disturbances: a review. *International Journal of Endocrinology and Metabolism*, 13(3).
98. Giovanni Appendino, Hasan Cetin Ozen, and J., & Jakupovic. (1994). ISOCOUMARINS. *Phytochemistry Journal Elsevier Science Ltd*, 36(2), 531–532.
99. Goldenberg, R., & Punthakee, Z. (2013). Definition, classification and diagnosis of diabetes, prediabetes and metabolic syndrome. *Canadian Journal of Diabetes*, 37, S8–S11.
100. Gourdy, P. (2013). Diabetes and oral contraception. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism*, 27(1), 67–76.
101. Gowda, S., Desai, P. B., Kulkarni, S. S., Hull, V. V, Math, A. A. K., & Vernekar, S. N. (2010). Markers of renal function tests. *North American Journal of Medical Sciences*, 2(4), 170.

102. Grimaldi, A. (2009). *Traité de diabétologie*. Flammarion médecine-sciences.
103. Grimaldi A., Hartemann-Heurtier A., Jacqueminet S., Bosquet F., Masseboeuf N., H. M., & C., & S. (2009). *Guide Du Diabète* (Masson).
104. Grove, T. H. (1979). Effect of reagent pH on determination of high-density lipoprotein cholesterol by precipitation with sodium phosphotungstate-magnesium. *Clinical Chemistry*, 25(4), 560–564.
105. Grussu, D., Stewart, D., & McDougall, G. J. (2011). Berry polyphenols inhibit α -amylase *in vitro*: Identifying active components in rowanberry and raspberry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(6), 2324–2331.
106. Guan, Y., Hao, C., Cha, D. R., Rao, R., Lu, W., Kohan, D. E., Magnuson, M. A., Redha, R., Zhang, Y., & Breyer, M. D. (2005). Thiazolidinediones expand body fluid volume through PPAR γ stimulation of ENaC-mediated renal salt absorption. *Nature Medicine*, 11(8), 861–866.
107. Guo, X., Wang, Y., Wang, K., Ji, B., & Zhou, F. (2018). Stability of a type 2 diabetes rat model induced by high-fat diet feeding with low-dose streptozotocin injection. *Journal of Zhejiang University. Science. B*, 19(7), 559.
108. Gurav, M., Bhise, S., & Warghade, S. (2018). Effect of Quercetin on Beta cell regeneration. *Asian J Pharm Pharmacol*, 4, 214–221.

-H-

109. Hajimehdipour, H., Shahrestani, R., & Shekarchi, M. (2014). Investigating the synergistic antioxidant effects of some flavonoid and phenolic compounds. *Research Journal of Pharmacognosy*, 1(3), 35–40. http://www.sid.ir/en/VEWSSID/J_pdf/5071520140308.pdf
110. Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J.-O., Charlier, C., & Chapelle, J.-P. (2007). Le stress oxydant. *Revue Médicale de Liège*, 62(10).
111. Hamden, K., Carreau, S., Boujbiha, M. A., Lajmi, S., Aloulou, D., Kchaou, D., & Elfeki, A. (2008). Hyperglycaemia, stress oxidant, liver dysfunction and histological changes in diabetic male rat pancreas and liver: Protective effect of 17 β -estradiol. *Steroids*, 73(5), 495–501.
112. Handique, J. G., & Baruah, J. B. (2002). Polyphenolic compounds: an overview. *Reactive and Functional Polymers*, 52(3), 163–188.
113. Hanhineva, K., Törrönen, R., Bondia-Pons, I., Pekkinen, J., Kolehmainen, M., Mykkänen, H., & Poutanen, K. (2010). Impact of dietary polyphenols on carbohydrate metabolism. *International Journal of Molecular Sciences*, 11(4), 1365–1402.
114. Hannache, B., Bazin, D., Boutefnouchet, A., & Daudon, M. (2012a). Effet des extraits de plantes médicinales sur la dissolution des calculs rénaux de cystine *in vitro* : Étude à l'échelle mésoscopique. *Progres En Urologie*, 22(10), 577–582. <https://doi.org/10.1016/j.purol.2012.06.001>
115. Hasanein, P., Felehgari, Z., & Emamjomeh, A. (2016). Preventive effects of *Salvia officinalis* L. against

- learning and memory deficit induced by diabetes in rats: Possible hypoglycaemic and antioxidant mechanisms. *Neuroscience Letters*, 622, 72–77. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2016.04.045>
116. Hassan, S., El-Twab, S. A., Hetta, M., & Mahmoud, B. (2011). Improvement of lipid profile and antioxidant of hypercholesterolemic albino rats by polysaccharides extracted from the green alga *Ulva lactuca* Linnaeus. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 18(4), 333–340. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2011.01.005>
117. Hayouni, E. A., Abedrabba, M., Bouix, M., & Hamdi, M. (2007). The effects of solvents and extraction method on the phenolic contents and biological activities *in vitro* of Tunisian *Quercus coccifera* L. and *Juniperus phoenicea* L. fruit extracts. *Food Chemistry*, 105(3), 1126–1134.
118. Hu, Q., Zhang, W., Wei, F., Huang, M., Shu, M., Song, D., Wen, J., Wang, J., Nian, Q., & Ma, X. (2024). Human diet-derived polyphenolic compounds and hepatic diseases: From therapeutic mechanisms to clinical utilization. *Phytotherapy Research*, 38(1), 280–304.

-I-

119. Idakwoji, P. A., Ekpo, D. E., Joshua, P. E., Njoku, O. U., & Nwodo, O. F. C. (2021a). Ethanol extract of *Tephrosia bracteolata* leaves and its fractions ameliorates alloxan-induced diabetes and its associated complications in Wistar rat model. *International Journal of Diabetes in Developing Countries*, 1–13.
120. Idakwoji, P. A., Ekpo, D. E., Joshua, P. E., Njoku, O. U., & Nwodo, O. F. C. (2021b). Ethanol extract of *Tephrosia bracteolata* leaves and its fractions ameliorates alloxan-induced diabetes and its associated complications in Wistar rat model. *International Journal of Diabetes in Developing Countries*, 41, 456–468. <https://doi.org/10.1007/s13410-020-00900-w>.
121. Idrissi, M. (2020). *Profil épidémiologique des cancers de la vésicule biliaire Expérience du service de chirurgie viscérale Hôpital Arrazi au CHU Mohammed VI de Marrakech*. Maroc.
122. IFD, I. F. of D. (2013). Atlas du Diabète. In *Bruxelles: FID*.
123. Ighodaro, O. M., & Akinloye, O. A. (2018). First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *Alexandria Journal of Medicine*, 54(4), 287–293.

-J-

124. Jamal, A., Javed, K., Aslam, M., & Jafri, M. A. (2006). Gastroprotective effect of *Cardamom elettaria Cardamomum maton*. fruits in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 103(2), 149–153.
125. James, S., & Mitchel, G. (2006). *Physiology and disorder of water electrolytes and acid base metabolism. Tietz Textbook of clinical chemistry and molecular diagnostics*. New Delhi: Elsevier Inc.
126. Jamil, B., Bokhari, H., & Imran, M. (2017). Mechanism of action: how nano-antimicrobials act? *Current Drug Targets*, 18(3), 363–373.
127. Jansen, P. L. (2000). Foreword: from classic bile physiology to cloned transporters. *Seminars in Liver*

- Disease*, 20(3), 245–250.
128. Jassbi, A. R., Mehrdad, M., Soleimani, M., Mirzaeian, M., & Sonboli, A. (2005). Chemical composition of the essential oils of *Bunium elegans* and *Bunium caroides*. *Chemistry of Natural Compounds*, 41, 415–417.
129. Jauniaux, E., & Burton, G. J. (2016). The role of oxidative stress in placental-related diseases of pregnancy. *Journal de Gynecologie, Obstetrique et Biologie de La Reproduction*, 45(8), 775–785.
130. Jean, B. (2009). *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales (4e éd.)*. Lavoisier.
131. Jemai, H., Feki, A. E. L., & Sayadi, S. (2009). Antidiabetic and antioxidant effects of hydroxytyrosol and oleuropein from olive leaves in alloxan-diabetic rats. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(19), 8798–8804. <https://doi.org/10.1021/jf901280r>

-K-

132. Kalbolandi, Sanaz Moradi, GORJI, Armita Valizadeh, BABA AHMADI-REZAEI, H. et al. (2019). Luteolin confers renoprotection against ischemia–reperfusion injury via involving Nrf2 pathway and regulating miR320. *Molecular Biology Reports*, 46, 4039–4047.
133. Kamina, P. (2012). *Anatomie clinique: Thorax, abdomen*. Maloine.
134. Kaneko, J. J., Harvey, J. W., & Bruss, M. L. (2008). *Clinical biochemistry of domestic animals*. Academic press.
135. Karagözler, A. A., Erdağ, B., Emek, Y. Ç., & Uygun, D. A. (2008). Antioxidant activity and proline content of leaf extracts from *Dorystoechas hastata*. *Food Chemistry*, 111(2), 400–407. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.03.089>
136. Karamać, M., Kosińska, A., & Pegg, R. B. (2005). *Comparison of radical-scavenging activities for selected phenolic acids*.
137. Karthik, D., Vijayakumar, R., Pazhanichamy, K., & Ravikumar, S. (2014). A proteomics approach to identify the differential protein level in cardiac muscle of diabetic rat. *Acta Biochimica Polonica*, 61(2), 285–293.
138. Kehili, H. E., Zerizer, S., Beladjila, K. A., & Kabouche, Z. (2016). Anti-inflammatory effect of Algerian date fruit (*Phoenix dactylifera*). *Food and Agricultural Immunology*, 27(6), 820–829.
139. Khalil, M. ; Mohamed, G. ; Dallak, M. ; Al-Hashem, F. ; Sakr, H. ; Eid, R. A. ; Adly, M. A. ; Al-Khateeb, M. ; Banihani, S. ; Hassan, Z. ; Bashir, N. (2010). The effect of *Citrullus colocynthis* pulp extract on the liver of diabetic rats a light and scanning electron microscopic study. *The American Journal of Biochemistry and Biotechnology*, 6, 155–163. <https://doi.org/10.3844/ajbbsp.2010.155.163>
140. Kharroubi, A. T., & Darwish, H. M. (2015). Diabetes mellitus: The epidemic of the century. *World Journal of Diabetes*, 6(6), 850.
141. Khiya, Z., Oualcadi, Y., Gamar, A., Berrekhis, F., Zair, T., & Hilali, F. E. L. (2021). Correlation of total polyphenolic content with antioxidant activity of hydromethanolic extract and their fractions of the *Salvia*

- officinalis* leaves from different regions of Morocco. *Journal of Chemistry*, 2021(1), 8585313.
142. Kim, J.-A., Kim, D.-K., Kang, O.-H., Choi, Y.-A., Park, H.-J., Choi, S.-C., Kim, T.-H., Yun, K.-J., Nah, Y.-H., & Lee, Y.-M. (2005). Inhibitory effect of luteolin on TNF- α -induced IL-8 production in human colon epithelial cells. *International Immunopharmacology*, 5(1), 209–217.
143. Koechlin-Ramonatxo, C. (2006). Oxygène, stress oxydant et suppléments antioxydantes ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. *Nutrition Clinique et Métabolisme*, 20(4), 165–177.
144. Konturek, A., & Barczynski, M. (2012). Thyroid growth factors. *Thyroid and Parathyroid Diseases-New Insights into Some Old and Some New Issues*, 77.
145. Koster, R., Anderson, M., & De Beer, E. J. (1959). Drug discovery and evaluation: pharmacological assays. *In Fed Proc*, 18, 412.
146. Kozarski, M., Klaus, A., Jakovljevic, D., Todorovic, N., Vunduk, J., Petrović, P., Niksic, M., Vrvic, M. M., & Van Griensven, L. (2015). Antioxidants of edible mushrooms. *Molecules*, 20(10), 19489–19525.
147. Krishnaraju, A. V, Rao, C. V, Rao, T. V. N., Reddy, K. N., & Trimurtulu, G. (2009). *In vitro* and *in vivo* antioxidant activity of *Aphanamixis polystachya* bark. *American Journal of Infectious Diseases*, 5(2), 60–67.
148. Kruijswijk, H. (1975). *Clinical chemistry: Principles and technics, 2nd edn.: eds. RJ Henry, DC Cannon and JW Winkelman; Harper and Row, Hagerstown (Md.), New York, Evanston, San Francisco, London, 1974, 1641 pages, 267 illustrations, \$37.50.* Elsevier.
149. Kwon, Y. I. I., Vattem, D. A., & Shetty, K. (2006). Evaluation of clonal herbs of *Lamiaceae* species for management of diabetes and hypertension. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, 15(1), 107–118.
- L-**
150. Laloo, D., & Sahu, A. N. (2011). Antioxidant activities of three Indian commercially available Nagakesar: An *in vitro* study. *J Chem Pharm Res*, 3(1), 277–283.
151. Lemhadri, A., Hajji, L., Michel, J. B., & Eddouks, M. (2006). Cholesterol and triglycerides lowering activities of caraway fruits in normal and streptozotocin diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 106(3), 321–326. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2006.01.033>
152. Lenzen, S. (2008). Oxidative stress: the vulnerable β -cell. *Biochemical Society Transactions*, 36(3), 343–347.
153. Leroux, C. (2015). *Risque cardiométabolique et habitudes de vie des adultes atteints de diabète de type 1.* Montréal.
154. Li, J., Zhang, K., Xu, M., Cui, H., Guo, Y., Yao, D., Chen, W., Liang, H., Wang, H., & Wang, J. (2024).
155. Baicalin- 2-ethoxyethyl ester alleviates renal fibrosis by inhibiting PI3K/AKT/NF- κ B signaling pathway. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 483, 116827.
156. Li, P., Huo, L., Su, W., Lu, R., Deng, C., Liu, L., Deng, Y., Guo, N., Lu, C., & He, C. (2011). Free radical-

- scavenging capacity, antioxidant activity and phenolic content of *Pouzolzia zeylanica*. *Journal of the Serbian Chemical Society*, 76(5), 709–717. <https://doi.org/10.2298/JSC100818063L>
157. Little, R. R., England, J. D., Wiedmeyer, H. M., Madsen, R. W., Pettitt, D. J., Knowler, W. C., & Goldstein, D. E. (1994). Glycated haemoglobin predicts progression to diabetes mellitus in Pima Indians with impaired glucose tolerance. *Diabetologia*, 37, 252–256.
158. Liu, W., Cui, X., Zhong, Y., Ma, R., Liu, B., & Xia, Y. (2023). Phenolic metabolites as therapeutic in inflammation and neoplasms: Molecular pathways explaining their efficacy. *Pharmacological Research*, 193, 106812.
159. Loo, A. Y., Jain, K., & Darah, I. (2008). Antioxidant activity of compounds isolated from the pyroligneous acid, *Rhizophora apiculata*. *Food Chemistry*, 107(3), 1151–1160. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.09.044>
160. Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L., & Randall, R. J. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem*, 193(1), 265–275.
161. Lu, Y., & Foo, L. Y. (2001). Antioxidant activities of polyphenols from sage (*Salvia officinalis*). *Food Chemistry*, 75(2), 197–202.
- M-**
162. Mahendran, S., Badami, S., & Maithili, V. (2011). Evaluation of antidiabetic effect of embelin from *Embelia ribes* in alloxan induced diabetes in rats. *Biomedicine and Preventive Nutrition*, 1(1), 25–31. <https://doi.org/10.1016/j.bionut.2010.08.002>
163. Mahmud, A. R., Ema, T. I., Siddiquee, M. F.-R., Shahriar, A., Ahmed, H., Mosfeq-Ul-Hasan, M., Rahman, N., Islam, R., Uddin, M. R., & Mizan, M. F. R. (2023). Natural flavonols: actions, mechanisms, and potential therapeutic utility for various diseases. *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences*, 12(1), 47.
164. Mahomoodally, M. F., Subratty, A. H., Gurib-Fakim, A., Choudhary, M. I., & Nahar Khan, S. (2012). Traditional medicinal herbs and food plants have the potential to inhibit key carbohydrate hydrolyzing enzymes *in vitro* and reduce postprandial blood glucose peaks *in vivo*. *The Scientific World Journal*, 2012(1), 285284.
165. Mangambu, M. J. de D., Mushagalusa, K. F., & Kadima, N. J. (2014). Contribution à l'étude photochimique de quelques plantes médicinales antidiabétiques de la ville de Bukavu et ses environs (Sud-Kivu, RD Congo). *Journal of Applied Biosciences*, 75, 6211–6220.
166. Manthey, J. A. (2000). Biological properties of flavonoids pertaining to inflammation. *Microcirculation*, 7(SUPPL.1). <https://doi.org/10.1080/mic.7.S1.S29.S34>
167. Mao-Ying, Q. L., Kavelaars, A., Krukowski, K., Huo, X. J., Zhou, W., Price, T. J., Cleeland, C., & Heijnen, C. J. (2014). The anti-diabetic drug metformin protects against chemotherapy-induced peripheral neuropathy in a mouse model. *PLoS ONE*, 9(6), 3–10. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0100701>

168. Marieb, E. (2000). Anatomie et physiologie humaine. *REVUE DE L'EDUCATION PHYSIQUE*, 40(1), 46.
169. Marieb, E. N. (2008). *Biologie humaine: principes d'anatomie et de physiologie*. Pearson Education France.
170. Marieb, N. (2008). *Biologie humaine principe d'anatomie et de physiologie* (8ème Nouveaux Horizon Édition (ed.)).
171. Massault, P.-P. (2001). La cholécystectomie. *Médecine Thérapeutique*, 7(3), 187–191.
172. Meiouet, F., El Kabbaj, S., & Daudon, M. (2011). Étude *in Vitro* De L'Activité Litholytique De Quatre Plantes Médicinales Vis-À-Vis Des Calculs Urinaires De Cystine. *Progres En Urologie*, 21(1), 40–47. <https://doi.org/10.1016/j.purol.2010.05.009>
173. Middleton, E., Kandaswami, C., & Theoharides, T. C. (2000). The effects of plant flavonoids on mammalian cells: Implications for inflammation, heart disease, and cancer. *Pharmacological Reviews*, 52(4), 673–751.
174. Mohammadi, J., & Naik, P. R. (2012). The histopathologic effects of *Morus alba* leaf extract on the pancreas of diabetic rats. *Turkish Journal of Biology*, 36(2), 211–216. <https://doi.org/10.3906/biy-1008-51>
175. Molyneux, P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin J. Sci. Technol*, 26(2), 211–219.
176. Morajhar, A. S., Hardikar, B., & Sharma, B. (2015). Hepatoprotective Effects of Crude Extracts of *Pongamia pinnata* in Alloxan Induced Diabetic Albino Wistar Rats. *International Journal of Zoological Research*, 11(2), 37.
177. Morel, J.-M. (2008). *Traité pratique de phytothérapie: remèdes d'hier pour médecine de demain*. Grancher.
178. Moss, D. W., Baron, D. N., Walker, P. G., & Wilkinson, J. H. (1971). Standardization of clinical enzyme assays. *Journal of Clinical Pathology*, 24, 740–743.
179. Mullugeta, Y., Chawla, R., Kebede, T., & Worku, Y. (2012). Dyslipidemia associated with poor glycemic control in type 2 diabetes mellitus and the protective effect of metformin supplementation. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 27, 363–369.

-N-

180. Nagappa, A. N., Thakurdesai, P. A., Rao, N. V., & Singh, J. (2003). Antidiabetic activity of *Terminalia catappa* Linn fruits. *Journal of Ethnopharmacology*, 88(1), 45–50.
181. Narkhede, M. B., Ajimire, P. V, Wagh, A. E., Mohan, M., & Shivashanmugam, A. T. (2011). *In vitro* antidiabetic activity of *Caesalpinia digyna* (R.) methanol root extract. *Asian Journal of Plant Science and Research*, 1(2), 101–106.
182. Nehru, B., & Anand, P. (2005). Oxidative damage following chronic aluminium exposure in adult and pup rat brains. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 19(2–3), 203–208.

183. Newairy, A.-S. A., Salama, A. F., Hussien, H. M., & Yousef, M. I. (2009). Propolis alleviates aluminium-induced lipid peroxidation and biochemical parameters in male rats. *Food and Chemical Toxicology*, 47(6), 1093–1098.
184. Nguyen, S. H., & Bourouina, R. (2008). *Manuel d'anatomie et de physiologie*. Wolters Kluwer France.
185. Nuutila, A. M., Puupponen-Pimiä, R., Aarni, M., & Oksman-Caldentey, K.-M. (2003). Comparison of antioxidant activities of onion and garlic extracts by inhibition of lipid peroxidation and radical scavenging activity. *Food Chemistry*, 81(4), 485–493.

-O-

186. OCDE. (2002). *Test No. 420: Acute Oral Toxicity - Fixed Dose Procedure, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals*. OECD. <https://doi.org/10.1787/9789264070943-en>. (Section 4)
187. Oreopoulou, A., Tsimogiannis, D., & Oreopoulou, V. (2019). Extraction of polyphenols from aromatic and medicinal plants: an overview of the methods and the effect of extraction parameters. *Polyphenols in Plants*, 243–259.
188. Oršolić, N., Sirovina, D., Končić, M. Z., Lacković, G., & Gregorović, G. (2012). Effect of Croatian propolis on diabetic nephropathy and liver toxicity in mice. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 12, 1–16.
189. Oršolić, N., Sirovina, D., Odeh, D., Gajski, G., Balta, V., Šver, L., & Jazvinščak Jembrek, M. (2021). Efficacy of caffeic acid on diabetes and its complications in the mouse. *Molecules*, 26(11), 3262.
190. Ossai, E. C., Madueke, A. C., Amadi, B. E., Ogugofor, M. O., Momoh, A. M., Okpala, C. O. R., Anosike, C. A., & Njoku, O. U. (2021). Potential enhancement of metformin hydrochloride in lipid vesicles targeting therapeutic efficacy in diabetic treatment. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(6), 1–16. <https://doi.org/10.3390/ijms22062852>
191. Ouédraogo, N., Lompo, M., Sawadogo, R. W., Tibiri, A., Hay, A. E., Koudou, J., Dijoux, M. G., & Guissou, I. P. (2012). Étude des activités anti-inflammatoire, analgésique et antipyrétique des décoctés aqueux des feuilles et des racines de *Pterocarpus erinaceus* Poir. (Fabaceae). *Phytotherapie*, 10(5), 286–292. <https://doi.org/10.1007/s10298-012-0732-z>
192. Oussama, S. (2010). *Intérêt de la coelioscopie dans le traitement de la lithiase biliaire chez l'enfant*. Mohammed V: Rabat.
193. Özen, S., Akyol, Ö., Iraz, M., Söğüt, S., Özüğurlu, F., Özyurt, H., Odacı, E., & Yıldırım, Z. (2004). Role of caffeic acid phenethyl ester, an active component of propolis, against cisplatin-induced nephrotoxicity in rats. *Journal of Applied Toxicology: An International Journal*, 24(1), 27–35.

-P-

194. Pannucci, E., Spagnuolo, L., De Gara, L., Santi, L., & Dugo, L. (2023). Phenolic compounds as preventive and therapeutic agents in diabetes-related oxidative stress, inflammation, advanced glycation end-products

- production and insulin sensitivity. *Discovery Medicine*, 35(178), 715–732.
195. Pari, L., & Latha, M. (2002). Effect of *Cassia auriculata* flowers on blood sugar levels, serum and tissue lipids in streptozotocin diabetic rats. *Singapore Med J*, 43(12), 617–621.
196. Pari, L., & Amarnath Satheesh, M. (2004). Antidiabetic activity of *Boerhaavia diffusa* L.: Effect on hepatic key enzymes in experimental diabetes. *Journal of Ethnopharmacology*, 91(1), 109–113. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2003.12.013>
197. Payen, J.-L., Muscari, F., Vibert, É., Ernst, O., & Pelletier, G. (2011). Lithiase biliaire. *La Presse Médicale*, 40(6), 567–580.
198. Persijn, J. P., & van der Slik, W. (1976). A New Method For The Determination Of γ -Glutamyltransferase In Serum. *J. Clin. Chem. Chin. Biochem*, 14(1–12), 421–427. <https://doi.org/10.1515/cclm.1976.14.1-12.421>
199. Pieme, C. A., Penlap, V. N., Nkegoum, B., Taziebou, P. C. L., Tekwu, E. M., Etoa, F. X., & Ngongang, J. (2006). Evaluation of acute and subacute toxicities of aqueous ethanolic extract of leaves of *Senna alata* (L.) Roxb (Cesalpiniaceae). *African Journal of Biotechnology*, 5(3), 283–289.
200. Popovici, C., Saykova, I., & Tylkowski, B. (2009). Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *Revue de Génie Industriel*, 4(8).
201. Pisoschi, A. M., & Pop, A. (2015). The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 97, 55–74.
202. Prakash, D., Upadhyay, G., Singh, B. N., & Singh, H. B. (2007). Antioxidant and free radical-scavenging activities of seeds and agri-wastes of some varieties of soybean (*Glycine max*). *Food Chemistry*, 104(2), 783–790.
203. Prasad, R. B., & Groop, L. (2015). Genetics of type 2 diabetes—pitfalls and possibilities. *Genes*, 6(1), 87–123.
204. Prasanna M. (2000). Hypolipidemic effect of fenugreek: a clinical study. *Indian Journal of Pharmacology*, 32, 34–36.
205. Pratt, D. S., & Kaplan, M. M. (2000). Evaluation of abnormal liver-enzyme results in asymptomatic patients. *New England Journal of Medicine*, 342(17), 1266–1271.
206. Prior, R. L., Wu, X., & Schaich, K. (2005). Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(10), 4290–4302.

-Q-

207. Quézel, P., Santa, S., Schotter, O., & Emberger, L. (1962). *Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales II* (centre nat). Paris (s.n.).

-R-

208. Ragunathan, V., & Sulochana, N. (1996). A New Flavonol Bioside from the Flowers of *Hibiscus vitifolius* Linn. and Its Hypoglycaemic Activity. *ChemInform*, 27(15).
209. Rahimifard, M., Moini-Nodeh, S., Niaz, K., Baeeri, M., Jamalifar, H., & Abdollahi, M. (2018). Improvement of the functionality of pancreatic Langerhans islets via reduction of bacterial contamination and apoptosis using phenolic compounds. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 21(9), 920.
210. Rahmani, A. H., Aly, S. M., Ali, H., Babiker, A. Y., & Srikar, S. (2014). Therapeutic effects of date fruits (*Phoenix dactylifera*) in the prevention of diseases via modulation of anti-inflammatory, anti-oxidant and anti-tumour activity. *International Journal of Clinical and Experimental Medicine*, 7(3), 483.
211. Rath, D., Kar, D. M., Panigrahi, S. K., & Maharana, L. (2016b). Antidiabetic effects of *Cuscuta reflexa* Roxb. in streptozotocin induced diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 192(September), 442–449. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2016.09.026>
212. Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9–10), 1231–1237.
213. Reid, K. M., Ramos-De la Medina, A., & Donohue, J. H. (2007). Diagnosis and surgical management of gallbladder cancer: a review. *Journal of Gastrointestinal Surgery*, 11(5), 671–681.
214. Ribot, J. (2015). *Impact du diabète de type 2 sur la fonctionnalité et le potentiel angiogénique des cellules souches mésenchymateuses*. Paris-Est.
215. Rice-Evans, C. A., Miller, N. J., & Paganga, G. (1996). Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biology and Medicine*, 20(7), 933–956.
216. Rice-Evans, C., Miller, N., & Paganga, G. (1997). Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends in Plant Science*, 2(4), 152–159.
217. Rodier, M. (2001). Définition et classification du diabète. *Médecine Nucléaire (Paris)*, 25(2), 91–93.
218. Rodrigo, R., & Rodrigo, R. (2009). *Oxidative stress and antioxidants: their role in human disease* (Vol. 358). Nova Biomedical Books New York, NY, USA:
219. Romli, H. (2016). *Prise en charge et traitement du diabète de type 2*. Mohammed rabat, Maroc.
220. Rouibi, A. (2012). *d'Ajuga iva L.* 08(2), 131–137.
221. Ryndak-Swiercz, A. (2010). Ontogénèse, anatomie, histologie et physiologie de la thyroïde. *Les Maladies de La Thyroïde*, 3–11.

-S-

222. Şahin, S. (2024). Optimization of the synergistic antioxidant effect of selected phenolic compounds (gallic acid, rosmarinic acid and caffeic acid) and investigation of their ability to prevent formation of DNA base damage. *Gıda*, 49(5), 777–790.
223. Sapin, R. et Demangeat, C. (2001). Aspects analytiques des dosages d'insuline, peptide-C, proinsulines et

- glucagon. *Médecine Nucléaire, Paris*, 25(02), 73–84.
224. Saravanan, R., & Pari, L. (2005). Antihyperlipidemic and antiperoxidative effect of Diasulin, a polyherbal formulation in alloxan induced hyperglycemic rats. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 5, 1–8.
225. Saxena, V., Dharamveer, G. R., & Saraf, S. A. (2012). *Ficus carica* leaf extract in regulation of thyroidism using ELISA technique. *Asian J Pharm Clin Res*, 5(2), 44–48.
226. Scartezzini, P., & Speroni, E. (2000). Review on some plants of Indian traditional medicine with antioxidant activity. *Journal of Ethnopharmacology*, 71(1–2), 23–43.
227. Schäfer, M., Schneiter, R., & Krähenbühl, L. (2003). Incidence and management of Mirizzi syndrome during laparoscopic cholecystectomy. *Surgical Endoscopy And Other Interventional Techniques*, 17, 1186–1190.
228. Shah, P. K., Kaul, S., Nilsson, J., & Cercek, B. (2001). Exploiting the vascular protective effects of high-density lipoprotein and its apolipoproteins: An idea whose time for testing is coming, part I. *Circulation*, 104(19), 2376–2383. <https://doi.org/10.1161/hc4401.098467>
229. Shahidi, F., & Ambigaipalan, P. (2015). Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects - A review. *Journal of Functional Foods*, 18, 820–897. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.06.018>
230. Sharma, R. A., Euden, S. A., Platton, S. L., Cooke, D. N., Shafayat, A., Hewitt, H. R., Marczylo, T. H., Morgan, B., Hemingway, D., & Plummer, S. M. (2004). Phase I clinical trial of oral curcumin: biomarkers of systemic activity and compliance. *Clinical Cancer Research*, 10(20), 6847–6854.
231. Shati, A. A., & Alamri, S. A. (2010). Role of saffron (*Crocus sativus* L.) and honey syrup on aluminum-induced hepatotoxicity. *Saudi Med J*, 31(10), 1106–1113.
232. Shirwaikar, A., Rajendran, K., Kumar, C. D., & Bodla, R. (2004). Antidiabetic activity of aqueous leaf extract of *Annona squamosa* in streptozotocin-nicotinamide type 2 diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 91(1), 171–175. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2003.12.017>
233. Sirwal I.A., Banday K.A., Reshi A.R., Bhat M.A. & Wani M.M., 2004. (2004). Estimation of Glomerular Filtration Rate (GFR). *JK Science*, 6, 121–123.
234. Smith, T. J. (2021). Insulin-like growth factor pathway and the thyroid. *Frontiers in Endocrinology*, 12, 653627.
235. Shuurs, AHWM., Van, W. (1977). Enzyme Immunoassay. *Clin Chem*, 81(1), 16.
236. Soon, Y. Y., & Tan, B. K. H. (2002). Evaluation of the hypoglycemic and anti-oxidant activities of *Morinda officinalis* in streptozotocin-induced diabetic rats. *Singapore Medical Journal*, 43(2), 77–85.
237. Soos, M., & Siddle, K. (1982). Characterization of monoclonal antibodies directed against human thyroid stimulating hormone. *Journal of Immunological Methods*, 51(1), 57–68.
238. Sosa, V., Moliné, T., Somoza, R., Paciucci, R., Kondoh, H., & LLeonart, M. E. (2013). Oxidative stress and

- cancer: an overview. *Ageing Research Reviews*, 12(1), 376–390.
239. Stanely, P., Prince, M., & Menon, V. P. (2000). Hypoglycaemic and other related actions of *Tinospora cordifolia* roots in alloxan-induced diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 70(1), 9–15.
240. Stevens, A., & Lowe, J. (1997). *Histologie humaine*. De Boeck Supérieur.
241. Stevens, L. A., Coresh, J., Greene, T., & Levey, A. S. (2006). Assessing kidney function—measured and estimated glomerular filtration rate. *New England Journal of Medicine*, 354(23), 2473–2483.
242. Svensson, J., & Makin, E. (2012). Gallstone disease in children. *Seminars in Pediatric Surgery*, 21(3), 255–265.
243. Szkudelski, T. (2001). The mechanism of alloxan and streptozotocin action in β -cells of the rat pancreas. *Physiological Research*, 50(6), 537–546.

-T-

244. Tafesse, T. B., Hymete, A., Mekonnen, Y., & Tadesse, M. (2017). Antidiabetic activity and phytochemical screening of extracts of the leaves of *Ajuga remota* Benth on alloxan-induced diabetic mice. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 17(1), 1–9. <https://doi.org/10.1186/s12906-017-1757-5>
245. Tahidul, I., Kumar, G., & Baojun Bruce, X. (2019). New insight into mycochemical profiles and antioxidant potential of edible and medicinal mushrooms: A review. *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 21(3).
246. Tandon, S. (2005). Phytochemicals and cardiovascular health. *High Current R and D*, 28, 18–22.
247. Tang, D., Chen, Q.-B., Xin, X.-L., & Aisa, H.-A. (2017). Anti-diabetic effect of three new norditerpenoid alkaloids in vitro and potential mechanism via PI3K/Akt signaling pathway. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 87, 145–152.
248. Thiele, C. (2010). *Anatomie et physiopathologie humaines de poche*. De Boeck Supérieur.
249. Tidjane, N. (2016). *Le rôle du récepteur B1 des kinines dans l'insulite et dans les complications du diabète de type 1 dans un modèle de choc septique*. Montréal.
250. Tijani, M. (2014). *Le traitement laparoscopique de la lithiase de la vésicule biliaire chez l'enfant*. CHU Ibn Sina, Rabat.
251. Tiwari, B. K., Kumar, D., Abidi, A. B., & Rizvi, S. I. (2014). *Tiwari, B. K., Kumar, D., Abidi, A. B., & Rizvi, S. I. (2014). Efficacy of composite extract from leaves and fruits of medicinal plants used in traditional diabetic therapy agai.pdf. 2014.*
252. Tortora, G. J., Derrickson, B., Forest, M., & Martin, L. (2007). *Principes d'anatomie et de physiologie*. De Boeck.
253. Toul, F., Djendar, A., Seladji, M., & Berroukeche, F. (2022). Algerian *Bunium incrassatum* Seeds: Effects of Extraction Solvent Polarity on Phenolic Profile and Antioxidant Activity. *Journal of the Turkish Chemical Society, Section A: Chemistry*, 9(2), 415–422. <https://doi.org/10.18596/jotcsa.1058060>

254. Tra-Bi, I. O., Djyh, B. N., Bahi, C., Meite, S., & N'guessan, J. D. (2010). A study of the hepatic tolerance of the ethyl acetate fraction of *Morinda morindoides* (Baker) milne-redhead (Rubiaceae) extract in rabbit. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 9(6).
255. Tramalloni, J. (2011). *Imagerie de la thyroïde et des parathyroïdes*. Lavoisier.
256. Travlos, G. S., Morris, R. W., Elwell, M. R., Duke, A., Rosenblum, S., & Thompson, M. B. (1996). Frequency and relationships of clinical chemistry and liver and kidney histopathology findings in 13-week toxicity studies in rats. *Toxicology*, 107(1), 17–29.
257. Tringer, L. (1969). A Hungarian version of the Bregelmann Personality Inventory. *Magyar Pszichológiai Szemle*, 26, 477–491.
258. Tsinalis, D., & Binet, I. (2006). Appréciation de la fonction rénale: créatininémie, urée et filtration glomérulaire. *Forum Med (Suisse)*, 6, 414–419.
259. Tundis, R., Loizzo, M. R., & Menichini, F. (2010). Natural products as α -amylase and α -glucosidase inhibitors and their hypoglycaemic potential in the treatment of diabetes: an update. *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*, 10(4), 315–331.
260. Turkmen, N., Velioglu, Y. S., Sari, F., & Polat, G. (2007). Effect of extraction conditions on measured total polyphenol contents and antioxidant and antibacterial activities of black tea. *Molecules*, 12(3), 484–496.

-U-

261. Uduak, O. A., Ani, E. J., Etoh, E. C. I., & Macstephen, A. O. (2014). Comparative effect of *Citrus sinensis* and carbimazole on serum T4, T3 and TSH levels. *Nigerian Medical Journal*, 55(3), 230–234.
262. Ural, S. H., & Repke, J. T. (2008). Gestational diabetes mellitus. *Reviews in Obstetrics and Gynecology*, 1(3), 129.
263. Uzan, J. (2016). *Identification des facteurs prédictifs du diabète cortico-induit: proposition d'un protocole de surveillance pour les médecins généralistes*. Paris 7.

-V-

264. Vaidya, B., & Pearce, S. H. S. (2008). Management of hypothyroidism in adults. *Bmj*, 337.
265. Velioglu, Y., Mazza, G., Gao, L., & Oomah, B. D. (1998). Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(10), 4113–4117.
266. Vialettes, B., & Conte-Devolx, B. (2013). Le diabète de type 1 «post-traumatique» existe-t-il? *Médecine Des Maladies Métaboliques*, 7(4), 379–384.
267. Vijayakumar, P., Nelson, R. G., Hanson, R. L., Knowler, W. C., & Sinha, M. (2017). HbA1c and the prediction of type 2 diabetes in children and adults. *Diabetes Care*, 40(1), 16–21.

-W-

Références bibliographiques

268. Waugh, A., Grant, A., & Cosserat, J. (2023). *Ross et Wilson. Anatomie et physiologie normales et pathologiques*. Elsevier Health Sciences.
269. Watkins, D., Cooperstein, S. J., & Lazarow, A. (1964). Effect of alloxan on permeability of pancreatic islet tissue *in vitro*. *American Journal of Physiology-Legacy Content*, 207(2), 436–440.
270. Weidinger, A., & Kozlov, A. V. (2015). Biological activities of reactive oxygen and nitrogen species: oxidative stress versus signal transduction. *Biomolecules*, 5(2), 472–484.
271. Wémeau, J.-L. (2011). Prise en charge thérapeutique des goitres. *La Presse Médicale*, 40(12), 1147–1154.
272. Wen, W., Lin, Y., & Ti, Z. (2019). Antidiabetic, Antihyperlipidemic, Antioxidant, Anti-inflammatory Activities of Ethanolic Seed Extract of *Annona reticulata* L. in Streptozotocin Induced Diabetic Rats. *Frontiers in Endocrinology*, 10(October), 1–15. <https://doi.org/10.3389/fendo.2019.00716>
273. Wheless, A., Gunn, K. H., & Neher, S. B. (2024). Macromolecular interactions of Lipoprotein lipase (LPL). *Macromolecular Protein Complexes V: Structure and Function*, 139–179.
274. Woisky, R. G., & Salatino, A. (1998). Analysis of propolis: some parameters and procedures for chemical quality control. *Journal of Apicultural Research*, 37(2), 99–105.
275. Worthington, V. (1993). *Worthington Enzyme Manual. Alpha amylase* (E. In: Worthington V (ed.)). Freehold, NJ: Worthington Biochemical Corp.
276. Wuerzner, K., Pasche, O., Rodondi, N., & Portmann, L. (2010). Les dysthyroïdies en médecine de premier recours. *Rev Med Suisse*, 6, 2306–2311.

-Y-

277. Yadav, S., Vats, V., Dhunoo, Y., & Grover, J. K. (2002). Hypoglycemic and antihyperglycemic activity of *Murraya koenigii* leaves in diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 82(2–3), 111–116. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(02\)00167-8](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(02)00167-8)
278. Yamagata, K. (2014). Roles of HNF1 α and HNF4 α in pancreatic β -cells: lessons from a monogenic form of diabetes (MODY). *Vitamins & Hormones*, 95, 407–423.
279. Yeh, Y.-H., Lee, Y.-T., Hsieh, H.-S., & Hwang, D.-F. (2009). Effect of taurine on toxicity of aluminum in rats. *E-SPEN, the European e-Journal of Clinical Nutrition and Metabolism*, 4(4), e187–e192.
280. Young, K. A., Maturu, A., Lorenzo, C., Langefeld, C. D., Wagenknecht, L. E., Chen, Y. D. I., ... & Rasouli, N. (2019). The triglyceride to high-density lipoprotein cholesterol (TG/HDL-C) ratio as a predictor of insulin resistance, β -cell function, and diabetes in Hispanics and African Americans. *Journal of Diabetes and Its Complications*, 33, 118–122. <https://doi.org/10.1016/j.jdiacomp.2018.10.018>
281. Young, I. S. (2005). Lipids for psychiatrists-an overview. *Journal of Psychopharmacology*, 19(6_suppl), 66–75.
282. Young, J. (2011). *Endocrinologie, diabétologie et maladies métaboliques*. Elsevier Health Sciences.

-Z-

Références bibliographiques

283. Zanatta, L., de Sousa, E., Cazarolli, L. H., Junior, A. C., Pizzolatti, M. G., Szpoganicz, B., & Silva, F. R. M. B. (2007). Effect of crude extract and fractions from *Vitex megapotamica* leaves on hyperglycemia in alloxan-diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*, *109*(1), 151–155.
284. Zeitoun, J. D., Chrysostalis, A., & Lefevre, J. (2017). Hépatogastro-entérologie. *Paris: Editions Vernazobres-Grego*, *6*, 247.
285. Zhang, C. R., Aldosari, S. A., Vidyasagar, P. S., Nair, K. M., & Nair, M. G. (2013). Antioxidant and anti-inflammatory assays confirm bioactive compounds in Ajwa date fruit. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *61*(24), 5834–5840.
286. Zhang, S., Zhang, L., Wang, L., & Zhao, Y. (2019). Total phenols, flavonoids, and procyanidins levels and total antioxidant activity of different Korean pine (*Pinus koraiensis*) varieties. *Journal of Forestry Research*, *30*(5), 1743–1754.

**Phenolic Profile, Antioxidant Activity, and Litholytic Cholesterol Properties of Algerian *Bunium incrassatum* L. Extracts**Souheyla Mekraf¹, Mokhtaria Yasmına Boufadi^{1,2*}, Soumia Keddari¹, Fatiha Abbassene³, Rebbouh Farah⁴¹Department of Food Science, Laboratory of Bioeconomics, Food Safety, and Health, Faculty of Natural Sciences and Life, University of Abdelhamid Ibn Badis, 27000 BP, Mostaganem, Algeria.²Laboratory of Pharmaceutical Chemistry, Faculty of Pharmacy, Libre University, Brussels, Belgium.³Laboratory of Sciences and Techniques of Valorization (STEVA), Faculty of Natural Sciences and Life, University of Abdelhamid Ibn Badis, 27000 BP, Mostaganem, Algeria.⁴Laboratory of Cellular and Molecular Biology, Faculty of Biological Science, University of USTHB, 16000 BP, Algiers, Algeria.

ARTICLE INFO

ABSTRACT

Article history:

Received 02 November 2024

Revised 12 November 2024

Accepted 27 February 2025

Published online 01 April 2025

Copyright: © 2025 Mekraf *et al.* This is an open-access article distributed under the terms of the [Creative Commons Attribution License](#), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

Bunium incrassatum (Apiaceae), widely cultivated along Africa's Mediterranean frontier. It has antioxidant, anti-inflammatory, anti-bronchitis, antibacterial, and anti-cancer impacts. This investigation estimates the chemical composition of methanolic extracts from the roots (MERO), seeds (MESE), and stems (MEST) of *B. incrassatum* using high-performance liquid chromatography/ultraviolet (HPLC/UV), antioxidant and litholytic effects *in vitro*. The Fourier Transform Attenuated Total Reflectance (FTIR-ATR) identified cholesterol gallstones. These gallstones were classified into low, medium, and high weight groups and subjected to agitation with *B. incrassatum* extracts for 9 weeks. The control was sodium chloride (NaCl, 9 g/L). Weekly, gallstones were weighed after 18 h of drying at 40 °C, and their gallstones-dissolving capacity percentage; (% GDC) and the experimental medium pH were assessed. HPLC/UV analysis shows MESE has 25 phenolic compounds, MERO 24, and MEST 21. Furthermore, MESE exhibited the highest phenolic levels (70.80 mg GAE/g DE, 18.44 mg QE/g DE) and the highest antiradical activity among the extracts tested, with a median inhibitory concentration (IC₅₀) of 0.23 mg/mL for 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) scavenging and 0.66 mg/mL for ferric-reducing antioxidant power (FRAP). Highly substantial ($P < 0.001$) rise in % GDC was noted, with decreasing effectiveness in the following order: MERO, MESE, and MEST compared to the control throughout the trial, associated with phenolic composition, gallstone weight, and research duration. This study showed the importance of the phytochemical, antioxidant, and litholytic characteristics of *Bunium incrassatum* extract, affirming its possibilities in pharmacological approaches to treating cholelithiasis.

Keywords: *Bunium incrassatum*, HPLC/UV, Antioxidant activity, Cholesterol gallstones, Gallstones-dissolving capacity percentage, Cholelithiasis.

Introduction

Traditional medicine has used an array of plants with therapeutic potential for managing a wide variety of diseases. These plants are known for their intriguing bioactive profiles, which include anti-oxidative, anti-inflammatory, anti-diabetic, anti-cancer, and more.^{1,2,3} Preclinical and clinical trials have shown that scientists are developing an interest in herbal remedies treatments as prospective sources of novel pharmaceuticals that can improve human health with minimal or no adverse impacts, unlike the current synthetic chemical compounds.^{4,5,6} *Bunium incrassatum* L., also known commonly as Talghouda, is extensively distributed in northern Algeria. This medicinal plant possesses a powerful antioxidant capabilities and has long been used to treat thyroid problems, diarrhoea, inflammatory haemorrhoids, bronchitis, and other complications.⁷

Cholelithiasis is one of the world's most frequent and complicated diseases, affecting around 10-20% of the population in Europe, and is increasingly common among children and adolescents.⁸ It is the result of defects in hepatic and biliary cholesterol metabolism, gallbladder stasis, and abnormal nucleation. Phospholipids, cholesterol, and supersaturated bile acids, which cause cholesterol deposition, contributed to this condition. Gallstones are classified based on their cholesterol concentration: cholesterol ($\geq 70\%$), pigment ($\leq 30\%$),^{9,10} or mixed (30-70%).¹¹ Genetic predisposition,¹² female sex, advanced age, hypercholesterolaemia, alcohol consumption, type 2 diabetes, a high-fat diet, obesity, metabolic syndrome, and a sedentary lifestyle all contribute to cholelithiasis development,¹³ condition that frequently necessitates immediate surgical intervention.¹⁴ Medicinal plants offer an effective natural option for the prevention and treatment of cholelithiasis.¹⁵ This paper aims to identify the phytochemical compounds by HPLC/UV, to screen the antioxidant's effectiveness, and then to evaluate the litholytic impact of *B. incrassatum* extracts.

*Corresponding author. Email: yasmına.boufadi@univ-mosta.dz
Tel: +213 558366319

Citation: Mekraf S, Boufadi MY, Keddari S, Abbassene F, Farah R. Phenolic Profile, Antioxidant Activity, and Litholytic Cholesterol Properties of Algerian *Bunium incrassatum* L. Extracts. Trop J Nat Prod Res. 2025; 9(3):1211 – 1219 <https://doi.org/10.26538/tjnpr/v9i3.42>

Official Journal of Natural Product Research Group, Faculty of Pharmacy, University of Benin, Benin City, Nigeria

Materials and Methods*Chemicals and reagents*

Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA) supplied all chemicals used, including absolute methanol ($\geq 99.7\%$), 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), 6-Hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid (trolox), formic acid (CH₂O₂, 98–100%), trifluoroacetic acid (TFA, C₂HF₃O₂, 99%), acetonitrile (C₂H₃N), authentic phenolic standards (trans-cinnamic, gallic, syringic, sinapic, quinic, protocatechic, ferrulic,

p-coumaric, caffeic, carnosic, chlorogenic, vanillic, and ellagic acids, catechin, epicatechin, catechol, carnosol, thymol, galangin, pinocembrin, rutin, chrysin, luteolin, fisetin, myricetin, naringin, acacetin, kaempferol, quercetin, tannic acid, ascorbic acid, menthol, and bis-methylated quercetin), folin-ciocalteu's reagent (FCR), aluminum chloride (AlCl₃), iron (III) chloride (FeCl₃), sodium bicarbonate (Na₂CO₃), potassium ferricyanide (III) (K₃Fe(CN)₆), trichloroacetic acid (TCA, C₂HCl₃O₂), and sodium chloride (NaCl). The analytical grade of all chemicals and reagents employed in the current study.

Gallstones

The General Surgical Service of Hospital Bourdj Bounaama (Tissemsilt, Algeria) willingly removed massive gallstones from the lithiasis patient approved by our local ethics committee authorised the experimental gallstones use (Institutional Review Board) of food department (Abdelhamid Ibn Badis University, Mostaganem, Algeria). The FTIR-ATR (IR Affinity-1S, Shimadzu, Japan) identified them chemically.

Plant materials and identification

Bunium incrassatum (*Bunium pachypodum*) was collected in June 2021 from Labiod Medjadja, Chlef (Algeria) (36°15'0"N, 1°24'0"E, an altitude of 176 m). The plant received a voucher specimen (H.S. 01998.1) from the Ecology Vegetal Laboratory, Department of Biology, University of Ahmed Ben Bella (Oran 1, Algeria). After cleaning with distilled water, air-drying, and finely powdering, root, stem, and seed were sealed in bottles until extraction.

Bunium incrassatum extraction

After separately macerating 10 g of *B. incrassatum* root, stem, and seed powder in 100 mL of methanol (MeOH, 99.7%) at room temperature for 72 h. Methanol was removed using rotary evaporator (BOECO, type RVO 400 SD, Germany) at 40 °C to obtain the roots (MERO), seeds (MESE), and stems (MEST) extracts of *B. incrassatum*. It was preserved at +4 °C up until used.¹⁶ Formula (1) computed extract yield percentage (% Y).¹⁷

$$\% Y = \frac{M0}{M1} \times 100 \quad (1)$$

Where:

M1: mass in grams of the dry extract obtained.

M0: mass in grams of initial dry plant material.

Analysis of *B. incrassatum* extracts by HPLC/UV

Methanolic *B. incrassatum* extracts (MESE, EMST, and MERO) were analysed using an Agilent 1100 high-performance liquid chromatography system (LC-2040C, Shimadzu, Japan). The separation process used an Agilent 120 EC poroshell column (100 mm × 2.1 mm, 2.7 μm) with water/TFA/formic acid (99:0.25:0.75) (A) and acetonitrile (B). The elution was performed at 55 °C at 0.6 mL/min with a 10 μL aliquot. The solvent gradient was (0, 0), (1, 10), (2, 12.5), (3, 15), (9, 80), (10, 100), (11, 100), and (14, 0) with post-5 min. UV detection at 270 and 320 nm.¹⁸ Methanol was diluted 1:100 (volume for volume, V/V) with each extract to make the sample.

Using retention times (Rt) and spectral matching with 33 phenolic standards (trans-cinnamic, gallic, syringic, sinapic, quinic, protocatechic, ferrulic, *p*-coumaric, caffeic, carnosic, chlorogenic, vanillic, and ellagic acids), flavonoids (catechin, epicatechin, catechol, carnosol, thymol, galangin, pinocembrin, rutin, chrysin, luteolin, fisetin, myricetin, naringin, acacetin, kaempferol, and quercetin), tannins (tannic acid), and other compounds (ascorbic acid, menthol, bis-methylated quercetin). Stock solutions at 1 mg/mL were made from standards dissolved in methanol. Phenol components were revealed through calibrated graphs of multiple references in mg/1g of crude extract.

Total phenol content (TPC) estimation

The total of phenolic amount was quantified through Folin-Ciocalteu's method.¹⁹ A mix consisting of 200 μL extract or standard and 1500 μL of 10% Folin-Ciocalteu's reagent (FCR) was incubated in darkness for

5 min, and 1500 μL of a 60% sodium bicarbonate solution (Na₂CO₃) was added. A UV-V spectrophotometer (Optizen Pop, Korea) measured absorbance at 725 nm after 90 min of reaction time against a blank. Gallic acid was used to calibrate the curve. The total phenol content was reported as milligrams of gallic acid equivalent per gram of dry extract (mg GAE/g DE). Triplicate tests were performed.

Total flavonoid content (TFC) estimation

The aluminum chloride technique.²⁰ was applied for determining the total of flavonoid level. Briefly, a combined volume of 1000 μL of 2% aluminum chloride (AlCl₃) solution and 1000 μL of extract or standard was used. The colorimetric measurements of the absorbance at 517 nm were performed as opposed to a blank, after 60 min of incubation at ambient temperature in darkness. As a reference, quercetin was employed. The data were given as milligrams of quercetin equivalent per gram of dry extract (mg QE/g DE). The measurements were conducted three separate times.

Antioxidant activity in vitro

2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) assay

The DPPH radical-scavenging effect of the *B. incrassatum* extracts (MERO, MESE, and MEST) was determined using the previously reported method.²¹ The combination included 250 μL of every extract at different amounts and 1000 μL of 0.004% DPPH. The absorbance was obtained at 517 nm after 30 min of exposure to ambient temperature and darkness. The references employed for the experiment were trolox and ascorbic acid, which were tested under similar experimental circumstances. The free radical-scavenging activity (% RSA) was estimated through the formula (2).^{22,23} Thereafter, the inhibitory concentration median (IC₅₀) was estimated through a linear regression method. Every measurement was tripled.

$$\% RSA = \left[\frac{A_{control} - A_{sample}}{A_{control}} \right] \times 100 \quad (2)$$

Ferric-reducing antioxidant power (FRAP) assay

The FRAP was assessed through the already explained technique.²⁴ For this test, 1000 μL of extract at various contents was combined with 2500 μL of phosphate buffer solution (0.2 M, pH 6.6) and 2500 μL of 1% potassium ferricyanide solution (K₃Fe(CN)₆). After 20 min in a water bath maintained at 50 °C, mixture cooled to ambient temperature in dark conditions. The process was ceased by adding 2500 μL of 10% trichloroacetic acid (TCA, C₂HCl₃O₂). Then, 2500 μL of supernatant was added to 2500 μL of distilled water and 500 μL of 0.1% iron (III) chloride (FeCl₃) after centrifugation at 3000 rpm/10 min. The measurement of absorbance was detected at 700 nm following 10 min of incubation. Trolox and ascorbic acid served as standards, and the inhibition concentrations (IC₅₀) were calculated using the model of linear regression. Triplicate measurements were taken.

Litholytic activity in vitro

The litholytic effect of *B. incrassatum* extracts on cholesterol gallstones was evaluated *in vitro* using the procedure outlined previously.²⁵

Gallstones-dissolving capacity

Gallstones were separately covered in sterile porous tissue to prevent mechanical stress, then immersed in 100 mL of each extract in glass Erlenmeyer flasks, hermetically sealed, and shaken at 130 rpm at room temperature for 9 weeks (the period of traditional medical therapy). Weekly, the gallstone was retrieved from the reaction medium and dried at 40°C for 18 h before being weighed using a precision balance (Ohaus, PA213, China) to determine mass loss. Sodium chloride (NaCl, 9 g/L) served as a control. The gallstones-dissolving capacity percentage (% GDC) was determined according to the formula (3). All measures were tripled.

$$\% GDC = \left[\frac{M_i - M_f}{M_i} \right] \times 100 \quad (3)$$

Where:

M_i: initial mass of the gallstones (mg).

M_r: final incubation mass of the gallstones (mg).

pH evolution

The pH of the experimental mixture was measured at the beginning and weekly thereafter to record its evolution using a pH meter (HANNA HI 2211, HANNA instruments, Romania). Triplicate measurements were performed.

Statistical analysis

Findings from three tests are shown as mean ± standard deviation, processed by using IBM SPSS Statistics version 22, 2023, and subjected to a one-factor ANOVA (analysis of variance) with Tukey's posthoc test and Past 4.03, 2020 software. All tests were carried out three times. The difference is significant at $P < 0.05$, very significant at $P < 0.01$, highly significant at $P < 0.001$, or not significant at $P > 0.05$. * Compared

with NaCl control. Graphs were represented using GraphPad Prism 10.3.1 (509).

Results and Discussion

Bunium incrassatum extracts composition

The HPLC/UV profile detecting at 270 and 320 nm of seed, root, and stem methanolic extracts of *Bunium incrassatum* permitted the separation and identification of 25, 24, and 21 phenolic components, respectively (Table 1 and Figures 1-3). Besides this finding, the methanolic extract of seeds demonstrates a notably higher phenolic concentration than the others. In contrast, the root and stem extracts exhibit distinct compounds. Polyphenolic acids, including gallic, ferulic, and ellagic acid, show variations across the extracts, with MESE typically exhibiting higher amounts (7.13, 2.17, and 2.02 mg/g of seed extract, respectively).

Table 1: Composition of the methanolic extracts of *Bunium incrassatum* (MESE, MERO, MEST) by HPLC/UV (mg/g)

Peak number	Compounds	Amount (mg/g MESE)	Rt _{MESE} (min)	Amount (mg/g MERO)	Rt _{MERO} (min)	Amount (mg/g MEST)	Rt _{MEST} (min)
1	Quercetin	10.38	1.72	8.36	1.72	9.41	1.72
2	Kaempferol	4.26	2.19	3.12	2.19	1.85	2.19
3	Luteolin	0.03	3.20	0.89	3.24	-	-
4	Acacetin	0.11	5.35	-	-	-	-
5	Naringin	6.47	6.74	-	-	8.06	6.75
6	Bis-methylated quercetin	2.10	6.99	0.96	7.00	-	-
7	Chrysin	2.03	7.14	0.94	1.15	1.74	7.12
8	Catechin	0.44	9.12	0.81	9.13	0.06	9.11
9	Epicatechin	0.40	9.27	0.85	9.26	0.05	9.24
10	Galangin	0.65	10.03	2.86	10.04	0.52	10.02
11	Pinocembrin	0.13	10.28	0.99	10.27	-	-
12	Carnosol	0.16	10.74	1.12	10.73	-	-
13	Thymol	0.11	11.15	1.19	11.17	0.03	11.15
14	Menthol	0.12	11.55	1.22	11.55	0.04	11.54
15	Myricetin	0.68	13.71	1.23	13.72	0.80	13.71
16	Ascorbic acid	0.01	0.45	0.06	0.36	-	-
17	Gallic acid	7.13	1.73	5.11	1.73	3.62	1.73
18	Caffeic acid	0.73	2.03	0.84	2.04	0.54	2.04
19	<i>p</i> -coumaric acid	0.58	2.21	0.70	2.19	0.71	2.19
20	Chlorogenic acid	0.56	5.41	-	-	-	-
21	Quinic acid	0.94	6.47	-	-	-	-
22	Vanillic acid	0.98	6.75	-	-	3.05	6.76
23	Ferulic acid	2.17	6.99	1.38	6.99	1.02	6.99
24	Ellagic acid	2.02	7.14	1.87	7.15	0.74	7.14
25	Trans-cinnamic	0.01	13.56	1.42	13.57	0.45	13.57
26	Sinapic acid	-	-	0.01	9.13	-	-
27	Tannic acid	-	-	0.01	10.33	-	-
28	Carnosic acid	-	-	0.02	11.27	-	-
29	Syringic acid	-	-	0.97	12.60	-	-
30	Rutin	-	-	-	-	3.12	6.40
31	Fisetin	-	-	-	-	3.25	6.62
32	Catechol	-	-	-	-	1.26	6.63
33	Protocatechic acid	-	-	-	-	0.20	9.93

MESE: methanolic extract of seeds, MEST: methanolic extract of stems, MERO: methanolic extract of roots, -: absent.

Furthermore, quercetin, naringin, and kaempferol, as major flavonoids, are consistently identified with the highest concentration in seed (10.38, 6.47, and 4.26 mg/g of extract, respectively). As well as, luteolin is primarily found in root and seed extracts, with negligible amounts in stem. These secondary metabolites are noted for wide spectral activities,

including antioxidant, anti-inflammatory, analgesic, antimicrobial, and neuroprotective.^{26, 27, 28, 29, 30}

These findings align with several studies that have shown coumarin in the roots of *B. incrassatum*,³¹ and naringin, catechin, kaempferol, quercetin, caffeic, ferulic, chlorogenic, gallic, *p*-coumaric, and ellagic acid in the seeds of the same species.⁷ The presence of these bioactive compounds highlights scientific validation for both traditional and

modern uses of this plant species among North African populations and supports its promising potential for various pharmacological applications.

Extraction yields, total polyphenols, and flavonoids of B. incrassatum
Table 2 shows the extraction yield and phenolic component amounts of the *B. incrassatum* extracts. The MERO had the best yield (12.19%), followed by the MESE with 4.46% and the MEST with 1.77%.

Table 2: Extraction yields and phenolic contents in extracts of *Bunium incrassatum* parts

Extracts of <i>B. incrassatum</i>	% Y	Phenolic compounds	
		TPC (mg GAE/g DE)	TFC (mg QE/g DE)
MESE	4.46 ± 0.20	70.80 ± 0.47	18.44 ± 0.08
MEST	1.77 ± 0.36	48.75 ± 0.64	6.49 ± 0.07
MERO	12.19 ± 0.41	34.43 ± 0.38	0.54 ± 0.02

Findings from three tests are shown as mean ± standard deviation. MESE: methanolic extract of seeds, MEST: methanolic extract of stems, MERO: methanolic extract of roots, % Y: extract yield percentage, TPC: total phenol content, TFC: total flavonoid content, mg GAE/g of DE: milligrams of gallic acid equivalent per gram of dry extract, mg QE of DE: milligrams of quercetin equivalent per gram of dry extract.

As highlighted in various studies, both the solvent type, extraction conditions, and geographical origin of the species can influence the extraction yield.³³ It has been demonstrated that methods including maceration, Soxhlet, and ultrasound-assisted extraction have an impact on the effectiveness of bioactive compound extraction.^{34,35} According to this study, total phenol and flavonoid content in MESE is found to be relatively high when compared to MEST and MERO, with a range of 70.80 mg GAE/g and 18.44 mg QE/g DE, respectively. Compared to these data, a recent researcher estimated a lower level of polyphenol content, around 13.00 g GAE/mg DE, and an important level of flavonoid with a value of 16.32 g QE/mg DE in the roots methanolic extract in the same species.³²

Despite these findings, in M'sila, Algeria, the preparation of *B. incrassatum* methanolic root extract by maceration revealed the lowest extraction yield of 3.36%,³² In addition, collected seed from the region of Tlemcen, Algeria, of the same space, which was extracted under reflux for 1 h, yielded 7.1%.⁷

amounts in *B. incrassatum* seed methanolic extract of 185.04 mg GAE/g DE and 72.07 mg CE/g DE (catechin equivalent per gram of dry extract) in comparison to these data.⁷

This marked quantitative variation in phytochemical analysis is dependent on a number of factors, including harvest season, plant geographical origin, selection for specific genus and species, morphological and ecological characteristics, drying mode and duration, storage, plant parts used, developmental stage, circumstances, solvent used, temperature, period, and extraction procedures.³⁷

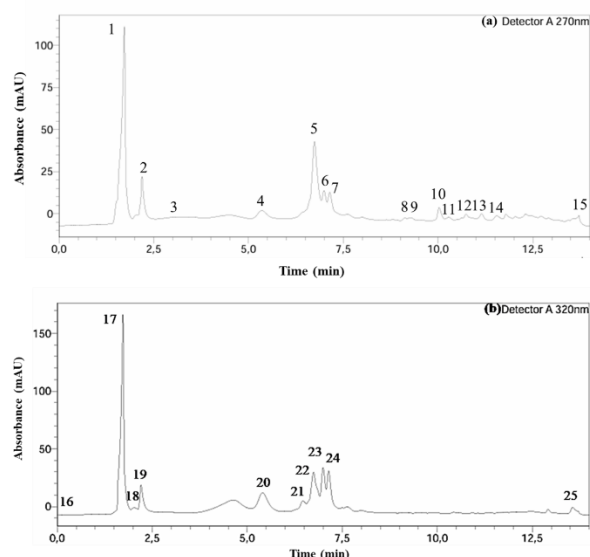


Figure 1: HPLC/UV chromatograms of MESE at 270 nm (a) and 320 nm (b): peaks:1) quercetin, 2) kaempferol, 3) luteolin, 4) acacetin, 5) naringin, 6) bis-methylated quercetin, 7) chrysin, 8) catechin, 9) epicatechin, 10) galangin, 11) pinocembrin, 12) carnosol, 13) thymol, 14) menthol, 15) myricetin, 16) ascorbic acid, 17) gallic acid, 18) caffeic acid, 19) *p*-coumaric acid, 20) chlorogenic acid, 21) quinic acid, 22) vanillic acid, 23) ferrulic acid, 24) ellagic acid, 25) trans-cinnamic.

A similar quantity of these compounds was shown in other investigations (37.37 mg GAE/g DE and 2.36 mg QE/g DE).³⁶ In contrast, it was noted that there were higher total phenolic and flavonoid

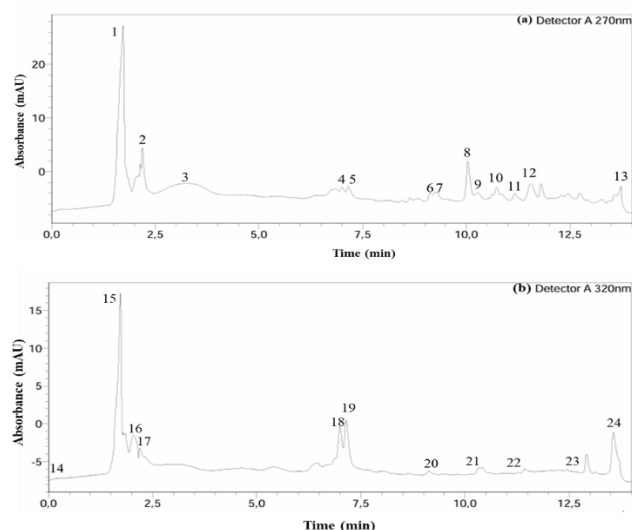


Figure 2: HPLC/UV chromatograms of MERO at 270 nm (a) and 320 nm (b): peaks:1) quercetin, 2) kaempferol, 3) luteolin, 4) bis-methylated quercetin, 5) chrysin, 6) catechin, 7) Epicatechin, 8) galangin, 9) pinocembrin, 10) carnosol, 11) thymol; 12) menthol, 13) myricetin, 14) ascorbic acid, 15) gallic acid, 16) caffeic acid, 17) *p*-coumaric acid, 18) ferrulic acid, 19) ellagic acid, 20) sinapic acid, 21) tannic acid, 22) carnosic acid, 23) syringic acid, 24) trans-cinnamic.

Antioxidant activity in vitro

The DPPH activity of *B. incrassatum* extracts is illustrated in Figures 4 and 5. At 1 mg/mL, MESE displayed 97.46% of RSA and an IC₅₀ of 0.23 mg/mL, following MEST (96.04%, IC₅₀ of 0.30 mg/mL) and MERO (40.16%, IC₅₀ of 1.68 mg/mL), respectively. It is observed that

extracts from seeds and stems have a lower IC_{50} than those from roots, while their activity is not as high as that of the reference compounds (Trolox and ascorbic acid) (Figures 4 and 5). Figures 6 and 7 show the ferric-reducing inhibition potential of *B. incrassatum* methanolic extracts.

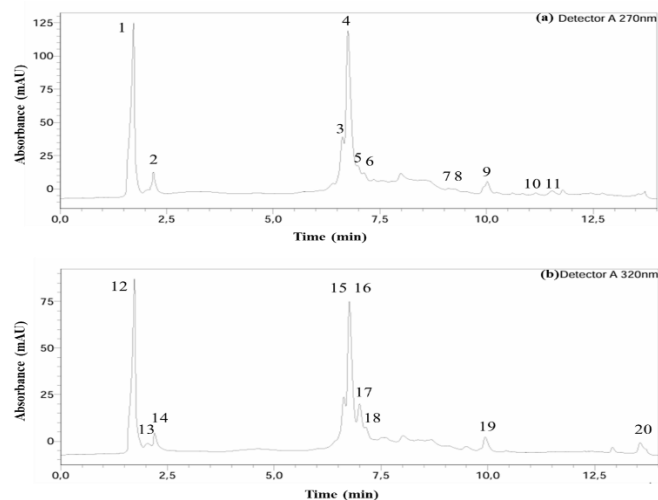


Figure 3: HPLC/UV chromatograms of MEST at 270 nm (a) and 320 nm (b): peaks: 1) quercetin, 2) kaempferol, 3) rutin, 4) fisetin, 5) naringin, 6) chrysin, 7) catechin, 8) epicatechin, 9) galangin, 10) thymol, 11) menthol, 12) gallic acid, 13) caffeic acid, 14) *p*-coumaric acid, 15) catechol, 16) vanillic acid, 17) ferrulic acid, 18) ellagic acid, 19) protocatechic acid, 20) trans-cinamic.

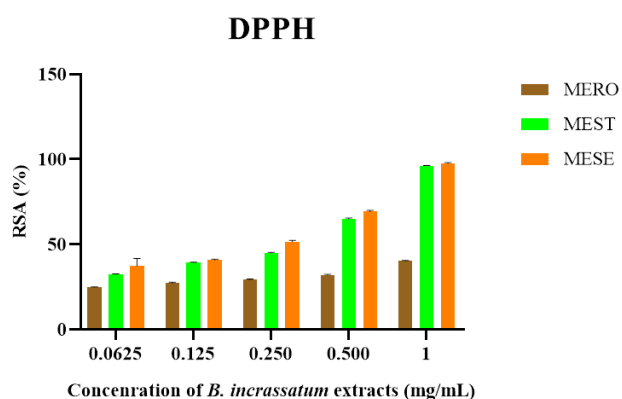


Figure 4: DPPH assay of *B. incrassatum* extracts. MESE: methanolic extract of seeds, MEST: methanolic extract of stems, MERO: methanolic extract of roots, DPPH: 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl, % RSA: radical scavenging activity percentage. Findings from three tests are shown as mean \pm standard deviation.

Seed and stem extracts had lower IC_{50} , 0.66 mg/mL and 0.73 mg/mL, respectively, than root extracts (1.09 mg/mL). Their reducing power (RP) is less than that of the references.

The same DPPH potency was appeared in *B. incrassatum* root methanolic extract (IC_{50} = 1.60 mg/mL) when compared to our result,³⁶ and lower than other findings with IC_{50} = 21.18 mg/mL.³² Whereas it was discovered a slightly greater anti-free radical impact (IC_{50} = 0.15 mg/mL) than ours in the seed methanolic extract of the same species.⁷ In the FRAP assay, antioxidants donate an electron to reduce ferric ions (Fe^{3+}) to ferrous ions (Fe^{2+}), modifying the reaction medium's colour from yellow to blue around 700 nm, whereas the absorbance intensity correlates to the antioxidant power. These plant-based phenolic compounds have redox properties that neutralise free radicals while also reducing iron ions. This conclusion aligns with previous reports.³⁸

Gallstones analysis

Figure 8 depicts the FTIR-ATR spectroscopic analysis of cholesterol gallstones. Massive gallstones are classified into three groups: low-weight cholesterol gallstones (LWCG) of 47.25 mg, medium-weight gallstones (MWCG) of 106.58 mg, and high-weight gallstones (HWCG) of 193.67 mg. Each weight group has 12 gallstones.

Litholytic activity in vitro

The litholytic activity of *B. incrassatum* extracts was evaluated *in vitro* in the presence of cholesterol gallstone groups (LWCG, MWCG, and HWCG) over 9 weeks (Figures. 9-11).

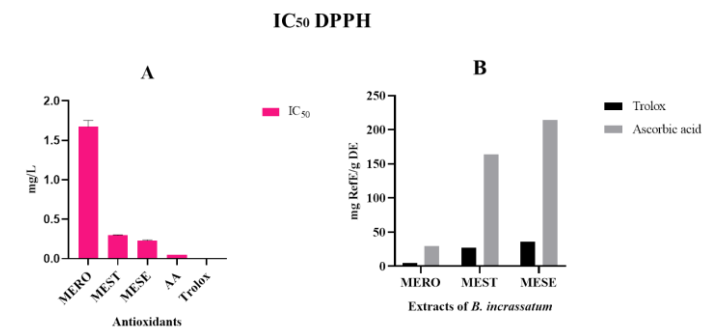


Figure 5: IC_{50} DPPH assay: A, IC_{50} (mg/mL) of *B. incrassatum* extracts and references, B, IC_{50} (mg RefE/g DE) of *B. incrassatum* extracts. MESE: methanolic extract of seeds, MEST: methanolic extract of stems, MERO: methanolic extract of roots, DPPH: 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl, IC_{50} : inhibitory concentration at 50%, mg RefE/g DE: milligrams of reference equivalent per gram of dry extract. Findings from three tests are shown as mean \pm standard deviation.

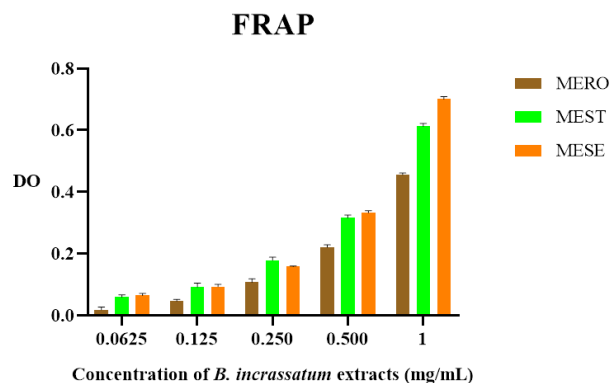


Figure 6: FRAP assay of *B. incrassatum* extracts. MESE: methanolic extract of seeds, MEST: methanolic extract of stems, MERO: methanolic extract of roots, FRAP: ferric-reducing antioxidant power, % RSA: radical scavenging activity percentage. Findings from three tests are shown as mean \pm standard deviation.

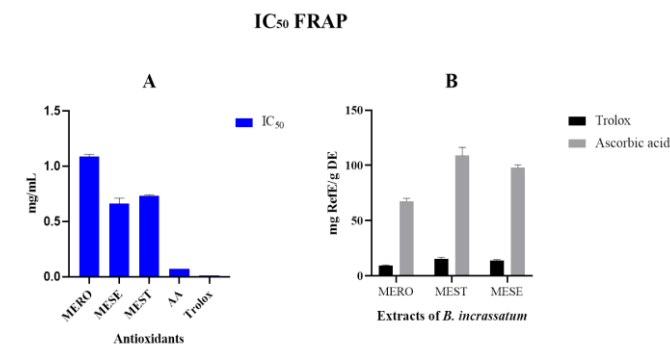


Figure 7: IC_{50} FRAP assay: A, IC_{50} (mg/mL) of *B. incrassatum*

extracts and references, B, IC₅₀ (mg RefE/g DE) of *B. incrasatum* extracts. MERO: methanolic extract of roots, MESE: methanolic extract of seeds, MEST: methanolic extract of stems, AA: ascorbic acid, FRAP: ferric-reducing antioxidant power, IC₅₀: inhibitory concentration at 50%, mg RefE/g DE: milligrams of reference equivalent per gram of dry extract. Findings from three tests are shown as mean ± standard deviation.

Effect of *B. incrasatum* extracts on the low-weight cholesterol gallstones group

The initial LWCG mass was 53 mg for MERO, 46.33 mg for MESE, 42.33 mg for MEST, and 47.33 mg for NaCl control. Complete dissolution of LWCG gallstones was observed in MERO in the first week (W1), MESE in the second week (W2), and MEST in the fourth week (W4). However, the NaCl control lost them at 6.33 mg, and gallstones-dissolving capacity was 13.29% at W4. Despite treatment settings, the LWCG noted greater mass loss over time ($P < 0.001$). *B. incrasatum* extracts significantly ($P < 0.001$) increased mass loss in the LWCG compared to the NaCl control (Figures. 9A, B, and 10A).

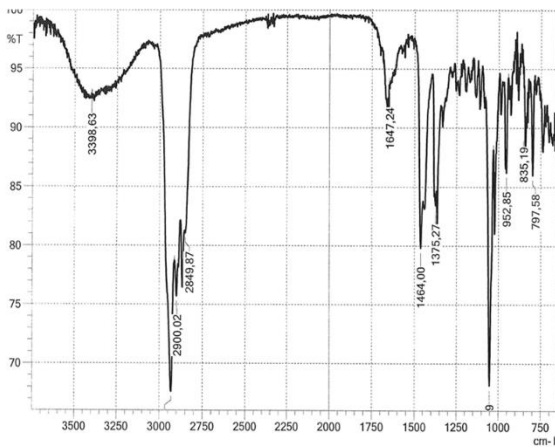


Figure 8: ATR-FTIR spectrum from cholesterol gallstones, acquired from 4000 to 725 cm⁻¹

Effect of *B. incrasatum* extracts on the medium-weight cholesterol gallstones group

The MWCG had initial masses of root, seed, and stem extracts, and NaCl control, with respective values of 97.33, 113.33, 112.33, and 103.33 mg. The MERO had a fully reduced weight and total dissolution of the MWCG in W4, MESE in W5, and MEST in W8, whereas the control exhibited a weight loss of 18.00 mg and 17.46% GDC in the final trial (W9). Across all treatment conditions, the MWCG saw substantial rises ($P < 0.001$) in mass loss during the course of treatment. The extracts significantly ($P < 0.001$) enhanced the MWCG mass loss more than NaCl (Figures. 9C, D, and 10B).

Effect of *B. incrasatum* extracts on the high-weight cholesterol gallstones group

According to Figures 9E, F, and 10C, the starting masses of MERO, MESE, MEST, and control for the HWCG were 192.33, 190.67, 192.67, and 199.00 mg, respectively. HWCG found total dissolution in W5 with MERO and W9 with MESE. The mass loss and gallstones-dissolving capacity for MEST and NaCl solutions were 188.00 mg, 97.58%, and 11.33 mg, 5.70%, respectively. The MWCG exhibited significantly higher mass reduction results ($P < 0.001$) in all of the treatment circumstances over the experimental period. The extracts tested elevated significantly ($P < 0.001$) HWCG mass losses versus the control throughout the study. The experiment displayed a highly substantial ($P < 0.001$) GDC increase than NaCl, with decreasing efficacy observed in the following order: root, seed, and stem extracts of this plant.

The dissolution of cholesterol gallstones occurs earlier in the presence of root extract, followed by seed and finally stem extracts, compared to the control one during the treatment period. This variation may be attributed to the quality, amount, and synergy of phenolic components in cholesterol gallstone dissolution. These findings suggested that the weight of cholesterol gallstones may impact mass loss.²⁵ While it was demonstrated that the GDC for high-weight cholesterol gallstones in *Citrus limon* juice and *Herniaria hirsuta* extracts was 72% and 26%,

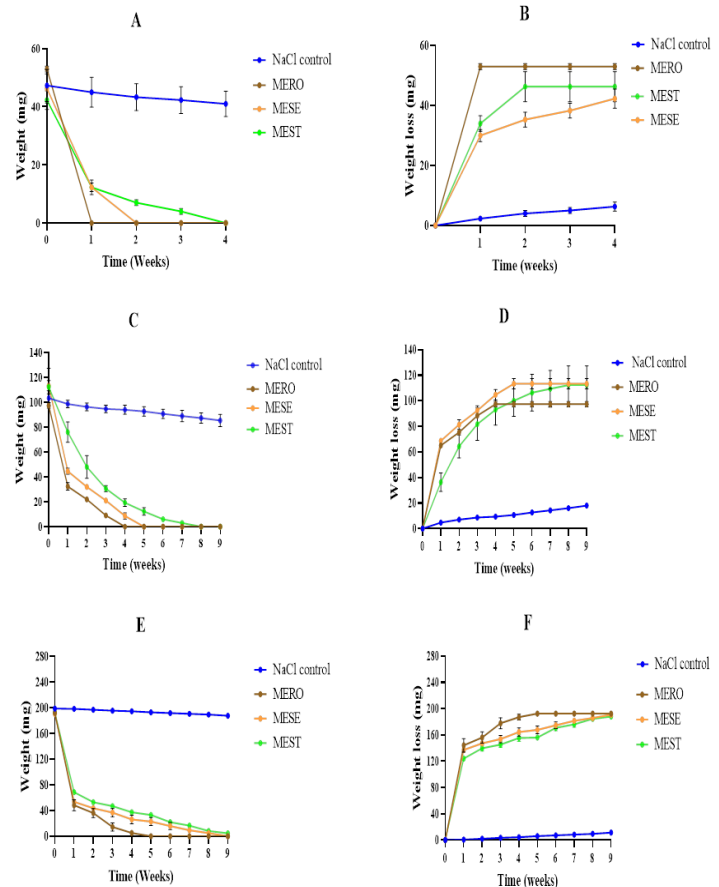


Figure 9: Evolution of cholesterol gallstone weight groups by *B. incrasatum* extracts as a time function: A, weight of low-weight cholesterol gallstones (LWCG), B, weight loss of low-weight cholesterol gallstones (LWCG), C, weight of medium-weight cholesterol gallstones (MWCG), D, weight loss of medium-weight cholesterol gallstones (MWCG), E, weight of high-weight cholesterol gallstones (HWCG), F, weight loss of high-weight cholesterol gallstones (HWCG). MESE: methanolic extract of seeds, MEST: methanolic extract of stems, MERO: methanolic extract of roots, NaCl control: sodium chloride control. Findings from three tests are shown as mean ± standard deviation. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ than the control.

respectively, after two weeks of exposure.³⁹ In contrast to these results, the *B. incrasatum* methanolic extracts tested have a more potent gallstone-dissolving capacity in the same experimental conditions.

pH progress

The pH evolution of litholytic activity is apparent in Figure 11. It was proved the initial pH values for root, seed, stem extracts, and NaCl control were 6.86, 6.41, 6.32, and 6.50, respectively. After four weeks, LWCG pH dropped to 4.63 for MERO, 4.81 for MESE, 5.10 for MEST, and 4.07 for control. MWCG pH lowers to 4.12 for MERO, 4.04 for MESE, 4.31 for MEST, and 2.92 for control. All these samples reduced HWCG pH values to 5.03, 4.64, 4.86, and 3.36, respectively, at the end

of the experiment (W9). A substantial decline ($P<0.05$) in pH was marked in all treated groups over time. Nonetheless, the pH values for the control and the plant extracts assessed were almost similar. Recent research revealed that the pH of the studied samples had no influence on the dissolution of cholesterol gallstones.²⁵ This result confirmed those recorded.

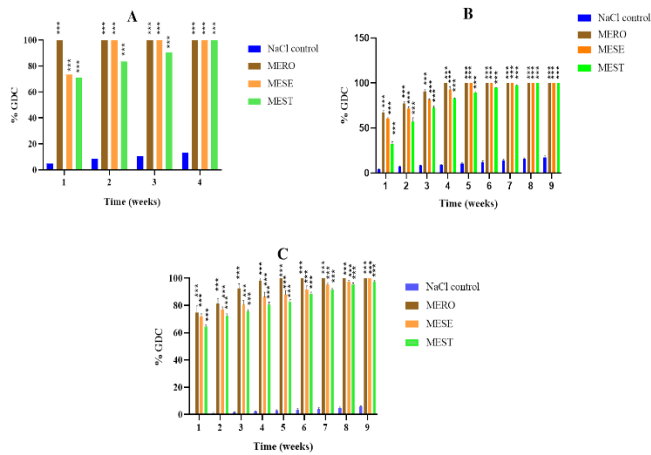


Figure 10: Kinetic evolution of the gallstones-dissolving capacity percentage (% GDC) of cholesterol gallstone weight groups by the extracts of *B. incrassatum* as a time function: A, low-weight cholesterol gallstones (LWCG), B, medium-weight cholesterol gallstones (MWCG), C, high-weight cholesterol gallstones (HWCG). MESE: methanolic extract of seeds, MEST: methanolic extract of stems, MERO: methanolic extract of roots, NaCl control: sodium chloride control, % GDC, gallstones-dissolving capacity percentage. Findings from three tests are shown as mean \pm standard deviation. * $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$ than the control.

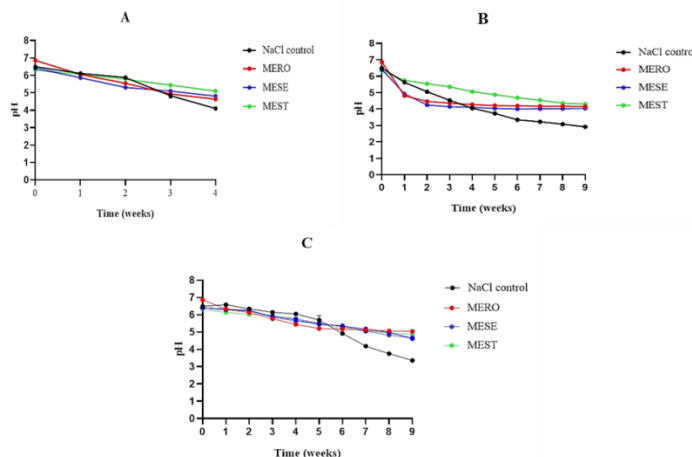


Figure 11: Progress of pH in *B. incrassatum* extracts in the presence of cholesterol gallstone weight groups as a time function: A, low-weight cholesterol gallstones (LWCG), B, medium-weight cholesterol gallstones (MWCG), C, high-weight cholesterol gallstones (HWCG). MESE: methanolic extract of seeds, MEST: methanolic extract of stems, MERO: methanolic extract of roots, NaCl control: sodium chloride control. Findings from three tests are shown

as mean \pm standard deviation. * $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$ than the control.

Conclusion

This research revealed that Algerian *Bunium incrassatum* extracts possessed a high phenolic content and demonstrated a powerful antioxidant capacity, serving as radical scavengers and ferric ion reducers. Furthermore, these extracts showed a strong litholytic effect on cholesterol gallstones *in vitro*, conferring an important pharmacological potential for *B. incrassatum* is a natural source of bioactive chemicals for the pharmaceutical sector.

Conflict of Interest

The authors declare no conflict of interest.

Authors' Declaration

The authors hereby declare that the work presented in this article is original and that any liability for claims relating to the content of this article will be borne by them.

Acknowledgments

The authors express gratitude to the Higher Education and Scientific Research Ministry (Algeria), Abdelhamid Ibn Badis University (Mostaganem, Algeria), for the PRFU (Research Projects University Formation) (D00L01UN270120220001), which financed this work, and Hassiba Benbouali (Chlef, Algeria) University. Furthermore, the authors would like to extend their thanks to Dr. Fatima Zohra SEKKAL of the Department of Biology, Abdelhamid Ibn Badis University (Mostaganem, Algeria), for plant identification.

References

- Vo TT, Tuan A, Phan T, Lam uy T, Tran NT, Le HM. The *In Vivo* Anti-Inflammatory Effects of Qt-2 (A Traditional Medicine Remedy) Water Extract. *Trop J Nat Prod Res.* 2023; 7:5178-5182.
- Amelia R, Putra Pahlevi MF, Ash-Shiddiq Ikhshan AA, Andini N, Nadiyah S. Herbal Medicine as an Alternative Management for Prediabetes: A Review. *Trop J Nat Prod Res.* 2024; 8:9701-9707.
- Ubhenin AE, Ikebuiro JO, Idris RI, Anura F, Erharuyi O. Exploring Mechanisms of Tumorigenesis and Plant-Based Therapies: A Comprehensive Review of Cancer Pathogenesis and Treatment Strategies. *Trop J Nat Prod Res.* 2023; 7:5026-5033.
- Parvez MK. Natural or plant products for the treatment of neurological disorders: current knowledge. *Curr Drug Metab.* 2018; 19:424-428.
- Masihuddin M, Ma J, Siddiqui A, Chaudhary S. Traditional uses, phytochemistry, and pharmacological activities of Amla with special reference of Unani medicine-an updated review. *Asian J Pharm Clin Res.* 2019; 12:70-74.
- Saini R, Sharma N, Oladeji OS, Sourirajan A, Dev K, Zengin G, El-Shazly M, Kumar V. Traditional uses, bioactive composition, pharmacology, and toxicology of *Phyllanthus emblica* fruits: A comprehensive review. *J Ethnopharmacol.* 2022; 282:114570.
- Toul F, Djendar A, Seladji M, Berroukeche F. Algerian *Bunium incrassatum* Seeds: Effects of Extraction Solvent Polarity on Phenolic Profile and Antioxidant Activity. *J Turkish Chem Soc Sect A Chem.* 2022; 9:415-422.
- Demidowicz G, Lasota N, Trąbka N, et al. Cholelithiasis-current knowledge about one of the most common diseases of the digestive system. *J Educ Heal Sport.* 2023; 38:258-276.
- Tazuma S. Bile Acids and Gallstones: Epidemiology, Pathogenesis, Diagnosis, and Management. *Bile Acids*

- Gastroenterol Basic Clin. 2017;93:107.
10. Triantafyllou T, van der Sluis P, Skipworth R, Wijnhoven BPL. The Implementation of Minimally Invasive Surgery in the Treatment of Esophageal Cancer: A Step Toward Better Outcomes? *Oncol Ther.* 2022; 10:337-349.
 11. Mashina E V, Amosova OE, Shanina SN. Gallstones: Chemical and Amino Acid Composition. In: *Minerals: Structure, Properties, Methods of Investigation: Proceedings of the 10th All-Russian Youth Scientific Conference.* Springer. 2020:131-139.
 12. Mi N, Liang Z, Yang M, Zhao J, Tian L, Huang C, Xie P, Wu S, He Q, Sun Y. Genetic risk, adherence to healthy lifestyle behaviors, and risk of cholelithiasis: A population-based cohort study. *Prev Med (Baltim).* 2024; 182:107942.
 13. Hendarto H, Akbar FN, Muzakki JB, Amri RA, Nugraha SNA, Adlani H. Obesity, dyslipidemia, and diabetes mellitus as risk factors in cholelithiasis. *Electron J Gen Med.* 2023; 20:1-6
 14. Akmal AM, Putra BP, Darmaningrat C, Nariswari IGARC SLD, Budyono C. Management of Cholelithiasis with Concomitant Choledocholithiasis. *Acta Med Indones.* 2022; 54:151-157.
 15. Arrout A, El Ghallab Y, Yafout M, Lefriyekh MR, Said AAH. Medicinal plants for gallstones: A cross-sectional survey of Moroccan patients. *Phytomedicine Plus.* 2024; 4:100524.
 16. Hasanein P, Felehgari Z, Emamjomeh A. Preventive effects of *Salvia officinalis* L. against learning and memory deficit induced by diabetes in rats: Possible hypoglycaemic and antioxidant mechanisms. *Neurosci Lett.* 2016; 622:72-77.
 17. Altemimi A, Lakhssassi N, Baharlouei A, Watson DG, Lightfoot DA. Phytochemicals: Extraction, isolation, and identification of bioactive compounds from plant extracts. *Plants.* 2017; 6:42
 18. Chaa S, Boufadi MY, Keddari S, Benchaib AH, Soubhye J, Van A, Riaz A. Chemical composition of propolis extract and its effects on epirubicin-induced hepatotoxicity in rats. *Rev Bras Farmacogn.* 2019; 29:294-300.
 19. Ali Haimoud S, Allem R. Algerian date palm (*Phoenix dactylifera* L.) fruit cultivars: HPLC fingerprinting and antibacterial activity. *Foods Raw Mater.* 2023; 11:17-24.
 20. Guenane H, Rezzoug M, Bakchiche B, Cheraif K, Mohamed AS, El-Shazly MAM. Antioxidant Properties and Mineral Contents of Different Solvent Extracts of Some Medicinal Plants Cultivated in Algeria. *Trop J Nat Prod Res.* 2024; 8:5987.
 21. Ijoma KI, Ajiwe VIE, Odinma SC. The organic extracts from the leaves of *Ficus thonningii* Blume, *Jatropha tanjorensis* JL Ellis and *Saroja* and *Justicia carnea* Lindley as potential nutraceutical antioxidants and functional foods. *Trends Phytochem Res.* 2023; 7:76-85.
 22. Simanjuntak HA, Ginting JG, Purba H, Purba H, Zega DF, Singarimbun NB, Barus LB, Situmorang TS. GC-MS Analysis, Antidiarrhoeal, and *In Vitro* Antioxidant Activities of Ethanol Extract of *Blumea balsamifera* (L.) DC. Leaves from North Sumatra Province. *Trop J Nat Prod Res.* 2024; *amaryllifolius* Roxb) Leaves Extract. *J Biochem , Microbiol.* 2024; 12:9-11.
 35. Haido MH, Matti AH, Taher SM. Optimization of Extraction Conditions of Bioactive Compounds From Kurdistan Species *Urtica dioica*. *Cureus.* 2024; 16:1-12.
 36. Aiouaz M, Bitam A. the improvement of thyroid tissue damages in female rats. *Fundam Appl Pharm Sci.* 2022; 2:92-108
 37. Čujić N, Šavikin K, Janković T, Pljevljakušić D, Zdunić G, Ibrić S. Optimization of polyphenols extraction from dried chokeberry using maceration as traditional technique. *Food Chem.* 2016; 194:135-142.
 23. Chantan W, Kanchanarach W, Noppawan P, et al. Total Phenolics, Flavonoids Contents and Antioxidant Activity in Different Flavor Plants in Northeast (Isaan) Thailand: Enhancing Commercial Value. *Trop J Nat Prod Res.* 2023; 7:5115-5122.
 24. Okafor CE, Ijoma IK, Igboamalu CA, Ezebalu CE, Eze CF, Osita-Chikeze JC, Uzor CE, Ekwuekwe AL. Secondary metabolites, spectra characterization, and antioxidant correlation analysis of the polar and nonpolar extracts of *Bryophyllum pinnatum* (Lam) Oken. *BioTechnologia.* 2024; 105:121-136.
 25. Amoura NB, Benkirat N el I, Boughendjioua H, Adjailia-Farah I. Evaluation of the dissolution capacity of gallstones from *Malva sylvestris* L. *Société Bull R of Sci Liege.* 2018; 87:56-61.
 26. Errabiti B, El Aabedy A, Er-Rahmani S, El Abed S, Koraichi SI. Antimicrobial Effects of Tannic and Gallic Acids: A Study on 3D-Printed Polylactic Acid Surfaces Against *P. aeruginosa* and *S. aureus*. *Trop J Nat Prod Res.* 2024; 8:8753-8763.
 27. Moutawalli A, Benkhoulil FZ, El-Guourrami O, El-Otmani N, El Ouazzani F, Zengin G, Cakir O, Yilmaz MA, Benzeid H, Doukkali A. HPLC-MS/MS Profile, Analgesic and Anti-inflammatory Activities of *Lawsonia inermis* Seed Fractions. *Trop J Nat Prod Res Available.* 2024; 8:9406-9413.
 28. Das S, Gurupadayya B, Vikram HPR, Shanmukha I, Neogi A, Namitha B. Phytochemical Analysis of Quercetin, Catechol and Tannic Acid in Ethanol Extract of *Barleria Prionitis* Linn Leaf by RP-HPLC Technique. *Trop J Nat Prod Res.* 2022; 6:1990-1999.
 29. Urama DC, Omeje KO, Ezema BO, Ozioko JN, Omeje HC, Ezinne U. High performance liquid chromatography profiling of *Dennettia tripetala* leaf extract and its biological activities. *Trop J Nat Prod Res.* 2020; 4:995-999.
 30. Nhung KC, Bach TT, Hue VT, Ha BT, Thanh LN. Chemical Constituents and Biological Activities of *Commersonia bartramia* Stems. *Trop J Nat Prod Res.* 2023; 7:3147-3152.
 31. Bousetla A, Zellagui A, Derouiche K, Rhouati S. Chemical constituents of the roots of Algerian *Bunium incrassatum* and evaluation of its antimicrobial activity. *Arab J Chem.* 2015; 8:313-316.
 32. Dehimi K, Zouina D, Boulaouad Ani, Maadadi AR, Dahamna S, Khennouf S. A Contribution to the Valorization of Two Medicinal Plants: *Atriplex Halimus* Sub. Sp. *Schwein furthii* and *Bunium incrassatum*, Growing in the Region of M'sila (North-East Algeria). *Indian J Nov Drug Deliv.* 2020; 12:208-216.
 33. Bouslamti M, El Barnossi A, Kara M, Alotaibi BS, Al Kamaly O, Assouguem A, Lyoussi B, Benjelloun AS. Total Polyphenols Content, Antioxidant and Antimicrobial Activities of Leaves of *Solanum elaeagnifolium* Cav. from Morocco. *Molecules.* 2022; 27:4322.
 34. Ghazali AM, Umar NB, Hussain N. Application of Different Aqueous Ultrasound-assisted Extraction Process Parameters on the Quality of Pandan (*Pandanus* chokeberry using maceration as traditional technique. *Food Chem.* 2016; 194:135-142.
 38. Shahidi F, Ambigaipalan P. Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects—A review. *J Funct Foods.* 2015; 18:820-897.
 39. Chekroune M, Benamara S. Gallstones-dissolving capacity of lemon (*Citrus limon*) juice, *Herniaria hirsuta* L. extract and lemon juice-based natural vinaigrette *in vitro*. *Indian J Tradit Knowl.* 2017; 16:197-202.