

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Université Frères Mentouri Constantine1
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Animale

N° d'ordre :

N° de série :



Thèse de Doctorat
Présentée pour obtenir le diplôme de Doctorat 3^{ème} cycle
Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie
Filière : Biotechnologie, Biologie et Environnement
Spécialité : **Physio-Toxicologie Cellulaire**

Présentée et soutenue par :

SAKRANI Ibtissem

Intitulée :

**L'effet préventif des polyphénols du *Capparis spinosa*
sur les altérations cellulaires pancréatiques et
cérébrales des rats rendus diabétiques à la
streptozotocine.**

Membres du jury :

Président :	Pr. AMEDDAH Souad	Université des Frères Mentouri Constantine1
Directeur de thèse :	Dr. BENREBAI Mouad	Université des Frères Mentouri Constantine1
Examineurs :	Pr. LALAOUI Korichi	Université des Frères Mentouri Constantine1
	Pr. AMIRA Ismain	Université de Ferhat Abbas Université Setif 1
	Dr. HANFAR Mourad	Université de Mustapha Ben Boulaid Batna 2

**Année universitaire
2022/2023**

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

" وَمَا تَوْفِيقِي إِلَّا بِاللَّهِ عَلَيْهِ تَوَكَّلْتُ وَإِلَيْهِ أُنِيبُ "

صدق الله العظيم

Dédicace

Je dédie ce travail:

À mes très chers parents, pour votre soutien, affection et amour, votre confiance et patience et pour votre sacrifice infinis. Ce travail est le résultat de l'esprit de sacrifice dont vous avez fait preuve, de l'encouragement et le soutien que vous ne cessez de manifester, j'espère que vous y trouverez les fruits de votre semence. J'implore Dieu, tout puissant vous combler de santé, de bonheur et vous procurer une longue vie.

À mon cher mari BOUBAKER, Je ne saurais exprimer ma profonde reconnaissance pour le soutien continu dont tu as toujours fait preuve. Tu m'as toujours encouragé pendant toute la durée de ce travail.

À mes enfants DJAD et DJOUD, vous êtes ce que la vie m'a donné de plus beau, la source de mon bonheur, que dieu les protège.

À ma sœur unique SAMIRA, Aucune dédicace ne peut exprimer mon amour et ma gratitude de t'avoir comme sœur. Je ne pourrais jamais imaginer la vie sans toi, tu comptes énormément pour moi, je n'oublierais jamais ton encouragement et ton soutien le long de mes études, je t'estime beaucoup et je t'aime beaucoup. Je te souhaite beaucoup de succès et une vie pleine de joie et de bonheur.

À mes chères frères CHAOUKI, HAKIM, RAMZI et RAGHEB. Que Dieu les protège et leurs offre la chance et le bonheur.

À tous mes neveux et nièces

À mes chères amies Kenza et Nesrine qui m'ont toujours encouragé.

IBTISSEM SAKRANI

Remerciements

Nous remercions en premier lieu ALLAH le tout puissant, qui m'a donné la volonté, le courage et la patience lors de toutes ces années d'étude.

*Mes profonds remerciements s'adressent à mon encadreur **Dr. BENREBAI Mouad** pour avoir accepté de diriger ce travail, pour son aide, ses encouragements, sa patience, tout au long de la réalisation de cette thèse.*

*J'adresse mes vifs remerciements aux membres du jury pour l'honneur qui m'ont fait en acceptant de participer à ce jury de thèse. Je remercie Madame le Professeur **AMEDDAH Souad**, qui me fait l'honneur de présider ce jury. Mes remerciements également à Monsieur le Professeur **LALAOUI Korichi**, Monsieur le Professeur **AMIRA Ismain**, et Monsieur le Dr **HANFAR Mourad** qui ont accepté d'examiner et de juger mon travail. Soyez assuré de ma gratitude et mon profond respect.*

*Avec tous mes respects je tiens à vous remercier Monsieur le Professeur **MANED Ahmed** pour son aide concernant les statistiques, pour sa disponibilité et pour ses conseils qu'il n'a jamais hésité à me les donner avec un grand cœur généreux.*

*Je tiens à exprimer ma profonde reconnaissance aux professeurs Monsieur **ERENLER Ramazan** et Monsieur **CACAN Ercan** de l'université Tokat Gaziosmanpasa, Tokat, Turquie pour m'avoir accueilli au sein de ses laboratoires pour la réalisation de mon stage, je tiens à vous remercier sincèrement de votre intérêt et de votre accueil chaleureux.*

*Mes sincères remerciements s'adressent aussi à Monsieur **BOULDJADJ Redouane**, pour son aide inestimable, ses conseils, et sa générosité scientifique. Merci pour votre soutien et votre gentillesse.*

*J'exprime également ma profonde reconnaissance et mes respects à Monsieur **BAHRI Laid**, pour son aide précieuse et sa disponibilité durant mon expérimentation au niveau de l'animalerie.*

*Un Merci tout particulier à ma chère amie Docteur **HEYEM**, ma chère sœur qui m'a toujours soutenu, encouragé et conseillé dans toutes les situations, je t'aime Heyouma.*

Je tiens ensuite à remercier tous mes enseignants et les membres du laboratoire de Biologie et environnement.

Je voudrais aussi remercier toutes personnes ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Résumé

Cette étude a été conçue pour évaluer les effets antidiabétiques, antioxydants et anti-inflammatoires de l'extrait n-BuOH de *Capparis spinosa* chez des rats Wistar rendus diabétiques à la streptozotocine (STZ) à l'égard des complications pancréatiques et cérébrales. Les études *in vitro* ont révélé que le BECS possédait une forte activité antioxydante en utilisant différents dosages (DPPH°, ABTS•+, pouvoir réducteur, test de phosphomolybdate) et une activité antidiabétique élevée (activité inhibitrice de l' α -glucosidase et α -amylase). D'autre part, le BECS n'a montré aucune toxicité contre les lignées cellulaires de cancer du cerveau C6. Concernant l'étude *in vivo*, le traitement des rats au BECS (200 mg/Kg) pendant une période de 28 jours a considérablement atténué les effets indésirables du diabète induit par la STZ (60 mg/Kg). Une diminution de la glycémie et des taux d'HbA1C a été observée dans le groupe BECS-STZ, associée à une amélioration des taux d'insuline plasmique et cérébrale. Le groupe traité par le BECS a montré une amélioration des concentrations plasmiqes de peptide C, d'AGE et de CK-BB. Le BECS a également réduit le profil lipidique des rats traités à la STZ. Parallèlement, le niveau de la MDA pancréatique est réduit et les paramètres du statut redox sont améliorés chez les rats diabétiques. Par ailleurs, une résurrection de l'intégrité de la membrane neuronale a été manifestée dans le groupe BECS-STZ, comme en témoigne l'augmentation de l'activité cérébrale de la LDH et la réduction du niveau de la MDA cérébrale. De plus, le traitement des rats par le BECS a permis de réguler les marqueurs du dysfonctionnement cérébral (activités AChE, BChE, niveaux du glutamate et de la dopamine). Le traitement des rats avec le BECS a également rétabli les niveaux de la SOD, de la CAT à des niveaux normaux. En ce qui concerne les niveaux de (IL-6, TNF- α et NO) produits par les effets de la STZ, le BECS a régulé ces médiateurs inflammatoires. De tous ces résultats, les effets antioxydants et anti-inflammatoires du BECS pourraient être dus à sa richesse en polyphénols identifiés par l'analyse LC-MS/MS, principalement l'acide chlorogénique et la rutine, ainsi que les interactions synergiques de tous les contenus. En outre, l'histopathologie du pancréas et du cerveau confirme l'effet protecteur du BECS dans le diabète induit par la STZ chez les animaux. Les résultats indiquent clairement que le traitement par le BECS exerce un effet protecteur contre le diabète en diminuant le stress oxydatif, la neuro-inflammation en modulant les concentrations élevées du glucose.

Mots clés : Diabète, Streptozotocine, *Capparis spinosa*, Stress oxydatif, Inflammation.

Abstract

This study was designed to evaluate the antioxidant, antidiabetic and anti-inflammatory effects of *n*-BuOH extract of *Capparis spinosa* in streptozotocin (STZ)-induced diabetic Wistar rats in the case of pancreatic and cerebral complications. The *in vitro* studies revealed that BECS possessed a strong antioxidant activity by using different assays (DPPH°, ABTS•+, Reducing power and phosphomolybdenum) and high antidiabetic activity (inhibitory activity of α -glucosidase and α -amylase). On the other hand the BECS has no toxicity against C6 brain cancer cell lines. Concerning the *in vivo* study, the treatment of rats with BECS (200 mg/kg) for a period of 28 days significantly attenuated the adverse effects of STZ-induced diabetes (60 mg/kg). A decrease in blood glucose and HbA1C levels was noted in the BECS-STZ group, associated with a significant improvement in serum and brain insulin levels. The BECS-treated group showed a significant improvement in serum C-peptide, serum AGE and serum CK-BB levels. BECS has also restricted lipid profile in STZ-treated rats. Meanwhile, reduced pancreatic MDA and enhanced redox status parameters in diabetic rats was observed. Otherwise, a resurrection of neuronal membrane integrity was manifested in the BECS+STZ group, as evidenced by increased brain LDH activity and reduced brain MDA level. Furthermore, treatment of STZ-treated rat with BECS was able to significantly regulate biomarkers of brain dysfunction (AChE and BChE activities, glutamate and dopamine levels). Additionally, treatment of rats with BECS efficacy restored the SOD, CAT levels and GSH-system enzymes towards normal levels. Regarding the levels of (IL-6, TNF- α , and NO) produced by diabetogenic effects of STZ, the BECS successfully regulated these inflammatory mediators. From all these results, the antioxidant and anti-inflammatory effects of BECS could be due to its richness in polyphenols identified by LC-MS/MS analysis, mainly chlorogenic acid and rutin, as well as the synergistic interactions of all contents. Further, the histopathology of pancreas and brain confirms the protective effect of *C. spinosa* in STZ-induction diabetes in animals. Results clearly indicate that *C. spinosa* treatment exerts a therapeutic protective effect in diabetes by decreasing oxidative stress, neuro-inflammation, and modulating high glucose levels.

Key words: Diabetes, Streptozotocin, *Capparis spinosa*, Oxidative stress, Inflammation.

الملخص

تم تصميم هذه الدراسة لتقييم التأثيرات المضادة لمرض السكري، مضادات الأكسدة والالتهاب للمستخلص البيوتكنولوجي لنبات *Capparis spinosa* عند جرذان محقونة بمادة Streptozotocine، إضافة إلى اختبارها في الحد من بعض مضاعفات داء السكري التي تمس كل من البنكرياس والدماغ. كشفت الدراسات المخبرية *in vitro* أن BECS كان لها نشاط مرتفع مضاد للأكسدة باستعمال نماذج الاثر المضاد للأكسدة (DPPH° ، ABTS•+ ، الفعل الاختزالي، اختبار فوسفوموليبيدات) إضافة إلى النشاط العالي المضاد لمرض السكري (أثر تثبيطي لنشاط كل من α -glucosidase و α -amylase). من ناحية أخرى، لم تظهر النبتة أي سمية لخلايا سرطان الدماغ C6. فيما يتعلق بالدراسة *in vivo*، معالجة الجرذان بمستخلص BECS (200مغ/كغ) على مدى 28 يوماً خفضت بشكل كبير الآثار الضارة لمرض السكري الناجم عن STZ (60 مغ/كغ). انخفاض نسبة السكر في الدم و معدلات HbA1C تم تسجيلها عند مجموعة الجرذان المعالجة بمستخلص BECS مرفوقة بتحسين كبير في مستويات الأنسولين على مستوى المصل والدماغ. كما أظهرت النتائج أن نفس المجموعة قد سجلت تحسناً كبيراً في معدل كل من الببتيد C ، AGE ، CK- BB في المصل متبوعة بتحسين مستوى الدهون أيضاً. لقد حقق المستخلص استجابة معتبرة في خفض الإجهاد التأكسدي باختزال ال MDA و تحسين مستويات CAT ، SOD و النظام الجلوتاثيوني (GST ، GPx ، GSH) كما أنه تم إثبات سلامة الغشاء العصبي في المجموعة المعالجة بمستخلص BECS (زيادة نشاط الدماغ لـ LDH وانخفاض مستوى MDA في الدماغ). إضافة إلى ذلك، فإن علاج الفئران بمستخلص BECS ساعد في تنظيم ضعف الدماغ (أنشطة AChE و BChE، مستويات Dopamine و Glutamate) كما ساهم بفعالية كبيرة على إعادة إنزيمات SOD و CAT و GSH إلى المستويات الطبيعية. من ناحية أخرى تمكن المستخلص من تنظيم مستويات عوامل الالتهاب (TNF- α ، IL-6 ، NO). من بين هذه النتائج يمكن الإستخلاص ان كل من الأثر المضاد للأكسدة و الأثر المضاد للإلتهاب لمستخلص BECS يعود لإحتوائه على كمية كبيرة من البوليفينول الذي حدده تحليل LC-MS/MS، وخاصة حمض الكلوروجينيك والروتين. اثبتت الدراسة النسيجية للبنكرياس والدماغ التأثير الوقائي لمستخلص BECS من اختلالات مرض السكري الناجم عن STZ. تشير النتائج بوضوح إلى أن استخدام مستخلص BECS له تأثير علاجي وقائي ضد مرض السكري عن طريق تقليل الإجهاد التأكسدي والالتهاب العصبي وتعديل مستويات الجلوكوز العالية.

الكلمات المفتاحية: داء السكري ، Streptozotocine ، *Capparis spinosa* ، الإجهاد التأكسدي، الالتهاب.

Liste des abréviations

4-HNE	4-hydroxy-2,3-nonéal
8-OHdG	8-hydroxy-2-désoxyguanosine
AChE	Acétylcholinestérase
AGE	Advanced glycation end products
AGNE	Acides gras non estérifiés
ALE	Advanced lipoxidation end-products
BChE	Butyrylcholinestérase
BECS	Butanolic extract of <i>C.spinosa</i>
CK-BB	Créatine kinase BB
CRP	C-reactive protein
CTGF	Connective tissue growth factor
DAG	Diacylglycérol
DDP-4	Dipeptidylpeptidase-4
DG	Diabète gestationnel
DHAP	Dihydroxyacetone Phosphate
DID	Diabète insulino-dépendant
DNID	Diabète non insulino-dépendant
F6P	Fructose-6 phosphate
G6P	Glucose-6 phosphate
GAP	Glyceraldehyde 3-phosphate
GAPDH	Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase
GFAT	Glutamine fructose-6 phosphate aminotransférase
GlucN-6-P	Glucosamine-6 phosphate
GLUT	Glucose transporter proteins
GSK-3	Glycogène synthase kinase 3
HbA1C	Hémoglobine A 1 C
hs-CRP	high-sensitivity C-reactive protein
IGF	Insulin growth factor
IKK-β	Inhibiteur de la sous-unité bêta du facteur nucléaire kappa-B kinase
IL	Interleukine
IR	Récepteurs de l'insuline
IRS	Insulin receptor substrate
INF-γ	Interferon-γ

Liste des abréviations

LC-MS	Liquid chromatography – mass spectrometry
LOD	Limit of Detection
LOQ	Limit of quantification
LOX	Oxygèneoxygène liquide
MafA	Facteur de transcription
MCP-1	Monocyte chemoattractant protein 1
MEF2	Myocyte enhancer factor-2
MIDD	Maternally Inherited Diabetes and Deafness
MODY	Maturity- Onest Diabetes millitus of the Young
mTOR	mammalian target of rapamycin
NF- Kb	Nuclear factor-kappa B
NGF	Nerve growth factor
NPD	Neuropathie diabétique
OGT	O-N-Acétyle-GluN transférase
OGTT	Oral glucose tolerance test
PAI-1	Plasminogen activator inhibitor-1
PARP-1	Poly [ADP-ribose] polymerase 1
PC	Pancréatite chronique
Pdx-1	Facteur 1 du promoteur de l'insuline
PI3K	Phosphoinositide 3-kinase
PPAR-γ	Peroxisome proliferator-activated receptors γ
RAGEs	Receptor for advanced glycation end products
STZ	Streptozotocine
TGF-β	Transforming Growth Factor-B
TLR4	Toll Like Receptor 4
TNF- α	Tumor necrosis factors α
TZD	Thiazolidinédiones
UDP-GlucNAc	Uridine diphosphate N-acétylglucosamine

Figures	Page
Figure 1.1 : Présentation des cellules de l'îlot pancréatique	05
Figure 1.2 : Biosynthèse de l'insuline au sein de la cellule β pancréatique	06
Figure 1.3 : Mécanismes cellulaires de la sécrétion d'insuline dans les cellules B (ou bêta) pancréatiques.	07
Figure 1.4 : Principaux rôles physiologiques de l'insuline.	08
Figure 1.5 : Complications chroniques du diabète.	13
Figure 1.6 : Pathogénèse de la neuropathie diabétique.	15
Figure 2.1 : Mécanismes métaboliques impliqués dans l'apparition du stress oxydant au cours du diabète.	20
Figure 2.2 : Auto-oxydation du glucose	22
Figure 2.3: Hyperactivité de la voie des polyols dans le diabète	23
Figure 2.4 : Activation de la protéine kinase C et induction du stress oxydant au cours de l'hyperglycémie.	25
Figure 2.5 : Voie des hexosamines au cours d'hyperglycémie	27
Figure 2.6 : Les voies de formation des AGEs (la réaction de Maillard, la voie des polyols et la peroxydation lipidique).	28
Figure 2.7 : Mécanismes possibles des effets délétères de l'hyperglycémie	30
Figure 3.1 : Diagramme illustrant certains des principaux mécanismes d'origine végétale de l'activité antidiabétique	38
Figure 3.2 : <i>Capparis spinosa</i>	43
Figure 4.1: Diagramme des différentes étapes de l'extraction des parties aériennes de la plante <i>Capparis spinosa</i> .	52
Figure 4.2 : Réaction de test DPPH°.	56
Figure 4.3 : Mécanisme réactionnel intervenant lors du test FRAP entre le complexe ferricyanide ferrique Fe (III) et un antioxydant (AH).	58
Figure 4.4 : Réaction réversible de la transformation du lactate en pyruvate.	65
Figure 4.5 : Réaction d'un milieu biologique avec l'acide thiobarbiturique.	67
Figure 4.6 : Interaction entre le DTNB et le GSH.	67
Figure 5.1 : Le profile LC-MS/MS de l'extrait <i>n</i> -BuOH de <i>C.spinosa</i> .	72
Figure 5.2 : Pourcentages d'inhibition du radicale DPPH° des antioxydants de références et du BECS.	74

Figure 5.3 : La capacité antioxydante totale du BECS et des antioxydants de référence.	75
Figure 5.4 : Courbe représentant le pourcentage d'inhibition du radical ABTS ^{•+} du BECS et les antioxydants de référence.	76
Figure 5.5 : Evaluation de l'activité antioxydante du BECS par la méthode FRAP	77
Figure 5.6 : Effet de cytotoxicité du BECS contre les lignées cellulaires du cancer du cerveau humain C6 (dosage SRB).	77
Figure 5.7: Effet du BECS (200 mg/Kg) sur le niveau de CK-BB et l'activité de la LDH dans le cerveau des rats rendus diabétiques à la STZ.	85
Figure 5.8 : Effet du BECS (200 mg/Kg) sur l'activité AchE et l'activité BchE dans le cerveau des rats rendus diabétiques à la STZ.	86
Figure 5.9 : Effet du BECS (200 mg/Kg) sur les niveaux de la dopamine et du glutamate dans le cerveau des rats rendus diabétiques à la STZ.	87
Figure 5.10 : Effet du BECS (200 mg/kg) sur les paramètres inflammatoires dans le cerveau des rats rendus diabétiques à la STZ.	88
Figure 5.11 : Effet du BECS (200 mg/Kg) sur le niveau de l'MDA dans le cerveau des rats rendus diabétiques à la STZ.	89
Figure 5.12 : Effet du BECS (200 mg/Kg) sur les enzymes métabolisant le glutathion dans le cerveau des rats rendus diabétiques à la STZ.	90
Figure 5.13 : Effet du BECS (200 mg/Kg) sur les activités enzymatiques SOD et CAT cérébrale chez les rats rendus diabétiques à la STZ.	91
Figure 5.14 (a, b) : Effet du BECS (200 mg/Kg) sur les marqueurs du stress oxydatif de la fraction cytosolique du pancréas chez les rats rendus diabétiques à la STZ.	93
Figure 5.15 : Photomicrographies de changements histopathologiques dans le pancréas des rats rendus diabétiques à la STZ (X 200).	94
Figure 5.15 : Photomicrographies de changements histopathologiques dans le cerveau des rats rendus diabétiques à la STZ (X 200).	95

Tableaux	Page
Tableau 1.1 : Classification du diabète sucré.	10
Tableau 1.2 : Antidiabétiques oraux non insuliniques avec mécanisme d'action et effets secondaires.	18
Tableau 3.1 : Principes actifs des plantes	39
Tableau 3.2 : Classification de la plante <i>Capparis spinosa</i>	42
Tableau 3.3 : Résumé de certains constituants importants isolés à partir de <i>C. spinosa</i> .	44
Tableau 3.4 : Quelques activités biologiques et effets thérapeutiques de <i>C.spinosa</i> .	47
Tableau 5.1 : Profile phytochimique du BECS.	71
Tableau 5.2 : Teneur en polyphénols totaux et en flavonoïdes.	71
Tableau 5.3 : L'analyse LC-MS des composés phénoliques du BECS.	73
Tableau 5.4 : Pourcentage (%) de l'effet inhibiteur de l'activité α -amylase et de l'activité α -glucosidase du BECS.	78
Tableau 5.5 : Effet du BECS sur la tolérance au glucose.	79
Tableau 5.6 : Influence de l'administration du BECS (200 mg/kg) sur le taux de consommation journalière de nourriture et d'eau.	80
Tableau 5.7 : Effet du BECS sur le poids corporel des rats rendus diabétiques à la STZ.	81
Tableau 5.8 : Effet du BECS sur les niveaux du glucose, d'Hb-glyqué et d'AGE plasmatiques chez des rats rendus diabétiques à la STZ.	82
Tableau 5.9 : Effet du BECS sur le taux sérique et cérébrale d'insuline et le taux du peptide C chez des rats rendus diabétiques à la STZ.	83
Tableau 5.10 : Effet du BECS sur le profile lipidique chez les rats rendus diabétiques à la STZ.	84

Titre	Page
Introduction générale	01
<i>Première partie : Synthèse bibliographique</i>	
Chapitre 01 : Pancréas et diabète sucré	
1. Pancréas et diabète sucré	04
1.1. Le pancréas	04
1.1.1. La cellule β pancréatique : cellule sécrétrice de l'insuline	04
1.1.2. Synthèse d'insuline	05
1.1.3. Sécrétion d'insuline	06
1.1.4. Actions physiologiques et mécanismes d'action de l'insuline	07
1.2. Le diabète sucré	09
1.2.1. Classification	09
1.2.2. Physiopathologie du diabète type II	11
1.2.2.1. L'insulino-sécrétion	11
1.2.2.2. L'insulino-résistance	11
1.2.3. Les complications liées au diabète	12
1.2.4. Neuropathie diabétique (NPD)	13
1.2.5. Neuropathie diabétique et peptide C	16
1.2.6. Pancréatite chronique (PC)	17
1.2.7. Traitement du diabète	18
Chapitre 02 : Diabète, stress oxydant et inflammation	
2. Diabète, stress oxydant et inflammation	20
2.1. Stress oxydatif et diabète sucré	20
2.1.1. Voies métaboliques associées au stress oxydatif dans le diabète sucré	21
2.1.1.1. Auto-oxydation du glucose ou glycoxydation	21
2.1.1.2. Voie des polyols	22
2.1.1.3. Voie de la Protéine kinase C (PKC)	24
2.1.1.4. Voie des hexosamines	25
2.1.1.5. Formation de produits de glycation avancée (AGE)	27
2.2. Stress inflammatoire et hyperglycémie	30
2.3. Résistance à l'insuline (RI) et stress oxydatif	32
2.3.1. Dysfonctionnement des cellules β /production et sécrétion d'insuline	33
2.3.2. Expression et/ou localisation de GLUT-4	34

2.3.3. Altération des voies de signalisation de l'insuline	34
2.3.4. Processus inflammatoires	35
2.3.5. Dysfonctionnement mitochondrial	35
Chapitre 03 : Plantes médicinales et diabète	
3. Plantes médicinales et diabète	36
3.1. Phytothérapie	36
3.2. Phytothérapie du diabète	36
3.3. Mécanisme d'action des plantes médicinales antidiabétiques	37
3.4. Les effets antidiabétiques des principes actifs des plantes	39
3.5. <i>Capparis spinosa</i>	41
3.5.1. Description botanique du <i>Capparis spinosa</i>	42
3.5.2. Composition phytochimique	43
3.5.3. Utilisation et propriétés thérapeutiques du <i>Capparis spinosa</i>	46
3.5.4. Activité anti-inflammatoire	48
3.5.5. Activité antioxydante	49
3.5.6. Activité antidiabétique	49
Deuxième partie : Etude Expérimentale	
Chapitre 04 : Matériel et méthodes	
4. Matériel et méthodes	51
4.1. Matériel végétal	51
4.1.1. Récolte du <i>Capparis spinosa</i>	51
4.1.2. Préparation de l'extrait n-BuOH	51
4.1.3. Screening phytochimique préliminaire	53
4.1.4. Dosage des polyphénols totaux	53
4.1.5. Dosage des flavonoïdes totaux	54
4.1.6. Analyse par chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse (LC-MS)	54
4.2. Screening biologique	55
4.2.1. Evaluation de l'activité antioxydante <i>in vitro</i>	55
4.2.1.1. Le test de piégeage du radical DPPH°	55
4.2.1.2. Dosage de la capacité antioxydante totale « test de phosphomolybdate »	57
4.2.1.3. Le pouvoir réducteur	57

4.2.1.4. Réduction du radical- cation ABTS	58
4.2. Evaluation de l'activité antidiabétique <i>in vitro</i>	59
4.2.1. Test d'inhibition de l'activité alpha- amylase	59
4.2.2. Test d'inhibition de l'activité alpha- glucosidase	59
4.3. Test de cytotoxicité	60
4.4. Test de tolérance au glucose	60
4.5. Evaluation de l'activité hypoglycémiante, neuroprotective et antioxydante	61
4.5.1. Animaux et protocole d'expérimentation	61
4.5.2. Dosages des paramètres biochimiques du diabète	64
4.5.3. Dosage des produits finaux de glycation avancée (AGE) dans le sérum	64
4.5.4. Détermination de l'activité de la lactate déshydrogénase (LDH)	64
4.5.5. Estimation des marqueurs neurochimiques	65
4.5.5.1. Détermination des activités acétylcholinestérase (AChE) et butyrylcholinestérase (BChE)	65
4.5.5.2. Estimation de la teneur en dopamine	65
4.5.5.3. Estimation de la teneur en L-glutamate	66
4.5.6. Mesure des marqueurs neuroinflammatoires	66
4.5.6.1. Détermination des cytokines pro-inflammatoires : facteur de nécrose tumorale alpha (TNF- α) et l'interleukin-6 (IL-6)	66
4.5.6.2. Mesure de la teneur en nitrite (NO) dans le cerveau	66
4.5.7. Évaluation du statut oxydant cytosolique pancréatique et cérébrale	66
4.5.7.1. La peroxydation lipidique	66
4.5.7.2. Dosage du glutathion réduit (GSH) cytosolique	67
4.5.7.3. Dosage du glutathion réductase (GR) cytosolique	68
4.5.7.4. Dosage du glutathion-S-transférase (GST) cytosolique	68
4.5.7.5. Dosage du glutathion peroxydase (GPx) cytosolique	68
4.5.7.6. Evaluation de l'activité enzymatique de la catalase (CAT) cytosolique	69
4.5.7.7. Evaluation de l'activité enzymatique de la superoxyde dismutase (SOD) cytosolique	69
4.5.8. Dosage des protéines totales	70

4.5.9. Étude histologique	70
4.6. Analyses statistiques	70
Chapitre 05 : Résultats	
5. Résultats	71
5.1. Etudes phytochimiques du BECS	71
5.1.1. Screening phytochimique préliminaire	71
5.1.2. Teneur en polyphénols et flavonoïdes	71
5.1.3. Analyse LC-MS/MS	72
5.2. Screening biologique	74
5.2.1. Évaluation de l'activité antioxydante in vitro du BECS	74
5.2.1.1. L'effet anti-radicalaire par le test au DPPH°	74
5.2.1.2. Capacité antioxydante totale (CAT) du BECS	75
5.2.1.3. Réduction du radical- cation ABTS du BECS	75
5.2.1.4. Pouvoir réducteur du BECS	76
5.3. Test de cytotoxicité	77
5.4. Évaluation de l'activité antidiabétique in vitro du BECS	78
✓ Inhibition de l'activité alpha- amylase et de l'activité alpha- glucosidase	78
5.5. Tolérance au glucose du BECS (Mesure de la glycémie chez les rats prétraités)	79
5.6. Evaluation de l'activité antidiabétique in vivo du BECS	80
5.6.1. Effet de l'extrait BECS sur les paramètres physiologiques	80
5.6.2. Effet du BECS sur le poids corporel des rats	81
5.6.3. Effet du BECS sur les paramètres biochimiques du diabète	81
5.6.4. Effet du BECS sur le profile lipidique	83
5.6.5. Effet du BECS sur les paramètres de la neurodégénérescence	84
5.6.6. Effet du BECS sur les marqueurs neurochimiques : taux d'AChE, de BChE, de la dopamine et du glutamate	85
5.6.7.Évaluation des marqueurs neuroinflammatoires (le NO et les cytokines pro-inflammatoires)	88
5.6.8. Evaluation du statut oxydant cytosolique cérébral	89
5.6.8.1. La peroxydation lipidique	89
5.6.8.2. Activité enzymatique du système glutathion cytosolique	90

Table des matières

5.6.8.3. Activité enzymatique de la CAT et de la SOD cytosolique	91
5.6.9. Marqueurs du stress oxydant dans la fraction cytosolique pancréatique	92
5.6.10. Etude histologique	94

Chapitre 06 : Discussion

6. Discussion	96
Conclusion et perspectives	116
Références bibliographiques	118



***Introduction
générale***

Introduction générale

Le diabète sucré est un problème de santé mondial avec une prévalence croissante, Environ 463 millions de personnes souffrent du diabète, estimée à 592 millions d'ici 2035 et 700 millions d'ici 2045 dans le monde. Cette maladie est caractérisée par une hyperglycémie chronique due à une carence relative ou absolue en insuline (**Khatoun et al., 2021**). Il peut y avoir un défaut dans la sécrétion d'insuline, ou son action (résistance à l'insuline) ou les deux. Des niveaux élevés de sucre dans le sang chez les patients diabétiques sont associés à des dommages à long terme, à un dysfonctionnement et à une défaillance des divers organes vitaux, notamment le pancréas et le cerveau (**Jwad et AL-Fatlawi, 2022**).

L'état d'hyperglycémie chronique entraîne une augmentation des niveaux de produits terminaux de glycation avancée (AGE) qui agissent directement sur les cellules, provoquant des effets pro-inflammatoires et un stress oxydatif (**Ghorbani et al., 2021**). En outre, l'hyperglycémie peut contribuer au stress oxydatif en améliorant le flux de la voie des polyols, l'activation de la protéine kinase C et l'induction de l'auto-oxydation du glucose qui entraîne collectivement une augmentation de la génération d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) (**Salvatore et al., 2021**).

Le stress oxydatif résultant de la génération accrue d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) joue un rôle crucial dans la pathologie diabétique. En fait, en l'absence d'une réponse appropriée des mécanismes antioxydants endogènes, le déséquilibre redox provoque l'activation des voies de signalisation intracellulaires sensibles au stress. Ces derniers jouent un rôle clé dans le développement de complications tardives du diabète, ainsi que dans la médiation de la résistance à l'insuline, et dans la sécrétion altérée d'insuline (**Johnson et al., 2022**).

De plus, les ERO médiées par l'hyperglycémie déclenchent les médiateurs pro-inflammatoires en modulant le facteur nucléaire- κ B (NF- κ B) qui induit des réactions inflammatoires locales et systémiques. De plus, l'état diabétique peut accélérer le processus de lipolyse qui à son tour augmente la teneur en acides gras libres. Ces acides gras libres augmentent la sécrétion de cytokines, telles que l'interleukine-6 (IL-6) et le facteur de nécrose tumorale- α (TNF- α) (**Nacer et al., 2020**).

Les agents antidiabétiques actuellement disponibles sont des matières synthétiques largement utilisés pour contrôler l'hyperglycémie, mais l'utilisation prolongée de ces agents a également montré plusieurs effets indésirables sur les sujets diabétiques. Ainsi, il est essentiel de rechercher des agents antidiabétiques plus efficaces avec moins d'effets secondaires (Lee *et al.*, 2021).

Actuellement, Les plantes médicinales jouent un rôle fondamental dans les secteurs de la santé via la gestion de différentes maladies infectieuses en raison de leur grande source de plénitude de composés phytochimiques bioactifs. Il existe de plus en plus de preuves sur l'efficacité de l'utilisation de suppléments à base de plantes dans la prévention et le contrôle du diabète sucré. Il a été rapporté qu'environ 800 plantes dans le monde possèdent un puissant potentiel antidiabétique visant principalement à améliorer la sécrétion d'insuline, à améliorer l'insulino-résistance, l'activité inhibitrice de l'enzyme α -glucosidase, les effets anti-inflammatoires, à régénérer les cellules β pancréatiques et à atténuer le stress oxydatif associé au diabète. La plupart des remèdes naturels favorisent l'amélioration de l'absorption du glucose et la suppression de la production hépatique de glucose en stimulant la glycolyse, l'oxydation du glucose et la glycogénèse, tout en réduisant la dégradation du glycogène et la gluconéogenèse (D'souza, 2021).

En Algérie, la phytothérapie fait partie intégrante de la culture locale de la population, qui possède d'importantes connaissances empiriques d'une génération à l'autre. En effet, l'Algérie se caractérise par une flore très riche et très diversifiée en raison de sa situation géographique et de la grande diversité de ses conditions climatiques et topographiques (Makhloufi *et al.*, 2020). Le câprier (*Capparis spinosa*) est l'une des plantes aromatiques les plus répandues dans les pays méditerranéens. *C. spinosa* appartient à la famille des Capparaceae, et couramment utilisé comme plante médicinale pour le traitement de diverses maladies en raison de son effet biologique et pharmacologique (O'G'Li, 2022).

Capparis spinosa possède une importance ethnobotanique, pharmaceutique et économique exceptionnelle en raison de ses composants bioactifs. La présente étude visait à explorer l'effet hypoglycémiant, le rôle protecteur et le potentiel antioxydant de l'extrait n-butanolique de la partie aérienne de *C. spinosa* contre le stress oxydatif et la neuropathie diabétique induite par la streptozotocine dans le rat Wistar albinos un modèle animal expérimental.

Pour mener à bien notre travail, nous avons suivis la méthodologie suivante :

- une recherche documentaire des ouvrages, des articles et des sites internet relatifs à notre thème, a été réalisé, ce qui nous a permis d'enrichir le cadre théorique de notre travail.
- Par la suite, deux études expérimentales ont été réalisées parallèlement :
 - ✓ Etude *in vitro* : vise à évaluer l'activité antioxydante et l'activité inhibitrice de l' α -amylase et des α -glucosidases intestinales de l'extrait *n*-BuOH de *Capparis spinosa*.
 - ✓ Etude *in vivo* : avait pour but d'évaluer le pouvoir antidiabétique et antioxydant du même extrait sur la neuropathie diabétique induite par la streptozotocine ainsi qu'une étude des modifications histopathologiques des deux organes : le pancréas et le cerveau.

Première partie

Synthèse
Bibliographique

Chapitre 01

Pancréas et diabète sucré

1. Pancréas et diabète sucré

1.1. Le pancréas

Le pancréas est un organe composite, situé derrière l'estomac dans l'abdomen supérieur gauche; il a la forme d'une poire plate ou d'un poisson étendu horizontalement sur l'abdomen. La partie large, appelée tête du pancréas, est positionnée vers le centre de l'abdomen. La tête du pancréas est située à la jonction où l'estomac rencontre la première partie de l'intestin grêle (**Ameen et al., 2021**). L'extrémité étroite du pancréas, appelée la queue, s'étend jusqu'au côté gauche du corps. Situé obliquement derrière la paroi abdominale postérieure et supérieure.

Cet organe pèse entre 60 à 80 g, et mesure 12 à 15 cm de long et 2 à 4 cm de large, il est à la fois lobulaire, de forme allongée et fortement parenchymateux (**Longnecker et al., 2018**). Le pancréas humain normal se développe jusqu'à environ 30 ans, avec une variabilité significative du poids ou du volume du pancréas adulte (**Saisho et al., 2007**).

Le pancréas est un organe rétro-péritonéal, qui a deux fonctions principales : une fonction exocrine qui aide à la digestion intestinale et une fonction endocrine qui régule la glycémie.

- Fonction exocrine :

La grande majorité du tissu pancréatique est consacrée à sa fonction exocrine, dans laquelle des enzymes digestives sont produites (la trypsine, la lipase et l'amylase) et sécrétées via un arbre canalaire complexe dans le duodénum. Les cellules du pancréas qui produisent ces enzymes digestives sont des cellules acineuses (constituent près de 85 % des cellules du pancréas) (**Matsuda, 2019**).

- Fonction endocrine :

La partie endocrinienne est organisée en îlots discrets de Langerhans, composés de cinq types de cellules endocrines différentes (alpha, bêta, delta, epsilon et upsilon) sécrétant au moins cinq hormones, dont le glucagon, l'insuline, la somatostatine, la ghréline et le polypeptide pancréatique respectivement (**El Sayed et Mukherjee, 2021**).

1.1.1. La cellule β pancréatique : cellule sécrétrice de l'insuline

Les cellules B ou β représentent environ 60 % des cellules et sont responsables de la sécrétion de l'insuline ; elles sont généralement situées au centre des îlots, en raison de leur

nombre et de leur rôle dans les diabètes sucrés. Elles intègrent des signaux nutritionnels, hormonaux et nerveux pour ajuster en permanence sa sécrétion d'insuline (Huising, 2020).

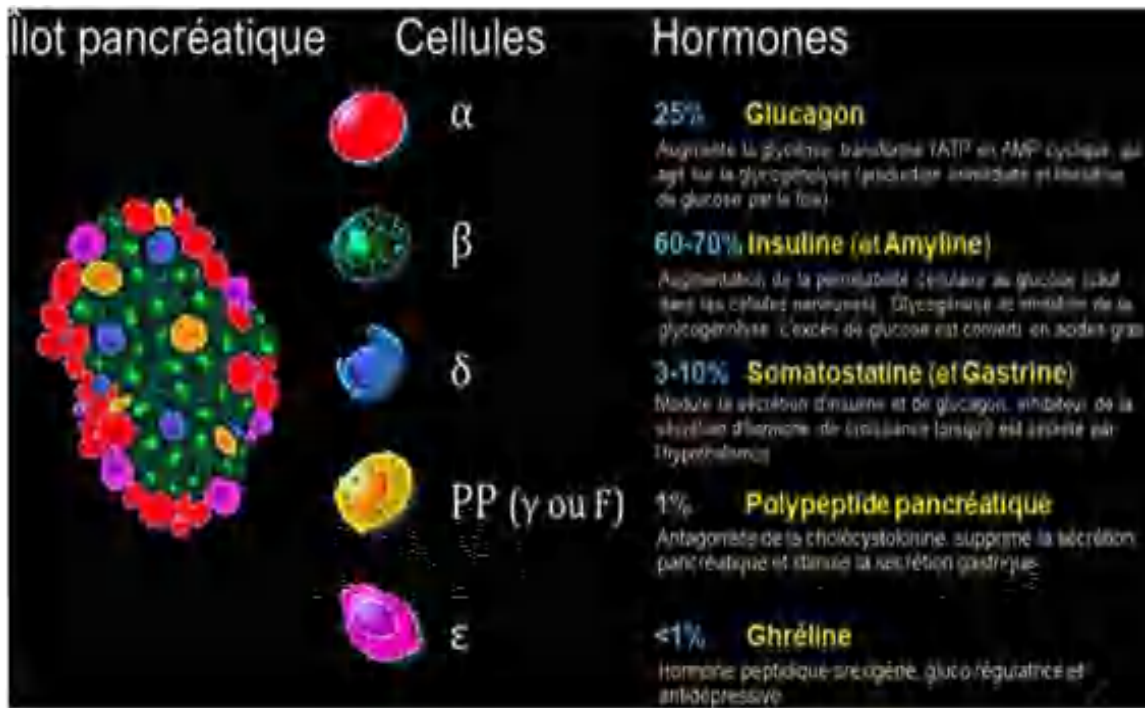


Figure 1.1 : Présentation des cellules de l'îlot pancréatique (Mandarim-de-Lacerda, 2019).

1.1.2. Synthèse d'insuline

L'insuline, est une hormone peptidique composée de 51 acides aminés et d'un poids moléculaire de 5808 Dalton, est composée d'une chaîne α et d'une chaîne β reliées entre elles sous forme de dimère par deux ponts disulfure (Weiss *et al.*, 2015) avec un troisième pont au sein de la chaîne α . L'insuline fait partie d'une famille de peptides qui comprend les facteurs de croissance analogues à l'insuline (IGF) I et II, la relaxine et d'autres peptides analogues de l'insuline (Koeppen et Stanton, 2017).

L'insuline est codée par un seul gène sur le bras court du chromosome 11, et est synthétisée et sécrétée en réponse aux cellules exposées au glucose. Elle est d'abord synthétisée sous forme de préproinsuline dans le réticulum endoplasmique rugueux des cellules β pancréatiques (Brunton *et al.*, 2006), puis convertie en proinsuline et est ensuite dans des granules de sécrétion après conditionnement par l'appareil de Golgi (Koeppen et Stanton, 2017). L'insuline mature est générée par des protéases qui résident dans les

mêmes vésicules de stockage que la proinsuline. Ainsi, les granules sécrétoires attachés à la membrane cellulaire sont amorcés pour l'exocytose de l'insuline en réponse à un stimulus circulatoire (Koeppen et Stanton, 2017).

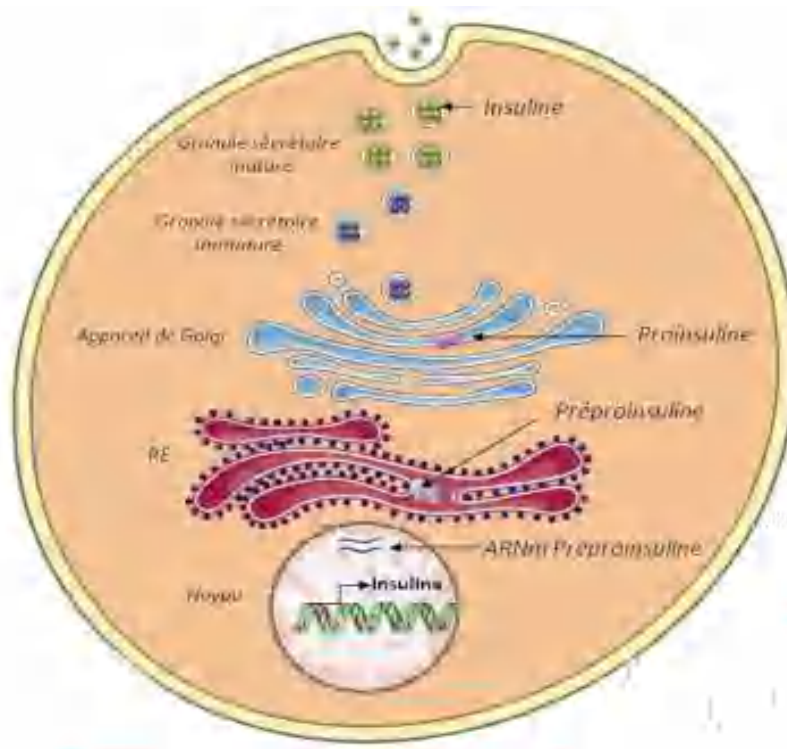


Figure 1.2 : Biosynthèse de l'insuline au sein de la cellule β pancréatique (Delobel, 2021).

1.1.3. Sécrétion d'insuline

L'insuline est libérée par les cellules bêta pancréatiques en réponse à l'augmentation des taux plasmatiques en glucose et d'acides aminés, les normalisant à des niveaux physiologiques (Weiss et al., 2015).

En général, le glucose a deux voies pour pénétrer dans une cellule : via des co-transporteurs actifs, un mécanisme dépendant du sodium, ou via des transporteurs (indépendants du sodium) (Hall, 2020). Les transporteurs de glucose forment une classe de protéines appelées GLUT (chez les mammifères) qui ont 12 hélices traversant la membrane et assurent un transport bidirectionnel facilité du glucose à travers la membrane plasmique (Chen et Lippincott- Schwartz, 2015 ; Hall, 2020). Ces protéines agissent en fonction du gradient de concentration du glucose à travers la membrane cellulaire et fonctionnent donc sans consommation d'énergie (Hall, 2020).

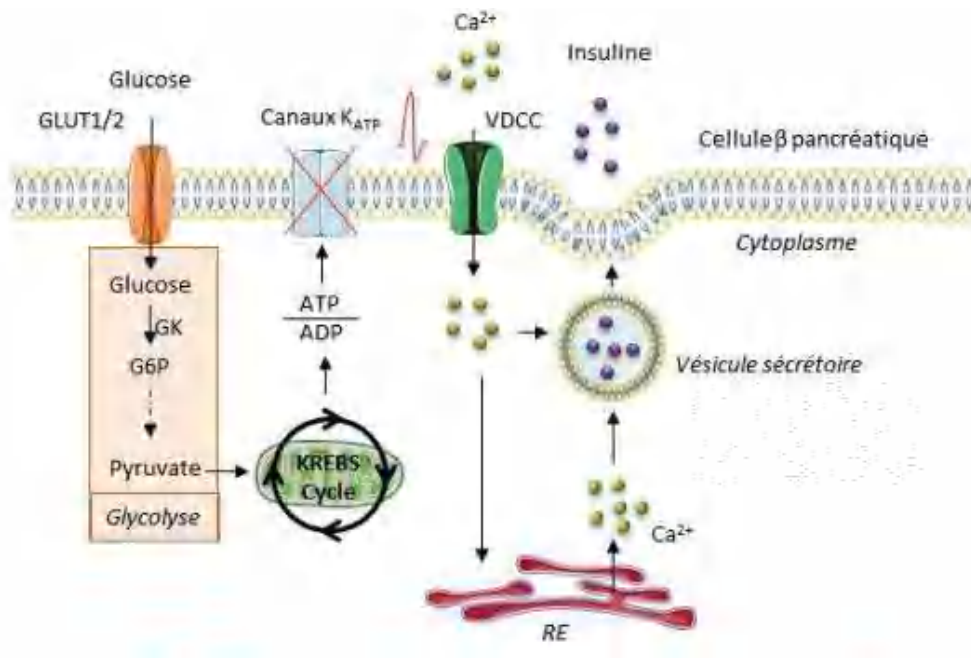


Figure 1.3 : Mécanismes cellulaires de la sécrétion d’insuline dans les cellules B (ou bêta) pancréatiques (Delobel et Dalle, 2021).

La libération d’insuline est principalement stimulée par le glucose entrant dans les cellules bêta via la diffusion facilitée par GLUT- 2 (Koeppen et Stanton, 2017). Dans les cellules bêta, le glucose est phosphorylé en G6P par l’activité de la glucokinase, qui est considérée comme le «capteur de glucose», car il contrôle le taux de rétention du glucose dans les cellules bêta qui, à son tour, contrôle le taux de libération d’insuline. La synthèse de l’adénosine triphosphate (ATP) dans les cellules bêta augmente le rapport ATP/ADP qui, à son tour, ferme les canaux K⁺ sensibles à l’ATP, dépolarise les membranes des cellules bêta et augmente les niveaux de calcium intracellulaire en ouvrant le voltage-dépendant-Canaux Ca²⁺. Des niveaux élevés de Ca²⁺ intracellulaire induisent l’exocytose des granules sécrétoires contenant de l’insuline/proinsuline des cellules bêta (Rutter et al., 2015). Lors de sa sécrétion, l’insuline se retrouve dans la veine porte, ce qui lui permet d’atteindre rapidement le foie afin d’induire le métabolisme du glucose (Lacour et Belon, 2015).

1.1.4. Actions physiologiques et mécanismes d’action de l’insuline

L’insuline est l’une des hormones importantes du corps humain, elle est responsable du maintien de la glycémie entre 4 et 8 mmol / litre pendant les périodes d’alimentation et de jeûne. Cette hormone régule le métabolisme des lipides, des protéines, des acides aminés,

le transport d'électrolytes et la croissance. Son effet est anabolisant, par le biais du stockage des glucides, des graisses et des protéines (Brunton *et al.*, 2006). Elle participe activement à la captation du glucose par le foie, le muscle strié squelettique et les adipocytes. Elle induit une surexpression des transporteurs membranaires du glucose appelés GLUT-4 dans le muscle squelettique et les adipocytes. Dans les hépatocytes, le glucose diffuse librement et ne requiert pas de transporteur spécifique. L'action de l'insuline au niveau de la membrane des hépatocytes est faible. En revanche, elle participe activement à la régulation de l'expression des gènes qui codent pour des enzymes du métabolisme glucidique. Finalement, elle inhibe la glycogénolyse et la néoglucogénèse, et stimule la glycogénogénèse et la glycolyse. Le stockage de glucose sous forme de glycogène est ainsi facilité (Lacour et Belon, 2015).

L'action de l'insuline sur le métabolisme lipidique se réalise d'abord au niveau des adipocytes. En effet, elle inhibe la lipase hormonosensible des adipocytes et empêche la libération des acides gras libres. Par ailleurs, il s'agit de la seule hormone anticétogène de l'organisme car elle inhibe la production des corps cétoniques au niveau hépatique. Dans le foie, elle active également la lipogénèse par augmentation de la synthèse des acides gras libres, des triglycérides et des VLDL (Lacour et Belon, 2015).

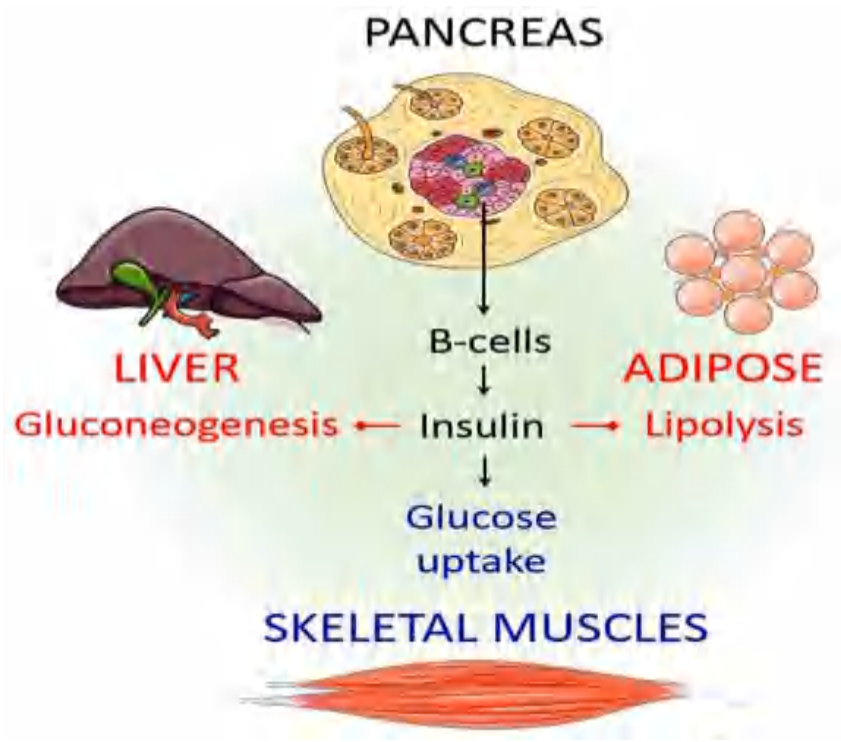


Figure 1.4 : Principaux rôles physiologiques de l'insuline (Rahman *et al.*, 2021).

1.2. Le diabète sucré

463 millions de personnes (entre 20 et 79 ans) sont atteintes de diabète dans le monde en 2019, soit 9,3% de la population. D'ici 2045, une augmentation de ce chiffre est estimée à 51%, avec plus de 700 millions de personnes concernées par cette pathologie (**Atlas du diabète. 2019**).

Le diabète est une maladie grave et progressive, chronique, caractérisée par une hyperglycémie survenant lorsque la quantité d'insuline plasmatique n'est plus suffisamment produite par rapport aux besoins de l'organisme. Le diagnostic clinique de l'hyperglycémie est réalisé par la mesure de la glycémie plasmatique, mesurée soit à jeun et/ ou au hasard à un moment quelconque de la journée et/ou lors d'une charge orale en glucose (**Tenenbaum et al., 2018**). Les critères de diagnostic sont :

- ✓ La présence des symptômes du diabète (polyurie, polydipsie, amaigrissement) associée à une glycémie (sur plasma veineux) > 2 g/l (11,1 mmol/l).
- ✓ Une glycémie $> 1,26$ g/l (7,0 mmol/l) après un jeûne de 8 heures et vérifiée à deux reprises.
- ✓ Une glycémie (sur plasma veineux) > 2 g/l (11,1 mmol/l) 2 heures après une charge orale de 75 g de glucose (c'est-à-dire le test de tolérance au glucose par voie orale (OGTT))
- ✓ Un taux d' HbA1c (hémoglobine glyquée) $\geq 6,5\%$ (48mmol/l) (**WHO, 2019**).

1.2.1. Classification

La majorité des cas de diabète peuvent être classés en 2 grandes catégories : le diabète de type I et le diabète de type II. Le diabète gestationnel (DG) fait référence à une intolérance au glucose qui apparaît ou se manifeste pour la première fois pendant la grossesse (**Punthakee et al., 2018**). La classification du diabète sucré est résumée dans le tableau 1.

Tableau 1.1 : Classification du diabète sucré.

<p>Diabète type I (diabète insulino-dépendant DID)</p> <p>Il représente environ 10% des cas de diabète mondiaux (Mobasseri et al., 2020).</p> <p>Le diabète de type I englobe le diabète qui est principalement le résultat de la destruction des cellules bêta pancréatiques avec une carence en insuline consécutive. Cette forme comprend les cas dus à un processus auto-immun (Punthakee et al., 2018).</p>	<p>Diabète type II (diabète non insulino-dépendant DNID)</p> <p>Il représente plus de 90% des patients diabétiques (Lin et al., 2019).</p> <p>Le développement du diabète sucré de type II est principalement causé par une combinaison de deux facteurs principaux : une sécrétion d'insuline défectueuse par les cellules β pancréatiques et l'incapacité des tissus insulino-sensibles à réagir à l'insuline (Roden et Shulman, 2019).</p>	
<p>Autres types</p>		
<p>Diabète gestationnel (DG)</p> <p>Le diabète gestationnel est une condition métabolique transitoire causée par une dérégulation déclenchée par une intolérance aux glucides, un dysfonctionnement des cellules bêta-pancréatiques et endothéliales et une résistance à l'insuline pendant la grossesse (Olmos-Ortiz et al., 2021).</p>	<p>Diabètes monogéniques</p> <p>Ils représentent un groupe d'affections génétiques en rapport avec différentes mutations entraînant soit un défaut d'insulino-sécrétion soit une anomalie de la réponse à l'insuline (Rubio-Cabezas et al., 2014).</p> <p>Les diabètes monogéniques englobent désormais le MODY (Maturity-Onset Diabetes mellitus of the Young), les diabètes néonataux permanents ou transitoires et les MIDD (Maternally Inherited Diabetes and Deafness) d'origine mitochondriale (Durand et Jean-louis, 2011).</p>	<p>Diabète expérimental</p> <p>Le diabète expérimental a été induit chez les animaux de laboratoire par plusieurs méthodes : chimique, chirurgicale ou génétique (immunologique). La plupart des expériences sur le diabète sont effectuées chez les rongeurs, bien que certaines études soient encore effectuées sur les plus grands mammifères (les lapins, les singes, les chats...) (Etuk et al., 2010).</p>

1.2.2. Physiopathologie du diabète type II

Le diabète de type II est caractérisé par une résistance à l'insuline et un déficit relatif de la sécrétion de ce dernier. La libération et l'activité de l'insuline étant des processus essentiels à l'homéostasie du glucose, les mécanismes moléculaires impliqués dans la synthèse et la libération de l'insuline, ainsi que dans sa détection, sont étroitement régulés. Par conséquent, des défauts dans l'un des mécanismes impliqués peuvent entraîner un déséquilibre métabolique qui conduit à la pathogenèse du diabète de type II (Galicía-García *et al.*, 2020).

1.2.2.1. L'insulino-sécrétion

Comme mentionné précédemment, la sécrétion d'insuline doit être finement régulée pour répondre précisément à la demande métabolique. Pour cette raison, une bonne intégrité des îlots doit être conservée afin de permettre aux cellules β de répondre aux besoins métaboliques. Des défauts dans la synthèse de tout précurseur de l'insuline, ou de l'insuline elle-même, ainsi que la perturbation du mécanisme de sécrétion, peuvent entraîner un dysfonctionnement de la sécrétion de l'insuline, le principal moteur de l'échec des cellules β et un fondement du diabète de type II (Hoang Do et Thorn, 2015).

Concernant la physiopathologie de la maladie, un dysfonctionnement des boucles de rétroaction entre l'action de l'insuline et la sécrétion d'insuline se traduit par des taux de glucose anormalement élevés dans le sang (Stumvoll *et al.*, 2005). En cas de dysfonctionnement des cellules β , la sécrétion d'insuline est réduite, ce qui limite la capacité de l'organisme à maintenir des niveaux de glucose physiologiques (Zheng *et al.*, 2018). Une fois l'hyperglycémie installée, l'insulinosécrétion décline avec le temps du fait de la glucotoxicité et de la lipotoxicité, et de l'agression radicalaire (Guillausseau *et al.*, 2008).

1.2.2.2. L'insulino-résistance

L'insulino-résistance (IR) correspond à une baisse de la réponse métabolique des cellules réactives à l'insuline ou, au niveau systémique, à une réponse altérée/réduite à l'insuline circulante par les niveaux de glucose sanguin (Czech, 2017).

Il existe trois grandes catégories d'états d'insulino-résistance ou de déficience en insuline :

- une diminution de la sécrétion d'insuline par les cellules β ;
- des antagonistes de l'insuline dans le plasma, dus soit à des hormones contre-régulatrices, soit à des corps non hormonaux qui altèrent les récepteurs ou la signalisation de l'insuline;
- et une altération de la réaction insulinique dans les tissus cibles (**Pearson *et al.*, 2016**).

L'action de l'insuline est influencée par l'interaction des molécules supplémentaires, notamment l'hormone de croissance et l'IGF-1 à l'état nourri. Pendant le jeûne, la réponse insulinique est atténuée par le glucagon, les glucocorticoïdes et les catécholamines afin de prévenir l'hypoglycémie induite par l'insuline. Le rapport insuline/glucagon joue un rôle majeur dans cette régulation, puisqu'il détermine le degré relatif de phosphorylation des enzymes en aval dans les voies de signalisation régulatrices. Alors que les catécholamines favorisent la lipolyse et la glycogénolyse, les glucocorticoïdes favorisent le catabolisme musculaire, la gluconéogenèse et la lipolyse. Par conséquent, une sécrétion excessive de ces hormones peut être responsable de l'induction de l'IR (**Wilcox, 2005 ; Nussey et Whitehead, 2001**). Concernant la dernière catégorie, il existe trois principaux organes extra-pancréatiques sensibles à l'insuline qui jouent un rôle majeur dans les processus susmentionnés qui sont le muscle squelettique, le tissu adipeux et le foie. Une action défectueuse de l'insuline dans ces tissus précède souvent le développement de l'insulino-résistance systémique, conduisant ainsi progressivement au diabète de type II (**Galicia-Garcia *et al.*, 2020**).

1.2.3. Les complications liées au diabète

Le diabète prédispose les patients à des infections opportunistes, des pathologies vasculaires et neurales. Basé sur sa physiopathologie, les complications du diabète sucré peuvent être aiguës ou chroniques selon leur gravité et leur durée d'apparition (**Casqueiro *et al.*, 2012**).

Les complications aiguës du diabète ont été caractérisées par des modifications du contrôle métabolique, en particulier l'hyperglycémie (**Cagliero, 2016**). Il existe quatre complications métaboliques aiguës principales, l'acidocétose, le coma hyperosmolaire,

l'hypoglycémie et l'acidose lactique. Elles sont le plus souvent, la conséquence d'erreurs thérapeutiques ou d'un défaut de surveillance (Orban et Ichai, 2011).

Les complications chroniques sont globalement identiques dans les deux types de diabète, cependant, leurs fréquences et leurs sévérités sont variables, elles sont classiquement divisées en deux catégories : les micro-angiopathies et les macro-angiopathies. Les macro-angiopathies concernent l'intégralité des vaisseaux de l'organisme, quels que soient leur taille et les tissus qu'ils irriguent, on prend l'exemple de l'infarctus du myocarde, les accidents vasculaires cérébraux, les maladies vasculaires périphériques et le pied diabétique. Cependant, la micro-angiopathie touche la microcirculation y compris la rétinopathie, la néphropathie et la neuropathie (Papatheodorou et al., 2016).

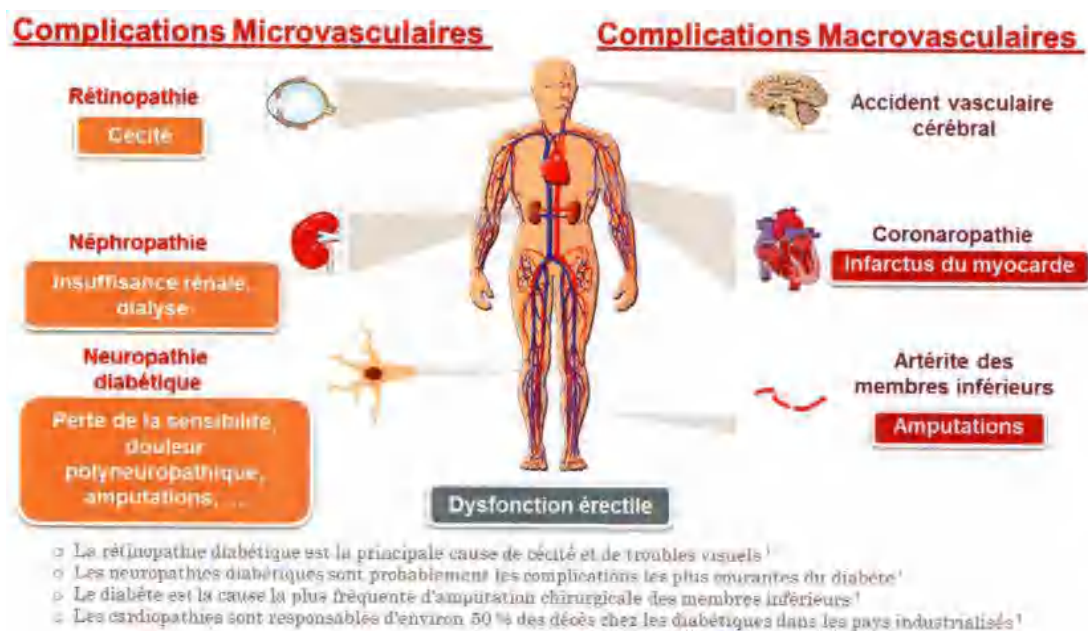


Figure 1.5 : Complications chroniques du diabète (OMS, 2008).

1.2.4. Neuropathie diabétique (NPD)

La neuropathie diabétique est la complication la plus fréquente du diabète sucré, affectant jusqu'à 50% des patients atteints de diabète de type I et de type II (Zeng et al., 2017). La prévalence de la neuropathie augmente avec l'âge, la durée du diabète et le déséquilibre glycémique. La neuropathie diabétique peut toucher le système nerveux périphérique et le système nerveux autonome ou végétatif, ce qui devrait faire plutôt parler des neuropathies diabétiques. Des facteurs métaboliques, vasculaires, génétiques, environnementaux et nutritionnels peuvent être impliqués. Cependant, l'hyperglycémie

chronique joue certainement un rôle central à la fois dans l'atteinte nerveuse périphérique et autonome (**Monnier, 2019**).

En plus de l'hyperglycémie, la dyslipidémie est de plus en plus considérée comme un facteur pathogène contribuant à la neuropathie, en particulier pour le diabète de type II (**Callaghan et al., 2012**). L'hyperglycémie et la dyslipidémie affectent plusieurs cellules du système nerveux périphérique, y compris les axones neuronaux, les neurones du ganglion de la racine dorsale et les cellules de Schwann. Il y a eu des décennies de recherche sur l'impact de la surcharge en glucose sur ces cellules, et les conséquences incluent la formation excessive d'espèces réactives de l'oxygène (ERO), la perte de production d'ATP, la fonction mitochondriale altérée, l'activation des voies du stress et la glycation des protéines essentielles pour former les produits finaux de glycation avancée (AGE) (Fig 1.6), élévation des cytokines pro-inflammatoires à savoir l'interleukine-1 β (IL-1 β), l'interleukine (IL-6) et le facteur de nécrose tumorale- α (TNF- α) (**Bishnoi et al., 2011**). Ces événements augmentent tous davantage les ERO, qui à leur tour favorisent le stress du réticulum endoplasmique, les dommages de l'ADN, l'apoptose et l'activation de la signalisation pro-inflammatoire, des mécanismes qui conduisent finalement à des lésions nerveuses (**Feldman et al., 2019**).

La glucotoxicité comme conséquence de l'hyperglycémie est due à une augmentation de l'absorption de glucose dans les neurones qui ne répondent pas à l'insuline (**Tomlinson et Gardiner, 2008**), et peut perturber la voie de la glycolyse dans les neurones, entraînant ainsi une augmentation des molécules réactives de l'oxygène (**Mapanga et Essop, 2016**). Par exemple, dans la voie des polyols, la production de sorbitol et de NADH est plus élevée que dans des conditions normales. De plus, la production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) est plus élevée que dans des conditions normales en raison de la quantité excessive de NADH (**Mathebula, 2015**).

Les produits finaux de glycation avancée (AGE) résultent d'une réaction entre le groupe amino libre des protéines et les glucides. Cette réaction est suivie d'une oxydation et d'un réarrangement moléculaire. Alternativement, les AGE peuvent être produits par glycolyse et oxydation (**Wautier et al., 2017**).

Les AGE peuvent endommager les cellules par différents mécanismes, tels que les dysfonctionnements des protéines intracellulaires, la résistance à la dégradation lysosomale, ainsi que la glycosylation des protéines membranaires et extracellulaires

(Batkulwar *et al.*, 2015). En outre, les AGE interagissent avec les récepteurs AGE (RAGEs) exprimés dans les neurones, les astrocytes et les microglies (Wautier *et al.*, 2017 ; Batkulwar *et al.*, 2015). L'interaction AGE-RAGE induit également un stress oxydatif via la NADPH oxydase et différentes activations de kinases (Batkulwar *et al.*, 2015). Par conséquent, la voie AGE-RAGE contribue à la neurodégénérescence liée au diabète sucré, principalement par l'inflammation et le stress oxydatif (Batkulwar *et al.*, 2015, 2018).

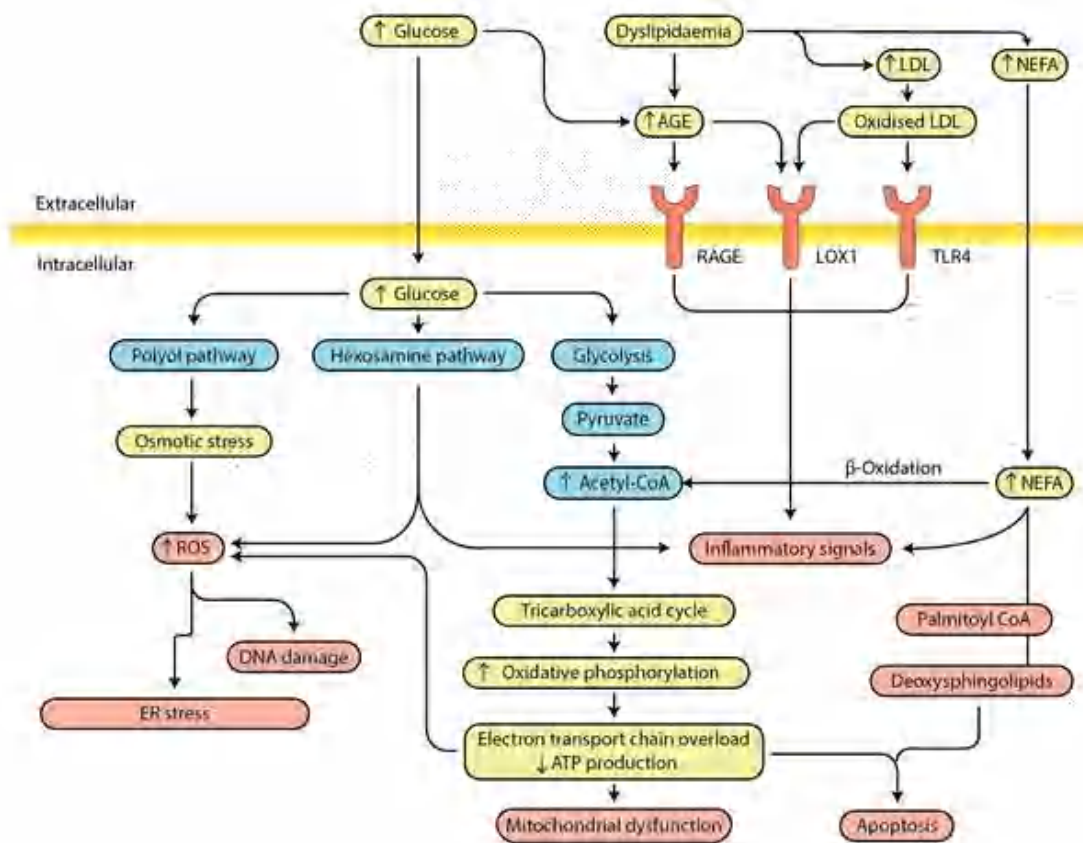


Figure 1.6 : Pathogenèse de la neuropathie diabétique (Feldman *et al.*, 2019).

Cependant, l'accent plus récent est mis sur la dyslipidémie et les triglycérides élevés comme sources d'AGNE (acides gras non estérifiés) dans le diabète de type II. Les AGNE sont catabolisés par la β -oxydation dans le cytosol de toutes les cellules du système nerveux périphérique. L'acétyl-CoA, un produit de la β -oxydation, peut s'accumuler pendant la surcharge du substrat AGNE, et sa conversion en espèces toxiques d'acylcarnitine entraîne d'autres lésions nerveuses. Dans un même temps, une β -oxydation compromise entraîne également une production importante d'ERO et une activation des voies inflammatoires, favorisant des effets similaires à ceux observés en réponse à une surcharge en glucose, tels que le stress du réticulum endoplasmique, une altération de la

fonction mitochondriale et une altération du transport axonal, entraînant une carence en ATP (**Rumora et al., 2019**). L'oxydation des LDL peut induire la génération de ERO et activer des récepteurs, tels que le récepteur des AGE (RAGE), le récepteur des LDL oxydées (LOX1) et le récepteur de type Toll 4 (TLR4), exacerbant les lésions nerveuses, activant la caspase-3 et induisant la dégradation de l'ADN. Par conséquent, l'inflammation, le dysfonctionnement mitochondrial, les dommages oxydatifs et l'altération du traitement et de l'utilisation de l'énergie convergent en tant que mécanismes centraux potentiels sous-tendant les effets de l'hyperglycémie et de la dyslipidémie sur la santé des nerfs périphériques (Fig 1.6) (**Feldman et al., 2019**).

1.2.5. Neuropathie diabétique et peptide C

Dernièrement, il est devenu évident que l'hyperglycémie, bien qu'étant un facteur étiologique important, n'est pas la seule responsable du développement des complications du diabète. Une attention croissante est portée aux carences en insuline et/ou en peptide C. L'insuline et le peptide C exercent tous deux un certain nombre d'effets métaboliques, neuroprotecteurs et anti-apoptotiques (**Li et al., 2003**).

Les lésions du système nerveux périphérique dans le diabète peuvent être le résultat à la fois d'une hyperglycémie et d'une perte du soutien neurotrophique normalement fourni par l'insuline. Cette hypothèse est étayée par des rapports sur des niveaux d'expression anormaux de facteurs de croissance dans le diabète. Ainsi, il existe un intérêt croissant pour l'exploration de l'utilité potentielle des NGF, de l'insuline, des IGF et d'autres facteurs neurotrophiques dans le traitement de la neuropathie diabétique (**Edwards et al., 2008**).

Les récepteurs de l'insuline se trouvent dans le SNP sur les cellules de Schwann, les péricytes, les cellules endothéliales et les neurones, en particulier les neurones sensoriels (**Brussee et al., 2004**). Les modèles de diabète chez le rat déficient en insuline semblent avoir une neuropathie progressive plus sévère que les modèles de diabète de type II, ce qui suggère que la carence en insuline elle-même contribue au développement de la neuropathie (**Kamiya et al., 2005**).

Le peptide C, longtemps considéré comme un simple sous-produit du fragment peptidique inerte de la synthèse de l'insuline, est maintenant considéré comme ayant sa propre activité biologique. (**Wahren et al., 2004**). Le déficit en peptide C est concomitant à l'insulinopénie dans le diabète de type I. Lors du remplacement du peptide C chez les

rats diabétiques, un certain nombre de mesures de la fonction nerveuse périphérique s'améliorent. Les mécanismes proposés pour ces observations comprennent la potentialisation de la signalisation de l'insuline, la vasodilatation via la libération d'oxyde nitrique et la stimulation de la libération d'autres facteurs neurotrophiques (**Kamiya *et al.*, 2006; Zhang *et al.*, 2007**).

Le peptide C signale par la voie de signalisation de l'insuline et stimule par lui-même la synthèse du glycogène et l'absorption des acides aminés et renforce ces effets par l'insuline dans une gamme de concentration étroite (**Li *et al.*, 2003; Grunberger et Sima, 2004**). Il a donc été suggéré que le peptide C interagit avec le récepteur de l'insuline. Plusieurs études aussi démontrent l'effet du peptide C sur la libération de l'oxyde nitrique (NO). Il stimule la NO synthase endothéliale (eNOS) avec la libération de NO en fonction de la concentration par les cellules endothéliales aortiques bovines, un effet qui est supprimé par les inhibiteurs de NOS (**Wallerath *et al.*, 2003**).

1.2.6. Pancréatite chronique (PC)

La pancréatite chronique est un syndrome d'inflammation pancréatique avec des lésions parenchymateuses irréversibles et des modifications fonctionnelles qui se compliquent d'une mauvaise digestion progressive des nutriments, d'une intolérance au glucose, d'un diabète sucré et de troubles métaboliques.

La synchronisation complexe et les interactions entre la digestion, l'absorption et l'utilisation des nutriments qui sont normalement régulées par le pancréas sont perturbées de manière variable par des lésions inflammatoires et fibrotiques. L'incapacité de digérer les nutriments dans l'intestin proximal peut entraîner une altération de la sécrétion d'incrétines et donc une diminution de la libération d'insuline ; la perte de masse cellulaire des îlots contribue en outre à l'insuffisance endocrinienne pancréatique. La destruction des cellules des îlots par l'inflammation pancréatique diffère de celle du diabète de type I par la perte non seulement d'insuline des cellules bêta des îlots, mais également de glucagon et de polypeptide pancréatique des cellules alpha et PP des îlots, ce qui peut conduire au développement d'une maladie "fragile" avec grandes fluctuations de la glycémie difficiles à contrôler. De plus, les patients peuvent avoir des facteurs de risque préexistants de diabète de type II (par exemple, résistance à l'insuline, obésité ou habitudes alimentaires) qui compliquent davantage la régulation optimale du métabolisme du glucose. Comme la perte de cellules d'îlots distingue ce diabète pancréatogène du diabète de type II, le diabète sucré

résultant d'une pancréatite aiguë ou chronique récurrente est classé comme diabète pancréatogène, également connu sous le nom de diabète de type III (Ewald et Bretzel, 2013).

1.2.7. Traitement du diabète

Le diabète sucré a été décrit comme une maladie endocrinienne et métabolique chronique, caractérisée par une hyperglycémie et la coexistence de multiples complications. Actuellement, les médicaments largement utilisés dans le traitement clinique du diabète sucré comprennent principalement l'insuline, les analogues de l'insuline, les hypoglycémiant oraux non insuliniqes et les médicaments génétiques (Zhao et al., 2020). Le tableau 1.2 résume les principaux hypoglycémiant oraux non insuliniqes avec le mécanisme d'actions et les effets secondaires possibles.

Tableau 1.2 : Antidiabétiques oraux non insuliniqes avec mécanisme d'action et effets secondaires.

Antidiabétiques oraux	Mécanisme d'action	Effets secondaires
<p>Biguanides</p> <p>✓ Metformine</p>	<p>Diminuer la production hépatique de glucose et augmenter l'insulinosensibilité et l'utilisation périphérique du glucose (Foretz et Viollet, 2009).</p>	<p>Nausée, Diarrhée Anorexie, acidose lactique (Modi, 2007).</p>
<p>Sulfamides hypoglycémiant</p> <p>✓ Gliclazide ✓ Glimépiride ✓ Glipizide ✓ Glibenclamide</p>	<p>Stimuler la sécrétion de l'insuline pancréatique à jeun et amplifier la réponse insuliniqes au cours des repas (Marre, 2017).</p>	<p>Hyperinsulinémie tardive et hypoglycémie, Gain de poids (Marre, 2017).</p>
<p>Méglitinides (glinides)</p>	<p>Augmentation de l'insulinosécrétion (Gerson, 2007).</p>	<p>hypoglycémie, Gain de poids (Marre, 2017).</p>
<p>Inhibiteurs de l'alpha-glucosidase</p> <p>✓ Acarbose</p>	<p>Inhiber la digestion et donc l'absorption des sucres complexes au niveau intestinal,</p>	<p>Ballonnements abdominaux, Flatulences (Modi, 2007).</p>

<p>✓ Miglitol</p>	<p>diminuer la production hépatique de glucose (Faure, 2017).</p>	
<p>Thiazolidinediones (glitazones) : TZD</p> <p>✓ Pioglitazone</p> <p>✓ Rosiglitazone</p>	<p>Améliorer la résistance à l'insuline directement par l'activation des récepteurs PPARγ (Lebovitz, 2019).</p>	<p>Rétention d'eau, prise de poids (Alemán-González-Duhart et al., 2016)</p>
<p>Incrétinomimétiques (les gliptines)</p> <p>✓ Inhibiteur de la Dipeptidylpeptidase-4 (DDP-4)</p>	<p>Stimuler la sécrétion de l'insuline d'une manière dépendante du glucose tout en supprimant la sécrétion du glucagon (Gilbert et Richard, 2020).</p>	<p>hypersensibilité et des troubles gastro-intestinaux (Monnier et Colette, 2008).</p>

Chapitre 02

*Diabète, stress oxydant
et inflammation*

2. Diabète, stress oxydant et inflammation

2.1. Stress oxydatif et diabète sucré

Dans le DID et le DNID, la glycémie n'est pas régulée de manière adéquate, atteignant des niveaux supérieurs à la normale appelée hyperglycémie. Cette hyperglycémie caractérise le diabète et constitue la principale caractéristique des différentes complications associées à cette pathologie. Bien que de nombreux aspects de la physiopathologie du diabète ne soient pas encore clairs, il est bien démontré que le stress oxydatif joue un rôle majeur dans l'apparition et le développement du diabète.

Les complications micro- et macro-angiopathies dues au diabète prennent leurs origines du stress oxydatif. L'apparition excessive du stress oxydatif chez les sujets atteints de diabète de type II est la conséquence directe de l'hyperglycémie, la résistance à l'insuline, l'inflammation et la dyslipidémie (**Paoletti et al., 2006**).



Figure 2.1 : Mécanismes métaboliques impliqués dans l'apparition du stress oxydant au cours du diabète (**Bonnefont-Rousselot et al., 2004**).

L'état du stress oxydatif fait référence à un déséquilibre dans la production des espèces réactives de l'oxygène (ERO) et de l'activité antioxydante dans l'organisme, entraînant une accumulation des ERO qui endommagent directement les cellules et les tissus (**Pizzino et**

al., 2017). Les ERO eux-mêmes sont de petites molécules énergisées et réactives dérivées de l'oxygène, dont des exemples incluent le superoxyde ($\cdot\text{O}_2$), le peroxyde ($\text{ROO}\cdot$), l'hydroxyle ($\cdot\text{OH}$) et le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) (Jha *et al.*, 2016). De plus, le stress oxydatif induit l'activation de cytokines pro-inflammatoires et l'inflammation qui en résulte, ce qui favorise davantage la production des ERO, endommageant ainsi les cellules et les tissus (Oguntibeju, 2019). La production des radicaux libres est souvent augmentée par les mitochondries endommagées (Small *et al.*, 2012). La chaîne de transport d'électrons dans les mitochondries est une source majeure des ERO dans les cellules sécrétrices d'insuline, les cellules périphériques insulino-sensibles et les cellules endothéliales (Kassab et Piwowar, 2012). Le stress oxydatif apparaît dans des conditions de diabète et est probablement impliqué dans la progression du dysfonctionnement des cellules bêta pancréatiques (Kajimoto et Kaneto, 2004).

2.1.1. Voies métaboliques associées au stress oxydatif dans le diabète sucré

Les voies métaboliques qui contribuent à l'installation du stress oxydatif dans le diabète sont soit impliquées dans le métabolisme du glucose, soit dans le métabolisme des lipides. Ces voies cellulaires sont discutées ci-dessous (Ighodaro, 2018).

2.1.1.1. Auto-oxydation du glucose ou glycoxydation

Lorsque le glucose est en forme instable ène-diol (l'une de ses formes linaires transitoire) il peut s'oxyder en présence de métaux de transition comme le fer, aboutissant à la formation d'un radical anionique ène-diol qui interagit avec l'oxygène moléculaire pour libérer des anions superoxydes ou donner naissance à des aldéhydes comme le glyoxal. Ce dernier se fixe rapidement sur les protéines donnant naissance à des protéines glyquées (AGE) glycations avancés comme la carboxyméthyllysine qui provoque le déclenchement de réactions de Fenton avec production d'ERO (Haleng *et al.*, 2007).

Pour être un métabolite physiologique naturel dans l'auto-oxydation du glucose, le glyoxal peut également être formé par la peroxydation lipidique, la dégradation des protéines glyquées et l'oxydation de l'ADN, entre autres réactions (Chetyrkin *et al.*, 2012).

Les groupes carbonyles hautement réactifs du glyoxal peuvent réagir avec les résidus lysine, arginine et cystéine des protéines pour former des adduits covalents les AGE (Fig 2.2). L'accumulation de protéines endommagées par l'AGE a été impliquée dans plusieurs pathologies, notamment le diabète (Sergi *et al.*, 2021).

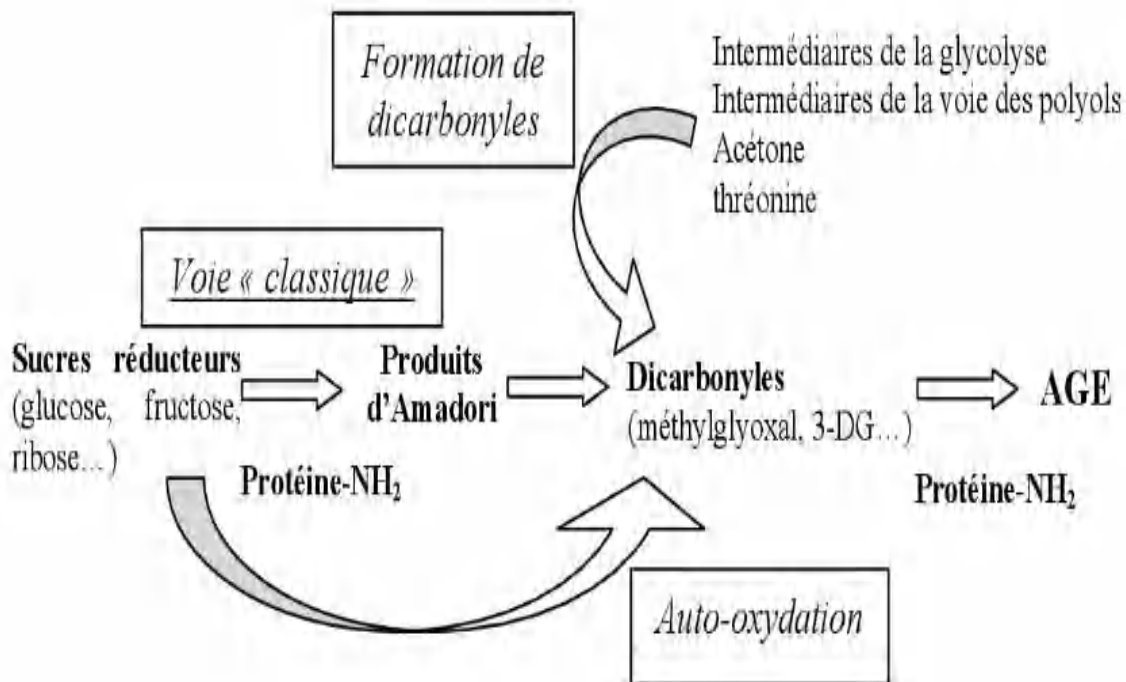


Figure 2.2 : Auto-oxydation du glucose (Januel, 2003).

2.1.1.2. Voie des polyols

Dans des conditions physiologiques normales (normoglycémique), le glucose est métabolisé en glucose-6-phosphate par l'héxokinase puis dirigé soit dans la voie de la glycolyse, soit dans la voie des pentose-phosphates. Le métabolisme du glucose par la voie des polyols représente un faible pourcentage (3%) de l'utilisation totale du glucose dans les mêmes conditions.

Dans le diabète, lorsque le taux de glucose augmente, l'héxokinase est alors saturée et le glucose en excès est métabolisé par la voie des polyols. Cette voie fait intervenir deux enzymes l'aldose réductase et la sorbitol déshydrogénase, l'aldose réductase, qui n'est active qu'à de fortes concentrations de glucose du fait de sa faible affinité pour celui-ci, réduit le glucose en sorbitol à l'aide de son coenzyme la nicotinamide adénine dinucléotide phosphate (NADPH) qui est oxydé en NADP⁺. La deuxième enzyme de la voie des polyols est la sorbitol déshydrogénase (SDH), il convertit une partie du sorbitol formé en fructose, en utilisant le NAD⁺ comme coenzyme (Fig.2.3). Le sorbitol va s'accumuler dans les cellules, de part son incapacité à traverser les membranes, il entraîne de multiples dommages tels que des dommages osmotiques. Une partie du sorbitol peut être oxydée en fructose à l'origine de produits avancés de glycation (Haleng *et al.*, 2007). En outre,

l'augmentation de l'activité de l'aldose réductase entraîne une diminution significative du taux de NADPH, entraînant par la suite une diminution de l'activité de la glutathion peroxydase et du taux de glutathion. Cette situation provoque une suppression de la grille de défense antioxydante, conduisant à un stress oxydatif. Un niveau élevé de fructose entraîne l'accumulation de GAP et de DHAP, conduisant à un stress oxydatif par la formation de méthylglyoxal et l'activation de PKC (Ighodaro, 2018). En outre, il est suggéré qu'un flux accru du métabolisme du glucose à travers la voie des polyols peut induire la réduction du NADPH et l'amplification des ERO, et ainsi l'hyperactivité de la voie des polyols est considéré comme une cause majeure des complications du diabète (Niimi *et al.*, 2021).

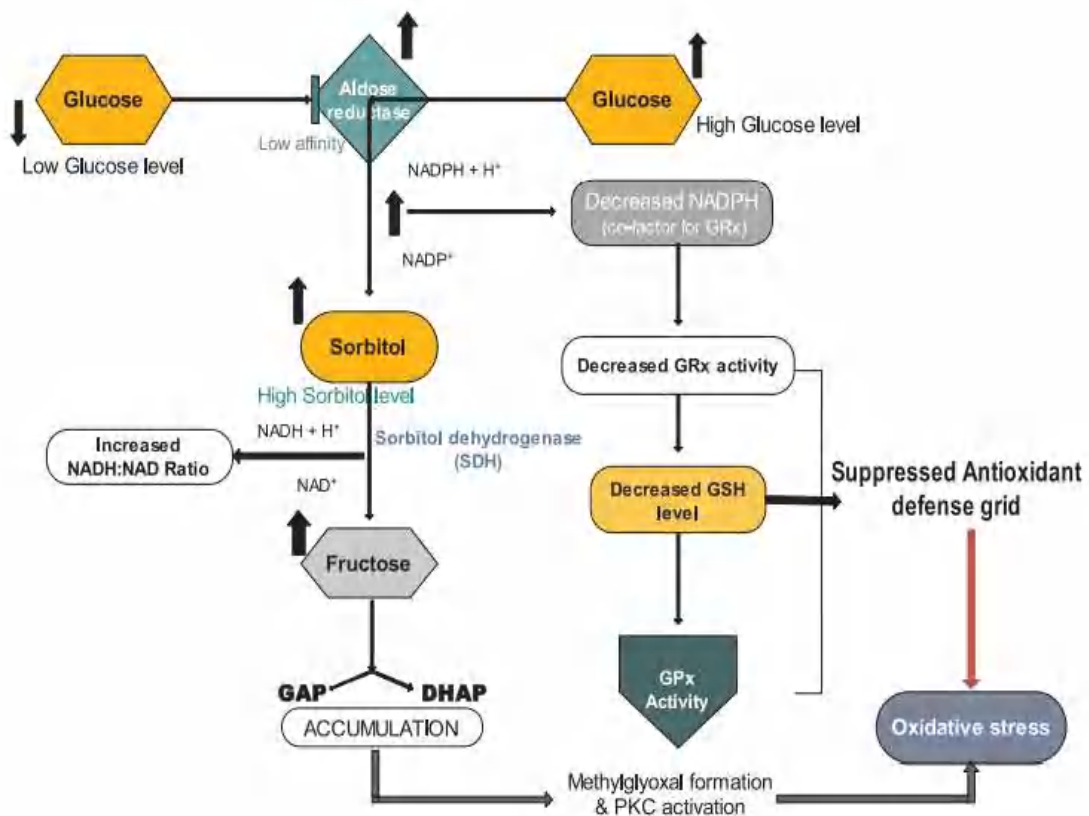


Figure 2.3: Hyperactivité de la voie des polyols dans le diabète (Ighodaro, 2018).

L'activation de la voie des polyols induit également l'altération du potentiel redox des cellules. Le système thiorédoxine NADPH-dépendant qui joue un rôle important dans la détoxification de l'organisme des radicaux libres nécessite lui aussi des niveaux élevés de NADPH pour leur fonctionnement. D'autre part la baisse du NADPH peut également limiter d'autres réactions enzymatiques, comme la formation de •NO par la NO synthétase,

conduisant ainsi à une déficience de la production du $\bullet\text{NO}$, observée chez les patients diabétiques (**Satish *et al.*, 2005**).

En résumé, le stress oxydant résultant de l'activation de la voie des polyols joue un rôle prépondérant dans l'apparition des complications liées au diabète. Des inhibiteurs de l'aldose réductase comme la sorbinyls permettent de restaurer une concentration normale en sorbitol ainsi que le ratio GSH/GSSG dans les érythrocytes des patients DNID (**Delattre *et al.*, 2005**). Cette normalisation découle de la diminution du rapport $\text{NADP}^+/\text{NADPH,H}^+$ et $\text{NADH}^+/\text{NAD}^+$. L'inhibition de la voie des polyols semble réduire le stress oxydant induit par l'hyperglycémie et peut prévenir des complications liées au diabète, aussi l'inhibition de la voie des polyols évite l'accumulation de fructose, qui participe activement au mécanisme de glycation, responsable de la production des ERO (**Mohora *et al.*, 2007**).

2.1.1.3. Voie de la Protéine kinase C (PKC)

L'activation de PKC est impliquée dans plusieurs réponses cellulaires telles que l'expression de divers facteurs de croissance, l'activation des voies de signalisation, et l'amélioration du stress oxydatif dans l'hyperglycémie (**Lien *et al.*, 2021**).

La famille des protéines kinases C (PKC) comprend au moins onze (11) isoformes de la sérine thréonine kinases, qui participent à des voies de signalisation activées par la phosphatidylsérine, le calcium et le diacylglycerol (DAG). La concentration de DAG augmente dans l'environnement hyperglycémique ou diabétique en raison d'une augmentation de la dihydroxyacétone phosphate, (DHAP) un intermédiaire de la glycolyse. Ce produit intermédiaire est réduit en glycérol-3-phosphate, qui est conjugué avec des acides gras, augmente la synthèse de novo de DAG. (**Lazo et Fernández, 2013**).

L'augmentation de la concentration en DAG dans la cellule conduit à l'activation de certaines isoformes de PKC comme la PKC- β et la PKC- δ . Les PKC agissent sur plusieurs enzymes en :

- Diminuant l'activité de la NO-synthase, consécutive à la chute du rapport $\text{NADPH,H}^+/\text{NADP}^+$.
- activant les NADPH oxydases ce qui favorise la production des ERO (**Delattre *et al.*, 2003**).

La poly (ADP-ribose) polymérase 1 (PARP-1), qui est activée à la suite de dommages de l'ADN induits par le stress oxydatif, inhibe l'activité de la glyceraldéhyde-3-phosphate déshydrogénase, ce qui entraîne une accumulation de glycéradehyde-3-phosphate et de son isomère, le dihydroxyacétone-3-phosphate. Le dihydroxyacétone-3-phosphate qui est oxydé en glycérol-3-phosphate par l'enzyme glycérol-3-phosphate déshydrogénase, et le glycérol-3-phosphate en présence d'acides gras libres forme du diacylglycérol (DAG) qui interagit avec le récepteur AGE pour induire un stress oxydatif via l'activation de la PKC (**Fig.2.4**) (Ighodaro, 2018).

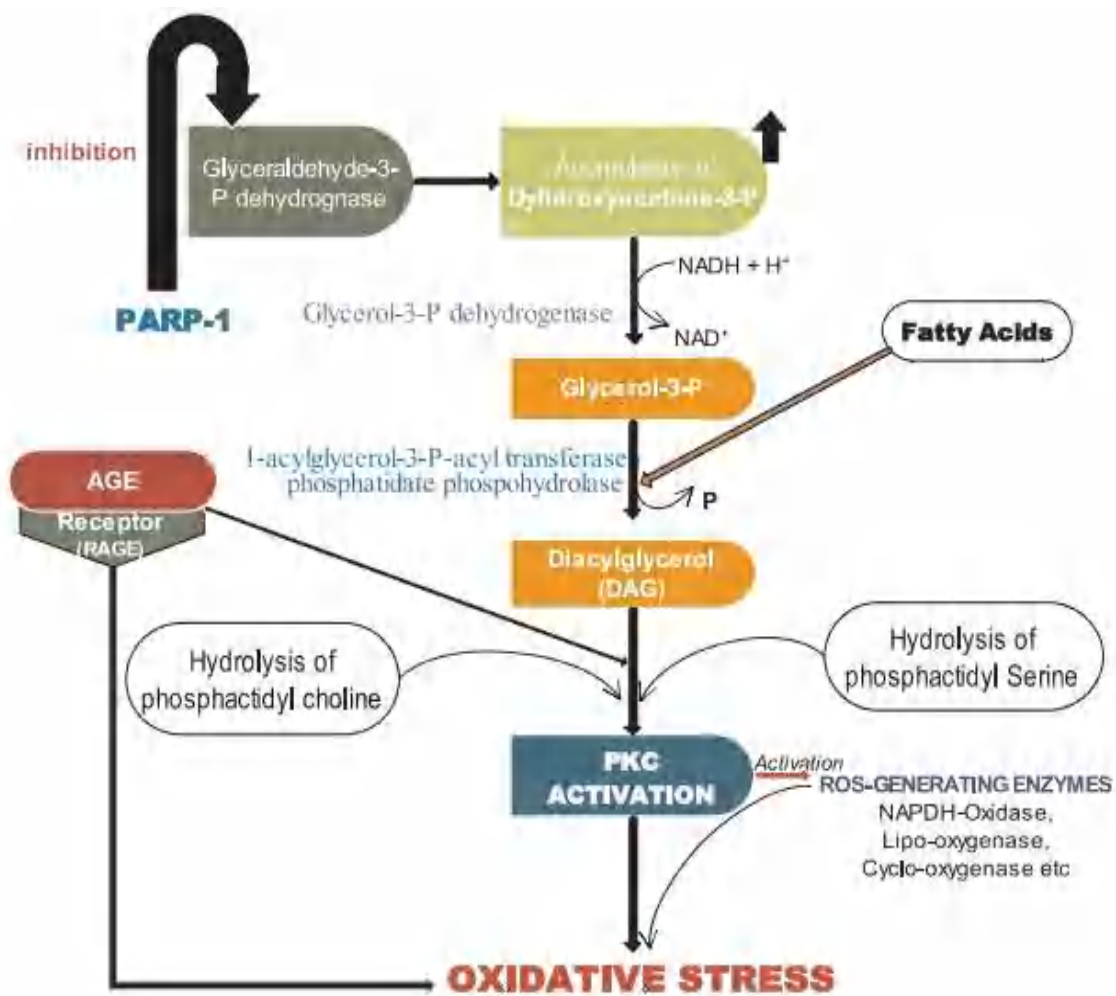


Figure 2.4 : Activation de la protéine kinase C et induction du stress oxydant au cours de l'hyperglycémie (Ighodaro, 2018).

2.1.1.4. Voie des hexosamines

Lorsque les concentrations en glucose intracellulaire sont élevées, une bonne partie de ce dernier est métabolisée *via* la glycolyse. Cependant, une partie du fructose -6 phosphate

est détournée de cette voie et est convertie en glucosamine-6 phosphate (GlucN-6-P) par la glutamine fructose-6 phosphate aminotransférase (GFAT). Celui-ci est ensuite converti en uridine diphosphate N-acétylglucosamine (UDP-GlucNAc)) (**Uhde et al.,2018**), un précurseur des glycoprotéines, des glycolipides, des protéoglycanes et des glycosaminoglycanes avec l'action enzymatique de la O-N-Acétyl-GluN transférase (OGT) (**Yang et al., 2010**), qui modifier différents facteurs de transcription conduisant à l'expression de gènes et à la synthèse de protéines tels que le facteur de croissance transformant B (TGF- β) qui sont à l'origine de certaines complications du diabète comme l'épaississement de la membrane basale des capillaires qui conduit à l'augmentation de la production de l'inhibiteur de type 1 de l'activateur du plasminogène (PAI-1). Le facteur plasminogène joue un rôle dans la fibrinolyse donc, son inhibition entraîne un effet pro-coagulant. (**Delattre et al., 2003**).

L'hyperglycémie induit le développement des complications du diabète par l'élévation de la concentration de F6P, qui s'écoule dans la voie de biosynthèse de l'hexosamine (**Giacco et Brownlee, 2010 ; Beriault et al., 2013**). Cependant, l'augmentation de la concentration en glucose dans le sang induit des voies métaboliques qui favorisent éventuellement la libération de cytokines comme les TGF- β , TNF- α , CTGF et PAI-1, impliquées dans diverses complications diabétiques (**Taparra et al., 2016**).

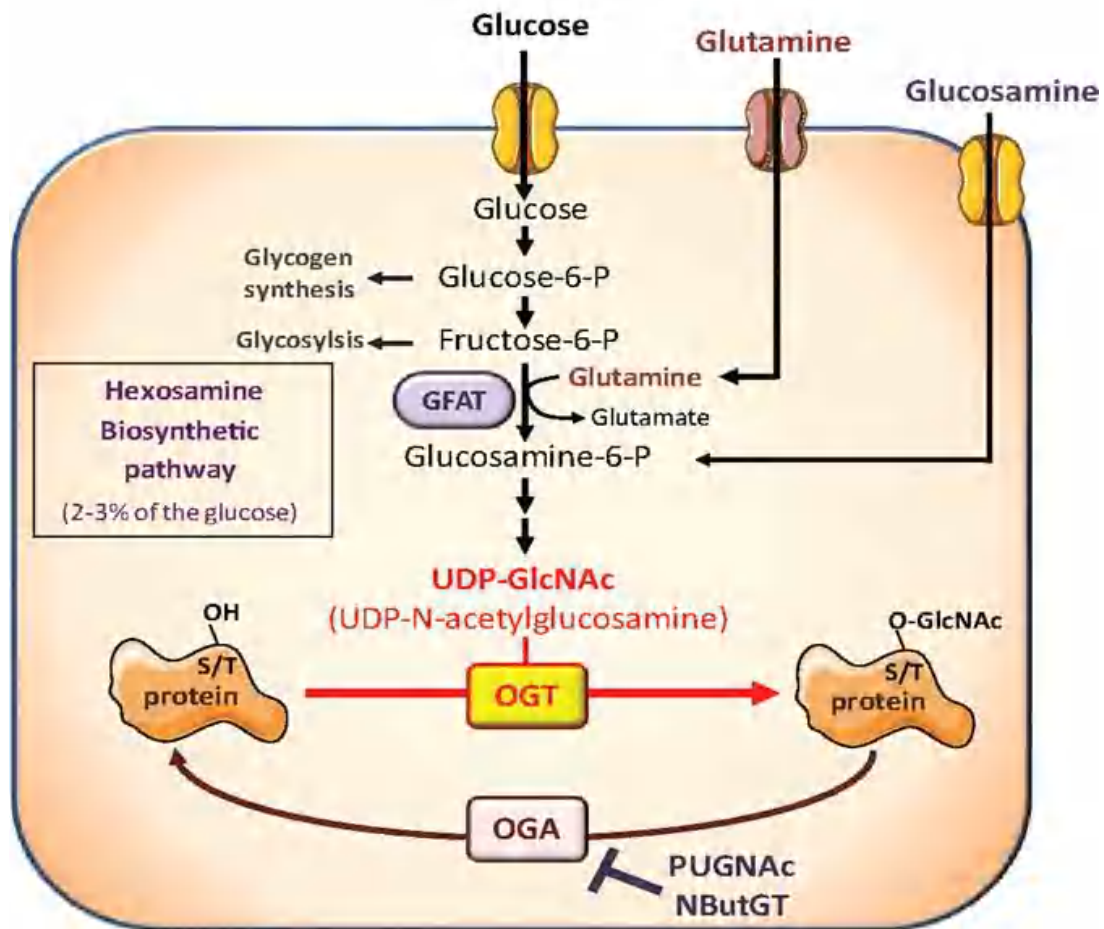


Figure 2.5 : Voie des hexosamines au cours de l'hyperglycémie (Fardini *et al.*, 2013).

2.1.1.5. Formation de produits de glycation avancée (AGE)

Les produits finaux de glycation avancée (AGE) sont des molécules organiques formées dans tout organisme vivant avec une grande variété de propriétés structurales et fonctionnelles. Ils sont considérés comme des marqueurs organiques du processus de glycation (Perrone *et al.*, 2020). La glycation est un processus non enzymatique impliquant la réaction de sucres réducteurs ou d'oxoaldéhyde réactif avec des protéines, des lipides ou des acides nucléiques, ce qui entraîne la formation de produits finaux de glycation avancée (AGE) (Indyk *et al.*, 2021).

Dans les systèmes biologiques, la glycation se déroule en deux étapes, à savoir initiale et finale (avancée). La première étape de la glycation est la réaction réversible d'un groupe carbonyle électrophile ou d'un sucre réducteur hémiacétal avec le groupe amino libre des acides aminés (le plus souvent la lysine et l'arginine). La réaction entraîne la formation d'une liaison covalente et l'élimination de l'eau. Le produit résultant est une base de Schiff

instable (imine). Au cours de l'étape suivante de plusieurs semaines, la base de Schiff subit un réarrangement intramoléculaire « la réaction d'Amadori », qui se traduit par un produit de glycation précoce plus stable et partiellement réversible (**Perrone *et al.*, 2020**).

En présence d'oxygène, les produits de la réaction classique d'Amadori se transforment en une substance de couleur jaune brunâtre caractéristique. Ces changements sont souvent appelés glycooxydation (**Turk, 2010**). La base de Schiff et les produits d'Amadori peuvent réagir de manière irréversible avec les résidus d'acides aminés des protéines ou des peptides pour produire des adduits protéiques ou des protéines réticulées. Alternativement, ces composés peuvent subir d'autres réactions de Maillard telles que l'oxydation, la déshydratation, la polymérisation et de nombreuses transformations avec la formation de nombreuses espèces réactives de l'oxygène (ERO) (**Tessier, 2010**) ou de composés dicarbonyle (glyoxal, méthylglyoxal, éthylglyoxal, 3-désoxyglucosone) (**Asciutto *et al.*, 2015**; **Sergi *et al.*, 2021**). Les substances ainsi créées sont fortement réactives. Par conséquent, ils réagissent avec les groupes amino des protéines, conduisant à la formation de produits finaux de glycation avancée (AGE) (**Perrone *et al.*, 2020**).

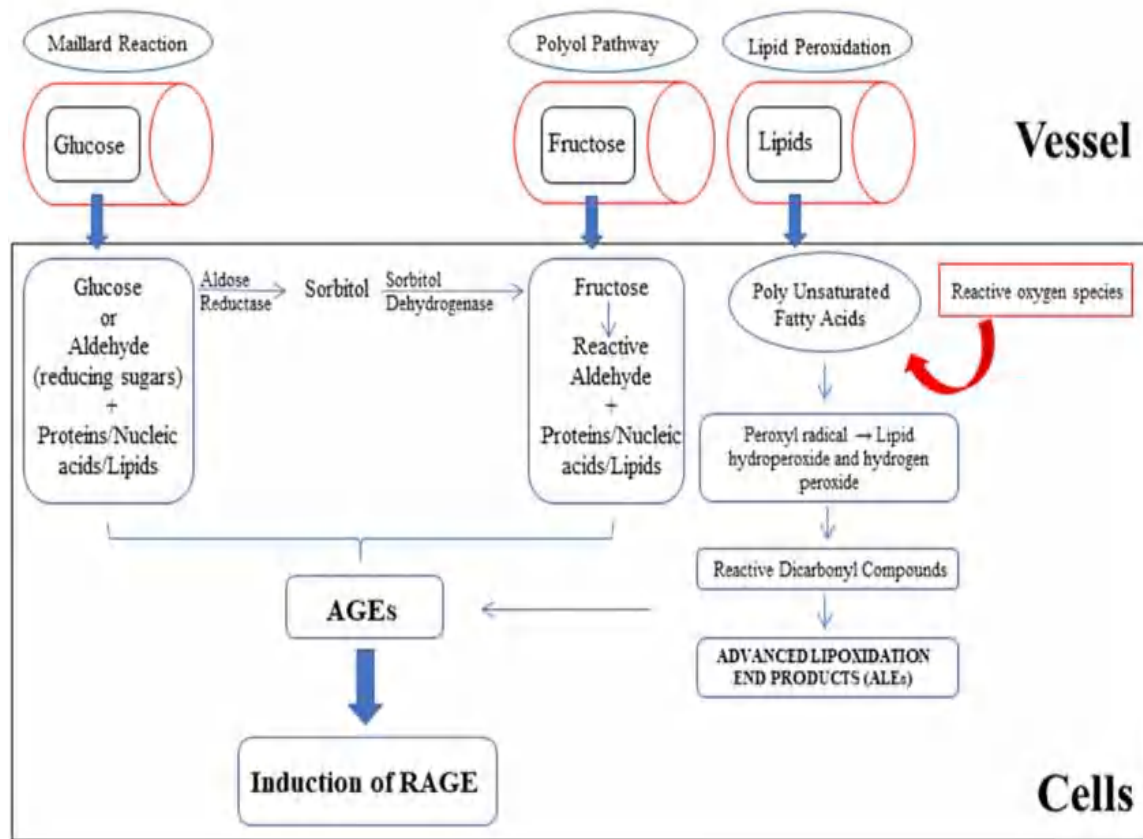


Figure 2.6 : Les voies de formation des AGE (la réaction de Maillard, la voie des polyols et la peroxydation lipidique) (**Asadipooya et Uy, 2019**).

Les trois différentes voies conduisant à la formation des AGE endogènes consistent en la réaction de Maillard, la voie des polyols et la peroxydation lipidique. Les sucres réducteurs (glucose, fructose, glycéraldéhyde) ou les composés dicarboxylés réactifs (produits de la peroxydation des lipides) réagissent avec les macromolécules (telles que le groupement amine des protéines), puis, après le processus de modification, entraînent la production d'AGE. Les produits finaux de lipoxydation avancée (ALE) sont produits par des composés dicarboxylés réactifs, qui sont générés par la peroxydation lipidique. Les acides gras polyinsaturés (lipides membranaires) produiront des espèces carbonyle. Une modification supplémentaire des ALE peut faire avancer la production d'AGE à moins que la désintoxication ne devienne dominante (**Litwinoff *et al.*, 2015; Schmidt, 2017**). La voie polyolique conduit à la conversion du glucose en fructose, et favorise également la glycation; le fructose peut être converti en 3 désoxyglucose et en 3-phosphate, qui sont tous deux des agents de glycation non enzymatiques très puissants (**Kuzan, 2021**).

L'hyperglycémie provoque l'augmentation des niveaux d'AGE, activent les voies de signalisation, qui compromettent la signalisation de l'insuline et la fonction des cellules β , contribuant ainsi au développement du diabète sucré de type II (**Sergi *et al.*, 2021**).

L'hémoglobine glyquée (HbA1C) sert de marqueur pour le suivi de la glycémie sur un long terme chez les personnes diabétiques, c'est une protéine glyquée par les AGE, c'est pour cette raison qu'il existe une relation entre l'augmentation du taux de l'HbA1C et le taux des AGE chez les personnes atteints du diabète (**Indyk *et al.*, 2021**).

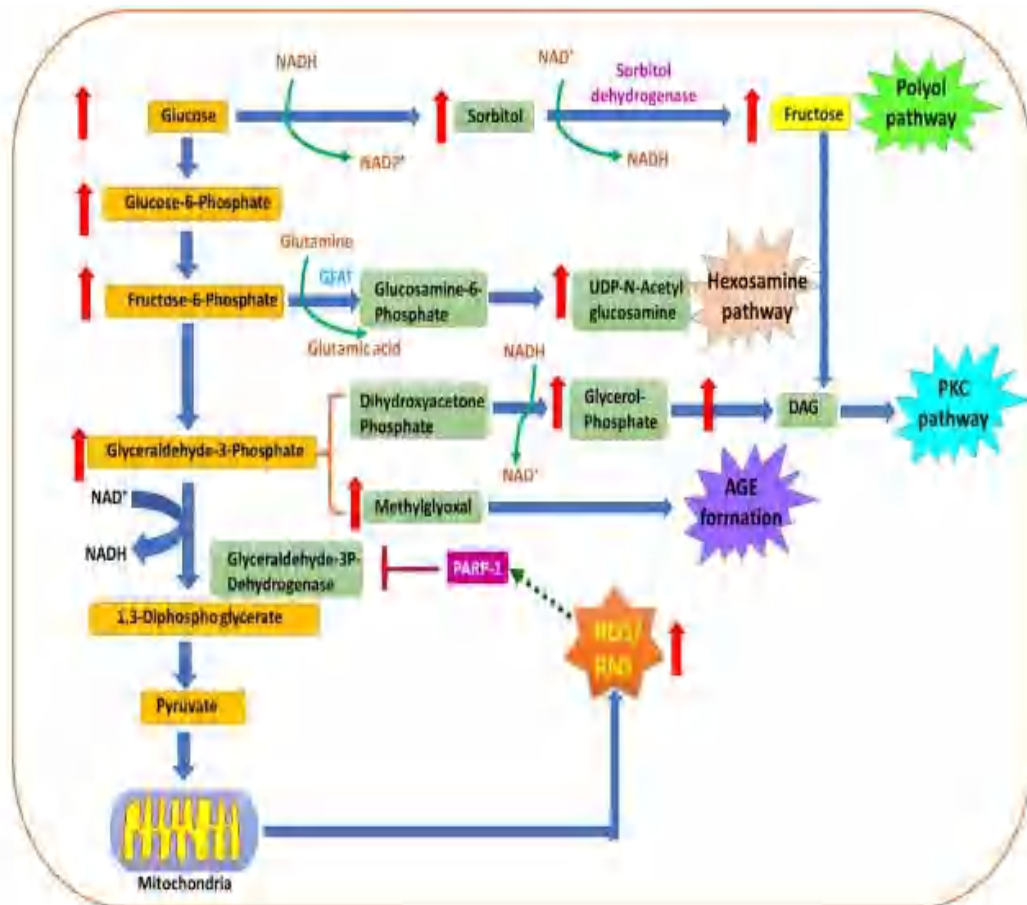


Figure 2.7 : Mécanismes possibles des effets délétères de l'hyperglycémie (Singh *et al.*, 2022).

2.2. Stress inflammatoire et hyperglycémie

L'inflammation est un processus biologique fondamental qui est à la pointe de nombreuses pathologies aiguës et chroniques et ceci en réponse à toute altération de l'intégrité tissulaire pour restaurer l'homéostasie tissulaire par l'induction de divers mécanismes de réparation. Une régulation appropriée de ces mécanismes est essentielle pour prévenir l'amplification incontrôlée de la réaction inflammatoire initiale et le passage de la réparation tissulaire aux dommages collatéraux et au développement de la maladie (Goldszmid, 2012).

Le stress oxydatif a été rapporté comme une voie connue dans les complications du diabète (Giacco et Brownlee, 2010). Il existe un lien étroit entre l'hyperglycémie, le stress oxydatif induit par l'hyperglycémie, l'inflammation et le développement et la progression du diabète sucré de type II. Divers rapports ont montré que l'inflammation chronique de bas grade est associée au risque de développer un diabète de type II et que l'inflammation

subclinique contribue à la résistance à l'insuline et est liée aux caractéristiques du syndrome métabolique qui incluent l'hyperglycémie. Le stress oxydatif stimule la génération de médiateurs inflammatoires et l'inflammation à son tour améliore la production d'espèces réactives de l'oxygène (**Oguntibeju, 2019**). Les espèces réactives de l'oxygène (ERO) peuvent activer le NF- κ B, qui est un facteur de transcription qui régule l'expression de gènes pro-inflammatoires tels que le TNF- α (Tumor Necrosis Factor- α), l'IL-6 et la protéine C réactive. De plus, l'état du diabète peut augmenter la disponibilité des acides gras libres en raison du processus de lipolyse. L'augmentation des acides gras libres activera le système immunitaire pour libérer les cytokines IL-6, TNF- α , IL-1 β . Il explique également le lien entre l'obésité et l'augmentation de l'inflammation (**Zakaria et al., 2015**).

Le TNF- α et l'IL-6, composés inflammatoires, sont libérés par les cellules adipeuses et les cellules immunitaires (neutrophiles, macrophages) et les fibres musculaires. Près de 30 % de l'IL-6 est libérée par le tissu adipeux viscéral. Le TNF- α joue un rôle dans l'apoptose des microvasculaires dans le diabète de type I et II, il a été impliqué dans la pathogenèse de la néphropathie et de la rétinopathie diabétique (**Oever et al., 2010**). L'inflammation provoque non seulement une résistance à l'insuline qui peut aggraver l'état du diabète, mais aussi un dysfonctionnement des cellules β (**Badawi et al., 2010**).

L'inflammation résulterait donc d'une infiltration de cellules inflammatoires (macrophages, lymphocytes) entraînant une augmentation de la production de cytokines pro-inflammatoires telles que l'IL-1 β (interleukine 1 β), l'INF- γ (interferon- γ) ou le TNF- α (Tumor Necrosis Factor- α), causée par un environnement diabétogène. Ces trois cytokines sont largement connues dans l'îlot pancréatique et la cellule β , et leurs effets sont d'autant plus délétères si les trois cytokines sont présentes simultanément (**Varin et al., 2016**). Il est intéressant de noter que dans l'îlot ce sont les cellules β qui sont la principale source d'IL-1 β et que cette cytokine exerce une action négative sur la masse fonctionnelle des cellules pancréatiques de manière plus importante que l'IL-1 β plasmatique (**Böni-Schnetzler et al., 2018**).

Le rôle des macrophages dans l'inflammation est bien connu. Cependant, ils semblent également jouer un rôle dans la protection anti-inflammatoire par efferocytose qui désigne le processus par lequel les cellules apoptotiques sont phagocytées. C'est donc dans un contexte diabétogène, comprenant l'hyperglycémie chronique et l'hyperlipidémie, que

l'accumulation des cellules apoptotiques entraîne une reprogrammation des macrophages. Ce processus amène à la génération des ERO conduisant à l'activation de l'inflammasome, désigné comme étant un complexe multiprotéique, et à la sécrétion de cytokines et chimiokines (TNF α , IL-1 β , IL-8, INF- γ et MCP-1) impliqués dans l'inflammation (**Donath, 2014 ; Ward *et al.*, 2018**). Dans les îlots de patients obèses, une augmentation d'IL-1 β et de NOS2 (Nitric Oxid Synthase 2) est observée. Ces marqueurs de polarisation des macrophages conduisent à un état inflammatoire. Il semblerait que ces molécules contribuent à une plus grande sensibilité au diabète type II chez les personnes obèses (**He *et al.*, 2019**).

Les réponses inflammatoires peuvent avoir soit une relation causale conduisant à une résistance à l'insuline, soit être intensifiées par l'état hyperglycémique incontrôlé qui se reflète dans les taux d'hémoglobine glyquée HbA1c. La protéine C réactive à haute sensibilité (hs-CRP) est considérée comme un marqueur pronostique majeur en réponse à une lésion tissulaire ou à une infection qui peut être utilisée pour évaluer le processus inflammatoire dans le diabète de type II (**Patani *et al.*, 2018**).

Divers marqueurs pro- et anti-inflammatoires ont été associés à la progression du prédiabète vers le diabète, dont quelques-uns comprennent l'adiponectine, l'IL-6, l'IL-13, le CRP, l'IL-18, antagoniste des récepteurs de l'IL-1 et néoptérine (**Brahimaj *et al.*, 2017**).

En outre, la présence d'AGE induit l'expression de ces récepteurs (RAGE), l'interaction entre les AGE et leurs récepteurs augmente la génération cellulaire du stress oxydatif, et augmente la libération de cytokines et de facteurs de croissance par activation du NF- κ B, et stimule les facteurs d'adhérence, ce qui mène finalement à une réponse inflammatoire (**Ohiagu *et al.*, 2021**).

2.3. Résistance à l'insuline (RI) et stress oxydatif

L'insuline joue un rôle dans le stress oxydatif, non seulement par ses réseaux de signalisation, mais aussi dans la résistance à l'insuline. Il a été montré que le stress oxydatif peut entraîner une résistance à l'insuline, en particulier dans l'endothélium (**Paneni *et al.*, 2015**).

De plus, l'augmentation des marqueurs du stress oxydatif est significativement associée à une activation réduite des récepteurs de l'insuline (**Lanzillotta *et al.*, 2021**). L'oxydation accrue des acides gras libres dans les cellules endothéliales augmente la production de

superoxyde par la chaîne de transport d'électrons mitochondriale, entraînant une signalisation inadaptée de l'insuline (Du *et al.*, 2006).

Dans le diabète, l'hyperglycémie chronique induit une altération de la fonction pancréatique et aggrave la résistance à l'insuline ; ces actions sont associées au stress oxydatif. Les cellules bêta sont plus vulnérables au stress oxydatif en raison de leur expression relativement faible d'enzymes antioxydantes telles que la catalase et la glutathion peroxydase. Dans le cas du diabète, l'hyperglycémie et la production subséquente de stress oxydatif diminuent l'expression et la sécrétion des gènes de l'insuline. En effet, l'expression de marqueurs de stress oxydatif tels que la 8-hydroxy-2-désoxyguanosine (8-OHdG) et le 4-hydroxy-2,3-nonéol (4-HNE) a été augmentée dans les îlots en condition du diabétique. La diminution de l'expression du gène de l'insuline après une exposition prolongée à une concentration élevée de glucose a été prévenue par un traitement aux antioxydants (Gorogawa *et al.*, 2002).

D'autre part, la résistance à l'insuline dans les adipocytes augmente les acides gras libres (AGL), et après pénétration et augmentation du volume d'AGL dans les cellules endothéliales macrovasculaires, l'oxydation des AGL se produit dans les mitochondries et conduit finalement à une augmentation de la production de FADH, NADH et l'augmentation subséquente de la production des ERO. L'effet des ERO sur les dommages cellulaires est également similaire à celui de l'hyperglycémie décrite ci-dessus (Tibaut, 2016).

Le stress oxydant peut réduire la sensibilité périphérique à l'insuline via au moins cinq mécanismes moléculaires majeurs y compris le dysfonctionnement des cellules β , l'inflammation, une régulation négative de GLUT-4, un dysfonctionnement mitochondrial et une altération des voies de signalisation normales de l'insuline (Yaribeygi *et al.*, 2020).

2.3.1. Dysfonctionnement des cellules β /production et sécrétion d'insuline

L'hyperglycémie chronique induit la génération de radicaux libres dans les îlots par plusieurs voies moléculaires telles qu'une augmentation de l'activation du calcium cytosolique et de la protéine kinase (Newsholme *et al.*, 2009). Le stress oxydatif altère la fonction de la cellule bêta via plusieurs mécanismes moléculaires. Il réduit considérablement la production d'insuline, empêche l'inclusion des vésicules de proinsuline dans la membrane plasmique et réduit leur exocytose en réponse au glucose dans la circulation. Il peut également induire des processus apoptotiques dans les cellules

pancréatiques entraînant la mort et la perte de cellules bêta (**Drews et al., 2010, Gerber et Rutter, 2017**). Une série d'agents pro-apoptotiques sont très sensibles au stress oxydatif et peut activer le processus apoptotique dans les cellules pancréatiques (**Kang et al., 2018 ; Alarifi et al., 2017**). De plus, une surcharge d'espèces de radicaux libres a un effet négatif sur les voies métaboliques dans les cellules bêta et altère les canaux K_{ATP} , entraînant une baisse de la sécrétion d'insuline (**Drews et al., 2010**).

Des concentrations plus élevées de radicaux libres inhibent les facteurs de transcription nucléaire impliqués dans l'expression des gènes de l'insuline comme Pdx-1 (facteur 1 du promoteur de l'insuline) et MafA (un facteur de transcription) réduisant ainsi la production d'insuline au niveau de l'ADN (**Robertson, 2006**). Le dysfonctionnement mitochondrial induit par le stress oxydatif dans la cellule bêta est un autre mécanisme moléculaire possible entre les dommages oxydatifs et le dysfonctionnement des cellules bêta (**Drews et al., 2010**). Bien que les radicaux libres aient un rôle physiologique dans la prolifération des cellules bêta, un excès de radicaux libres va perturber la néogenèse des cellules bêta (**Liang et al., 2016**).

2.3.2. Expression et/ou localisation de GLUT-4

Le stress oxydatif peut réduire la teneur en GLUT-4 en affectant négativement son expression génique en altérant la liaison du facteur nucléaire à l'élément sensible à l'insuline du promoteur GLUT-4 dans les adipocytes 3T3-L1 (**Pessler et al., 2001**).

Un stress oxydatif prolongé peut supprimer les facteurs transcriptionnels impliqués dans l'expression de GLUT-4 tels que PPAR- γ , facteur nucléaire-1, MEF2 et NF- κ b (**Cooke et Lane, 1999 ; Pessler et al., 2001 ; She et Mao, 2011**). Il pourrait également supprimer les micro-ARN impliqués dans l'expression de GLUT-4 (**Matsuzaki et Ochiya, 2018**). Ainsi, la réduction de l'expression/localisation de GLUT-4 est l'un des principaux mécanismes moléculaires par lesquels le stress oxydatif induit une résistance à l'insuline et contribue au développement du diabète sucré (**Hurrle et Hsu, 2017**).

2.3.3. Altération des voies de signalisation de l'insuline

Le stress oxydatif induit par l'hyperglycémie active différentes sérine/thréonine (Ser/Thr) kinases sensibles au stress, telles que IKK- β (inhibiteur de la sous-unité bêta du facteur nucléaire kappa-B kinase), qui à leur tour phosphorylent plusieurs cibles : les récepteurs de l'insuline (IR), IRS-1 et IRS-2, entraînant des effets défavorables, notamment

la diminution de l'activation de la phosphoinositide 3-kinase (PI3K) et de la résistance à l'insuline (Evans *et al.*, 2003). D'autres types de sérine/thréonine kinases telles que PKB, GSK-3 et mTOR sont également très sensibles au stress oxydatif et peuvent altérer la signalisation de l'insuline (Rains et Jain, 2011).

2.3.4. Processus inflammatoires

La réponse inflammatoire est l'un des principaux mécanismes moléculaires sous-jacents impliqués dans la physiopathologie de la résistance à l'insuline, diabète sucré et ses complications associées (Yaribeygi *et al.*, 2019).

Le stress oxydatif est un événement en amont de l'inflammation car il induit l'activation des monocytes et des macrophages et favorise les réponses inflammatoires impliquées dans la résistance à l'insuline et le diabète sucré (Bae *et al.*, 2017). Il régule également la hausse de l'expression des procytokines et augmente ainsi les médiateurs inflammatoires au niveau de l'ARNm et des protéines (Elmarakby et Sullivan, 2012). Par conséquent, l'inflammation induite par les radicaux libres est un autre lien possible entre le stress oxydatif et la résistance à l'insuline (Keane *et al.*, 2015).

2.3.5. Dysfonctionnement mitochondrial

Le processus normal d'absorption du glucose via GLUT-4 dépend étroitement du fonctionnement physiologique des mitochondries, qui produisent l'énergie nécessaire à l'absorption du glucose dans les tissus périphériques (Tokarz *et al.*, 2018). En conséquence, le dysfonctionnement mitochondrial réduit considérablement la capacité de production d'ATP cellulaire et altère l'absorption du glucose induite par l'insuline dans les adipocytes et les fibres musculaires. Dans ces conditions, les cellules sont incapables d'absorber le glucose circulatoire en réponse à l'insuline, ce qui entraîne une résistance à l'insuline. De plus, le stress oxydatif peut altérer la fonction mitochondriale normale en augmentant l'oxydation des acides gras mitochondriaux et la production de DAG (diacylglycérol). Par conséquent, le dysfonctionnement mitochondrial dépendant du stress oxydatif est un autre mécanisme moléculaire par lequel les radicaux libres entraînent une résistance à l'insuline (Rains et Jain, 2011).

Chapitre 03

*Plantes médicinales
et diabète*

3. Plantes médicinales et diabète

3.1. Phytothérapie

D'un point de vue étymologique, La phytothérapie provient de deux mots grecs : « phuton » qui signifie plante, « therapeia » qui signifie traitement (**Wichtl et Anton., 2003**). C'est la thérapie qui se base sur les vertus thérapeutiques des plantes et de leurs extraits pour le traitement et la prévention des maladies. En effet, les chercheurs ont su acquérir la connaissance des plantes et de leurs propriétés thérapeutiques, où plusieurs travaux ont dévoilé les secrets des plantes médicinales et étudié la pharmacopée traditionnelle d'un point de vue biologique, chimique et pharmacologique (**Bellakhdar, 2006**).

De nombreuses plantes médicinales possèdent plusieurs activités thérapeutiques car le plus souvent, elles contiennent plusieurs principes actifs.

3.2. Phytothérapie du diabète

Malgré le développement spectaculaire de la médecine moderne, les plantes médicinales trouvent encore leurs indications thérapeutiques dans le traitement d'une multitude d'affections et de maladies y compris le diabète (**Eddouks et al., 2007**).

Il existe plusieurs mécanismes possibles par lesquels les plantes médicinales induisent une hypoglycémie. Ceux-ci comprenaient : l'amélioration de la régénération ou de la revitalisation des cellules bêta pancréatiques endommagées et la protection contre d'autres dommages, l'amélioration de la synthèse et de la sécrétion d'insuline par les cellules bêta, la diminution de l'absorption du glucose par le système gastro-intestinal, l'augmentation de la sensibilité à l'insuline des tissus, la possession d'insuline mimant des effets secondaires et modifiant l'activité de certaines enzymes impliquées dans le métabolisme du glucose (**Grover et al., 2002**).

Les plantes médicinales sont employées pour le traitement du diabète dans beaucoup de pays. Plus de 1200 espèces de plantes ont été utilisées de façon ethnopharmacologique pour traiter le diabète sucré (**Delaviz et al., 2017**). Ainsi, le comité d'expert sur le diabète de l'Organisation Mondiale de la Santé a recommandé l'utilisation d'hypoglycémifiants d'origine végétale du fait qu'ils sont plus efficaces et moins toxiques (**Atanasov et al., 2015 ; World Health Organization, 2019**).

Les familles de plantes médicinales ayant les effets hypoglycémiantes les plus puissants comprennent les légumineuses, les lamiacées, les liliacées, les cucurbitacées, les astéracées, les moracées, les rosacées, les euphorbiacées et les araliacées (**Matalqah et Al-Tawalbeh, 2019**). De plus, l'effet hypoglycémiant de certains extraits de plantes a été confirmé par plusieurs études scientifiques et médicales, telles que *Momordica charantia* de la famille des Cucurbitacées qui a été objet de plusieurs études scientifiques qui ont confirmé son effet hypoglycémiant (**Mahmoud et al., 2017 ; Gao et al., 2018 ; Peter et al., 2019**) ; les Liliacées avec *Allium cepa* dont les études sont très poussées sur l'activité antidiabétique (**Dureshahwar et al., 2017 ; Pradeep et al., 2019**) et sans oublier *Galega officinalis* (galéga) qui est à l'origine de la Metformine (Glucophage) ; antidiabétique orale de la classe des biguanides employée dans le traitement du DT2 (**Marles et al., 1994 ; Bailey, 2017**).

Selon les estimations de l'OMS, 80% de la population en Afrique utilise des médicaments traditionnels plutôt que des médicaments modernes (**WHO, 2010**). Il existe une grande diversité floristique, liée à la grande taille et à la diversité climatique de l'Algérie, entre le nord où le climat est méditerranéen, les montagnes de l'Atlas au centre et le désert du Sahara au sud (**Hamza et al., 2019**). En effet, la flore algérienne est constituée de 4000 taxons avec 131 familles et 917 genres. (**Radford et al., 2011**).

La phytothérapie représente une partie intégrante de la culture et des traditions algériennes (**Bentabet et al., 2014**). Elle est largement adoptée par la société algérienne centrale, et il existe une grande diversité de plantes médicinales utilisées pour le traitement complémentaire du diabète (**Belmouhoub et al., 2022**). Plusieurs enquêtes ethnobotaniques ont permis d'identifier de nombreuses plantes médicinales utilisées en médecine traditionnelle algérienne pour le diabète (**Hamza et al., 2019**). L'effet hypoglycémique de certaines d'entre elles a été prouvé par de nombreuses études (**Manukumar et al., 2017 ; Patel et al., 2012**).

3.3. Mécanisme d'action des plantes médicinales antidiabétiques

Les produits naturels tels que les plantes et les herbes ont la capacité de réduire les valeurs de glycémie et d'améliorer le diabète (**Patel et al., 2016**). Ces plantes médicinales et leurs préparations agissent à des points clés du métabolisme glucidique par différents mécanismes d'action (**Governa et al., 2018**):

- Stimulation de la sécrétion d'insuline à partir des cellules β ou/et inhibition du processus de dégradation de l'insuline;
- Augmentation des récepteurs activés par certains proliférateurs (PPAR) ;
- Inhibition de l' α -amylase ou l' α -glucosidase ;
- Inhibition de la sécrétion de l'incrétine, le GLP-1 ;
- Inhibition du produit final de glycation avancée (AGE) ;
- Piégeage des radicaux libres plus activité antioxydante (contre les espèces réactives de l'oxygène ou de l'azote (ERO/ERA)) ;
- Régulation positive ou élévation de la translocation du transporteur de glucose de type 4 (GLUT-4) et prévention du développement de la résistance à l'insuline (Nazarian-Samani *et al.*, 2018).

Les principaux composants des plantes pouvant être responsables de ces actions sont les flavonoïdes tels que l'apigénine (flavones) (Awad *et al.*, 2012) et l'huile volatile (Mahmoud *et al.*, 2015).

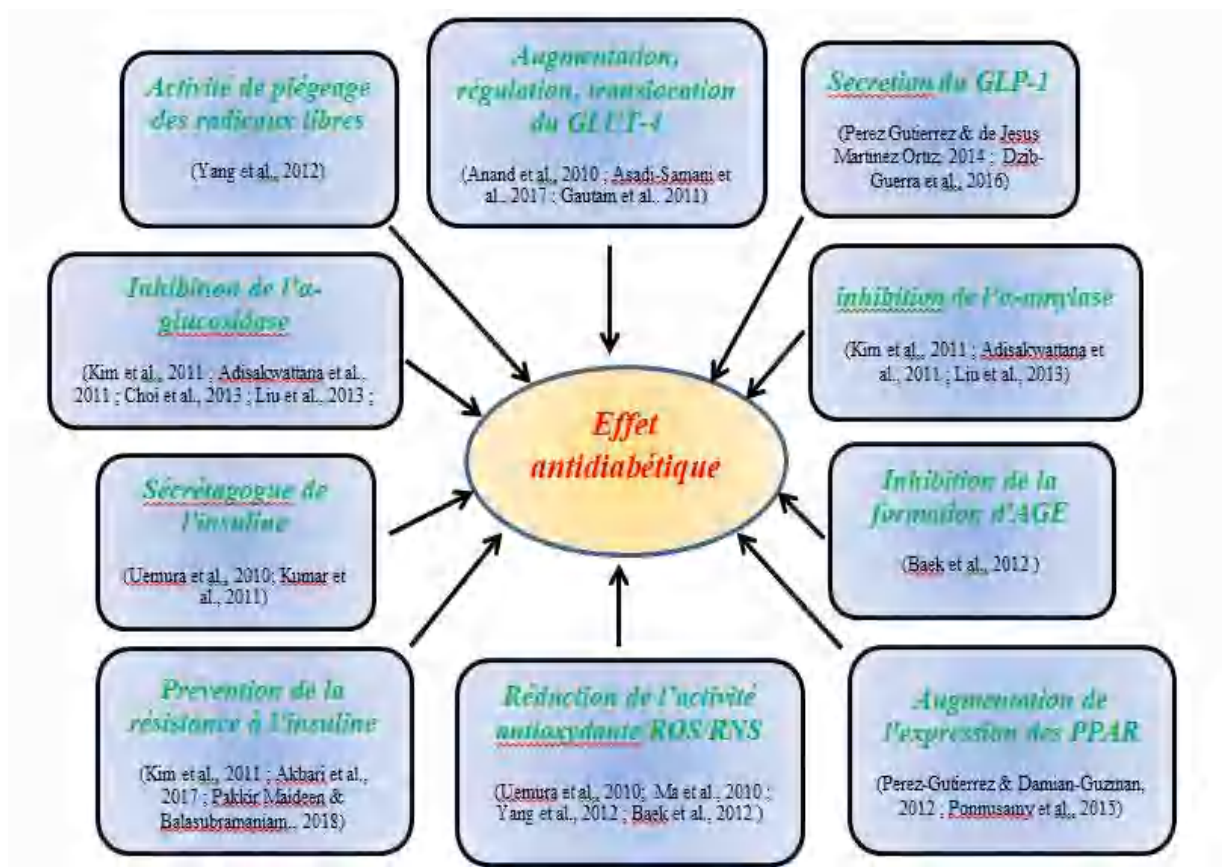


Figure 3.1 : Diagramme illustrant certains des principaux mécanismes d'origine végétale de l'activité antidiabétique (Nazarian-Samani *et al.*, 2018).

3.4. Les effets antidiabétiques des principes actifs des plantes

Les plantes ont une importance capitale pour la survie de l'homme et des différents écosystèmes. Elles renferment une part importante des composés qui interviennent dans l'ensemble des réactions enzymatiques ou biochimiques ayant lieu dans l'organisme. On distingue ainsi deux groupes de métabolites : les métabolites primaires et les métabolites secondaires (**Soumyanath, 2006**).

Les métabolites primaires sont des molécules organiques qui se trouvent dans toutes les cellules de l'organisme d'une plante pour y assurer sa vie. Ils sont produits généralement en grande quantité mais représentés par un petit nombre de familles (les glucides, les lipides, les acides aminés et les acides nucléiques). Au contraire; Les métabolites secondaires sont des produits, à structure chimique souvent complexe, très dispersés et très différents selon les espèces (**Cuendet, 1999**), très nombreux et variés mais produits souvent en très faibles quantités. Ils sont synthétisés en réponse aux contraintes de l'environnement et permettent à la plante de se défendre contre les pathogènes ou prédateurs (**Morot-Gaudry et al., 2017**). Ces molécules représentent également une source importante de produits pharmaceutiques actifs (**Bourgaud et al., 2001**).

Il existe plus de 200 000 métabolites secondaires, dont plus de 200 présentent une activité hypoglycémiant. Ainsi un certain nombre de groupes, tels que des alcaloïdes, des saponines, des flavonoïdes, des glycosides, des polysaccharides, des peptidoglycanes, acides aminés et d'autres obtenus à partir de diverses sources végétales, semblent avoir des effets, d'une importance particulière, dans le traitement du diabète (**Soumyanath, 2006**).

Tableau 3.1 : Principes actifs des plantes

Les composés phénoliques
<p>Les composés phénoliques ou polyphénols sont un grand groupe de métabolites secondaires naturels que l'on trouve principalement dans les plantes (fruits, légumes, céréales, etc.) et boissons (Ronand, 2011).</p> <p>Près de 8000 composés naturels appartiennent à cette famille; ils ont en commun un noyau benzénique portant au moins un groupement hydroxyle (Stalikas, 2007). Ils ont une grande variété de structures diverses, qui appartiennent à deux principales classes : les non-flavonoïdes (en particulier les acides phénoliques, les stilbènes et les lignanes) et les flavonoïdes. Les deux cycles aromatiques de la structure flavonoïde sont liés par un</p>

hétérocycle cycle, qui diffère par le degré d'oxydation et conduit aux sous-classifications suivantes : flavones, flavonols, isoflavones, flavanones, anthocyanes et flavanols, généralement appelés catéchines. Certains des représentants les plus répandus des composés phénoliques naturels sont le kaempferol (flavonol), la quercétine (flavonol), la lutéoline (flavone) et le resvératrol (stilbénoloïde) (**Wang et al., 2011 ; Ola et al., 2017**). Le traitement par la quercétine a la capacité d'abroger la progression de l'hypertension induite par le diabète ainsi que l'amélioration des réponses contractiles exagérées de l'aorte. Des études ont confirmé l'efficacité de resvératrol dans le diabète de type II (**Yar et al., 2011**).

Une hypothèse explique les effets hypoglycémisants des polyphénols par une augmentation de la captation du glucose par les tissus périphériques. Cet effet est démontré par une augmentation de l'absorption du glucose par des cellules musculaires, ou des adipocytes de rats ou de souris mises en culture en présence d'acide caféique ou d'épigallocatechine gallate (**Hamza, 2011**).

Des études animales et humaines ont montré que les polyphénols modulent le métabolisme des glucides et des lipides, diminuent la glycémie et la résistance à l'insuline, augmentent le métabolisme des lipides et optimisent le stress oxydatif et les processus inflammatoires (**Dragan et al., 2015**).

Les alcaloïdes	Les terpénoïdes	Les polysaccharides
<p>Les alcaloïdes figurent parmi les principes actifs les plus importants en pharmacologie et en médecine (Guignard, 2000).</p> <p>Ce sont des substances organiques le plus souvent d'origine végétale, azotées, basiques et douées à faible dose de propriétés physiologiques marquées (Zenk et Juenger, 2007).</p> <p>Les alcaloïdes sont principalement extraits des plantes fleurissantes. Ce sont des</p>	<p>Les terpénoïdes sont une classe de produits naturels dérivés d'unités d'isoprène à cinq carbones. Ce sont des lipides synthétisés à partir de l'acétyl-CoA, ce sont donc des molécules hydrophobes. Ces types de lipides naturels peuvent être trouvés dans toutes les classes des êtres vivants et sont donc considérés comme le plus</p>	<p>Les polysaccharides sont des molécules de glucides polymériques composées de longues chaînes d'unités monosaccharidiques liées entre elles par des liaisons glycosidiques, et par hydrolyse compte tenu des monosaccharides ou oligosaccharides constituants (Wu et al., 2016).</p>

<p>composés relativement stables qui sont stockés dans les plantes en tant que produits de différentes voies biosynthétiques, la plupart du temps à partir des acides aminés tels que la lysine, l'ornithine, la tyrosine et le tryptophane. Quelques structures sont relativement simples, tandis que d'autres sont tout à fait complexes. Les alcaloïdes peuvent se trouver dans toutes les parties de la plante, mais selon l'espèce de la plante (Mauro, 2006).</p>	<p>grand groupe de produits naturels (Yadava et al., 2014). Les terpénoïdes jouent un rôle prometteur dans la prévention et le traitement du diabète et des complications diabétiques comme la rétinopathie, la néphropathie, la neuropathie, l'embryopathie et d'autres dysfonctionnements vasculaires (Grace et al., 2019).</p>	<p>Les polysaccharides sont des constituants essentiels de tous les organismes vivants et sont associés à une variété de fonctions vitales qui soutiennent la vie. On les trouve le plus abondamment dans les algues, les champignons et les plantes terrestres plus élevées (Srivastava et Kulshreshtha, 1989).</p>
--	---	---

3.5. *Capparis spinosa*

La famille Capparidaceae est représentée par des herbes, des arbustes et des arbres, elle est répartie en 46 genres et environ 700 espèces. Les genres les plus importants sont *Capparis*, *Cleome* et *Crateva* **(Aghel et al., 2007)**.

Le câprier (*Capparis spinosa*) est l'espèce type du genre *Capparis* de la famille des Capparidacées **(Jiang et al., 2007 ; Tlili et al., 2011)**, communément appelée le câprier, El-Kabbar en Algérie. Il contient plus de 350 espèces distribuées dans différents habitats, des zones subtropicales aux zones tropicales de l'Afrique, de l'Asie, de l'Australie, de l'Amérique méridionale et de l'Europe **(Inocencio et al., 2006)**, et qui sont utilisées pour différentes fins (alimentation, médecine, ornementation, cosmétique). *Capparis spinosa* présente des variations morphologiques considérables dues aux divers facteurs tels que la différenciation éco-géographique, les modifications topographiques et les processus d'hybridation favorisant la présence de phénotypes intermédiaires **(Chedraoui et al., 2017)**.

Tableau 3.2 : Classification de la plante *Capparis spinosa* (Quézel *et al.*, 1962).

Règne	Plantes (Végétal)
Sous règne	Ttracheobionta
Embranchement	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Dilleniidae
Ordre	Capparales
Famille	Capparidaceae
Genre	<i>Capparis</i>
Espèce	<i>Capparis spinosa</i>

3.5.1. Description botanique du *Capparis spinosa*

Capparis spinosa est un arbuste vivace épineux, à rameaux feuillés et étalés, de 0,3 à 1 mètre de long et racines profondes qui peuvent s'étendre jusqu'à 6 à 10m (Nabavi *et al.*, 2016). Il se caractérise par des :

- tiges flexueuses, épineuses portant des feuilles alternes, pétiolées, ovales-arrondies, lisses, vertes, et souvent un peu rougeâtre, avec des épines à la base (Satyanarayana *et al.*, 2008).
- grandes fleurs révélant une beauté exceptionnelle malheureusement très éphémères, pédonculées, solitaires et axillaires, mesurant jusqu'à environ 6 cm de diamètre et pourvues de quatre sépales verts, concaves, de corolle à quatre grands pétales blanc rosé de forme ovale-arrondie et de nombreuses étamines à filets longs et pourprés comme les anthères, dépassées par le petit ovaire porté par un "pied" allongé (Satyanarayana *et al.*, 2008 ; Manikandaselvi et Brindha, 2014)
- fruits sont des baies ovoïdes ou pyriformes longuement stipités, rougeâtres à nombreuses graines réniformes, avec une saveur délicieuse (Satyanarayana *et al.*, 2008).



Figure 3.2 : *Capparis spinosa*

3.5.2. Composition phytochimique

Capparis spinosa est une source potentielle de certains composants alimentaires de base pour la nutrition humaine. Par exemple, le fruit de cette espèce contiendrait de l'humidité (79%), des cendres (1,6%), des protéines (5,8%), des matières grasses (1,6%), des fibres brutes (5,4%) et des minéraux importants comme le calcium, le magnésium, le potassium, le sodium, le fer et le phosphore (Farooq *et al.*, 2016).

The main constituents essential oils were methyl isothiocyanate, hexadecanoic acid, limonene, nonanal-n, cymene-2,5-dimethoxy-para, thymol, octanoic acid, and 2-hexenal (El-Naser, 2016 ; Ramdani *et al.*, 2020 ; Alipour *et al.*, 2021 ; Alkhaibari et Alanazi, 2022). Les acides linoléique et oléique ont été établis comme acides gras majeurs des huiles de graines de câprier (*Capparis spinosa*) (Ozcan *et al.* 2012).

Les câpres, les fruits non mûrs et les pousses tendres sont utilisés comme nourriture. Le câprier est une riche source non seulement de composés soufrés, mais aussi de composés phénoliques, car de nombreux flavonoïdes ont été trouvés dans différentes parties du câprier et en grande quantité, ce qui indique qu'il s'agit d'une bonne source de composés fonctionnels à la fois comme aliment et pour les applications nutraceutiques (Grimalt *et al.*, 2022). Les composés identifiés les plus importants sont les dérivés de la quercétine, du kaempférol et de l'isorhamnétine en plus des dérivés de la myricétine, de l'ériodictyol, de la cirsimaritrine et de la gallocatéchine (Bakr et El Bishbishy 2016).

L'analyse phytochimique qualitative de l'extrait de *Capparis spinosa* (parties aériennes) a montré des alcaloïdes, des glycosides, des glucides, des tanins, des phénols et des triterpénoïdes dans l'extrait éthanolique, et des alcaloïdes, des stéroïdes, des glucides, des flavonoïdes, des tanins, des phénols et des saponines dans l'extrait aqueux (Mustafa, 2011). Tili *et al.* (2011) ont rapporté que des études phytochimiques ont montré la présence de nombreux composés bénéfiques tels que la spermidine, la rutine, la quercétine, le kaempférol, le stigmastérol, le campestérol, les tocophérols et les caroténoïdes. Le tableau 2 montre les constituants importants isolés de *C. spinosa*.

Tableau 3.3 : Résumé de certains constituants importants isolés à partir de *C. spinosa*.

La partie de <i>Capparis spinosa</i>	Composés identifiés	Méthode d'extraction	Références
Partie aérienne	Cappariloside A ; Stachydrine ; Hypoxanthine, Uracile	Méthode chromatographique	Fu <i>et al.</i> , 2007
	1H-indole-3-acétonitrile ; 4-O-β-(6-O-β-glucopyranosyl)-glucopyranoside ; 1H-indole-3-acétonitrile 4-O-β-glucopyranoside ; Glycosides d'indole-3 acétonitrile	Méthode spectroscopique	Çalis <i>et al.</i> , 1999
	Capparine A ; Capparine B ; Flazin ; Guanosine ; 1H-indole-3-carboxaldéhyde ; 4-hydroxy-1H-indole-3-carboxaldéhyde ; Apigénine ; Kaempférol ; Thévétiaflavone	Méthode spectroscopique	Zhou <i>et al.</i> , 2010
	Capparisine A ; Capparisine B ; Capparisine C	Méthode chromatographique	Yang <i>et al.</i> , 2010

	Tétrahydroquinoléine Énantiomères de benzofuranone 2-(4-hydroxy- 2-oxo-2,3- dihydrobenzofuran-3-yl) acétonitrile	Méthode chromatographique	Zhang <i>et al.</i>, 2014
	Rutine.	Méthode chromatographique	Mollica <i>et al.</i>, 2017
	Kaempférol-3-glucoside ; Kaempférol-3 rutinoside ; Kaempférol-3- rhamnourutinoside	Méthode chromatographique	Rodrigo <i>et al.</i>, 1992
	Kaempférol 3-O-rutinoside ; Isorhamnétine 3-O-rutinoside	Méthode chromatographique	Siracusa <i>et al.</i>, 2011
	Quercétine 3-O-glucoside ; Quercétine 3-O-glucoside-7- O-rhamnoside ; Quercetin 3-O-[6"1 -alpha-L- rhamnosyl-6"-beta-D- glucosyl]-beta-glucoside	Méthode chromatographique	Sharaf <i>et al.</i>, 2000
	Kaempférol 3-rhamnosyl- rutinoside ; Kaempférol 3-rutinoside ; Quercétine 3-rutinoside	Méthode chromatographique	Inocencio <i>et al.</i>, 2000
	Ginkgetin ; Isoginkgetin ; Sakuranetin Quercetin-3-O-rutinoside	Méthode spectroscopique	Zhou <i>et al.</i>, 2011
	Quercétine-7-rutinoside	Méthode chromatographique	Sharaf <i>et al.</i>, 1997
	Glucocapparine	Méthode chromatographique	Matthaus et Ozcan, 2002
	Capparispine ; Cadabicine 26-O-β-D-	Méthode spectroscopique	Fu <i>et al.</i>, 2008

Racines	glucoside ; Capparispine 26-O- β -D- glucoside		
	3-hydroxy-7-méthoxy-2- méthyl-4H-1,4-benzoxazine 4-carbaldéhyde	Méthode chromatographique	Boga et al., 2011
	Stachydrine	Méthode chromatographique	Khatib et al., 2016
Graines	Glucopapparine	Méthode chromatographique	Matthaus et Ozcan, 2002

3.5.3. Utilisation et propriétés thérapeutiques du *Capparis spinosa*

Le câprier est traditionnellement employé pour des raisons pharmacologiques, il est utilisé par l'homme depuis l'Antiquité à des fins ornementales et alimentaires où les câpres ou les boutons floraux constituent un condiment recherché et thérapeutique (Fici, 2014).

C. spinosa est utilisée depuis longtemps comme plante médicinale en phytothérapie conventionnelle. Les polyphénols et de nombreux produits chimiques bioactifs extraits de *C. spinosa* présentent diverses propriétés thérapeutiques qui ont fait de cette plante une cible pour de nouvelles recherches en tant que promoteur de la santé (Kdimy et al., 2022).

Les différentes parties du *Capparis Spinosa* comprenant les fruits et les racines sont largement employées dans la médecine traditionnelle pour traiter plusieurs maladies, et elles ont jusqu'à maintenant (Mansour et al., 2016) essentiellement utilisé comme remède contre : la fièvre, les maux de tête et des dents, le rhumatisme, les convulsions, les douleurs de menstruation, les maladies de la peau et les reins, l'affection hépatique, le diabète, les hémorroïdes, les ulcères, la goutte ... (Zhang et Feei, 2018).

Capparis spinosa L., une plante médicinale, a un large éventail d'effets pharmacologiques, notamment des effets anti-inflammatoires, analgésiques, hépatoprotecteurs, antidiabétiques, antilipidémiques et antioxydants (Liu et al., 2019). Le tableau 3.2 résume quelques activités biologiques et effets thérapeutiques de différentes parties de *Capparis Spinosa*.

Tableau 3.4 : Quelques activités biologiques et effets thérapeutiques de *C.spinosa*.

Activités biologiques et/ou effets thérapeutiques	Partie utilisée	Référence
La grippe et infections relatives	Bourgeons de fleurs	Sher et Alyemini, 2010
Maladies digestives	Racines	Gull <i>et al.</i> , 2015b
Rhumatisme et complications gastro-intestinales	Bourgeons de fleurs, racine	Sher et Alyemini, 2010
Hépatoprotecteur	Feuilles ; fruits	Yang <i>et al.</i> , 2022 ; Tir <i>et al.</i> , 2019 ; Aichour <i>et al.</i> , 2018
Antiallergique et antihistaminique	Bourgeons de fleurs	Moufid <i>et al.</i> , 2015
Antimicrobien	Fruits, racines	Mahboubi et Mahboubi, 2014 ; Gull <i>et al.</i> , 2015a
Antioxydant	Partie aérienne, fruits	Grimalt <i>et al.</i> , 2022 ; Assadi <i>et al.</i> , 2021
Antiprolifératif	Graines	Rathee <i>et al.</i> , 2012
Antidiabétique	Fruits	Assadi <i>et al.</i> , 2021 ; Mollica <i>et al.</i> , 2017
Anti-obésité	Fruits	Lemhadri <i>et al.</i> , 2007
Anti-inflammatoire	Feuilles ; fruits	El Azhary <i>et al.</i> , 2017 ; Hamuti <i>et al.</i> , 2017 ; Aichour <i>et al.</i> , 2018
Hypocholestérolémiant	Fruits	Jalali <i>et al.</i> , 2016 ; Huseini <i>et al.</i> , 2013
Antihypertenseur	Fruits	Gull <i>et al.</i> , 2015b
Neuroprotecteur	Feuilles ; fruits	Moheballi <i>et al.</i> , 2018
Néphroprotecteur	Graines	Tir <i>et al.</i> , 2019
Antihyperlipidémique	Bourgeons	Mollica <i>et al.</i> , 2017 ; Stefanucci <i>et al.</i> , 2018
Relaxant bronchique	Feuilles	Benzidane <i>et al.</i> , 2013
Antiviral et immunomodulateur	Bourgeons de fleurs	Jang <i>et al.</i> , 2008 ; Daoudi <i>et al.</i> , 2013

3.5.4. Activité anti-inflammatoire

De nombreux médicaments anti-inflammatoires ont leur origine dans la matière végétale, qui est récemment devenue un intérêt majeur de la recherche scientifique pour ses propriétés pharmacologiques. Les bourgeons de *Capparis spinosa* possèdent des propriétés anti-inflammatoires importantes en modulant la production de médiateurs pro-inflammatoires. Par conséquent, cette partie de la plante peut constituer une source prometteuse de composé bioactif naturel pour traiter les troubles inflammatoires (**Kernouf et al., 2018**).

Les deux parties (feuilles et fleurs) de *C. spinosa* possèdent une activité anti-inflammatoire marquée contre l'œdème induit par le carraghénane. Cependant, l'extrait méthanolique de feuilles de *Capparis spinosa* présente une activité anti-inflammatoire plus potentialisatrice que celle de l'extrait méthanolique de fruits. Cela peut être dû à la différence entre les niveaux des constituants phytochimiques présents dans chaque extrait (**Aichour et al., 2018**).

Capparis spinosa a révélé une activité anti-inflammatoire dans divers modèles d'inflammation *in vitro* et *in vivo*, prenant l'exemple de l'étude réalisée par **Yosri et al. (2022)** qui ont montré que *C. spinosa* a diminué les signes d'inflammation en contrôlant les chondrocytes, les ostéoclastes et les niveaux de médiateurs inflammatoires. En outre, **Rahimi et al. (2020)** ont découverts que *Capparis spinosa* a réduit l'inflammation cérébrale, via l'amélioration des troubles cognitifs induits par le lipopolysaccharide (LPS). De même, *C. spinosa* a présenté une activité anti-inflammatoire pour supprimer la production de cytokines des cellules dendritiques, induite par le LPS (**Hamuti et al., 2017**). Les études de **Moutia et al. (2016)** et **El Azhary et al. (2017)** ont également suggéré que les extraits de feuilles de *C. spinosa* présentent une activité anti-inflammatoire en inhibant l'expression des cytokines pro-inflammatoires et l'infiltration des cellules immunitaires.

Capparis spinosa a le potentiel de réguler les gènes impliqués dans l'inflammation dans la maladie d'Alzheimer, en raison de ses niveaux élevés de favonoïdes et pourrait être bénéfique comme complément alimentaire chez les patients atteints d'Alzheimer (**Mohebbali et al., 2018**).

3.5.5. Activité antioxydante

Comme mentionné ci-dessus, *C. spinosa* est riche en de nombreux antioxydants phénoliques différents, tels que les flavonoïdes, les tocophérols et les caroténoïdes, qui ont la propriété de neutraliser les radicaux libres et de capturer les espèces réactives de l'oxygène (ERO) (Kumar et Goel., 2019).

Il y a eu de nombreuses études sur l'activité antioxydante de différents extraits de différentes parties de la plante *C.spinosa* ; tous ont démontré une activité antioxydante significative. Ceci est probablement dû à la vaste répartition de divers antioxydants phénoliques dans la plante. Par exemple, il a été démontré que les antioxydants phénoliques tocophérols et caroténoïdes protègent les cellules des dommages oxydatifs (Gull *et al.*, 2015b). Il a été démontré que la rutine, un flavonoïde, renforce les capillaires et inhibe la formation d'agrégats plaquettaires dans les vaisseaux sanguins (Zhang et Ma, 2018). La quercétine, un flavonoïde, a aussi permis de réduire le risque de maladies cardiovasculaires (Gupta *et al.*, 2016). Ces activités bénéfiques sont dues aux propriétés anti-hypertensives et anti-agrégantes plaquettaires de ces antioxydants (Kdimy *et al.*, 2022).

Les graines de câpres ont déclaré une source importante de molécules antioxydantes pour les industries alimentaires et pharmaceutiques car elles sont riches en composés phénoliques et présentent une activité antioxydante élevée (Tlili *et al.*, 2015). Des quantités élevées de rutine et de quercétine ont été signalées dans les bourgeons et les baies de câpres. Ces composés sont importants à cause de leurs propriétés biologiques et de leur potentiel de liaison avec les radicaux libres (Grimalt *et al.*, 2019).

Des extraits de méthanol de *C. spinosa* ont été confirmés comme ayant une action antioxydante anti-radicalaire dans divers modèles (Bonina *et al.*, 2002 ; Germano *et al.*, 2002) et ont été proposées comme traitement des pathologies liées au stress oxydatif (Cao *et al.*, 2010).

3.5.6. Activité antidiabétique

L'activité antidiabétique des plantes médicinales est principalement due à leur capacité à restaurer la fonction des cellules pancréatiques en provoquant une augmentation de la sécrétion d'insuline ou en inhibant l'absorption intestinale du glucose (Matalqah et Al-Tawalbeh, 2019). Des chercheurs ont prouvé que cette activité antidiabétique est due à la

présence de composés phénoliques, de flavonoïdes, de terpénoïdes, de coumarines et d'autres ingrédients qui démontrent une activité hypoglycémiant (Aswathy et Jessykutty, 2017).

Les données d'Assadi *et al.* (2021) suggèrent que l'extrait éthanolique de *C. spinosa* exerce ses effets hypoglycémiant par inhibition de la gluconéogenèse. De plus, le *C. spinosa* peut atténuer le stress oxydatif lié au diabète sucré. Par conséquent, le CS possédait un effet antihyperglycémiant significatif et pourrait représenter un complément alimentaire antioxydant *in vivo* valable pour les patients diabétiques de type II. Aussi les résultats d'Azad *et al.* (2020) ont montré que l'extrait de bourgeon de *C. spinosa* de la région de Moghan est une source de polyphénols et peut avoir des effets protecteurs sur le pancréas endocrinien en augmentant la viabilité et en diminuant les ERO dans les îlots, et peut donc être considéré comme un agent prometteur pour la prophylaxie et la thérapie dans la gestion du diabète.

Deuxième partie

Etude

Expérimentale

Chapitre 04

Matériel et méthodes

4. Matériel et méthodes

4.1. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans le présent travail, comporte la partie aérienne (feuilles et fleurs) de la plante *Capparis spinosa*.

4.1.1. Récolte du *Capparis spinosa*

La plante *Capparis spinosa* (Capparidaceae) est récoltée au stade de la floraison dans la région de Mila, Algérie et authentifié sur la base de **Quézel *et al.* (1962)**. La récolte est réalisée au mois de Mai 2014 et identifiée par le professeur Benkiniouar rachid (département de chimie, faculté des sciences, université des frères Mentouri 1). Les parties aériennes de la plante étaient séparées manuellement, séchées à une température contrôlée ($40\pm 1^\circ\text{C}$) dans l'obscurité jusqu'à obtenir un poids constant.

4.1.2. Préparation de l'extrait *n*-BuOH

Les parties aériennes séchées à l'air (feuilles et fleurs, 500 g) de *C. spinosa* ont été macérées à température ambiante avec MeOH-H₂O (80:20, v/v) 4 fois (24 heures à chaque fois). Les filtrats ont été combinés, concentrés sous pression réduite, dilués dans H₂O (1000 mL). Après filtration, la solution résultante a été extraite successivement avec des solvants de polarités croissantes : chloroforme (CHCl₃), acétate d'éthyle (EtOAc) et *n*-butanol (*n*-BuOH). Les couches organiques ont été séchées avec du Na₂SO₄ anhydre, filtrées et concentrées sous vide à température ambiante (**Zater *et al.*, 2016**) pour obtenir des extraits de CHCl₃ (0,20 g), EtOAc (1,3 g) et *n*-BuOH (7,71 g) (**Figure 4.1**).

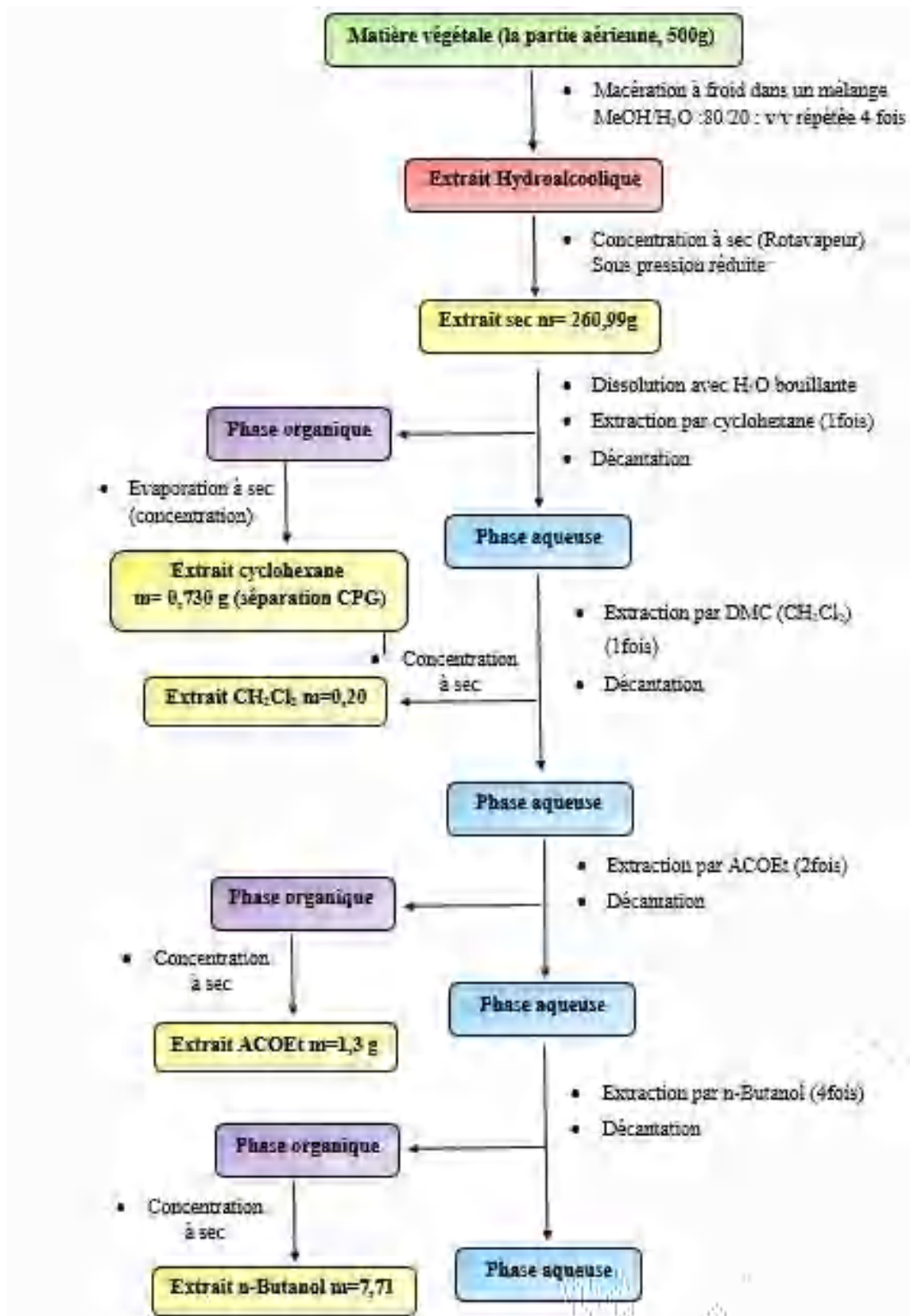


Figure 4.1: Diagramme des différentes étapes de l'extraction des parties aériennes de la plante *Capparis spinosa*.

4.1.3. Screening phytochimique préliminaire

Le Screening phytochimique est une analyse qualitative basée sur des réactions de précipitation ou de coloration. Ces dernières permettent de définir la présence ou non de métabolites secondaires. Dans le présent travail, l'extrait *n*-butanolique de la plante *C.spinosa* a été soumis à un Screening phytochimique préliminaire pour identifier ses différents constituants chimiques actifs selon des méthodes phytochimiques standards décrites par **Harbone (1998)** et **khandelwal (2001)**. L'ensemble de ces produits comprend les alcaloïdes, les terpénoïdes, les stérols, les anthocyanes, les flavonoïdes, les saponines, les tannins, les anthraquinones et les glycosides.

4.1.4. Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux par la méthode utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu a été décrit par **Singleton et Rossi (1965)**. Depuis, son utilisation s'est largement répandue pour caractériser les extraits végétaux d'origines plus diverses.

➤ Principe

Le réactif de Folin-Ciocalteu est un acide de couleur jaune constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$). Il est réduit lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleu de tungstène et de molybdène. La coloration produite, dont l'absorption maximum à environ 760-765 nm est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux (**Boizot & Charpentier, 2006**).

➤ Mode opératoire

Les polyphénols totaux ont été déterminés par spectrophotométrie, suivant le protocole appliqué par **Wolfe et al. (2003)**. 125 μ l d'extrait végétal dilué dans le méthanol est mélangé avec 500 μ l d'eau distillés et 125 μ L de réactif de Folin-Ciocalteu (FCR). Après 5 minutes, 12,5 μ l d'une solution de carbonate de sodium (Na_2CO_3) 2 à 7% sont ajoutés et le mélange est ajusté à 3ml avec l'eau distillée. Après une incubation du mélange réactionnel pendant 90 minutes à température ambiante et à l'obscurité, l'absorbance est mesurée à 760 nm. Toutes les mesures sont répétées 3 fois.

4.1.5. Dosage des flavonoïdes totaux

➤ Principe

Les flavonoïdes possèdent un groupement hydroxyle (OH) libre, en position 5 qui est susceptible de donner avec le groupement CO, un complexe coloré avec le chlorure d'aluminium. Les flavonoïdes forment des complexes jaunâtres par chélation des métaux (fer et aluminium). Ceci traduit le fait que le métal (Al) perd deux électrons pour s'unir à deux atomes d'oxygène de la molécule phénolique agissant comme donneur d'électrons (Harju et Martti, 2006).

➤ Mode opératoire

La méthode du trichlorure d'aluminium $AlCl_3$ a été adoptée pour quantifier les flavonoïdes dans l'extrait (Ordonez *et al.*, 2006).

Brièvement, 1 ml de la solution d'extraits est ajouté à 1 ml d' $AlCl_3$ à 2% dans le Méthanol. Après incubation pendant 60 min à température ambiante, l'absorbance est lue à 415 nm dans un spectrophotomètre contre le blanc. L'apparition de la couleur jaune indique la présence des flavonoïdes. Les échantillons ont été préparés en triple. La quantification des flavonoïdes se fait en fonction d'une courbe d'étalonnage réalisée par un flavonoïde standard, la quercétine. La teneur en flavonoïdes est exprimée en milligramme d'équivalent de quercétine par gramme d'extrait de la plante (mg de quercétine /g d'extrait). Toutes les mesures sont répétées 3 fois.

4.1.6. Analyse par chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse (LC-MS)

➤ Principe

La chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse (liquid chromatography – mass spectrometry ou LC-MS) est une méthode d'analyse qui combine les performances de la chromatographie en phase liquide et de la spectrométrie de masse afin d'identifier et/ou de quantifier précisément de nombreuses substances.

➤ Mode opératoire

Les analyses qualitatives et quantitatives des composés polyphénoliques ont été effectuées par LC-MS. Thermo Scientific - Dionex Ultimate 3000 -TSQ Quantum avec

Thermo ODS Hypersil 250×4,6 mm, colonne de 5µm ont été utilisés pour l'analyse quantitative. Le volume d'injection était 20 µL. La phase mobile comprenait l'éluant A, de l'eau avec 0,1 % d'acide formique et B, du méthanol. Le débit était de 0,7 ml/min à 40 °C. Le programme de gradient a été fixé comme suit : 0-1 min, 100% A, 5-20 min, 95% A, 1-22 min, 5% A, 25 min, 5% A, 30 min 0%A. La durée totale du processus était 30 min. Les extraits ont été préparés à 1 mg / 1mL puis analysés.

La relation entre la surface du pic et la concentration s'est avérée linéaire de 0,5 à 10 mg/L (ppb) pour chaque composé. La linéarité a été évaluée à l'aide d'une analyse de régression linéaire de six points pour chaque composé. Le tracé linéaire consiste en trois répétitions par point. Pour tous les analytes, les coefficients de corrélation (valeurs R²) se sont avérés être ≥0.99.

Les valeurs LOD (limites de détection) et LOQ (limites de quantification) des composés de la méthode LC-MS/MS sont indiquées dans le tableau. La LOD et la LOQ ont été déterminées en utilisant des mesures de blancs de réactifs dopés avec de faibles concentrations d'analyte selon EURACHEM GUIDE. La solution témoin a été dopée à l'étalon de 0,1 ppm.

Calculer LOD et LOQ comme $LOD = 3 * S_0$ et $LOQ = 10 * S_0$

4.2. Screening biologique

4.2.1. Evaluation de l'activité antioxydante *in vitro*

4.2.1.1. Le test de piégeage du radical DPPH°

➤ Principe

Le test DPPH° (diphenylpicrylhydrazyl) est une méthode largement utilisée dans l'analyse de l'activité antioxydante.

En effet, le DPPH° se caractérise par sa capacité à produire des radicaux libres stables. Cette stabilité est due à la délocalisation des électrons libres au sein de la molécule. La présence de ces radicaux DPPH° (2,2'-diphényle-1-picryl hydrazyl) donne lieu à une coloration violette foncée de la solution. La réduction des radicaux DPPH° par un agent antioxydant entraîne une décoloration de la solution. Le changement de couleur peut être suivi par spectrophotométrie à 517nm (Molyneux, 2004).

4.2.1.2. Dosage de la capacité antioxydante totale « test de phosphomolybdate »

Le test du PPM (PhosphoMolybdate) est une variante du test au DPPH°. Au cours de ce test, l'hydrogène et l'électron sont transférés du composé réducteur (extrait-antioxydant) vers le complexe oxydant (PPM). Ce transfert dépend du potentiel redox, du pH du milieu et de la structure du composé antioxydant.

➤ Principe

Cette technique est basée sur la réduction des molybdates Mo(VI) en molybdène Mo(V) en présence d'un antioxydant. Cette réduction se matérialise par la formation d'un complexe verdâtre (phosphate/ Mo(V)) à un pH acide (**Prieto et al., 1999**).

➤ Mode opératoire

L'activité antioxydante totale des échantillons a été évaluée par la méthode du phosphomolybdène proposée par **Prieto et al. (1999)**.

La méthode consiste à introduire dans un tube 400 µl de chaque extrait à différentes concentrations mélangés à 4000 µl d'un réactif composé de H₂SO₄ (0,6 M), de Na₂PO₄ (28 mM) et du molybdate d'ammonium (4 mM). Les tubes ont ensuite bien fermé puis incubés à 95°C pendant 90 minutes. Après les avoir refroidis, l'absorbance est mesurée à 695 nm. Le témoin est constitué de 400 µl de méthanol mélangé avec 4000 µl du réactif mentionné ci-dessus. Les échantillons et le témoin sont incubés dans les mêmes conditions. Les résultats obtenus sont exprimés en mg équivalent acide ascorbique par gramme de matière sèche de l'extrait (mg EAA/g EXS), la quercétine et l'acide ascorbique ont été utilisés comme standards. Tous les tests ont été effectués en trois exemplaires.

4.2.1.3. Le pouvoir réducteur

➤ Principe

La méthode FRAP est basée sur la réduction de l'ion ferrique (Fe₃⁺) en ion ferreux (Fe₂⁺). Cette méthode évalue le pouvoir réducteur des composés (**Ou et al., 2002**). La présence des réducteurs (AH) dans les extraits des plantes provoque la réduction de Fe₃⁺/ complexe ferricyanide à la forme ferreux. Par conséquent, le Fe₂⁺ peut être évalué en mesurant et en surveillant l'augmentation de la densité de la couleur bleu cyanée dans le milieu réactionnel à 700 nm (**Chung et al., 2002**).

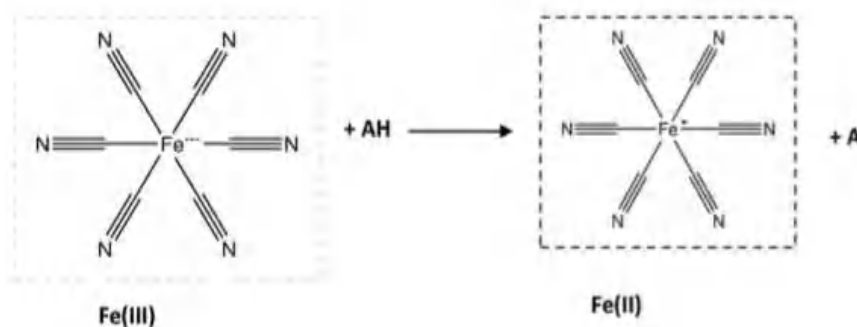


Figure 4.3 : Mécanisme réactionnel intervenant lors du test FRAP entre le complexe ferricyanide ferrique Fe (III) et un antioxydant (AH)

➤ Mode opératoire

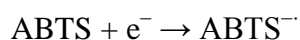
Le pouvoir réducteur de l'extrait a été déterminé selon la méthode de **Beretta *et al.* (2005)**. Diverses concentrations des solutions d'échantillon (5-600 ug.ml⁻¹) ont été mélangées avec un tampon phosphate (0,5 ml, 0,2 M, pH 6,6) et une solution aqueuse de ferricyanure de potassium à 1% (0,5 ml, K₃ [Fe (CN)₆]). L'ensemble est chauffé à 50°C au bain marie pendant 20 minutes. Un volume de 500 µl d'acide trichloracétique (10%) est ensuite ajouté et le mélange est centrifugé à 3000 rpm pendant 10 minutes.

Un aliquote de 500 µL de surnageant est transféré dans un autre tube auquel ont été ajoutés 500 µl d'eau distillée et 100 µl de FeCl₃ 1% fraîchement préparé dans de l'eau distillée. La lecture de l'absorbance du milieu réactionnel se fait à 700 nm contre un blanc semblablement préparé, en remplaçant l'extrait par le méthanol qui permet de calibrer l'appareil (UV-VIS spectrophotomètre). La quercétine et l'acide ascorbique ont été utilisés comme standards. Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur d'extrait testé.

4.2.1.4. Réduction du radical- cation ABTS

➤ Principe

Le test de radicale ABTS est l'un des tests les plus utilisés pour la détermination de la concentration des radicaux libres. Il est basé sur la neutralisation d'un radical - cation résultant de la mono électronique oxydation du chromophore synthétique 2,2'- azino-bis (3 - éthylbenzothiazoline -6- sulfonique acide) (ABTS^{•+}) (**Rop *et al.*, 2010**) :



➤ **Mode opératoire**

L'analyse spectrophotométrique de l'activité de piégeage ABTS•+ a été déterminée conformément à la méthode de **(Re et al., 1999)**. Le radical cation ABTS est généré en mélangeant à volume égal une solution de 2,45 mM de persulfate de potassium K₂S₂O₈ et une solution stock d'ABTS à 2 mM, le tout est conservé à l'abri de la lumière et à la température ambiante durant 6 h avant utilisation. 1ml de la solution d'ABTS⁺ est ajouté à chaque tube contenant l'échantillon (3ml). L'absorbance a été déterminée à 734 nm. Le méthanol a été utilisé comme témoin, La quercetine et l'acide ascorbique ont été utilisés comme standards. Le pourcentage d'inhibition est calculé selon la formule suivante :

$$\text{Pourcentage inhibition (\%)} = [(\text{Abs témoin} - \text{Abs extrait}) / (\text{Abs témoin})] \times 100$$

4.2.2. Evaluation de l'activité antidiabétique *in vitro*

4.2.2.1. Test d'inhibition de l'activité alpha- amylase

L'activité inhibitrice de l' α -amylase de l'extrait a été réalisée selon la méthode de **Liu et al. (2013)**.

Brièvement, 40 ml d' α -amylase de 5 U/ml ont été mélangés avec 0,36 ml de tampon de phosphate de sodium de 0,02 M (pH de 6,9 avec NaCl de 0,006 M) et 0,2 ml d'extrait. Après incubation pendant 20 min à 37 °C, 300 ml de la solution d'amidon (1 %) dans du phosphate de sodium 0,02 M (pH de 6,9 avec du NaCl 0,006 M) ont été ajoutés, et le mélange a été réincubé pendant 20 min, suivi de l'ajout de 0,2 ml d'acide dinitrosalicylique. Le contenu a été bien mélangé et conservé dans un bain-marie bouillant pendant 5 min. Le mélange réactionnel a été dilué par l'ajout de 6 ml d'eau distillée, et l'absorbance a été mesurée à 580 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible. L'acarbose a été utilisé comme témoin positif.

L'inhibition de l'activité enzymatique a été calculée comme suit :

$$\text{Inhibition (\%)} = (\text{Absorbance du control} - \text{Absorbance de l'échantillon}) / \text{Absorbance du control} \times 100.$$

4.2.2.2. Test d'inhibition de l'activité alpha- glucosidase

Le test d'inhibition de l'activité α -glucosidase a été réalisé en appliquant la procédure de **Matsuura et al. (2002)**.

Le mélange réactionnel contenant 50 µl de tampon phosphate, 10 µl d'alpha-glucosidase (1 U/ml) et 20 µl de concentrations variables d'extrait a été préincubé à 37°C pendant 15 min. Ensuite, 20 µl de P-NPG (5 mM) ont été ajoutés comme substrat et incubés à 37 °C pendant 20 min. L'absorbance du p-nitrophénol libéré a été mesurée à 405 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. L'acarbose a été utilisé comme standard.

L'inhibition de l'activité enzymatique a été calculée comme suit :

$$\text{Inhibition (\%)} = (\text{Absorbance du control} - \text{Absorbance de l'échantillon}) / \text{Absorbance du control} \times 100$$

4.3. Test de cytotoxicité

➤ Sulforhodamine B (dosage SRB)

Les cellules cancéreuses du cerveau humain (C₆) ont été utilisées pour les études de cytotoxicité, la lignée cellulaire astrogliale C₆ a été obtenue auprès de l'American Type Culture.

Les procédures décrites par **Vichai et Kirtikara (2006)** ont été suivies. La méthode décrite ici a été optimisée pour le dépistage de la toxicité de l'extrait de cellules adhérentes dans des formats de 96 puits. Après une période d'incubation, la monocouche cellulaire est fixée avec 10 % (wt/vol) de TCA et colorée pendant 30 min, après quoi l'excès de colorant est éliminé par lavage répété avec 1 % (vol/vol) d'acide acétique. Le colorant lié aux protéines est dissous dans une solution de base Tris 10 mM pour la détermination de la DO à 510 nm à l'aide d'un lecteur de microplaques.

Les résultats sont linéaires sur une plage de 20 fois le nombre de cellules et la sensibilité est comparable à celle des méthodes fluorimétriques. Les valeurs IC₅₀ peuvent être dérivées à l'aide de méthodes d'ajustement de courbe avec un logiciel d'analyse statistique ou un logiciel de calcul IC₅₀.

4.4. Test de tolérance au glucose

Le test de tolérance au glucose a été déterminé suivant la méthode proposée par **Dimo et al. (2006)**. Pour cette étude, 30 rats sont repartis en 5 lots de 6 rats.

Groupe **I** : Contrôle négatif qui reçoit par voie orale de l'eau distillée (4ml/kg) uniquement.

Groupes **II** : contrôle positif, qui reçoit de la metformine à une dose de 200 mg/kg.

Groupes **III** et **IV** : qui reçoivent l'extrait de *Capparis spinosa*, respectivement, à une dose de 200 mg/kg et 500 mg/kg.

Après une heure d'administration d'extrait par voie orale, les rats ont reçu par voie orale, une solution de glucose à la dose de 4 g/kg. Des échantillons de sang ont été prélevés par la veine caudale au moment 0 h (avant l'administration orale), 30, 60, 90, 150 et 180 min après l'administration du glucose. La glycémie a été mesurée à l'aide du glucomètre *Accu-Check*.

4.5. Evaluation de l'activité hypoglycémiante, neuroprotective et antioxydante

4.5.1. Animaux et protocole d'expérimentation

✓ **Entretien des animaux**

Les 60 rats utilisés dans cette expérimentation sont des rats mâles adultes de souche Wistar Albinos, âgés de 8 à 10 semaines, pesant entre 180 et 210g (au début de l'expérimentation), issus par élevage au niveau de l'animalerie de l'Université des Frères Mentouri Constantine 1. Les rats sont logés dans des cages métalliques où chaque cage comporte 12 rats. Ils ont libre accès à l'eau et à la nourriture.

Les rats sont maintenus à une température ambiante (25 ± 2) °C et photopériode de 12h/12h. Ils ont été traités conformément au principe et directive énoncés dans le manuel sur le soin et l'utilisation des animaux d'expérimentation (**Kilkenny et al., 2010**).

✓ **Induction du diabète**

Après une mise à jeun pendant une nuit (privation de la nourriture pendant 16 heures mais pas de l'eau), le diabète a été induit chez les rats par injection intrapéritonéale d'une solution fraîchement préparée de streptozotocine (STZ) (Sigma ST Louis, Mo) à une dose de 60 mg/kg de poids corporel soit un volume de 2 ml/kg (qui détruit les cellule β). La STZ est dissoute dans un tampon citrate de sodium (0,1M pH 4,5) (**Oghbaei et al., 2015**).

Les groupes de rats non diabétiques ont reçus par voie intrapéritonéale le même volume de tampon citrate de sodium (0,1M pH 4,5). Après injection, les bouteilles d'eau

ont été remplacées par des bouteilles contenant une solution de glucose 5% pendant la nuit afin de surmonter l'hypoglycémie induite par la STZ (Oghbaei *et al.*, 2015).

Après 72 heures de l'injection (temps de développement du diabète), le diabète a été confirmé chez les rats à STZ par mesure de la glycémie à jeun à l'aide d'un glucomètre de type *Accu Chek*. Seuls les rats ayant le taux de glucose sanguin supérieur à 250 mg/dl ont été considérés comme diabétiques et retenus pour cette expérimentation.

✓ **Traitement des animaux**

Après l'induction du diabète, l'ensemble des rats, diabétiques et non diabétiques ont été divisés en cinq groupes de douze (12) rats chacun et gardés dans des mêmes conditions. Le début du traitement par le BECS, par l'antidiabétique, ou par l'eau distillée commence 24 heures après la confirmation du diabète et dure 28 jours (durée du traitement). La répartition des groupes a été réalisée comme suit :

- Groupe **I** (Contrôle) : des rats sains qui reçoivent quotidiennement par gavage gastrique 4 ml/kg d'eau distillée pendant 28 jours.
- Groupe **II** (BECS) : des rats sains traités par voie orale avec le BECS (200 mg/kg p.c. 28 jours), après injection de véhicule.
- Groupe **III** (Diabétique) : ces rats diabétiques reçoivent chaque jour par gavage gastrique 4 ml/kg d'eau distillée pendant 28 jours.
- Groupe **IV** (STZ + Metformine) : des rats diabétiques qui reçoivent chaque jour par gavage gastrique 200 mg/kg de la metformine pendant 28 jours.
- Groupe **V** (Diabétique + BECS) : des rats diabétiques qui reçoivent quotidiennement par voie orale 200 mg/kg de l'extrait *n*-butanolique du *capparis spinosa* pendant 28 jours.

✓ **Evolution de la glycémie**

L'évolution de la glycémie des rats des différents groupes est contrôlée dès le premier jour du traitement, et jusqu'à la fin du traitement. Selon un programme identique à celui des pesées.

Tous les prélèvements sanguins pour le dosage de la glycémie sont effectués au niveau de la queue des rats. Après nettoyage de la queue à l'alcool, les rats sont piqués à

l'aide d'une fine aiguille, une goutte de sang est récupérée puis déposée sur une bandelette pour lecture de la glycémie (glucomètre *Accu Chek*).

✓ **Prélèvement du sang et mesure des paramètres physiologiques**

Le prélèvement est réalisé au niveau du sinus rétro-orbital de l'œil (région cartilagineuse richement vascularisée) à l'aide d'un capillaire à hématocrite préalablement plongé dans une solution d'EDTA (1%). Ces prélèvements sont effectués, sur des rats à jeun (12 heures), à la fin du traitement (J29).

Après le prélèvement sanguin, le sang est mis dans des tubes héparines, centrifugé à 3000 tours/minute pendant 15 minutes puis le plasma est récupéré et utilisé pour les dosages biochimiques. La mesure de la glycémie de chaque semaine est effectuée au niveau de la queue des rats à l'aide d'un lecteur *Accu Chek*.

La mesure du poids est effectuée à l'aide d'une balance sur des rats à jeun, de façon régulière ; avant l'induction de diabète, avant le début du traitement puis après chaque semaine de traitement juste avant les prélèvements sanguins ou la mesure de la glycémie.

L'évaluation du taux de consommation de nourriture de l'eau et le volume urinaire sont effectuées de façon régulière le 1^{er} jour et après chaque semaine du traitement en isolant les rats dans des cages métaboliques (après une période d'adaptation d'une journée dans des cages métaboliques).

✓ **Dissection des rats**

Le rat a été anesthésié durant 2 à 3 minutes sous une cloche expérimentale pour rongeurs de laboratoire et hermétiquement fermée. Il est posé sur la face dorsale, les membres sont étirés et fixés en extension. Ensuite nous avons procédé aux incisions cutanées et musculaires ventralement pour avoir accès aux organes.

✓ **Récupération des organes**

Au moment du sacrifice (J29) les organes (pancréas et cerveau) sont récupérés, rincés par une solution du tampon phosphate (pH ; 7.4) puis pesés, aliquotés et conservés à -80°C pour des études ultérieures.

✓ **Préparation de la fraction cytosolique de tissu**

Une homogénéisation à dix pour cent (p/v) des tissus a été réalisée dans une solution tampon phosphate 0.1 M pH ; 7.4 contenant du KCl 1,15M en utilisant un homogénéisateur Ultra-Turrax à une vitesse de 1200 tour/min. La préparation de tissu homogénéisé a été centrifugée à 3000 rpm pendant 10 min à 4 ° C pour l'évaluation de la teneur en malondialdéhyde (MDA). Le surnageant ainsi obtenu a ensuite été centrifugé à 10 000 tour/min pendant 45 min à 4 °C. La fraction cytosolique est récupérée et utilisée pour les dosages de la concentration de glutathion réduit (GSH), l'activité de la superoxyde dismutase (SOD), de la catalase (CAT), l'activité LDH et quelques marqueurs neurochimiques.

4.5.2. Dosages des paramètres biochimiques du diabète

Les dosages du cholestérol total, des TG et du LDL, HDL cholestérol sont effectués au laboratoire central de biochimie, centre hospitalo-universitaire Dr Benbadis Constantine.

La glycation de l'hémoglobine (GlycHb), l'insuline plasmatique, l'insuline cérébrale, le peptide C plasmatique et les taux plasmatiques de CK-BB ont été évalués à l'aide du kit d'immunoanalyse enzymatique, conformément aux instructions du fabricant.

4.5.3. Dosage des produits finaux de glycation avancée (AGE) dans le plasma

La quantité d'AGE plasmatiques a été déterminée selon la méthode décrite par **Putta et Kilari (2015)**. Le plasma a été dilué dans un rapport de 1:50 avec du PBS (pH 7,4). Une préparation d'albumine bovine (1 mg/mL de NaOH 0,1 N) a été utilisée comme standard. Le niveau d'AGE dans le plasma a été déterminé en mesurant la fluorescence à une longueur d'onde d'excitation de 370 nm et une longueur d'onde d'émission de 440 nm. L'intensité de fluorescence des échantillons a été exprimée en UA par mg de protéine.

4.5.4. Détermination de l'activité de la lactate déshydrogénase (LDH)

La lactate déshydrogénase est une enzyme intracellulaire présente dans tous les tissus catalysant la transformation réversible du lactate en pyruvate. L'activité de la LDH dans le tissu cérébral a été évaluée (**Kornberg, 1955**).

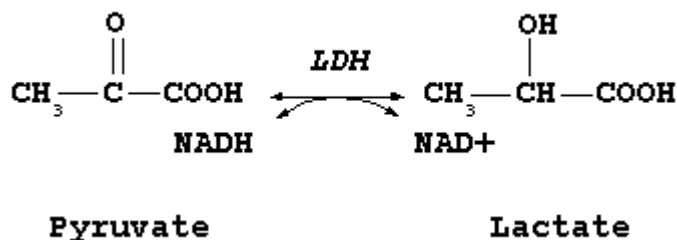


Figure 4.4 : Réaction réversible de la transformation du lactate en pyruvate.

Le mélange réactionnel total (3 mL) contenait 1 mL de tampon Tris-HCl 200 mM (pH 7,4), 0,15 mL de KCl 100 mM, 0,15 mL de pyruvate de sodium 50 mM, 0,20 mL de NADH 2,4 mM et un surnageant d'homogénat. Une diminution de l'extinction ($6220 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$) à $\lambda_{\text{max}} = 340 \text{ nm}$ pendant 2 min à 25°C a été mesurée et le résultat a été exprimé en U/mg de protéine (U : μM NADH oxydé/min/mg de protéine) (**Deshmukh *et al.*, 2009**).

4.5.5. Estimation des marqueurs neurochimiques

4.5.5.1. Détermination des activités acétylcholinestérase (AChE) et butyrylcholinestérase (BChE)

L'activité AChE a été déterminée sur la base des méthodes d'**Ellman *et al.* (1961)** adapté pour un format de plaque de microtitration. L'absorbance est lue à 412 nm toutes les 30 secondes pendant 10 min à l'aide d'un lecteur de microplaques. L'activité AChE a été calculée à l'aide du coefficient d'extinction molaire du chromophore ($1,36 \times 10^4 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$). Les résultats ont été exprimés en $\mu\text{mol}/\text{mg}$ de protéine, tandis que les activités de BChE dans le cerveau ont été analysées selon une méthode décrite par **Jońca *et al.* (2015)**.

4.5.5.2. Estimation de la teneur en dopamine

Le dosage quantitatif des taux de dopamine a été réalisé par fluorimétrie selon la méthode de **Ciarlone (1978)**. Une partie des échantillons du cerveau congelés ont été prélevés et décongelés le jour de l'expérience. Une aliquote de tissus cérébraux a été homogénéisée avec du *n*-butanol acidifié pour donner un homogénat à 10 % poids/volume (p/v). La méthode est basée sur l'estimation des fluorophores dopaminergiques formés après oxydation par l'iode à des longueurs d'onde d'excitation/émission de 320/375 nm. Les résultats ont été exprimés en ng/mg de tissu.

4.5.5.3. Estimation de la teneur en L-glutamate

Des volumes égaux d'homogénat du cerveau et d'acide perchlorique 1,2 M ont été mélangés, centrifugés à $600 \times g$ à $4^\circ C$ pendant 15 min. Le surnageant a été utilisé selon **Lund (1984)**. Le kit de détermination de la glutamine/glutamate a été utilisé pour la mesure spectrophotométrique du L-glutamate via la désamination enzymatique de la L-glutamine et la déshydrogénation du L-glutamate avec conversion du NAD^+ en NADH. L'évaluation spectrophotométrique a été effectuée à 340 nm et les résultats ont été exprimés en nmol/mg de tissu.

4.5.6. Mesure des marqueurs neuroinflammatoires

4.5.6.1. Détermination des cytokines pro-inflammatoires : facteur de nécrose tumorale alpha (TNF- α) et l'interleukin-6 (IL-6)

L'estimation du niveau de TNF- α et IL-6 dans le cerveau ont été réalisées en utilisant les kits ELISA TNF- α et ELISA IL-6 de rat acheté auprès d'Invitrogen (CA, USA). Les procédures ont été exécutées conformément aux instructions du fabricant.

4.5.6.2. Mesure de la teneur en nitrite (NO) dans le cerveau

Un mélange de réactif de Greiss (volumes égaux de 1 % de sulfanilamide dans 3 M HCl et 0,1 % de N-1-Naphthyl éthylène diamine dihydrochloride dans l'eau) et de surnageant a été incubé à température ambiante dans l'obscurité pendant 10 min, et l'absorbance a été mesurée à 548 nm. La teneur totale en nitrite (μM /mg de protéine) a été déterminée à partir de la courbe standard du nitrite de sodium (10-100 μM) (**Berkels *et al.*, 2004**).

4.5.7. Évaluation du statut oxydant cytosolique pancréatique et cérébrale

4.5.7.1. La peroxydation lipidique

Le malondialdéhyde (MDA) est l'un des produits terminaux formés lors de la décomposition des acides gras polyinsaturés sous l'effet des radicaux libres libérés au cours du stress oxydant. La réaction de dosage repose sur la formation en milieu acide et chaud ($100^\circ C$) entre le MDA et deux molécules de thiobarbiturique acide (TBA) donnant un pigment de couleur rose ayant une absorbance maximale à $\lambda=532$ nm selon cette réaction :

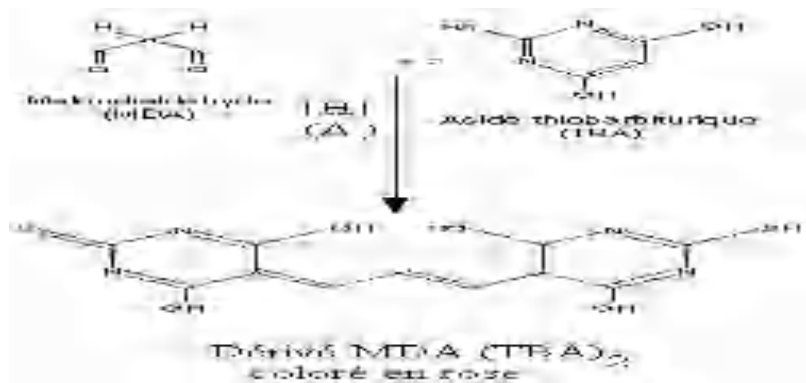


Figure 4.5 : Réaction d'un milieu biologique avec l'acide thiobarbiturique (TBA).

Le taux de MDA a été mesuré dans les homogénats du pancréas et du cerveau des rats selon la méthode décrite par **Ohkawa et al. (1979)**. L'absorption a été mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre à $\lambda=532$ nm et les résultats sont exprimés en nmol par milligramme de tissu intra-plantaire (nmol/mg tissu) en utilisant le coefficient d'extinction molaire $1.56 \times 10^5 \text{ cm}^{-1}\text{M}^{-1}$.

4.5.7.2. Dosage du glutathion réduit (GSH) cytosolique

Le glutathion est le thiol intracellulaire le plus abondant dans toutes les cellules animales, il se trouve dans la cellule sous deux formes : une forme oxydée « GSSG » et une forme réduite « GSH » représentant plus de (99%) de la quantité total. Le dosage du glutathion a été réalisé selon la méthode de **Sedlak et Hanus (1982)**.

Le principe consiste à scinder la molécule d'acide 5,5'dithiodis-2-nitrobenzoïque (DTNB) par le GSH et la libération de l'acide thionitrobenzoïque (TNB). Ce dernier, à pH (8-9), présente une absorbance maximale à $\lambda=412$ nm selon la réaction suivante :

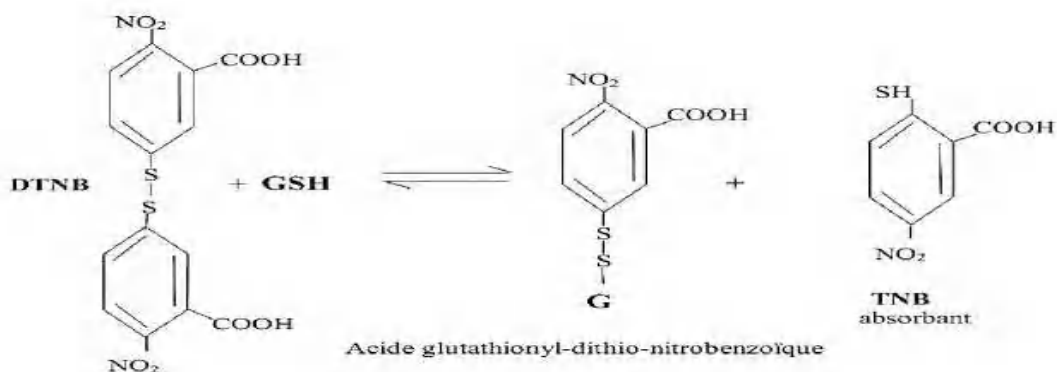
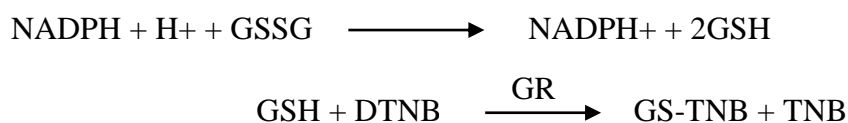


Figure 4.6 : Interaction entre le DTNB et le GSH.

Les résultats sont déduits en se basant sur un coefficient d'extinction molaire de GSH: $13100 \text{ cm}^{-1}\text{M}^{-1}$. Les concentrations exprimées en nmol/mg de protéine (nmol/mg protéine).

4.5.7.3. Dosage du glutathion réductase (GR) cytosolique

L'activité du glutathion réductase (GR) a été mesurée selon la méthode de **Coballase-Urrutia *et al.* (2011)**. Le principe du dosage est basé sur la réduction du GSSG en GSH par le NADPH en présence de GR. L'activité est mesurée en suivant la diminution de l'absorbance de la NADPH à $\lambda=340 \text{ nm}$.



L'activité de l'enzyme est calculée en utilisant un coefficient d'extinction molaire de NADPH : $6.25 \text{ cm}^{-1}\text{M}^{-1}$. Les résultats sont exprimées en U/mg de protéine (U : μmol NADPH oxydé/min).

4.5.7.4. Dosage du glutathion-S-transférase (GST) cytosolique

Le dosage de l'activité du glutathion-S-transférase (GST) cytosolique a été réalisé selon la méthode d'**Habig *et al.* (1974)**. Les GST catalysent la réaction de conjugaison entre le glutathion et le 1-chloro-2,4 dinitro benzène (CDNB) comme substrat. La conjugaison se fait par le biais du groupement thiol du glutathion selon la réaction suivante :



L'augmentation de l'absorption est directement proportionnelle à l'activité GST de l'échantillon. Cette dernière est déterminée classiquement par la mesure du produit (GS-DNB) à $\lambda=340 \text{ nm}$ issu de la réaction de conjugaison du CDBN avec le glutathion réduit. Les résultats sont déduits en utilisant un coefficient d'extinction molaire de CDBN : $9,6 \text{ cm}^{-1}\text{mM}^{-1}$ et exprimés en U/mg de protéine (U: μmol de conjugué CDBN formé/min).

4.5.7.5. Dosage du glutathion peroxydase (GPx) cytosolique

Le dosage de GPx est basé sur la méthode décrite par **Rotruck *et al.* (1973)**. Le GPx de l'homogénat tissulaire oxyde le glutathion et simultanément le H_2O_2 est réduit en

H₂O. La quantité de glutathion restante réagit avec la solution DTNB pour donner un composé coloré qui est mesuré par spectrophotométrie à $\lambda=420$ nm. L'activité de GPx est exprimée en U/mg protéine (U : μmol de GSH oxydé/min).

4.5.7.6. Evaluation de l'activité enzymatique de la catalase (CAT) cytosolique

L'activité de la catalase cytosolique a été déterminée selon la méthode d'Aebi, (1984). Le principe repose sur la disparition de H₂O₂ à 25 °C en présence de source enzymatique dans la fraction cytosolique selon la réaction suivante :



La quantité de H₂O₂ décomposée est directement proportionnelle à la concentration en substrat et la concentration en enzyme. L'absorbance est lue à $\lambda=240$ nm chaque minute dans un intervalle de temps de 2 min et l'activité de l'enzyme est calculée en utilisant un coefficient d'extinction molaire : $0,043 \text{ cm}^{-1}\text{mM}^{-1}$. Les résultats sont exprimés en U/mg de protéine (U: μmol de H₂O₂ consommé par minute par mg de protéines).

4.5.7.7. Evaluation de l'activité enzymatique de la superoxyde dismutase (SOD) cytosolique

L'activité enzymatique de SOD cytosolique a été déterminée selon la méthode de Flohe, (1984). Le principe repose sur la capacité d'inhibition de l'autooxydation du pyrogallol par la SOD. L'activité de l'enzyme est exprimée en U/mg de protéine du tissu (U/mg tissu). Une unité de l'activité de la SOD est définie comme l'enzyme qui causerait l'inhibition de (50%) de l'autooxydation du pyrogallol. L'activité de l'enzyme est calculée selon l'équation suivante :

$$\text{Inhibition totale} = \frac{\text{Densité optique du blanc} - \text{Densité optique de l'échantillon} \times 100}{\text{Densité optique du blanc}}$$

$$\text{U de } \frac{\text{SOD}}{\text{mg}} \text{ de protéine} = \frac{\text{Inhibition totale}}{n \times 50}$$

n : mg de protéines en mg présentes dans le volume de l'échantillon utilisé

4.5.8. Dosage des protéines totales

Le dosage des protéines totales est réalisé en utilisant la méthode de **Lowry (1951)**.

4.5.9. Étude histologique

Après la dissection des rats, des petits morceaux du pancréas et du cerveau sont récupérés, et stockés dans des bocaux contenant le formol aldéhyde (10 %), pour être destinés à la réalisation des coupes histologique.

4.6. Analyses statistiques

Les résultats des tests effectués *in vitro* sont exprimés en moyenne \pm écart type. Les valeurs IC_{50} (Concentration inhibitrice de 50%) sont calculées par la méthode de régression linéaire à partir de la courbe [% inhibition = f (concentrations)].

Pour les tests *in vivo* les résultats sont exprimés en moyenne \pm écart type. Les comparaisons multiples sont faites par le test ANOVA à un facteur suivi du test HSD de Tukey. Les différences sont considérées statistiquement significatives au seuil de 0,05.

Chapitre 05

Résultats

5. Résultats

5.1. Etudes phytochimiques du BECS

5.1.1. Screening phytochimique préliminaire

Le criblage phytochimique préliminaire d'une partie aérienne de *C.spinosa* a révélé la présence d'une large gamme de composés naturels tels que les alcaloïdes, les saponines, les terpénoïdes, les composés phénoliques, les anthocyanes, les flavonoïdes, les glycosides, les tanins et les stérols (Tableau 5.1).

Tableau 5.1 : Profile phytochimique du BECS.

Groupes chimiques	Parties aériennes	Groupes chimiques	Parties aériennes
Alcaloïdes	+	Anthocyanes	+
Glycosides	+	Composés phénoliques	+
Terpénoïdes	+	Flavonoïdes	+
Stérols	+	Saponines	+
Tannins	+		
“+” Présence			

5.1.2. Teneur en polyphénols et flavonoïdes

Les résultats de dosage des polyphénols et flavonoïdes présents dans le tableau (5.2) révèlent que l'extrait *n*-BuOH de *C.spinosa* (BECS) contient (1000.44±6.48 µg GAE/mg extrait) de polyphénols, et de (568.27±5.80 µg QE /mg extrait) des polyphénols sous forme de flavonoïdes.

Tableau 5.2 : Teneur en polyphénols totaux et en flavonoïdes.

Extrait	TPC (µg GAE/ mg extrait)	TFC (µg QE/ mg extrait)
BECS	1000.44±6.48	568.27±5.80

Les résultats sont exprimés en moyenne ± écart-type de trois mesures. Les composés phénoliques totaux (TPC) sont exprimés en µg d'équivalents d'acide gallique/mg

d'extrait ; Les flavonoïdes totaux (TFC) sont exprimés en µg d'équivalents de quercétine/mg d'extrait.

5.1.3. Analyse LC-MS/MS

Les résultats du profil LC-MS/MS du BECS est illustré dans (tableau 5.3 et figure 5.1). Plusieurs composés ont été détectés ; seuls Dix (10) composés phénoliques ont été identifiés dans le BECS en comparant leurs temps de rétention avec ceux des standards commerciaux disponibles. Les plus abondants étaient l'acide chlorogénique (5659, 58 mg/kg d'extrait) et la rutine (2037, 19 mg/Kg d'extrait), suivis de la quercétine (487, 543 mg/Kg d'extrait), de l'acide p-hydroxybenzoïque (313, 392 mg/Kg), de l'acide sisorique (278, 486 mg/Kg). Kg), acide caféique (159, 115), acide gentisique (150, 402 mg/Kg), acide gallique (132, 519 mg/Kg), kaempférol (36,519 mg/Kg) et acide rosmarinique (25, 05 mg/Kg).

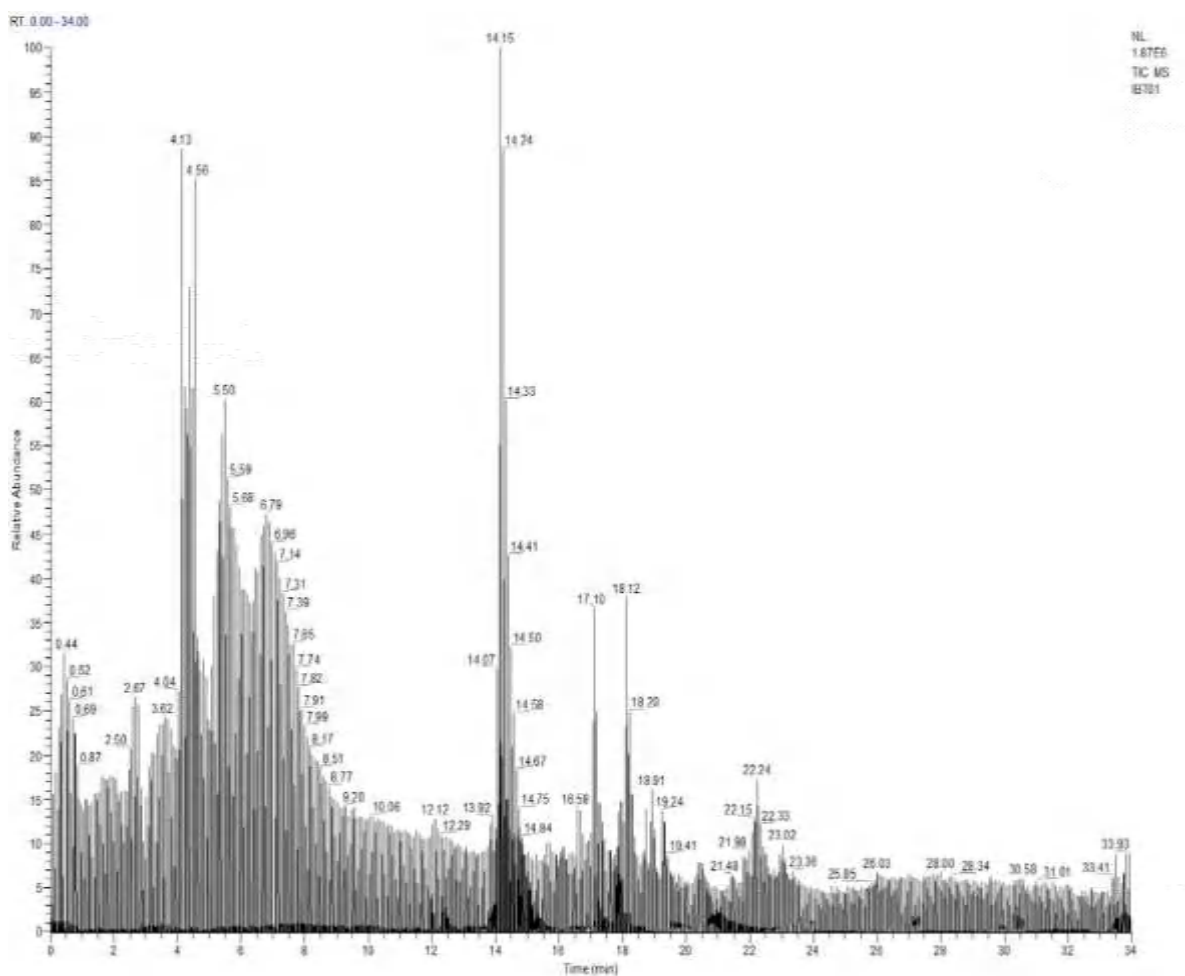


Figure 5.1 : Le profil LC-MS/MS de l'extrait n-BuOH de C.spinosa.

Tableau 5.3 : L'analyse LC-MS des composés phénoliques du BECS.

	Nom	Ions MS/MS étudiés				LOD (mg/L)	LOQ (mg/L)	TR (min)	mg phenol /Kg Extrait
		Parent (m/z)	Produit	EC	Polarité				
1	Acide <i>p</i> - Hydroxyben- zoïque	137,9 [M-H]-	66,6	38	-	0,243	0,519	14,64	313,392
			94,6	17	-				
2	Acide gentisique	153,7 [M-H]-	109,5	21	-	0,026	0,039	13,87	150,402
3	Acide gallique	169,7 [M-H]-	80,5	25	-	0,058	0,091	10,1	132,519
			126,2	16	-				
4	Acide caféique	179,7 [M-H]-	135,2	27	-	0,042	0,058	15,26	159,115
			136,2	18	-				
5	Kaempférol	286,97 [M+H] +	153	33	+	0,188	0,447	21,92	36,519
			165	28	+				
6	Quercétine	301 [M-H]-	152,1	23	-	0,141	0,181	20,51	487,543
			179,9	20	-				
7	Acide chlorogénique	353,4 [M-H]-	86,5	43	-	0,051	0,072	14,25	5659,158
			192,1	21	-				
8	Acide rosmariniqu e	359,18 [M-H]-	134,3	44	-	0,029	0,050	17,86	25,049
			162,2	20	-				
9	Acide Sisorique	473,1 [M-H]-	136,3	48	-	0,090	0,237	15,2	278,486
			180,1	29	-				
10	Rutine	609,37 [M-H]-	300,6	38	-	0,022	0,034	18,04	2037,19
			301,7	34	-				

Parent : ion précurseur ou ion quasi moléculaire, [M-H]-pour le mode ESI négatif et [M+H]+ pour le mode ESI positif. EC : Énergie de collision en eV, RT : Temps de rétention en minutes, LOD : Limite de détection, LOQ : Limite de quantification, (-) : Polarité négative, (+) : Polarité positive.

5.2. Screening biologique

5.2.1. Évaluation de l'activité antioxydante *in vitro* du BECS

5.2.1.1. L'effet anti-radicalaire par le test au DPPH°

Le pourcentage d'inhibition des radicaux libres de DPPH° en fonction de la concentration est représenté dans le graphe ci-dessous (figure 5.2). Ce test nous a permis de déterminer la concentration inhibitrice piégeant 50 % du radical DPPH° (IC₅₀ %). Cette dernière est inversement liée à la capacité antioxydante d'un composé, car elle exprime la quantité d'antioxydants requise pour diminuer la concentration du radical libre de 50%. Plus la valeur d'IC₅₀ est basse, plus l'activité antioxydante d'un composé est grande. On a remarqué que l'IC₅₀ obtenu pour l'acide ascorbique (55,84±0,24 µg/mL) et la quercetine (53,56±0,59 µg/mL) utilisés comme des standards, est bien plus inférieur à celle du BECS (208,94±1,12 µg/mL) et donc, ils présentent une activité antioxydante plus élevée.

D'après les résultats représentés dans la figure (5.2), il semble que le pourcentage d'inhibition du radical libre augmente avec l'augmentation de la concentration soit pour les standards (Acide ascorbique, Quercetine) ou pour l'extrait de la plante.

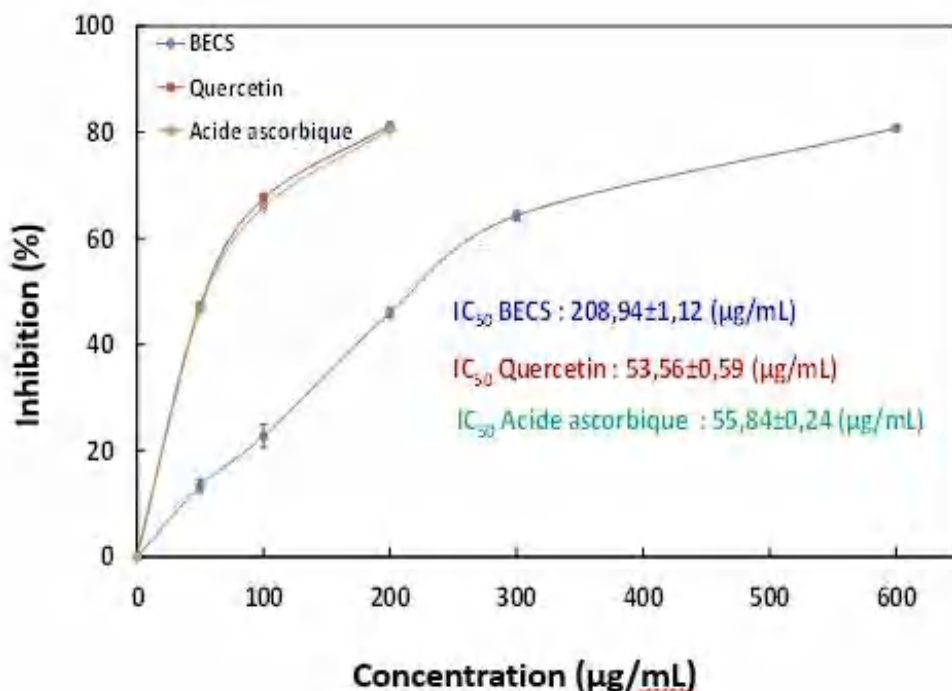


Figure 5.2 : Pourcentages d'inhibition du radical DPPH° des antioxydants de références et du BECS.

5.2.1.2. Capacité antioxydante totale (CAT) du BECS

La capacité antioxydante totale du BECS est représentée dans la figure (5.3). Cet extrait montre une capacité antioxydante ($IC_{50} = 179,48 \pm 5,59 \mu\text{g/mL}$) moins efficace que celle exercée par l'acide ascorbique ($IC_{50} = 60,59 \pm 7,18 \mu\text{g/mL}$) ainsi que la Quercetine ($48,95 \pm 6,67 \mu\text{g/mL}$), qui sont utilisés comme références.

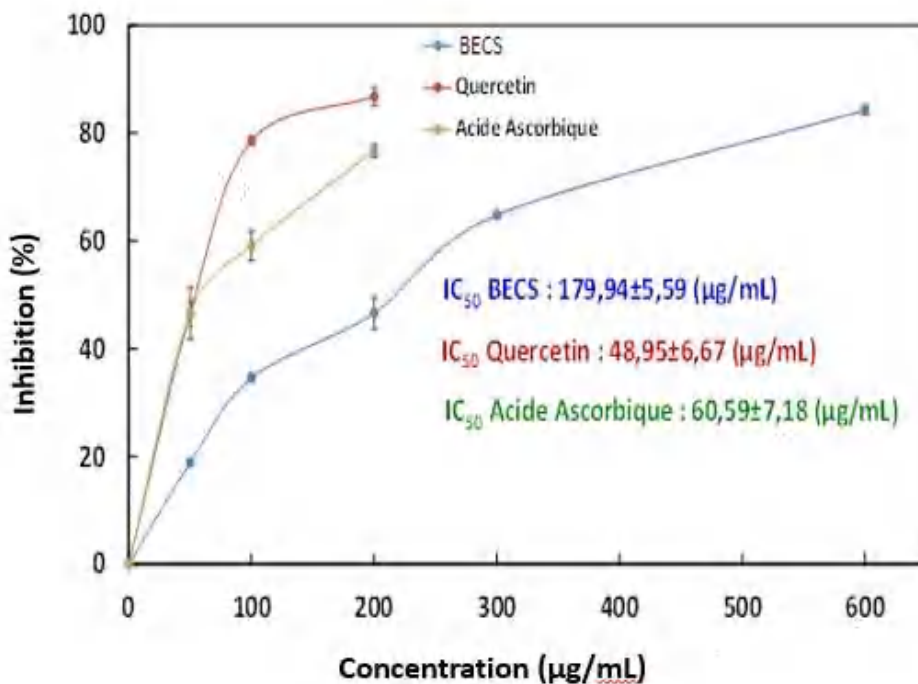


Figure 5.3 : La capacité antioxydante totale du BECS et des antioxydants de référence.

5.2.1.3. Réduction du radical- cation ABTS du BECS

L'activité antioxydante de l'extrait est déduite de sa capacité à inhiber le radical $ABTS^{+\cdot}$, obtenu à partir de l'ABTS (sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline6-sulfonique)) comparativement à des antioxydants de référence : l'acide ascorbique et la quercetine. La figure (5.4) illustre la courbe représentative du pourcentage d'inhibition du radical en fonction des concentrations.

Selon la figure (5.4), on peut observer une augmentation dose-dépendante du pouvoir antioxydant des standards et de l'extrait. l' IC_{50} obtenu pour la Quercetine ($72,79 \pm 2,57 \mu\text{g/mL}$), l'acide ascorbique ($87,15 \pm 7,29 \mu\text{g/mL}$) utilisés comme des antioxydants de référence, est bien plus inférieur à celle du BECS ($220,94 \pm 22,36 \mu\text{g/mL}$) et donc, ils montrent une activité antioxydante plus importante.

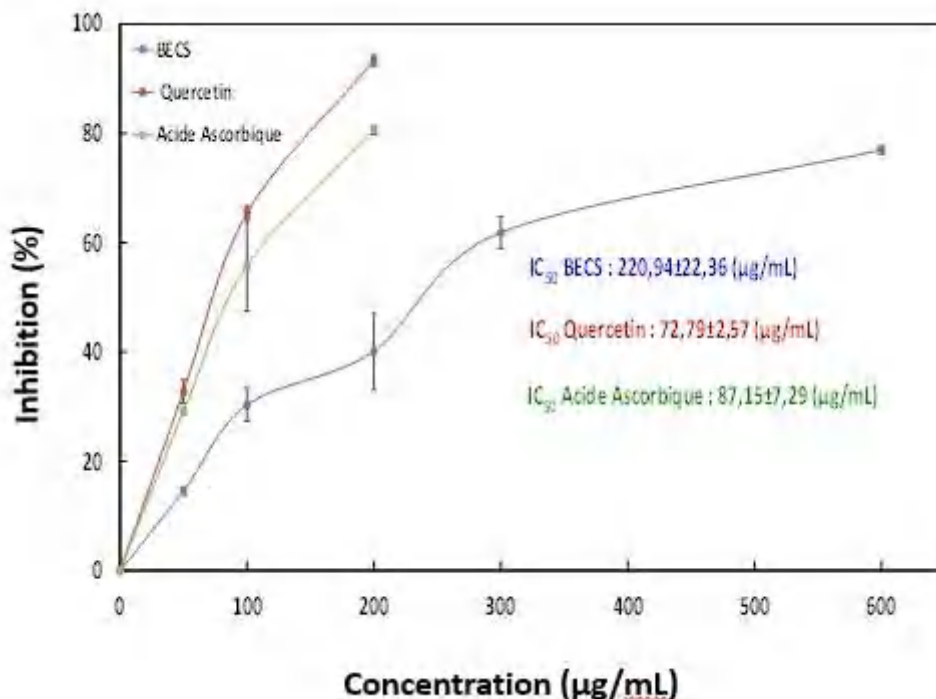


Figure 5.4 : Courbe représentant le pourcentage d'inhibition du radical ABTS⁺⁺ du BECS et les antioxydants de référence.

5.2.1.4. Pouvoir réducteur du BECS

Le dosage de l'activité réductrice ferrique basé sur la capacité de l'antioxydant à réduire le Fe³⁺ en Fe²⁺ est utilisé comme indicateur de l'activité antioxydante potentielle des produits naturels. La figure (5.5) illustre le pouvoir réducteur de l'extrait n-BuOH de *C.spinosa*.

A partir des résultats obtenus, on remarque que le pouvoir réducteur du BECS est dose dépendante (concentration dépendante) c'est-à-dire que la capacité de réduction de fer est proportionnelle à l'augmentation de la concentration de l'extrait. Cependant le BECS présente un potentiel réducteur avec une IC₅₀ de 209,51 ± 4,26 µg/mL, ce pouvoir réducteur reste inférieur à celui de l'acide ascorbique (IC₅₀ = 64,04 ± 0,21 µg/mL), de la quercétine (IC₅₀ = 62,91 ± 0,98 µg/mL) considérés comme standards.

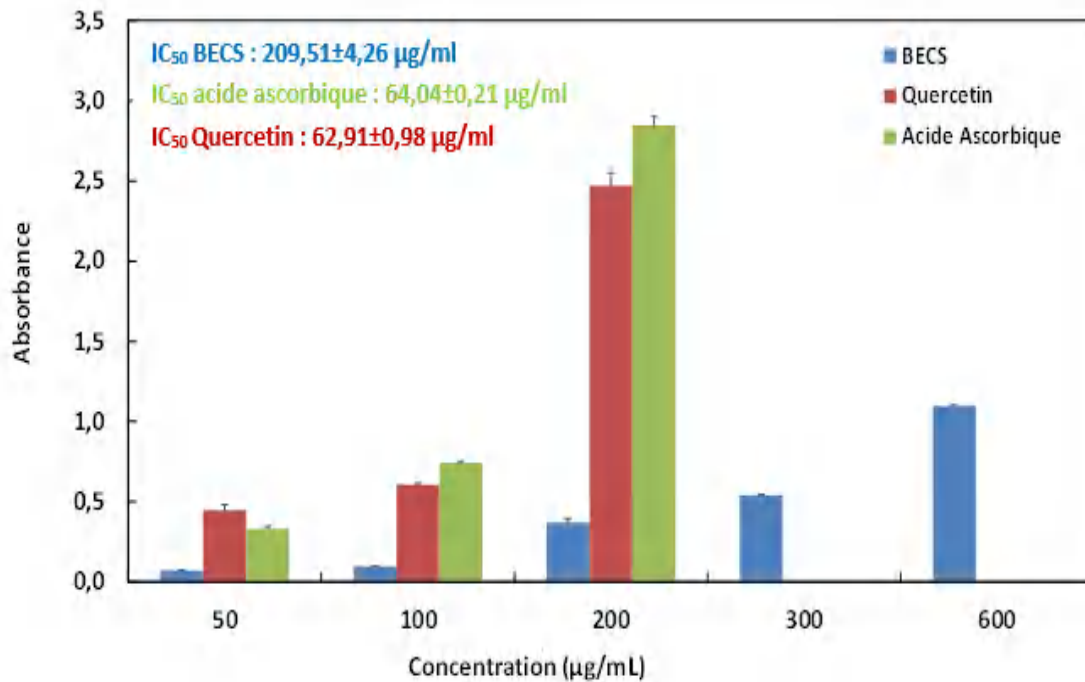


Figure 5.5 : Evaluation de l'activité antioxydante du BECS par la méthode FRAP

5.3. Test de cytotoxicité

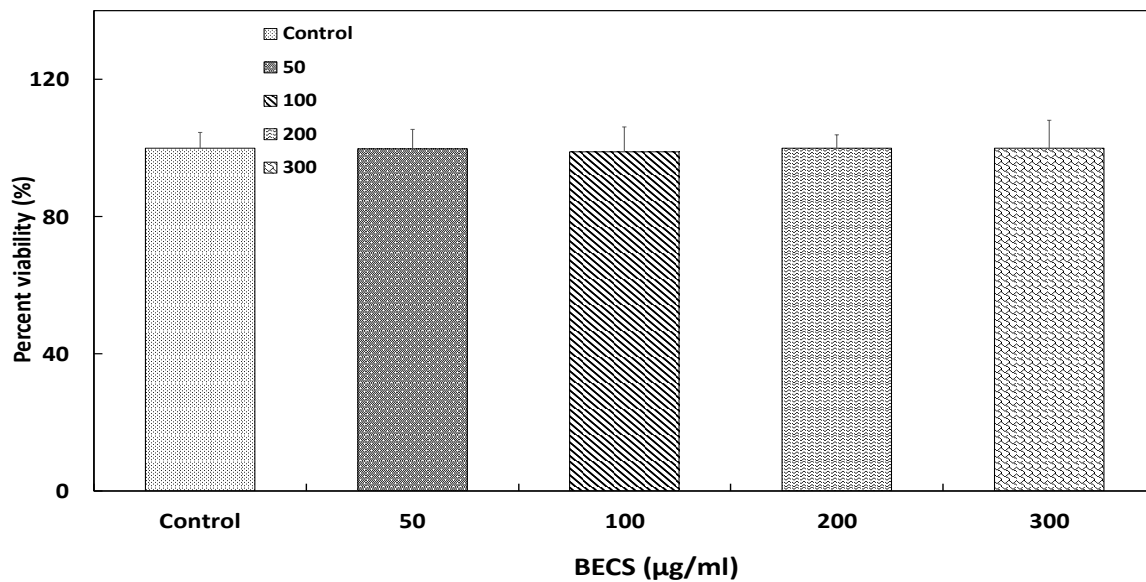


Figure 5.6 : Effet de cytotoxicité du BECS contre les lignées cellulaires du cancer du cerveau humain C6 (dosage SRB).

D'après les résultats (Figure 5.6), il est clair que le BECS n'a montré aucune toxicité contre les lignées cellulaires du cancer du cerveau C6.

5.4. Évaluation de l'activité antidiabétique *in vitro* du BECS

✓ Inhibition de l'activité alpha- amylase et de l'activité alpha- glucosidase

L'évaluation de l'activité de l'extrait n-BuOH de *C.spinosa* sur l'α-amylase et l'α-glucosidase est représentée dans le tableau (5.4). Les résultats obtenus montrent que le BECS a une activité inhibitrice à la fois sur les deux enzymes avec un effet dose-réponse, aussi on constate une inhibition de la substance de référence (acarbose) sur l'alpha-glucosidase et l'alpha-amylase. L'IC₅₀ du BECS sur l'α-amylase a été de 171,64±10,42 mg/mL alors que celle de l'acarbose a été de 51,64±0,73 mg/mL. L'IC₅₀ du BECS sur l'α-glucosidase a été de 135,25±6,79 mg/mL alors que celle de l'acarbose a été de 71,61±17,83 mg/mL. L'extrait butanolique préparé à partir des parties aériennes de *C.spinosa* inhibe les 2 enzymes.

Le taux d'inhibition du BECS et de l'acarbose augmente proportionnellement avec l'augmentation de la concentration de ceux-ci. Le pourcentage d'inhibition des deux enzymes l'alpha-amylase et l'alpha-glucosidase variait de 25,6±0,82 % à 79,8±1,20 % et de 30,88±0,86 % à 81,33±0,8 % respectivement à une concentration allant de 50 à 600 µg/mL par rapport à l'acarbose (de 48,96±0,69 % à 95,23±4,26 % et de 43,99±0,48 % à 90,89 ± 0,69 % respectivement) dans la même gamme de concentration.

Tableau 5.4 : Pourcentage (%) de l'effet inhibiteur de l'activité α-amylase et de l'activité α-glucosidase du BECS.

Concentration (µg/mL)	Inhibition de l'activité α-amylase		Inhibition de l'activité α-glucosidase	
	BECS	Acarbose	BECS	Acarbose
50	25,6±0,82	48,96±0,69	30,88±0,86	43,99±0,48
100	33,6±0,95	67,21±0,90	44,3±1,2	47,91±0,34
200	45,8±1,58	86,37±1,19	51,5±1,025	64,35±0,55
300	69,8±1,83	93,46±0,94	70,5±1,28	89,1±1,08
600	79,8±1,20	95,23±4,26	81,33±0,8	90,89±0,69
IC₅₀	171,64±10,42	51,64±0,73	135,25± 6,79	71,61 ± 17,83

Les valeurs IC₅₀ sont définies comme la concentration des pourcentages d'inhibition à 50 % et sont calculées par analyse de régression semi-logarithmique et exprimées en moyenne \pm SD (n = 3).

5.5. Tolérance au glucose du BECS (Mesure de la glycémie chez les rats prétraités)

Le tableau (5.5) présente les variations de la glycémie des rats dans un test de tolérance au glucose. L'hyperglycémie est provoquée par l'administration par voie orale de glucose aux rats à la dose de 4 g/kg, 30 minutes après l'administration orale des deux doses du BECS (200 mg/Kg et 500 mg/Kg), de la metformine (lots référence) ou de l'eau distillée (lot témoin). La glycémie est mesurée toutes les 30 minutes, pendant 3 heures, et la variation de la glycémie par rapport à la glycémie initiale est calculée.

Chez les rats du groupe contrôle, l'administration du glucose (4g/kg) après prétraitement à l'eau physiologique à la dose de 4 ml/kg, entraîne une hyperglycémie au bout de 30 min (1.38 \pm 0.01mg/dL). Cette augmentation concerne aussi les animaux du groupe traité par la metformine (1.18 \pm 0.03**mg/dL). De même, l'administration par voie orale du BECS avec les deux doses (200 et 500 mg/Kg) n'a pas d'effets sur l'hyperglycémie induite par le glucose à 4 g/kg et entraîne une hyperglycémie qui apparaît au bout de 30 min (1.31 \pm 0.02**mg/dL et 1.24 \pm 0.03**mg/dL, respectivement).

Après 180 minute les taux du glucose sont revenus aux niveaux basiques chez les rats traités par l'extrait BECS (0.76 \pm 0.03**mg/dL et 0.77 \pm 0.02**mg/dL, respectivement), et même chez les rats traités par la metformine (0.71 \pm 0.01mg/dL). Par contre ceux des rats du groupe contrôle sont resté élevés (1.08 \pm 0.03**mg/dL). Ce qui est intéressant, il n'y avait aucune différence entre les deux doses sélectionnées.

Tableau 5.5 : Effet du BECS sur la tolérance au glucose.

Extrait/Standards	Temps (minutes)					
	T ₀	30	60	90	120	180
Contrôle	0.71 \pm 0.01	1.38 \pm 0.01	1.26 \pm 0.03	1.22 \pm 0.01	1.09 \pm 0.02	1.08 \pm 0.03*
Metformine	0.66 \pm 0.03*	1.18 \pm 0.03*	0.95 \pm 0.05*	0.99 \pm 0.03*	0.94 \pm 0.03**	0.71 \pm 0.01
BECS(200 mg/Kg)	0.86 \pm 0.02**	1.31 \pm 0.02**	0.98 \pm 0.03**	0.90 \pm 0.01**	0.88 \pm 0.05**	0.76 \pm 0.03**
BECS (500 mg/Kg)	0.89 \pm 0.04**	1.24 \pm 0.03**	1.11 \pm 0.06**	0.96 \pm 0.4**	0.92 \pm 0.03**	0.77 \pm 0.02**

Les valeurs sont exprimées en termes de moyenne arithmétique \pm écart-type (n= 6).

5.6. Evaluation de l'activité antidiabétique *in vivo* du BECS

5.6.1. Effet de l'extrait BECS sur les paramètres physiologiques

Le diabète induit par l'injection de la STZ se manifesta par une nette augmentation du taux de consommation journalière de nourriture chez le groupe des rats diabétiques ($35,38 \pm 3,22$) par rapport au groupe contrôle ($22,95 \pm 6,00$). Chez le groupe des rats diabétiques, un traitement de 28 jours par le BECS ou par la metformine a provoqué une réduction du taux de consommation journalière de nourriture par rapport à celui enregistré chez les rats diabétiques ($30,66 \pm 6,86$ et $28,34 \pm 4,88$; respectivement). En effet, ce taux reste comme même supérieur à celui du groupe contrôle (tableau 5.6).

Le tableau (5.6) représente l'influence du traitement par le BECS sur le taux de consommation journalière d'eau chez les rats rendus diabétiques à la STZ.

Dans notre étude, nous avons constaté que l'injection de la STZ provoque une nette augmentation du taux de consommation journalière de l'eau chez le groupe des diabétiques ($36,5 \pm 7,58$) par rapport au groupe contrôle ($25,83 \pm 5,85$). Le traitement des rats diabétiques par le BECS a provoqué une réduction du taux de consommation journalière de l'eau par rapport au groupe diabétique, et celui des rats traités par la metformine ($30,2 \pm 7,85$ et $29,76 \pm 6,87$, respectivement). Ce taux reste supérieur à celui du groupe contrôle.

Tableau 5.6 : Influence de l'administration du BECS (200 mg/kg) sur le taux de consommation journalière de nourriture et d'eau.

	Nourriture (g/jour)	Eau (ml/jour)
Contrôle	$22,95 \pm 6,00$	$25,83 \pm 5,85$
BECS	$27,36 \pm 5,99$	$25,83 \pm 12,81$
STZ	$35,38 \pm 3,22$	$36,5 \pm 7,58$
STZ + Metf	$28,34 \pm 4,88$	$29,76 \pm 6,87$
STZ + BECS	$30,66 \pm 6,86$	$30,2 \pm 7,85$

Les résultats sont exprimés en moyenne \pm écart-type, n = 12.

5.6.2. Effet du BECS sur le poids corporel des rats

Le tableau (5.7) représente les résultats obtenus du poids corporel des groupes des rats normaux et des rats rendus diabétiques à la STZ après un traitement quotidien de 28 jours soit par l'extrait BECS a une dose de 200 mg/kg soit par la metformine.

Les résultats obtenus dans notre étude ont montré que l'injection de la STZ induit un diabète caractérisé par une perte du poids corporel chez les rats rendus diabétiques par rapport au poids corporel initial et par rapport au groupe contrôle qui a subit une augmentation régulière du poids corporel pendant la période du traitement. Cependant après 28 jours, Le poids corporel augmente significativement chez le groupe des rats diabétiques traités par le BECS (200mg/kg), et celui des rats traités par la metformine (218.6±3.8**g et 215.6±4.6**g, respectivement).

Tableau 5.7 : Effet du BECS sur le poids corporel des rats rendus diabétiques à la STZ.

Extrait/Standards	Poids Initial (g)	Poids final (g)
Contrôle	193.96±4.3	266.72±6.8
BECS	206.53±5.9	250.53±4.8
STZ	241.68±6.3**	167.68±3.9**
STZ + Metf	185.60±2.8**	215.6±4.6**
STZ + BECS	194.80±2.9**	218.6±3.8*

Les valeurs sont exprimées en terme de moyenne arithmétique ± écart-type (n=12) ; *: Comparaison STZ vs contrôle ; *p< 0.05, **p< 0.01.

5.6.3. Effet du BECS sur les paramètres biochimiques du diabète

La glycémie des rats STZ a atteint 368, 75±10 mg/dL tout au long de la période expérimentale de 28 jours, par rapport au groupe contrôle (98, 75±5 mg/dL) (tableau 5.8). Les résultats de la présente étude indiquent que l'administration du BECS (200 mg/kg de poids corporel) pendant une période de 28 jours a considérablement atténué (69,83 %) les effets indésirables du diabète induit à la STZ. La diminution de la glycémie du BECS était semblable à celle de la metformine, un médicament antidiabétique standard (74,98 %).

Dans notre étude, nous avons observé une augmentation (2,11±0,1 UA/mg de protéine) du niveau des AGE dans le groupe STZ par rapport au groupe contrôle

(1,09±0,01 UA/mg de protéine) (Tableau 5.9). Le BECS a montré une amélioration significative ($p<0,01$) des taux plasmatique d'AGE (75,49 %) par rapport à la metformine (89,21 %). La quantité d'hémoglobine glyquée (% GHb) a également augmenté (14,23±1,8 %; 4,06 fois) par rapport au groupe contrôle (3,5±0,8 %). Dans la présente étude, le taux d'HbA1c était significativement élevé chez les rats diabétiques, néanmoins, le BECS a considérablement diminué (69,65 %; $p<0,05$) l'HbA1c par rapport à la metformine (75,43 %; $p<0,05$).

Tableau 5.8 : Effet du BECS sur les niveaux du glucose, d'Hb-glyqué et d'AGE plasmatiques chez des rats rendus diabétiques à la STZ.

	Glucose (mg/dL)	Hb-glyquée (%)	AGE plasmatiques (UA/mg protéine)
Contrôle	98.75±5.3	3.5±0.8	1.09±0.01
BECS	96.98±4.8	3.8±0.2	1.05±0.02
STZ	368.75±10 ^{**YY}	14.23±1.8 ^{**YY}	2.11±0.01 ^{**YY}
STZ + Metf	166.3±6.3 ^{**YY££} (74.98 %)	9.96±1.02 ^{**YY££} (75.43 %)	1.2±0.08 ^{££} (89.21 %)
STZ + BECS	180.2±4.8 ^{**YY££§§} (69.83 %)	10.4±1.04 ^{**YY££} (69.65 %)	1.33±0.05 ^{*YY££} (75.49 %)

Les valeurs sont exprimées en terme de moyenne arithmétique ± écart type (n=12) ; *:

Comparaison des groupes vis-à-vis des témoins ; (ns : non significatif); (* $p<0,05$);

(** $p<0,01$); ¥: Comparaison des groupes vis-à-vis du BECS; (¥ $p<0,05$); (¥¥ $p<0,01$); £:

Comparaison des groupes vis-à-vis du groupe STZ; (£ $p<0,05$); (££ $p<0,01$); §: Comparaison entre le groupe STZ + Metf et le groupe STZ + BECS; (§ $p<0,05$); (§§ $p<0,01$). Les valeurs dans la case indiquent le pourcentage de protection. Le % de protection est calculé comme suit : 100 x (valeurs de STZ)-valeurs d'échantillons/ (valeurs de STZ)-valeurs de contrôle.

Dans la présente étude, l'induction du diabète à la STZ a entraîné une réduction d'environ 1,67 fois du taux plasmatique et cérébrale de l'insuline (39,33±3,18 pg/dL ; 42,3±3,8 pg/dL ; $p<0,01$) comparativement aux rats témoins (65,75±4,3 pg/dL; 59,6±4,2 pg/dL; $p<0,01$) respectivement. Le groupe traité par *C.spinosa* a montré une amélioration

significative ($p < 0,01$) de l'insuline plasmatique et cérébrale (73,16 %; 74,56 %; $p < 0,01$) respectivement, similaire à celle de la metformine (78,61 %; 79,76 %; $p < 0,01$) respectivement (tableau 5.9).

Comme le montre le (tableau 5.9), l'induction du diabète a entraîné une réduction d'environ 2, 15 fois du taux plasmatique de peptide C ($0,53 \pm 0,01$ ng/mL) par rapport aux rats témoins ($1,14 \pm 0,25$ ng/mL). Le groupe traité par le BECS a montré une amélioration significative ($p < 0,01$) du peptide C (60,65%) par rapport aux rats traités à la metformine avec (80,32%).

Tableau 5.9 : Effet du BECS sur le taux plasmatique et cérébrale d'insuline et le taux du peptide C chez des rats rendus diabétiques à la STZ.

	Insuline plasmatique (pg/dL)	Insuline cérébrale (pg/dL)	Peptide C (ng/mL)
Contrôle	65.75±4.3	59.6±4.2	1.14±0.25
BECS	66.80±4.8	58.7±4.1	1.12±0.11
STZ	39.33±3.18 ^{***YY}	42.3±3.8 ^{**YY}	0.53±0.01 ^{*YY}
STZ + Metf	60.1±4.1 ^{**YY££} (78.61 %)	56.51±1.08 ^{**YY££} (79.76 %)	1.02±0.2 ^{YY££} (80.32 %)
STZ + BECS	58.22±5.2 ^{**YY££} (73.16 %)	54.3±4.2 ^{**YY££§} (74.56 %)	0.9±0.01 ^{££} (65.69 %)

Les valeurs sont exprimées en terme de moyenne arithmétique ± écart type (n=12) ; * : Comparaison des groupes vis-à-vis des témoins ; (ns : non significatif); (* $p < 0.05$); (** $p < 0.01$); ¥: Comparaison des groupes vis-à-vis du BECS; (¥ $p < 0.05$); (¥¥ $p < 0.01$); £: Comparaison des groupes vis-à-vis du groupe STZ; (£ $p < 0.05$); (££ $p < 0.01$); §: Comparaison entre le groupe STZ + Metf et le groupe STZ + BECS; (§ $p < 0.05$); (§§ $p < 0.01$). Les valeurs dans la case indiquent le pourcentage de protection. Le % de protection est calculé comme suit : $100 \times (\text{valeurs de STZ}) - \text{valeurs d'échantillons} / (\text{valeurs de STZ}) - \text{valeurs de contrôle}$.

5.6.4. Effet du BECS sur le profil lipidique

Les résultats de l'influence du BECS sur le profil lipidique chez des rats rendus diabétiques à la STZ sont rassemblés dans le tableau (5.10). L'injection de la STZ a

provoqué une augmentation significative des taux de cholestérol total, des triglycérides et de LDL cholestérol par rapport au groupe témoin. Alors qu’une diminution du taux de HDL cholestérol a été remarquée.

Le traitement des rats par le BECS pendant 28 jours a maintenu les taux de Cholestérol (69.53 %; P<0,01), TG (60.06 %; P<0,01), LDL-C (50.74 %; P<0,05) et HDL-C (54.75%; P<0,05), en comparaison à la metformine : le Cholestérol (73.72 %; P<0,01), la TG (68,96 %), le LDL-C (74,72 %) et le HDL-C (73,45 %).

Tableau 5.10 : Effet du BECS sur le profile lipidique chez les rats rendus diabétiques à la STZ.

Extrait/Standards	Cholestérol (g/L)	HDL-C (g/L)	LDL-C (g/L)	TG(g/L)
Contrôle	0.7±0. 01	0.2±0.01	0.39±0.01	0.49±0.03
BECS	0.69±0.02	0.26±0.01	0.37±0.01	0.43±0.03
STZ	2.07±0. 02**	0.087±0.001**	1.3±0.01**	1.65±0. 02**
STZ + Metf	1.06±0. 01†† (73.72 %)	0.17±0.01† (73.45 %)	0.62±0.01† (74.72 %)	0.85±0. 03†† (68.96%)
STZ + BECS	1.12±0.03†† (69.53 %)	0.18±0.02†† (54.75%)	0.85±0.02†† (50.74 %)	0.96±0. 03†† (60.06%)

Les valeurs sont exprimées en terme de moyenne arithmétique ± écart-type (n=12) ; * : Comparaison STZ vs contrôle ; *p< 0.05, **p< 0.01 ; ¥ : Comparaison + BECS vs STZ ; ¥p< 0.05, ¥¥p< 0.01 ; † : Comparaison STZ + extrait vs STZ ; †p< 0.05, ††p< 0.01 ; Valeurs entre parenthèses : % de protection.

5.6.5. Effet du BECS sur les paramètres de la neurodégénérescence

La figure (5.7) a montré que l’induction du diabète à la STZ a entraîné une réduction d’environ 2,06 fois de l’activité du LDH et une augmentation d’environ 3,05 fois du taux plasmatique de CK-BB par rapport aux rats témoins respectivement.

Le traitement des rats par le BECS (200mg/Kg) pendant 28 jours a rétabli l’activité du LDH (60,97 %) et le taux plasmatique de CK-BB (79,47 %) significativement (p <0,01) dans le cerveau par rapport à la metformine (72,81 %, 83,82 %) respectivement (figure 5.7).

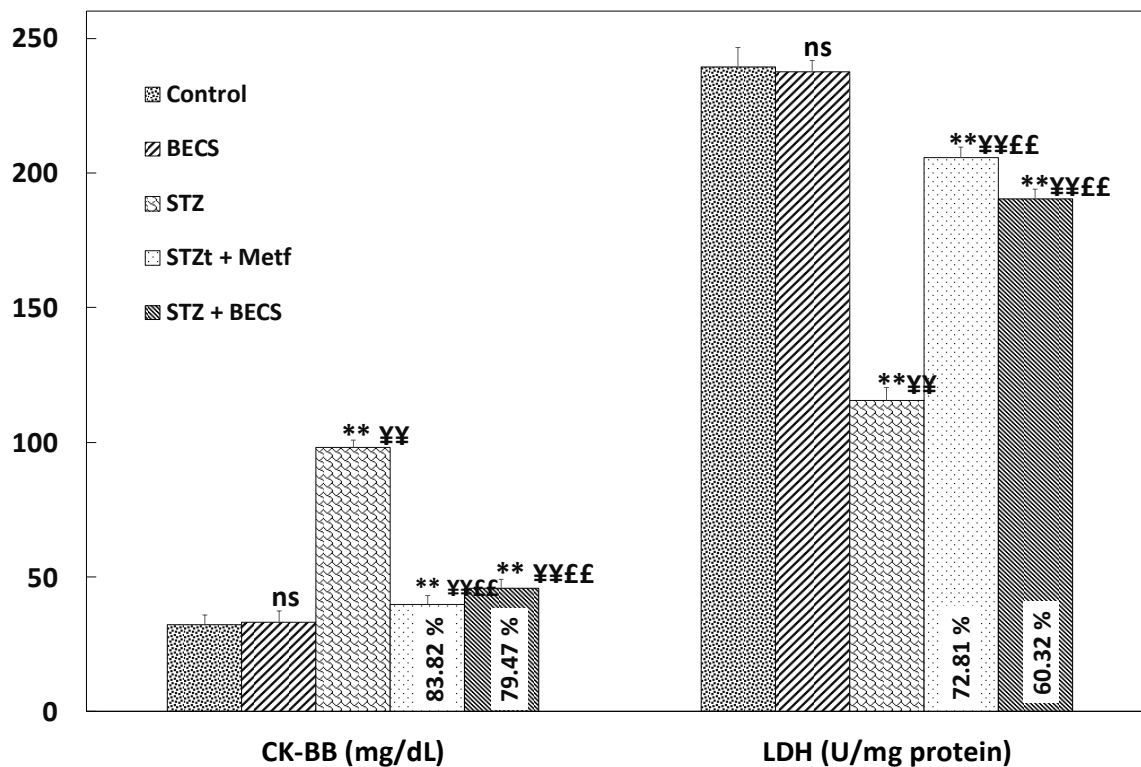


Figure 5.7: Effet du BECS (200 mg/Kg) sur le niveau de CK-BB et l'activité de la LDH dans le cerveau des rats rendus diabétiques à la STZ.

Les valeurs sont exprimées en terme de moyenne arithmétique ± écart type (n=12) ; *:

Comparaison des groupes vis-à-vis des témoins ; (ns : non significatif); (**p*<0.05);

(***p*<0.01); ¥: Comparaison des groupes vis-à-vis du BECS; (¥*p*<0.05); (¥¥*p*<0.01); £:

Comparaison des groupes vis-à-vis du groupe STZ; (£*p*<0.05); (££*p*<0.01); §: Comparaison entre le groupe STZ + Metf et le groupe STZ + BECS; (§*p*<0.05); (§§*p*<0.01). Les valeurs dans la case indiquent le pourcentage de protection. Le % de protection est calculé comme suit : 100 x (valeurs de STZ)-valeurs d'échantillons/ (valeurs de STZ)-valeurs de contrôle.

5.6.6. Effet du BECS sur les marqueurs neurochimiques : taux d'AChE, de BChE, de la dopamine et du glutamate

L'injection de la STZ aux rats a induit une altération cérébrale marquée, Comme en témoinne l'élévation significative (*p*<0,01) des concentrations d'AChE (28±3,2 µmol/mg de protéine) et de BChE (18,6±4,3 µmol/mg de protéine) dans le tissu cérébral du groupe traité à la STZ, comparativement au groupe contrôle (13,35±1,2 µmol/mg de protéine ; 7,99±0,8 µmol/mg de protéine) respectivement.

Le traitement des rats par le BECS (200 mg/kg) ou le traitement par la metformine (200 mg/kg) pendant 28 jours a inhibé de façon significative ($p < 0,01$) (63,28 % ou 83,27 %) les activités cérébrales du BChE et de l'AChE (76,78 % ou 86,19 %), respectivement (figure 5.8).

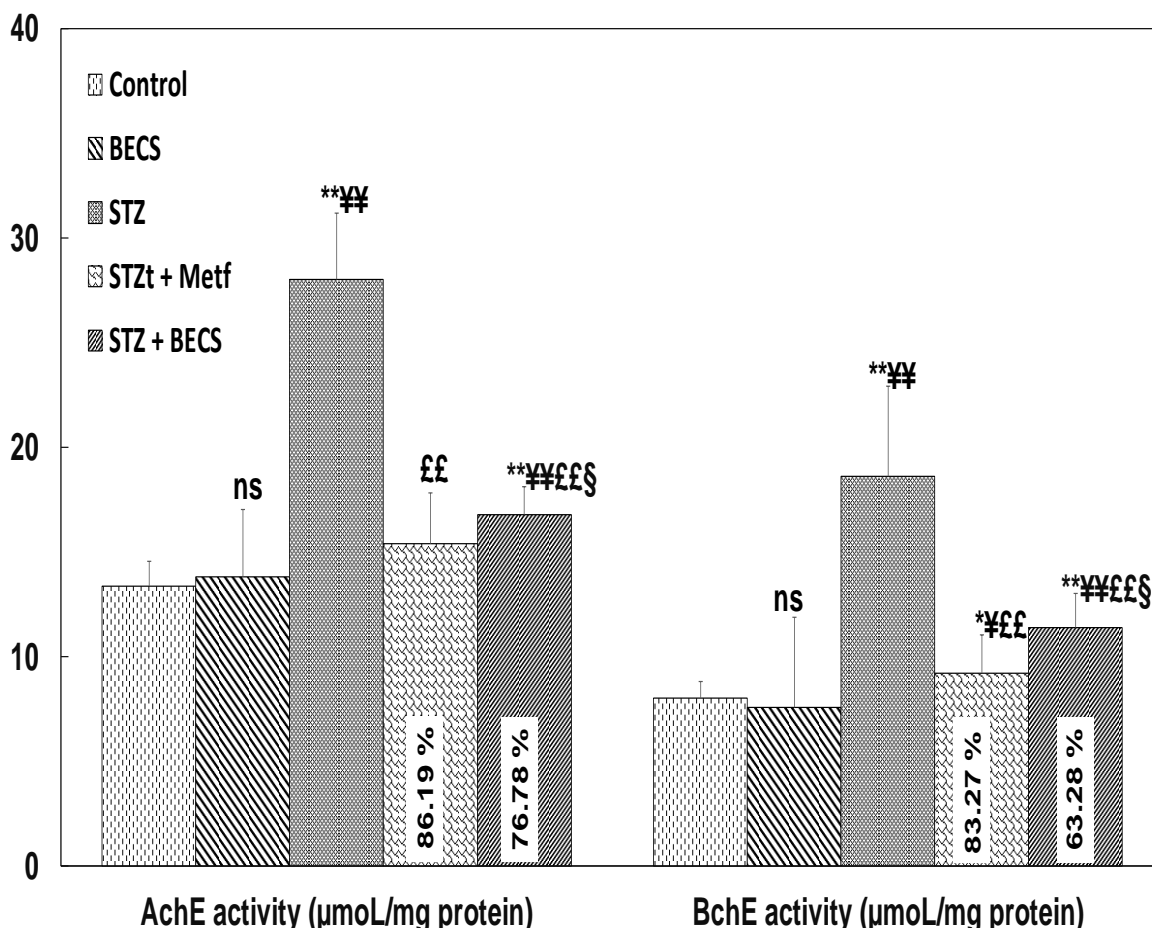


Figure 5.8 : Effet du BECS (200 mg/Kg) sur l'activité AchE et l'activité BchE dans le cerveau des rats rendus diabétiques à la STZ.

Les valeurs sont exprimées en terme de moyenne arithmétique \pm écart type (n=12) ; *:

Comparaison des groupes vis-à-vis des témoins ; (ns : non significatif); (* $p < 0.05$);

(** $p < 0.01$); ¥: Comparaison des groupes vis-à-vis du BECS; (¥ $p < 0.05$); (¥¥ $p < 0.01$); £:

Comparaison des groupes vis-à-vis du groupe STZ; (£ $p < 0.05$); (££ $p < 0.01$); §: Comparaison

entre le groupe STZ + Metf et le groupe STZ + BECS; (§ $p < 0.05$); (§§ $p < 0.01$). Les valeurs

dans la case indiquent le pourcentage de protection. Le % de protection est calculé comme

suit : $100 \times (\text{valeurs de STZ}) - \text{valeurs d'échantillons} / (\text{valeurs de STZ}) - \text{valeurs de contrôle}$.

Dans la présente étude, nous avons remarqué que l'injection de la STZ a réduit le niveau de la dopamine cérébrale ($35,91 \pm 4,2$ ng/mg de tissu); ($P < 0,01$) par rapport au

groupe contrôle (55,81±6,5 ng/mg de tissu) (figure 5.9), mais a augmenté le niveau du glutamate (202,8±10,6 nmol/mg de tissu; (P<0,01) dans les tissus cérébraux à la fin de l'étude, comparativement au groupe contrôle (88,33±5,4 nmol/mg de tissus) (figure 5.9).

Le traitement par le BECS a entraîné une augmentation significative du taux de la dopamine (67,73 % de P<0,01) et une diminution du glutamate (63,94 %; P<0,01), le traitement à la metformine a eu des effets similaires (71,3 %; 83,95 %) respectivement (figure 5.9).

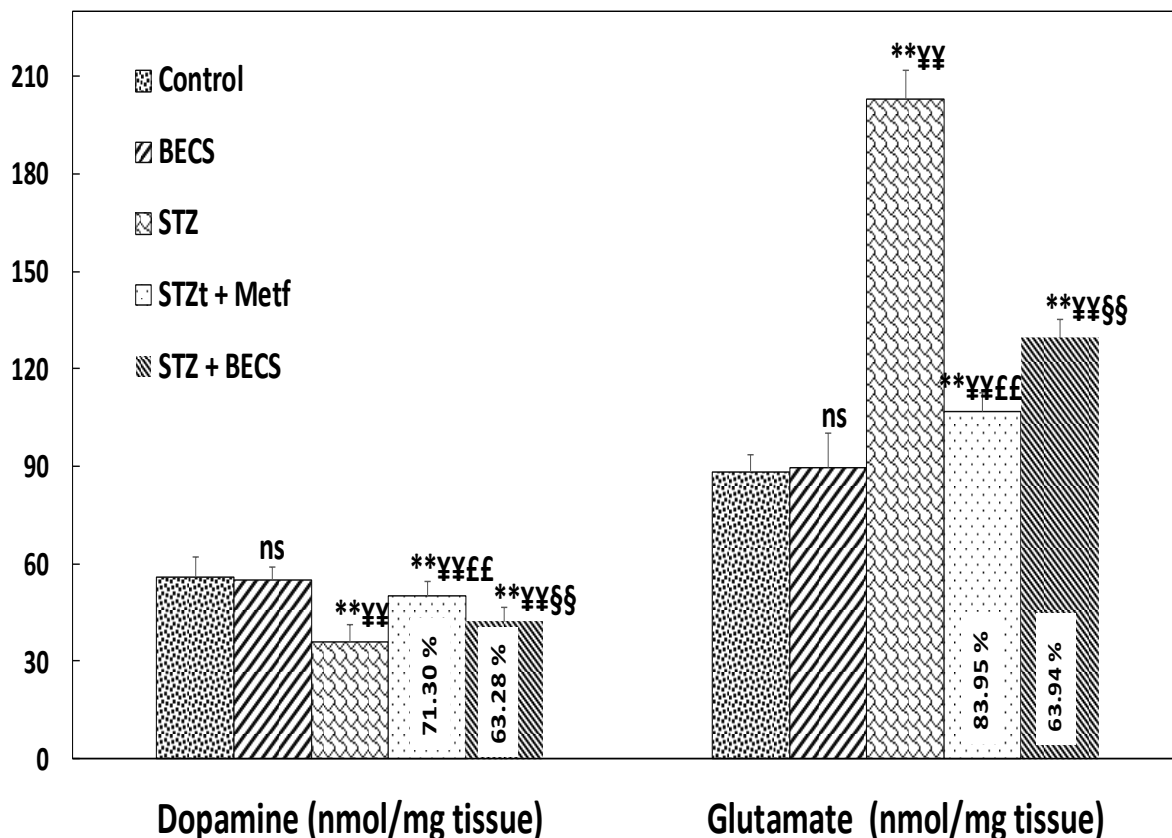


Figure 5.9 : Effet du BECS (200 mg/Kg) sur les niveaux de la dopamine et du glutamate dans le cerveau des rats rendus diabétiques à la STZ.

Les valeurs sont exprimées en terme de moyenne arithmétique ± écart type (n=12) ; *:

Comparaison des groupes vis-à-vis des témoins ; (ns : non significatif); (*p<0.05);

(**p<0.01); ¥: Comparaison des groupes vis-à-vis du BECS; (¥p<0.05); (¥¥p<0.01); £:

Comparaison des groupes vis-à-vis du groupe STZ; (£p<0.05); (££p<0.01); §: Comparaison

entre le groupe STZ + Metf et le groupe STZ + BECS; (§p<0.05); (§§p<0.01). Les valeurs

dans la case indiquent le pourcentage de protection. Le % de protection est calculé comme suit : 100 x (valeurs de STZ)-valeurs d'échantillons/ (valeurs de STZ)-valeurs de contrôle.

5.6.7. Évaluation des marqueurs neuroinflammatoires (le NO et les cytokines pro-inflammatoires)

Dans l'étude actuelle, les rats diabétiques ont montré une augmentation de la neuroinflammation qui est déclenchée et entretenue par divers mécanismes, tels que l'augmentation des concentrations d'IL-6 (149,8±7,1 pg/mL) et du TNF-α (91,41±6,8 pg/mL) comparativement aux niveaux normaux de contrôle (52,6±4,8 ; 33,38±3,1 pg/mL ; p<0,01) respectivement. Entre-temps, le traitement des rats diabétiques au BECS ou à la metformine a réduit de façon significative (p<0,01), les taux d'IL-6 (70,57 %) et de TNF-α (74,11 %) par rapport aux rats traités par la metformine (73,97 %; 83,76 %; p < 0,01) respectivement (figure 5.10).µM/mg de protéine

De même, Le traitement des rats diabétiques au BECS ou à la metformine a réduit de façon significative (p<0,01) les taux de NO (77,51 %; 71,49 %) respectivement (figure 5.10).

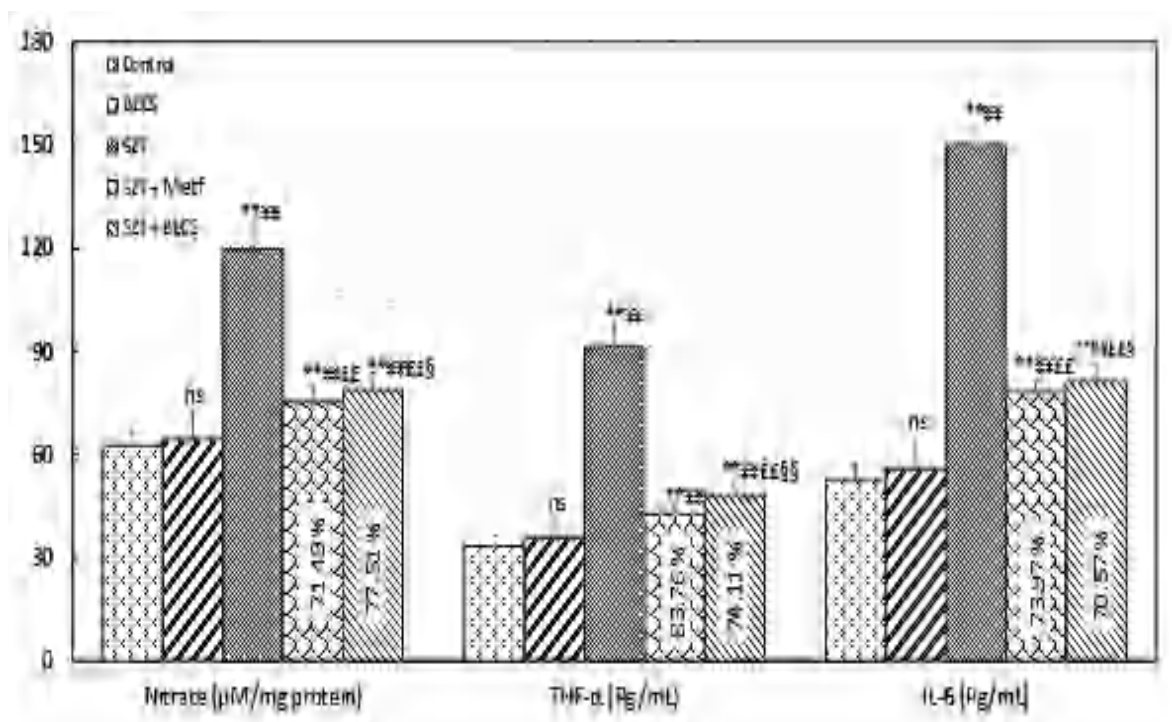


Figure 5.10 : Effet du BECS (200 mg/kg) sur les paramètres inflammatoires dans le cerveau des rats rendus diabétiques à la STZ.

Les valeurs sont exprimées en terme de moyenne arithmétique ± écart type (n=12) ; * : Comparaison des groupes vis-à-vis des témoins ; (ns : non significatif); (*p<0.05); (**p<0.01); ¥: Comparaison des groupes vis-à-vis du BECS; (¥p<0.05); (¥¥p<0.01); £:

Comparaison des groupes vis-à-vis du groupe STZ; ([£] $p < 0.05$); (^{££} $p < 0.01$); §: Comparaison entre le groupe STZ + Metf et le groupe STZ + BECS; (§ $p < 0.05$); (§§ $p < 0.01$). Les valeurs dans la case indiquent le pourcentage de protection. Le % de protection est calculé comme suit : $100 \times (\text{valeurs de STZ}) - \text{valeurs d'échantillons} / (\text{valeurs de STZ}) - \text{valeurs de contrôle}$.

5.6.8. Évaluation du statut oxydant cytosolique cérébral

5.6.8.1. La peroxydation lipidique

La figure (5.11) a montré que le niveau de l'MDA cérébral était significativement ($P < 0,01$) augmenté chez les rats diabétiques d'environ 2,44 fois. Le traitement avec le BECS (200 mg/kg) a diminué significativement ($P < 0,01$) le niveau de l'MDA jusqu'à 78,37 % par rapport à la metformine (82,88 %).

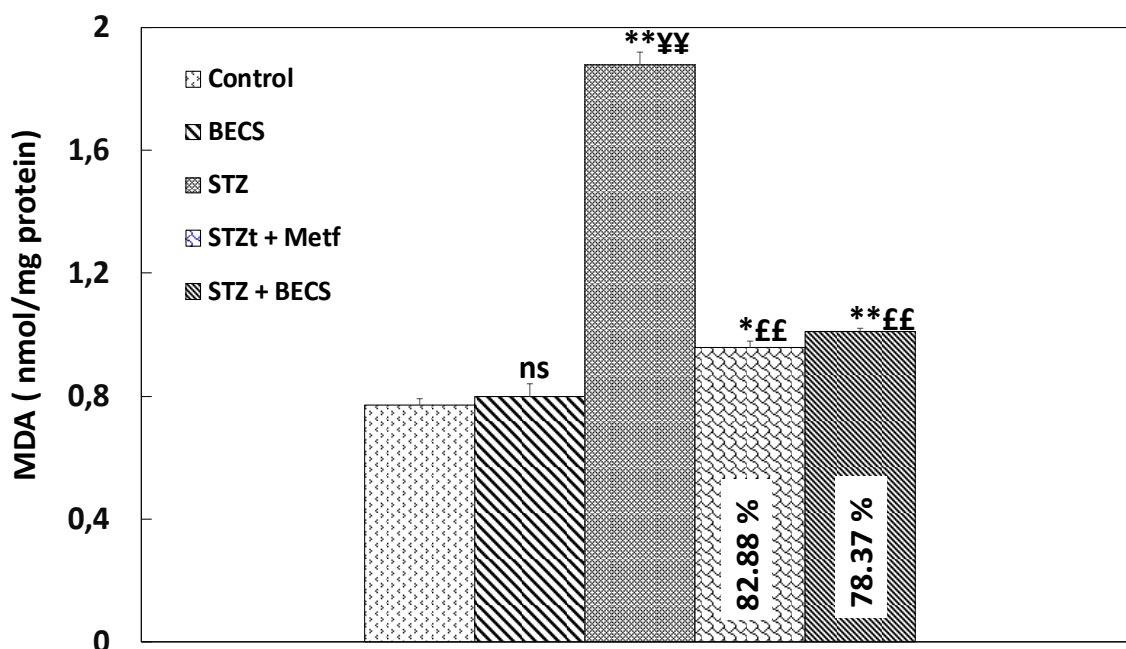


Figure 5.11 : Effet du BECS (200 mg/Kg) sur le niveau de l'MDA dans le cerveau des rats rendus diabétiques à la STZ.

Les valeurs sont exprimées en terme de moyenne arithmétique \pm écart type (n=12) ; *: Comparaison des groupes vis-à-vis des témoins ; (ns : non significatif); (^{*} $p < 0.05$); (^{**} $p < 0.01$); ¥: Comparaison des groupes vis-à-vis du BECS; ([¥] $p < 0.05$); (^{¥¥} $p < 0.01$); £: Comparaison des groupes vis-à-vis du groupe STZ; ([£] $p < 0.05$); (^{££} $p < 0.01$); §: Comparaison entre le groupe STZ + Metf et le groupe STZ + BECS; (§ $p < 0.05$); (§§ $p < 0.01$). Les valeurs

dans la case indiquent le pourcentage de protection. Le % de protection est calculé comme suit : $100 \times (\text{valeurs de STZ}) - \text{valeurs d'échantillons} / (\text{valeurs de STZ}) - \text{valeurs de contrôle}$.

5.6.8.2. Activité enzymatique du système glutathion cytosolique

Dans la présente étude, l'induction du diabète à la STZ a clairement réduit le taux de GSH dans le cerveau et les enzymes associées au système-GSH, comme en témoigne la baisse des taux du GSH, de GST, de GR et de GPx.

Le traitement des rats avec l'extrait BECS a rétabli le niveau du GSH et les enzymes du système GSH à des niveaux normaux. Une réponse marquée (61,66 %) du GSH a été observée dans le cerveau des rats traités par le BECS par rapport au traitement par la metformine (70,07 %), aussi le traitement des rats pendant 28 jours avec l'extrait BECS a inversé les taux de GPx (60,61 %), de GST (78,57 %) et de GR (74,30 %). L'efficacité du BECS était comparable à celle de la metformine dans la restauration de la GPx (73 %), de la GST (81,10 %) et de la GR (79,64 %) (Figure 5.12).

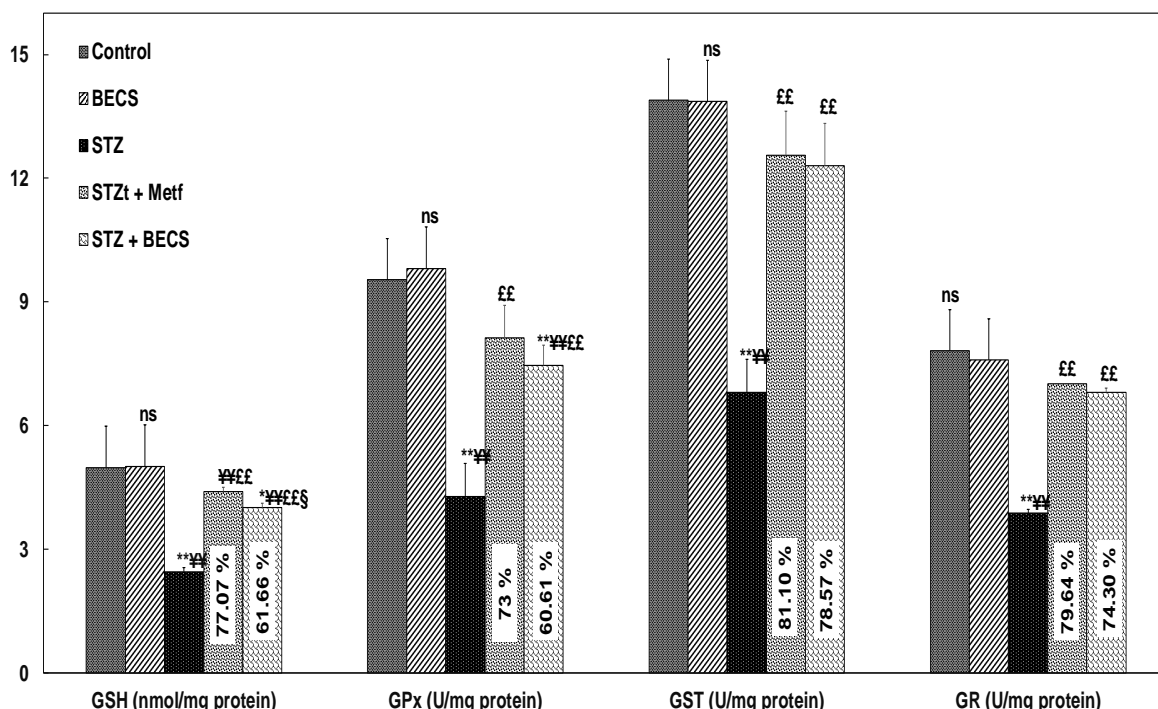


Figure 5.12 : Effet du BECS (200 mg/Kg) sur les enzymes métabolisant le glutathion dans le cerveau des rats rendus diabétiques à la STZ.

Les valeurs sont exprimées en terme de moyenne arithmétique \pm écart type (n=12) ; *: Comparaison des groupes vis-à-vis des témoins ; (ns : non significatif); (* $p < 0.05$);

(**p*<0.01); ¥: Comparaison des groupes vis-à-vis du BECS; (¥*p*<0.05); (¥¥*p*<0.01); £: Comparaison des groupes vis-à-vis du groupe STZ; (£*p*<0.05); (££*p*<0.01); §: Comparaison entre le groupe STZ + Metf et le groupe STZ + BECS; (§*p*<0.05); (§§*p*<0.01). Les valeurs dans la case indiquent le pourcentage de protection. Le % de protection est calculé comme suit : 100 x (valeurs de STZ)-valeurs d'échantillons/ (valeurs de STZ)-valeurs de contrôle.

5.6.8.3. Activité enzymatique de la CAT et de la SOD cytosolique

La (figure 5.13) montre que après l'administration de la STZ (60 mg/kg), une réduction significative de l'activité cérébrale de la SOD (1,32±0,1 U/mg de protéine) et de la CAT (3,22±0,3 U/mg de protéine) a été notée. Le traitement des rats par le BECS a significativement restauré l'activité de la SOD (2,01±0,2 U/mg de protéine) et de la CAT (6,41±0,8 U/mg de protéine). La metformine a également enregistré une réduction à l'ordre de (2,08±0,3 U/mg de protéine) pour la SOD, et de (6,41±0,8 U/mg de protéine) pour la CAT.

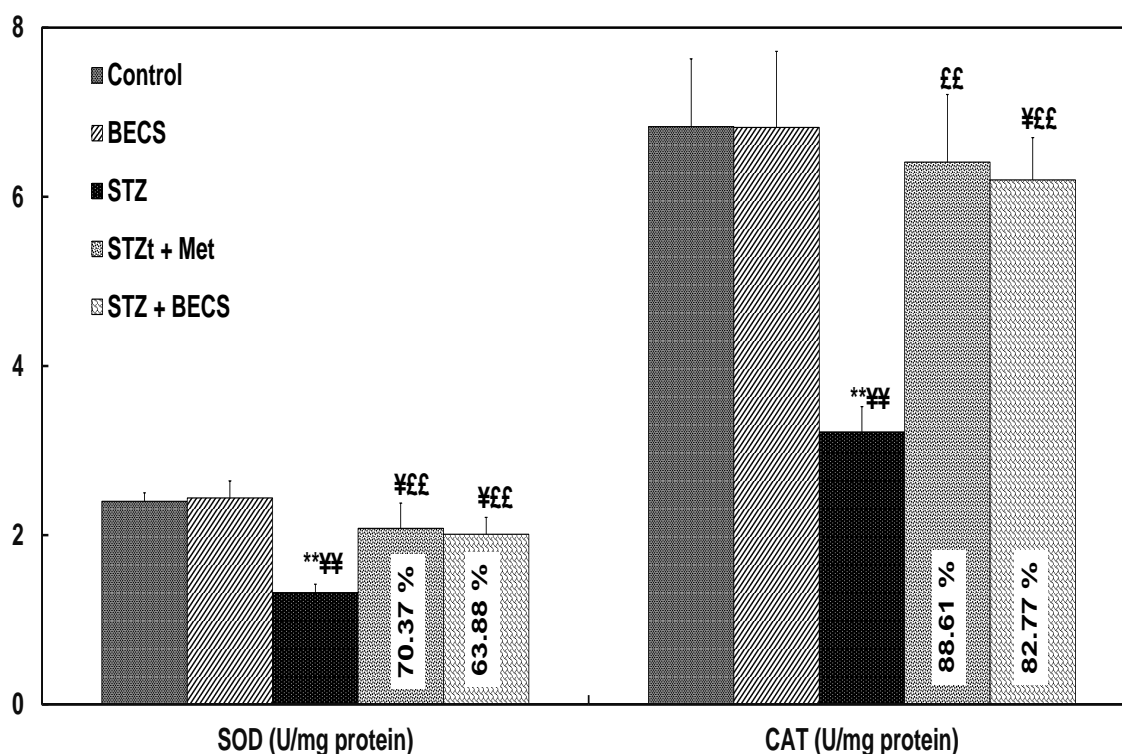


Figure 5.13 : Effet du BECS (200 mg/Kg) sur les activités enzymatiques SOD et CAT cérébrale chez les rats rendus diabétiques à la STZ.

Les valeurs sont exprimées en terme de moyenne arithmétique ± écart type (n=12) ; *: Comparaison des groupes vis-à-vis des témoins ; (**p*<0.05); (***p*<0.01); ¥: Comparaison des

groupes vis-à-vis du BECS; ([¥] $p < 0.05$); (^{¥¥} $p < 0.01$); £: Comparaison des groupes vis-à-vis du groupe STZ; ([£] $p < 0.05$); (^{££} $p < 0.01$); §: Comparaison entre le groupe STZ + Met et le groupe STZ + BECS; ([§] $p < 0.05$); (^{§§} $p < 0.01$). Les valeurs dans la case indiquent le pourcentage de protection. Le % de protection est calculé comme suit : $100 \times (\text{valeurs de STZ}) - \text{valeurs d'échantillons} / (\text{valeurs de STZ}) - \text{valeurs de contrôle}$.

5.6.9. Marqueurs du stress oxydant dans la fraction cytosolique pancréatique

Les rats rendus diabétiques à la STZ, ont développé une augmentation significative ($p < 0,01$) de la peroxydation lipidique (MDA) dans le pancréas. Le traitement des animaux par le BECS à la dose de (200 mg/kg) et par la metformine à la dose de (200 mg/kg) a fourni une protection significative ($p < 0,01$). Les niveaux élevés de l'MDA sont diminués lors du traitement par le BECS (71.62 %) par rapport au groupe traité par la metformine (79.67 %) (Figure 5.14 a).

Les résultats de l'étude de l'influence d'un traitement de 28 jours par le BECS sur le taux du GSH pancréatique sont rassemblés dans la figure (5.14). Une diminution significative du taux du GSH pancréatique a été constatée chez les rats rendus diabétiques à la STZ, suivie d'une réduction des activités des enzymes liées au système-GSH à savoir la GST et la GPx (figure 5.14 a, b).

Cependant, l'administration quotidienne du BECS pendant 28 jours a pu restaurer le taux du GSH pancréatique (71.88 %), ainsi que le taux de GPx (72.36 %) et de GST (81.75 %). L'antidiabétique utilisé a également pu restaurer le taux de ce système antioxydant à l'ordre de (83.93 %) pour le GSH, et de (89.94 %) et (87.22 %) pour la GPx et la GST respectivement (figure 5.14 a, b).

L'activité enzymatique de la CAT et de la SOD dans le pancréas des rats rendu diabétiques à la STZ a significativement diminuée ($1,33 \pm 0,1$ U/mg protéine et $0,35 \pm 0,05$ U/mg protéine ; $P < 0,01$) par rapport aux rats témoins ($3,54 \pm 0,3$ U/mg protéine et $1,55 \pm 0,01$ U/mg protéine ; $P < 0,01$) respectivement. L'extrait BECS (200 mg/kg) a préservé l'activité de la CAT cytosolique jusqu'à (76.01 %) et celle de SOD la cytosolique jusqu'à (75 %). La metformine, antidiabétique oral standard a permis de préserver l'activité de la CAT et de la SOD chez les rats diabétiques par un pourcentage de (80.54 %) et (77.50 %) respectivement (figure 5.14 b).

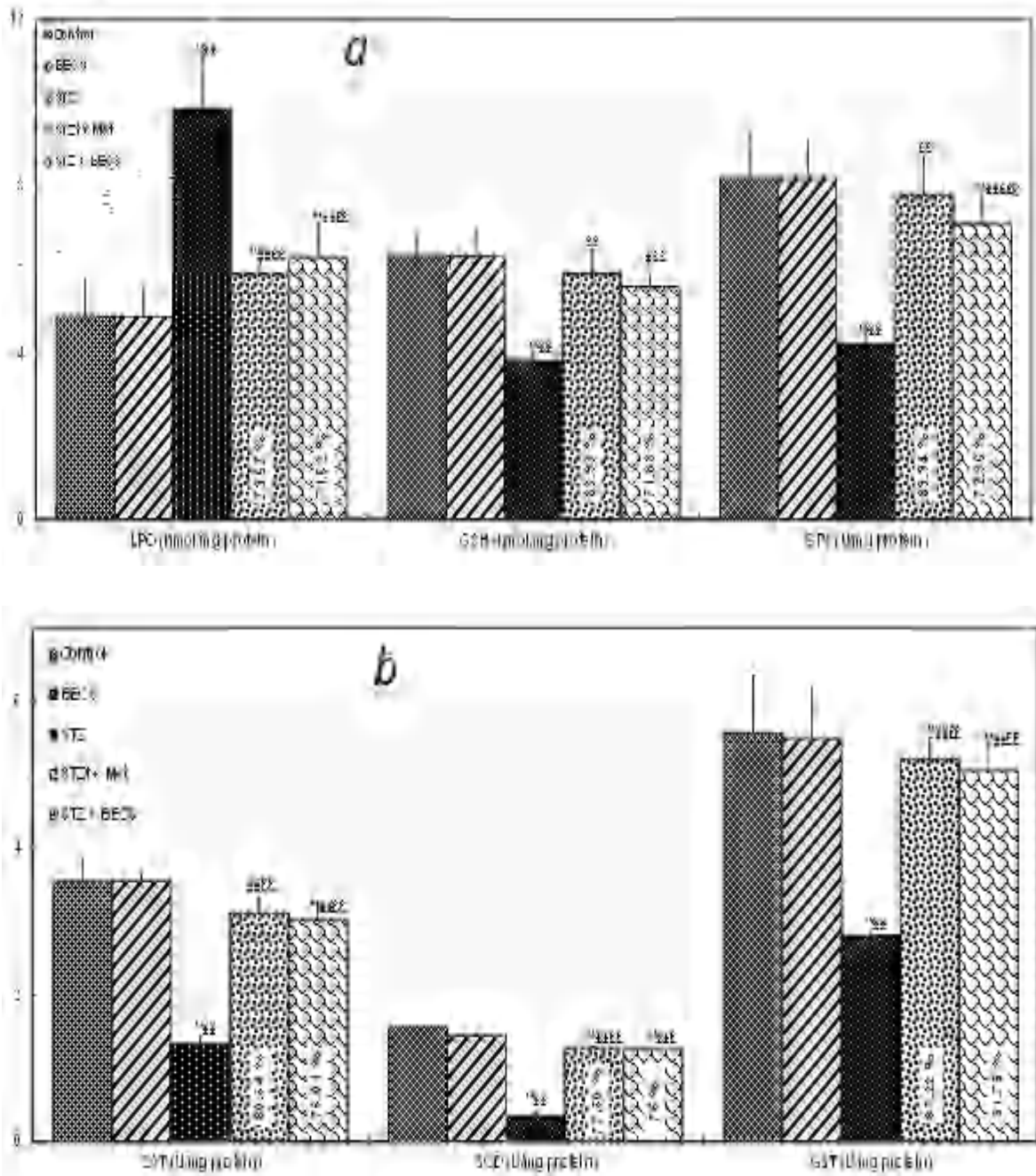


Figure 5.14 (a, b) : Effet du BECS (200 mg/Kg) sur les marqueurs du stress oxydatif de la fraction cytosolique du pancréas chez les rats rendus diabétiques à la STZ.

Les valeurs sont exprimées en terme de moyenne arithmétique \pm écart type (n=12) ; * : Comparaison des groupes vis-à-vis des témoins ; (* $p < 0.05$) ; (** $p < 0.01$) ; † : Comparaison des groupes vis-à-vis du BECS ; († $p < 0.05$) ; (†† $p < 0.01$) ; ‡ : Comparaison des groupes vis-à-vis du groupe STZ ; (‡ $p < 0.05$) ; (‡‡ $p < 0.01$) ; § : Comparaison entre le groupe STZ + Met et le groupe STZ + BECS ; (§ $p < 0.05$) ; (§§ $p < 0.01$). Les valeurs dans la case indiquent le pourcentage de protection. Le % de protection est calculé comme suit : $100 \times (\text{valeurs de STZ}) - \text{valeurs d'échantillons} / (\text{valeurs de STZ}) - \text{valeurs de contrôle}$.

5.6.10. Etude histologique

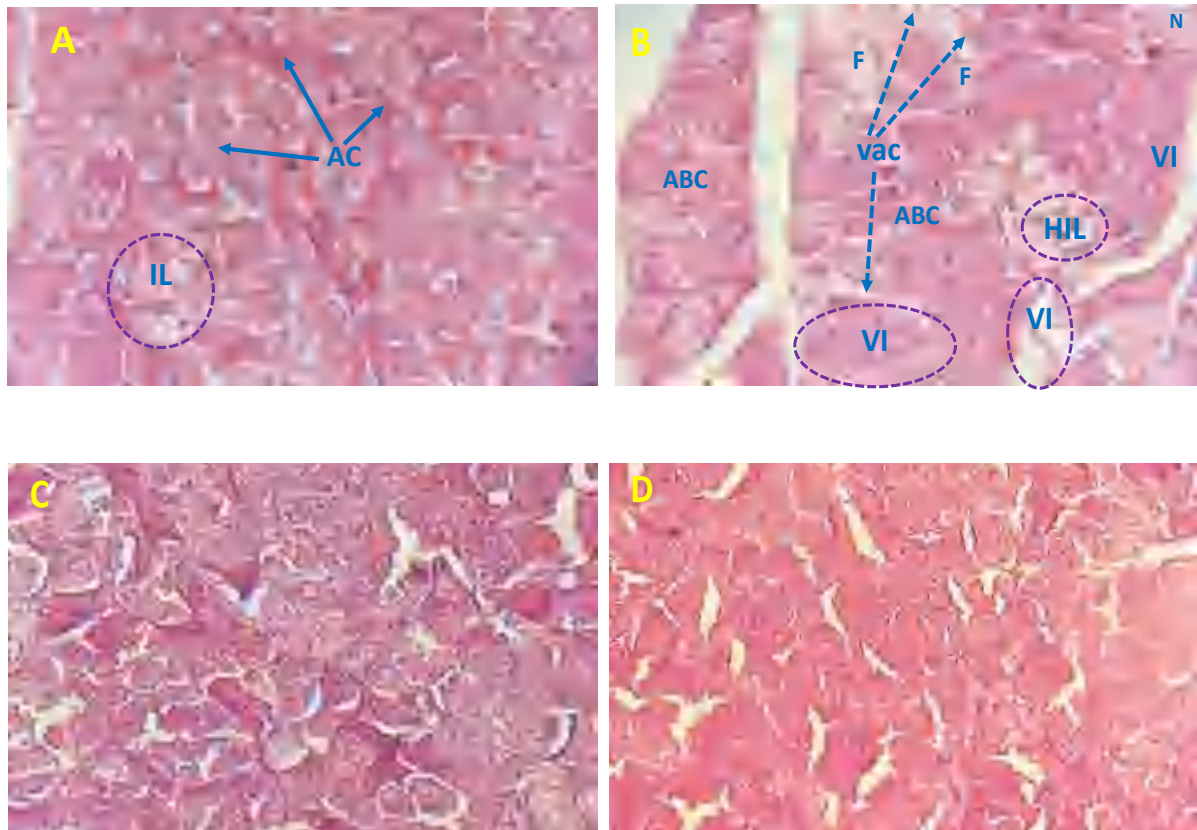


Figure 5.15 : Photomicrographies de changements histopathologiques dans le pancréas des rats rendus diabétiques à la STZ (X 200). Tissu pancréatique de 12 rats wistar albinos dans chaque groupe, coloré à l'hématoxyline et à l'éosine (H & E).

(A). (Contrôle): architecture normale des cellules acineuses (AC), îlots pancréatiques normal de cellules de Langerhans (IL).

(B). (Diabétique): cellules acineuses anormales (ABC), hypocellularité des îlots de Langerhans (HIL), vacuolisation sévère (vac), nécrose (N) et une atrophie légère vacuolisation dans les cellules des îlots (VI).

(C). (Diabétique + BECS): récupération de la plupart des cellules acineuses normales, minimisation des cellules vacuolisées et réduction des zones nécrotiques.

(D). (Diabétique + metformine) : légère amélioration de l'îlot pancréatique et les cellules acineuses et une légère dégénérescence.

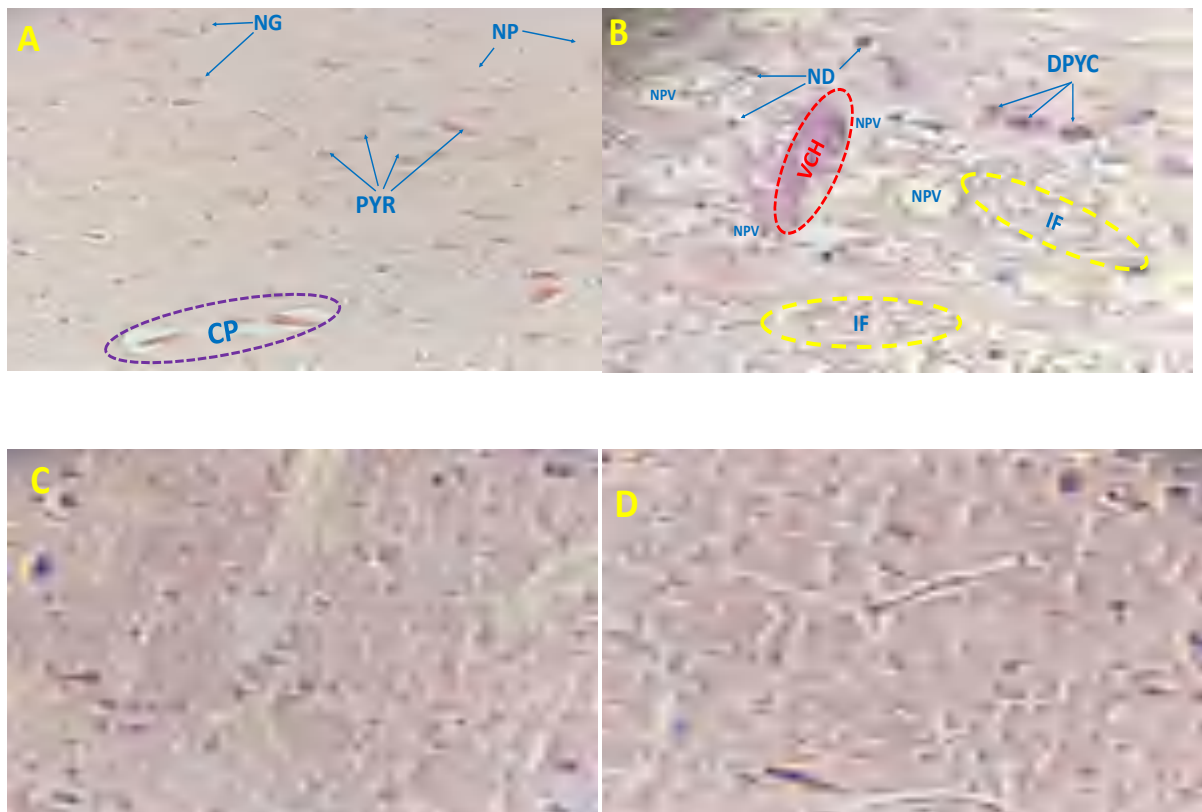


Figure 5.15 : Photomicrographies de changements histopathologiques dans le cerveau des rats rendus diabétiques à la STZ (X 200). Tissu cérébral de 12 rats wistar albinos dans chaque groupe, coloré à l'hématoxyline et à l'éosine (H & E).

(A). (Contrôle): coupes histologiques du cortex cérébral montrent; architecture histologique normale, population de neurones, cellule pyramidale (PYR), cellule de la névroglie (NG), capillaire (CP) et neuropile (NP).

(B). (Diabétique): modifications histologiques multifocales dans le cortex cérébral. La structure du cortex était désorganisée, vacuolisation du neuropile (NPV), dégénérescence neuronale (ND), cellules pyramidales endommagées (DPYC), infiltration cellulaire (IF), congestion vasculaire et hémorragie (VCH).

(C). (Diabétique + BECS): diminution de l'incidence des lésions neuropathologiques, moins de vacuolisations, moins de neurones endommagés et des cellules pyramidales presque normales.

(D). (Diabétique + metformine) : aspect histologique presque normal, architecture cérébrale préservée et des cellules pyramidales régulières.

Chapitre 05

Discussion

6. Discussion

Le diabète sucré est considéré comme un groupe de plusieurs troubles métaboliques (Rojas et Gomes, 2013). Il est causé par la dégradation des glucides, des protéines et des lipides, caractérisée par une augmentation des niveaux de glucose sanguin (hyperglycémie) résultant d'une production insuffisante ou insuffisante d'insuline (Giannoulaki *et al.*, 2020). Les systèmes de défense antioxydants naturels protègent les biomolécules des dommages causés par ERO/ERN. Cet effet protecteur peut être accru par l'utilisation d'oligo-éléments (vitamines C et E, β -carotène) et par des ingrédients non nutritifs tels que les composés phénoliques et les flavonoïdes présents dans les plantes (Sen *et al.*, 2011). Bien que l'effet antihyperglycémiant de *C.spinosa* sur des rats diabétiques a été rapporté (Hashemnia *et al.*, 2012; Mohammadi *et al.*, 2012; Kazemian *et al.*, 2015; Mollica *et al.*, 2017; Jalali *et al.*, 2016), le rôle de *C.spinosa* dans la neuropathie diabétique n'a pas encore été étudié. Cependant, quelques études ont mesuré l'activité des enzymes antioxydantes, particulièrement GPx, chez les modèles animaux du diabète type I. La présente étude a donc été menée pour étudier l'activité antihyperglycémique, antioxydante et neuroprotective de l'extrait *n*-BuOH de *C.spinosa* chez des rats rendus diabétiques à la streptozotocine à l'aide de différentes méthodes *in vitro* et *in vivo*.

Le criblage phytochimique préliminaire de la partie aérienne de *C. spinosa* a révélé la présence d'un large éventail de composés naturels tels que les alcaloïdes, les saponines, les terpénoïdes, les composés phénoliques, les anthocyanes, les flavonoïdes, les glycosides, les tanins et les stérols. Nos résultats sont en accord avec ceux rapportés par Yang *et al.* (2008) et Rajesh *et al.* (2010).

Le choix de quantifier les polyphénols parmi les différentes substances phytochimiques, réside de fait que les polyphénols ont des activités biologiques très importantes. De même pour les flavonoïdes qui sont considérés comme la classe la plus importante des composés phénoliques.

En particulier, les phénols et les polyphénols sont les principaux métabolites secondaires présents dans une plante qui agit comme antioxydant ou capteur de radicaux libres (Mutee *et al.*, 2010). L'extrait *n*-BuOH de *C.spinosa* avait l'activité antioxydante et la teneur totale en composés phénoliques les plus élevées. Nos résultats sont en accord avec Tlili *et al.* (2015) qui ont rapporté que le BECS rapportait une teneur plus élevée de contenu phénolique. Cependant, ces taux élevés peuvent s'expliquer par l'utilisation de différentes techniques d'extraction qui améliorent de 5 à 10 fois la récupération des

composés phénoliques (**Shinde et al., 2010**). En comparaison, **Aliyazicioglu et al. (2013)** ont signalé une teneur phénolique totale plus faible chez le *C. spinosa* turc. Une étude récente menée par un groupe Iranien a démontré que les feuilles étaient très riches en composés phénoliques (**Rad et al., 2021**). L'emplacement géographique, les méthodes de traitement et d'autres facteurs peuvent jouer un rôle dans cette variation (**Bonita et al., 2002**).

La méthode LC-MS a été appliquée pour l'évaluation des profils polyphénoliques de l'extrait *n*-BuOH de la plante *C. spinosa*. En utilisant le mode SIM (suivi ionique sélectionné) les pics correspondants d'acide gallique, d'acide chlorogénique, d'acide vanillique, d'acide gentisique, d'acide caféique, d'acide p-coumarique, de rutine, acide sinnamique, acide férulique, acide chicorique, naringine, hespéridine, acide rosmarinique, quercétine, catéchine, épicatechin, kaempferol et resvératrol ont été obtenus.

Plusieurs études phytochimiques réalisées sur le BECS ont révélé des différences entre les teneurs en composés phénoliques. Dans nos résultats, plusieurs composés ont été détectés ; seuls dix composés phénoliques ont été identifiés dans le BECS en comparant leurs temps de rétention avec ceux des standards commerciaux disponibles. Les plus abondants étaient l'acide chlorogénique (5659,158 mg/Kg) et la rutine (2037,19 mg/Kg), suivis de la quercétine (487,543 mg/Kg), de l'acide p-hydroxybenzoïque (313,392 mg/Kg), de l'acide sisorique (278,486 mg/Kg), acide caféique (159,115), acide gentisique (150,402 mg/Kg), acide gallique (132,519 mg/Kg), kaempférol (36,519 mg/Kg) et acide rosmarinique (25,05 mg/Kg). En accord avec nos résultats, plusieurs études ont noté que la rutine est la plus abondante chez *C. spinosa*. Nos résultats corroborent ceux obtenus par **Boudries et al. (2019)**, qui ont rapporté la présence de cinq produits communs et d'autres composés différents dans lesquels la rutine avait la concentration la plus élevée dans l'extrait éthanolique des boutons floraux de *C. spinosa* (région de Bejaia ; Nord Algérie). **Mollica et al. (2017)** ont rapporté que l'extrait méthanolique de la feuille et des bourgeons de *C. spinosa* contient une grande quantité de flavonoïdes dans lesquels la rutine a été déterminée comme un flavonoïde majeur avec d'autres composés différents. En revanche, **Stefanucci et al. (2018)** et **Mollica et al. (2019)** ont également découvert que la rutine était le composé phénolique prédominant dans les bourgeons de *C. spinosa* récoltés dans différentes régions.

De manière générale, différents composés tels que la quercétine, le kaempférol, la rutine (quercétine-3-O-rhamnoglucoside), le kaempférol-3-O- β -rutoside (kaempférol-3-orhamnoglucoside), le kaempférol-3-rhamnosyl-rutoside, ont été rapportés dans de

nombreuses parties de la plante *C. spinosa*, telles que les feuilles, les graines, les baies et les bourgeons floraux (Wiese *et al.*, 2013 ; Tagnaout *et al.*, 2016 ; Jiménez-López *et al.*, 2018 ; Aksay *et al.*, 2021) à différentes concentrations. Malgré le fait que les *C. spinosa* sont généralement connus pour leur richesse en rutine, la composition phénolique spécifique des extraits de *C. spinosa* dépend de plusieurs facteurs, qui peuvent être dus à la technique utilisée, au type de solvants et à l'origine des échantillons, comme cela a déjà été signalé pour de nombreuses espèces (Jiménez-López *et al.*, 2018 ; Aksay *et al.*, 2021 ; Kirkan *et al.*, 2021).

Diverses études ont précédemment rapporté que les acides phénoliques possèdent des activités anti-oxydantes puissantes (Can *et al.*, 2015 ; Elmastas *et al.*, 2015). Dans une étude antérieure indiquait que les concentrations d'acide phénolique ont augmenté en fonction de la maturation des fruits et des herbes aromatiques (Ozkan *et al.*, 2010).

Récemment, l'étude de la capacité antioxydante totale a suscité d'intérêt à explorer le rôle potentiel des produits riches en antioxydants contre certaines maladies dégénératives (Serafini *et al.*, 2002) afin de sélectionner des variétés susceptibles d'avoir des effets bénéfiques sur la santé (Frusciante *et al.*, 2007). Les antioxydants sont des composés qui protègent les cellules contre les effets indésirables des espèces réactives de l'oxygène (Singleton, 1999). Dans ce travail, différentes méthodes d'essais *in vitro* ont été réalisées pour évaluer l'activité antioxydante du BECS (FRAP, PM, DPPH et ABTS).

Le test DPPH° est souvent utilisé pour évaluer l'activité antioxydante des substances chimiques présentes dans les aliments en raison de leur haute stabilité, de sa faisabilité expérimentale et de son faible coût (Yeo et Shahidi, 2019). L'extrait méthanolique de *C. spinosa* était capable de réduire le radical stable DPPH en diphénylpicrylhydrazine de couleur jaune, cette capacité de piégeage des extraits sur DPPH° était peut-être due à l'activité de piégeage antiradicalaire des composés phénoliques présents dans l'extrait (Jadeja *et al.*, 2009). Plusieurs auteurs ont rapporté une activité de piégeage du DPPH de différentes parties de *C. spinosa* (Assadi *et al.*, 2021; Aksay *et al.*, 2021). L'activité antioxydante de notre extrait *n*-butanolique est assez mieux à celle obtenue par Fadili *et al.* (2017) pour leurs études de la plante *Capparis spinosa L* (fruits et feuilles).

Il est bien connu que les capacités antioxydantes des échantillons de plantes peuvent être influencées par de nombreux facteurs, tels que le solvant d'extraction et le système d'essai. Par conséquent, il est nécessaire d'effectuer différentes évaluations de l'activité antioxydante pour tenir compte de divers mécanismes d'action. Pour cette raison, un autre

test basé sur la capacité d'antioxydant à piéger l'ABTS⁺ a été utilisé pour déterminer les capacités antioxydantes (**Deng et al., 2012**).

L'ABTS est un autre radical synthétique, et plus polyvalent que le DPPH°, parce que le modèle ABTS peut évaluer l'activité de piégeage pour les échantillons polaires et non-polaires.

Le résultat indique clairement que l'extrait *n*-butanolique a une activité intéressante de piégeage des cations radicalaires ABTS. L'ordre d'activité de piégeage des radicaux ABTS des composés testés était presque similaire à celui observé pour le DPPH°.

En plus du test DPPH, les chercheurs ont également utilisé le test du pouvoir antioxydant réducteur ferrique (FRAP) pour évaluer l'activité antioxydante d'un extrait (**Djenidi et al., 2020**). Ce test est basé sur la capacité de l'échantillon en présence d'antioxydant à réduire le fer ferrique (Fe³⁺) en fer ferreux (Fe²⁺) en donnant un électron (**Bouaziz et al., 2015**). Dans cette étude, le *C.spinosa* a montré une activité réductrice ferrique. Cependant, le pouvoir réducteur ferrique était plus faible dans l'extrait végétal que dans l'acide ascorbique. Les antioxydants sont capables de piéger les radicaux libres *in vitro* en réduisant le complexe Fe³⁺/ferricyanure à la forme ferreuse (Fe²⁺) grâce à la capacité de transfert d'électrons (**Giacco et Brownlee, 2010**).

Notre résultat pour l'extrait *n*-butanolique s'avère moins faible que celui obtenu par **Kalantari et al. (2017)** pour les extraits ActOH et CHCl₃.

Le pouvoir réducteur de la plante *C. spinosa* est probablement dû à la présence de groupement hydroxyle dans les composés flavoniques qui peuvent servir comme donneur d'électron. Des travaux antérieurs ont également montré que le pouvoir réducteur d'un composé peut servir comme un indicateur significatif de son activité antioxydante potentielle (**Jeong et al., 2004 ; Kumaran, 2007**).

De plus, nous avons évalué la capacité antioxydante totale de *C. spinosa* en évaluant la formation du complexe phosphomolybdate (**Chaouche et al., 2014**). Nos résultats ont montré que *C.spinosa* présentait une activité dans la formation de complexes phosphomolybdates d'une manière dépendante de la concentration. L'activité antioxydante peut être due à différents mécanismes, tels que la prévention de l'initiation de la chaîne, la décomposition des peroxydes et la prévention de l'extraction continue d'hydrogène, le piégeage des radicaux libres, la capacité de réduction et la liaison des catalyseurs d'ions de métaux de transition (**Mao et al., 2006**).

L'évaluation de l'activité antioxydante de l'extrait *n*-BuOH de la plante *C.spinosa* confirme sa grande richesse en métabolites secondaires, une autre raison qui nous a

poussées d'évaluer son activité hypoglycémiant. La tolérance orale au glucose et la capacité de l'extrait *n*-BuOH à inhiber l' α -amylase et l' α -glucosidase ont été testées.

Dans le test de tolérance au glucose, les taux plasmatiques de glucose chez les rats traités par *C.spinosa* sont revenus aux taux à jeun dans les 180 minutes suivant l'administration de glucose. L'administration de *C.spinosa* a efficacement empêché l'augmentation du glucose plasmatique sans provoquer d'hypoglycémie. Cet effet peut survenir en raison de la réduction de l'absorption intestinale du glucose ou de l'induction d'un processus glycolytique, ainsi que de la réduction de la glycogénolyse et de la glyconéogenèse (**Shirwaikar et al., 2005**).

Les tests d'inhibition enzymatique ont montré une forte activité d'inhibition sur l' α -amylase et l' α -glucosidase qui sont des enzymes clés dans le métabolisme des glucides. L'inhibition de ces enzymes a été associée à la régulation de la glycémie après un repas glucidique. En outre, il a été rapporté que les polyphénols alimentaires, en plus de leur effet antioxydant, ils exercent également un effet anti-hyperglycémiant en se liant aux transporteurs de glucose (**Tundis et al., 2010**) et en inhibant de manière compétitive les enzymes digestives (**Bischoff, 1994**). De plus, de nombreuses herbes riches en composés phénoliques présentent une forte interaction avec les protéines et peuvent inhiber leurs activités enzymatiques en formant des complexes et en changeant la conformation (**Liu et al., 2013**). Donc l'activité inhibitrice de l'extrait de *C.spinosa* pourrait être due à la présence d'un certain nombre de constituants phytochimiques comme les tanins, les flavonoïdes et les terpénoïdes (**Chang et al., 2013; Rasouli et al., 2017**).

D'autre part, la cytotoxicité de l'extrait *n*-butanolique a été testée contre les lignées cellulaires tumorales humaines C6 (gliome cérébral de *Rattus norvegicus*) à l'aide d'un dosage de sulforhodamine B (SRB), qui est un dosage colorimétrique sur microplaque à point final (**Skehan et al., 1990**). SRB est un colorant aminoxanthène rose vif avec deux groupes sulfoniques. Il s'agit d'un colorant protéique qui se lie aux groupes aminés de protéines intracellulaires dans des conditions légèrement acides afin de fournir un indice sensible de la teneur en protéines cellulaires (**Jantrawut, 2014**). À partir des résultats, il est clair que, l'extrait *n*-butanolique de *C.spinosa* n'a montré aucune toxicité contre les lignées cellulaires de cancer du cerveau C6. **Saleem et al. (2021)** ont trouvé les mêmes résultats sur la ligne de cellule mammaire testée (MCF-7 et MDA-MB-231). Les résultats de **Khang et al. (2022)** ont également montré que l'extrait éthanolique des feuilles de *Capparis dongvanensis* avait des effets inhibiteurs sur quatre lignées cellulaires cancéreuses (HeLa, A549, Hep-G2 et MCF7). Les rapports de la littérature ont suggéré que

C. spinosa était sans danger, dans un essai clinique de 2 mois ; les patients diabétiques ayant reçu de l'extrait de fruit de *C. spinosa* (400 mg trois fois par jour) n'ont montré aucun signe d'effet indésirable (**Huseini et al., 2013**). Une étude de toxicité aiguë *in vivo* d'extraits méthanoliques de fruits et d'écorces de racines de *C. spinosa* à des doses orales allant de 500 à 5000 mg/Kg de poids corporel n'a montré aucune toxicité rénale ou hépatique (**Meddour et al., 2019**). Ces résultats étaient en accord avec ceux trouvés par **Sini et al. (2011)**, qui ont rapporté une DL50 supérieure à 5000 mg/Kg pour *C. spinosa*. Les composés phytochimiques ou leurs combinaisons peuvent être responsables de l'activité anticytotoxique des extraits (**Chahar et al., 2011**). Diverses études scientifiques ont rapporté que la présence de flavonoïdes était responsable de l'activité anticancéreuse des plantes (**Barrajon-Catalane et al., 2010**). **Bakr et al. (2016)** aussi ont rapporté que *C. spinosa* est une source riche en glycosides phénoliques et en flavonoïdes qui contribuent à sa puissante activité anticytotoxique.

La streptozotocine (STZ) en tant qu'antibiotique et agent anticancéreux (**Eidi et al., 2006**) a été utilisée comme agent inducteur du diabète sucré en causant des dommages sélectifs aux cellules β -pancréatiques génératrices d'insuline (**Zhang et al., 2015**). La streptozotocine pénètre dans la cellule β et forme le fragment méthyl nitrosourée qui provoque l'alkylation de l'ADN. La position O6 des résidus de guanine dans l'ADN est particulièrement sensible à l'alkylation. Cet endommagement de l'ADN induit par l'alkylation provoque l'activation de la poly ADP-ribosylation qui conduit à l'épuisement de NAD^+ et d'ATP cellulaire. Il en résulte une déphosphorylation accrue de l'ATP. L'augmentation de la déphosphorylation de l'ATP augmente l'apport en substrat pour la xanthine oxydase, ce qui entraîne la formation de radicaux superoxydes. Par conséquent, le peroxyde d'hydrogène et les radicaux hydroxyles sont également générés (**Szkudelski, 2001**), qui semblent être des facteurs communs dans la mort des cellules β , conduisant généralement au diabète de type I (**Masiello et al., 1998**). En outre, la streptozotocine libère des quantités toxiques d'oxyde nitrique (NO) qui inhibent l'activité de l'aconitase et contribuent à l'endommagement de l'ADN (**Szkudelski, 2001**). La metformine, un diméthylbiguanide, est un médicament oral qui a été choisi comme un contrôle positif pour évaluer l'activité hypoglycémique dans le diabète expérimental induit à la STZ (**Ustinova et al., 2020**). L'action thérapeutique de la metformine est attribuée principalement à ses effets au niveau des hépatocytes, avec une diminution de la production de glucose et au niveau des cellules musculaires, comme amélioration de l'absorption du glucose (**Cheng et**

al., 2006). La metformine affecte également la fonction de nombreux autres types de cellules, y compris les cellules β pancréatiques (Vigneri *et al.*, 1982).

Dans notre étude, l'induction du diabète a été confirmée par des taux élevés de glycémie à jeun, et comme prévu, les rats diabétiques présentaient une polyphagie, une polydipsie, une polyurie et une perte de poids corporel (Song *et al.*, 2016 ; Sheng *et al.*, 2017). De plus, l'injection intrapéritonéale d'une dose de 60 mg/Kg de STZ a exercé un effet nécrotique sur les cellules β pancréatiques productrices d'insuline menant à une hyperglycémie dans les 48 après son injection. (Sicr e *et al.*, 2006). Ces résultats sont associés à des îlots irr guli rs de cellules de Langerhans et à une nécrose des cellules dans notre étude histopathologique.

Selon les résultats de la présente étude, l'administration du BECS a considérablement réduit les effets indésirables du diabète induit à la STZ. Nous pouvons suggérer que le traitement du BECS pendant une période de 28 jours a donné des résultats significatifs chez les rats rendus diabétique à la STZ. *C. spinosa* a induit une diminution de la glycémie similaire à la metformine, un médicament antidiabétique standard, et cet effet s'est également reflété par la diminution de la consommation quotidienne d'eau et d'aliments. Cela est peut-être dû à la stimulation de la sécrétion d'insuline par les cellules β pancréatiques restantes, qui à son tour améliore l'utilisation du glucose par les tissus périphériques des rats diabétiques, soit en favorisant l'absorption et le métabolisme du glucose, soit en inhibant la glucon og nese hépatique (Saravanan *et al.*, 2009), ou réduction de l'indice glycémique des glucides et de la réduction de l'effet du glutathion (Patel *et al.*, 2012). Des extraits de différentes parties de la plante *C.spinosa* se sont avérés très efficaces dans le contrôle de la glycémie chez les diabétiques expérimentaux (Kazemian *et al.*, 2015; Jalali *et al.*, 2016 ; Assadi *et al.*, 2021).

Le poids corporel des rats rendus diabétiques à la STZ a été réduit dans le groupe diabétique par rapport aux rats normaux, probablement en raison de l'augmentation du taux de protéolyse et de lipolyse pour la génération de glucose dans l'état diabétique, ce qui entraîne une perte de tissu adipeux et une atrophie musculaire (Budin *et al.*, 2013 ; Oyedemi *et al.*, 2011). Ces résultats concordent avec les observations précédentes qui ont également rapporté une perte de poids corporel (Montano *et al.*, 2010; Juárez-Rojop, 2012). Une augmentation significative a été observée dans le poids corporel des rats diabétiques traités avec le BECS par rapport à la metformine et aux rats diabétiques, ce qui indique l'effet préventif de l'extrait sur la dégradation des protéines structurales, ces

résultats sont en accord avec d'autres études menées chez des animaux de laboratoire (**Kazemian et al., 2015; Pournaghi et al., 2012**).

Dans le système nerveux central (SNC), l'insuline est impliquée non seulement dans la régulation de la production de glucose, mais aussi dans le maintien de la survie et du développement neuronal (**Eidi et al., 2006**). Des troubles de la voie de signalisation de l'insuline dans les régions périphériques et cérébrales ont été impliqués dans le diabète (**Hallschmid et Schultes, 2009**). Par conséquent, la carence en insuline peut contribuer au développement de l'encéphalopathie diabétique chez l'animal induit à la STZ.

Dans la présente étude, l'induction du diabète à la STZ a entraîné une réduction du taux d'insuline plasmatique et de l'insuline cérébrale par rapport aux rats du groupe contrôle. Le groupe traité par *C.spinosa* a montré une amélioration significative de l'insuline plasmatique et cérébrale, similaire à celle de la metformine. Dans le groupe diabétique, la lésion pathologique induite dans les îlots de langerhans du pancréas a entraîné une faible sécrétion d'insuline par les cellules β par rapport à celle du groupe contrôle. Il a été rapporté que l'insuline a la capacité de traverser la barrière hémato-encéphalique et qui est abondamment détectée dans le cerveau (**Zhou et al., 2015**). Il convient de mentionner que la quantité d'insuline dans le SNC est bien inférieure à la quantité d'insuline dans le plasma ; bien que leurs niveaux soient corrélés, nous savons donc que la source la plus importante d'insuline pour le cerveau est son transport à travers la barrière hémato-encéphalique (**Strachan et al., 2003**). Le diabète sucré à long terme peut perturber la structure de la barrière hémato-encéphalique entraînant des lésions vasculaires (**Dai et al., 2002**). D'après l'étude actuelle, nous supposons que le traitement par *C. spinosa* ressemble à l'effet de la metformine qui peut traverser rapidement la barrière hémato-encéphalique (**Labuzek et al., 2010**).

Le C-peptide sécrété par les cellules pancréatiques (**Bowman et al., 2012**) est l'un des facteurs reflétant la carence en insuline (**Gottsäter, 1999**). Les faibles concentrations de peptide C et la diminution de la fonction des cellules bêta ont été associées à une variabilité glycémique accrue (**Hope et al., 2016**); par conséquent, le peptide C est utile pour évaluer le fonctionnement des cellules β pancréatiques (**Sari et Balci, 2005 ; Saisho, 2015**). L'induction du diabète à la STZ a entraîné une réduction du taux plasmatique de peptide C par rapport aux rats du groupe contrôle. Les concentrations plasmatiques de peptides C reflètent la quantité absolue de sécrétion d'insuline endogène (**Leighton et al., 2017**). Le groupe traité au BECS a montré une amélioration significative du peptide C plasmatique par rapport aux rats traités à la metformine. Un dépistage phytochimique préliminaire de la partie

aérienne de *C. spinosa* a révélé la présence d'un large éventail de composés naturels comme les alcaloïdes, les saponines qui ont été mentionnés comme agents antidiabétiques chez les rats diabétiques ou dans des essais cliniques (**Choudhary et al., 2011 ; Zheng et al., 2012**). Fait intéressant, les interactions synergiques possibles des composés phénoliques contenus dans le BECS, principalement la quercétine, la rutine, le 4-hydroxybenzoïque et l'acide chlorogénique peuvent être bénéfiques (**Patel et al., 2012**).

Les AGE et l'hémoglobine glyquée sont d'autres marqueurs du stress oxydatif et des dommages protéiques ultérieurs dans des conditions du diabète sucré. Une disponibilité excessive de glucose favorise une production accrue d'AGE (**Singh et al., 2013**). Les AGE, qui ont été considérés comme des biomarqueurs possibles pour le diagnostic des complications du diabète, sont générés par une réaction non enzymatique du glucose en utilisant des groupes amino sur les acides aminés protéiques au cours du diabète (**Xing et al., 2016**). L'hyperglycémie qui est une caractéristique clinique du diabète sucré mal contrôlé, entraîne une augmentation de la glycation des protéines entraînant une altération structurelle et fonctionnelle des protéines, y compris l'hémoglobine (**Lyons et Basu., 2012**). L'hémoglobine glycosylée est un excellent marqueur pour l'observation du statut glycémique ainsi que pour le contrôle ingénieux du glucose sanguin, au fur et à mesure de son évolution et de sa stabilité (**Kasetti et al., 2010**). Dans l'étude actuelle, le taux d'HbA1c était significativement élevé chez les rats diabétiques, ce qui est en accord avec les études précédentes (**Babukumar et al., 2017 ; Muruganathan et al., 2017**). Ce niveau est dû à l'hyperglycémie persistante, qui provoque la glycation de l'hémoglobine (**Khan et al., 2015**), la diminution significative de l'HbA1c chez les rats diabétiques après l'administration du BECS indique que la glycémie globale est contrôlée, ces résultats suggèrent que le BECS peut empêcher la formation de produits d'Amadori (**Chatterjea et Shinde, 2002**) qui peuvent conduire à l'oxydation des protéines et indiquent que la glycémie globale est contrôlée, ce qui doit être dû à l'amélioration de la sécrétion d'insuline comme indiqué ci-dessus. De plus, le BECS pourrait directement diminuer la formation d'hémoglobine glyquée, possiblement due à une activité antioxydante (**Pari et Saravanan, 2004**). Ces résultats s'ajoutent à ceux de **Huseini et al. (2013)** ont rapporté que les patients qui prenaient quotidiennement 1200 mg d'extraits de fruits de *C. spinosa* pendant 2 mois avaient un taux d'hémoglobine glycosylée significativement plus faible. Aussi les résultats de notre étude étaient en désaccord avec des études antérieures sur les taux d'HbA1c chez les rats ayant reçu une seule injection intrapéritonéale (IP) de STZ (30 mg/Kg), et qui ont

constaté que l'HbA1c n'avait pas changé chez les diabétiques traités par *C. spinosa* (Assadi *et al.*, 2021).

Le BECS a montré une amélioration significative des taux plasmatiques d'AGE par rapport à la metformine. Fait intéressant, l'effet anti-AGE du BECS pourrait être dû à sa richesse en polyphénols identifiés par analyse LC-MS/MS, en particulier les agents les plus abondants et les plus puissants rapportés ; l'acide chlorogénique et la rutine qui ont tous été signalés comme inhibant de manière significative la modification des protéines médiée par le glucose, les principaux inhibiteurs des AGE (Khan *et al.*, 2019 ; Spagnuolo *et al.*, 2021).

La dyslipidémie est une complication secondaire accompagnée d'un effet à long terme du diabète et elle a fait l'objet de nombreuses discussions au cours des dernières décennies (Mooradian, 2009). Au cours du diabète, les niveaux de cholestérol total (CT) et des triglycérides (TG) augmentent dans le sang, tandis que les niveaux de cholestérol HDL diminuent, entraînant des complications secondaires. Les niveaux de CT, TG et HDL sont importants dans l'évaluation du métabolisme lipidique dans le diabète (Yan *et al.*, 2015). Selon le résultat actuel, un profil lipidique altéré a été observé chez les rats rendus diabétique à la STZ par rapport au rats normaux (augmentation du cholestérol total, des triglycérides, de LDL et diminution des niveaux de HDL), tandis que le traitement par l'extrait de *C. spinosa* a pu corriger la dyslipidémie observée à un degré semblable à celui de la metformine. En plus, le traitement avec l'extrait n-butanolique de la plante pendant 28 jours a montré une diminution des taux de triglycérides et de cholestérol total et une amélioration du taux de HDL.

Les polyphénols sont des composés capables de réduire les niveaux de lipides dans le sang (Byun *et al.*, 2015), par conséquent, l'extrait *n*-BuOH pourrait être bénéfique dans l'amélioration du métabolisme lipidique, en raison de la teneur élevée en polyphénols et en flavonoïdes (Rad *et al.*, 2021). Des recherches antérieures ont indiqué que l'extrait de fruit de la plante *C. spinosa* avait une activité hypolipidémiant chez les rats diabétiques (Jalali *et al.*, 2016 ; Rahmani *et al.*, 2013). L'HECS (200 mg/Kg) a réduit les taux plasmatiques de TG et de cholestérol chez les rats diabétiques (Rahmani *et al.*, 2013). Eddouks *et al.* (2017) a également montré que l'administration d'extrait aqueux de fruits de *C. spinosa* (20 mg/Kg) diminuait significativement les taux plasmatiques de TG et de cholestérol chez les rats diabétiques après 2 semaines.

La streptozotocine (STZ) est une molécule instable qui s'accumule dans les cellules β pancréatiques et se décompose en radicaux carboxyliques ; ces derniers qui sont

hautement réactifs produisent des effets toxiques directs et indirects sur les cellules des îlots pancréatiques en augmentant la formation des ERO (Sadek *et al.*, 2017). Plusieurs études ont montré que la STZ pénètre dans les cellules β pancréatiques par le transporteur de la protéine de glucose 2 et perturbe l'équilibre entre les systèmes oxydants et antioxydants, endommageant les cellules β des îlots productrices d'insuline et induisant la progression du diabète (Samarghandian *et al.*, 2013 ; Strugała *et al.*, 2019). En outre, La réduction du système de défense antioxydant endogène peut favoriser la formation de radicaux libres, la dégradation du système de défense antioxydant dépendant du GSH, et finalement l'altération séquentielle de l'équilibre redox (Moskaug *et al.*, 2005). Selon certaines études, l'hyperglycémie peut provoquer une augmentation de la production des ERO, entraînant ensuite une diminution des niveaux d'antioxydants enzymatiques comme la SOD et la CAT, ce qui conduit à la production d'une activité de piégeage des radicaux libres, qui, est puis utilisée pour mesurer la peroxydation lipidique (Strugała *et al.*, 2019). Le système GSH fonctionne comme un facteur endogène qui protège contre le stress oxydatif, il est considéré une première ligne de défense contre les radicaux libres, et être en plus l'antioxydant endogène le plus puissant dans la plupart des cellules mammaliennes. En plus, le GSH-PX, qui catalyse la réduction du peroxyde d'hydrogène par deux molécules de glutathion, est un composant aussi important du système de défense antioxydant (Guan *et al.*, 2017).

Dans notre expérimentation, il y a eu une augmentation significative de la peroxydation lipidique dans le pancréas des rats traités à la STZ, ce qui est en accord avec les conclusions d'autres chercheurs (Bathina *et al.*, 2017). Le traitement avec le BECS à une dose journalière de 200 mg/Kg pendant 28 jours a réduit d'une façon significative le taux de MDA au niveau du pancréas des rats, ce qui suggère que *C.spinosa* présente une capacité du piégeage des radicaux libres. Cet effet est comparable à celui de l'antidiabétique oral utilisé.

Cependant, nous avons utilisé un système enzymatique pour évaluer la capacité de notre extrait *n*-BuOH à inhiber la génération des radicaux libres. Les résultats obtenus ont indiqué une réduction du taux du GSH et du GPx dans les tissus pancréatiques des rats diabétique, qui peut être due à l'utilisation accrue de ces deux derniers dans la lutte contre les radicaux libres trouvés en excès, alors que le traitement des rats diabétiques avec *C.spinosa* a rétabli les deux antioxydants à la quasi-normalité, ce qui indique que le stress oxydatif dans le tissu pancréatique a été réduit. Cela suggère que *C.spinosa* a la capacité d'activer la synthèse de GSH au point de surcompenser son épuisement qui résulte du

stress oxydatif induit par le diabète (**Assadi et al., 2021**). Cependant, peu d'études se sont intéressées à l'influence du diabète sucré sur l'activité de la GST, l'augmentation de l'activité de la GST due au traitement par la plante *C.spinosa* dans le tissu pancréatique suggère un taux accru de conversion des métabolites hautement réactifs en excès en conjugués moins toxiques et plus hydrophiles qui sont facilement excrétés du corps. En outre, l'augmentation de l'activité de la GPx observée chez les rats traités par *C.spinosa* peut aider les tissus à convertir l'excès de H₂O₂ en H₂O et à stopper efficacement la propagation des réactions oxydatives.

De plus, le taux de la SOD qui est l'un des plus importants antioxydants enzymatiques a été évalué au cours de notre étude. Plusieurs études ont rapporté une réduction de l'activité de la SOD dans le diabète expérimental (**Coskun et al., 2005; Meghana et al., 2007; Qi et al., 2008; Bagri et al., 2009**), qui pourrait être le résultat d'une suraccumulation de l'anion superoxyde dans la cellule (**Raha and Robinson, 2000**), et de son inactivation par le peroxyde d'hydrogène (**Ravi et al., 2004**) ou par la glycation de l'enzyme (**Meghana et al., 2007**). Ceci est similaire aux résultats obtenus dans notre expérimentation, qui ont signalé aussi une augmentation significative du taux de la SOD suite à un traitement de quatre semaines par la *C.spinosa* en raison de son potentiel antioxydant et insulino-stimulateur.

L'évaluation de l'activité enzymatique de la catalase a été également réalisée. Dans les conditions diabétiques, la production incontrôlée de peroxyde d'hydrogène due à l'auto-oxydation du glucose, à la glycation des protéines et à l'oxydation des lipides a entraîné une baisse marquée de l'activité de la catalase (**Rajasekaran et al., 2005; Farombi and Ige, 2007**). Cependant, plusieurs études ont montré que l'utilisation des extraits végétaux a marqué une restauration du taux de la catalase. Nos résultats confirment aussi cette hypothèse, car le traitement des rats diabétiques par le BECS a prouvé une élévation significative de l'activité de la catalase dans les cellules pancréatiques, cet extrait a peut-être pu stimuler les cellules restantes à sécréter plus d'insuline pour normaliser l'hyperglycémie induite à la streptozotocine.

L'hyperglycémie provoque l'activation de multiples voies métaboliques, ainsi qu'un stress oxydatif important, qui devient la cause majeure de la mort cellulaire, aboutissant à la neuropathie diabétique (**Balkrishna et al., 2022**), donc l'hyperglycémie joue un rôle important dans le développement de cette dernière par le biais de l'activation de nombreuses voies biochimiques qui comprennent l'activation de la voie du polyol (**Kishore**

et al., 2017), la glycosylation autooxydative (**Ighodaro, 2018**), les produits finaux avancés de glycation (AGE) et leurs récepteurs (**Kaur et al.**, 2017; **Kishore et al.**, 2016).

Le cerveau devient alors un organe plus sensible au stress oxydatif en raison de sa grande consommation d'oxygène, de sa richesse en acides gras polyinsaturés, et sa faible teneur en enzymes antioxydantes (**Srivastava and Shivanandappa, 2005**). La lactate déshydrogénase (LDH) est associée à des résultats cliniques indésirables de lésions cérébrales traumatiques. Les neurones dépendent largement du lactate en tant que substrat énergétique principal qui favorise également la neuroprotection (**Engstrom et al.**, 2006 ; **Jones et al.**, 2018). Dans notre étude, L'activité de la LDH chez le groupe des rats diabétiques a diminué comparativement aux rats sains, ce qui signifiait une perte de viabilité cellulaire. Nos résultats désaccordent les résultats de **Kumar et Bansal (2018)**, qui ont découvert que l'administration centrale de STZ altérait la cohérence neuronale, ce qui se traduisait par une augmentation de l'activité cérébrale de la LDH. Les fuites de LDH peuvent être dues à l'oxydation des acides gras polyinsaturés (AGPI) qui les rendent plus hydrophiles, ce qui modifie la structure de la membrane (**Sharma et al.**, 2005). Ces AGPI se trouvent en grande quantité au niveau cérébrale et favorisent la génération des ERO. L'augmentation du niveau des ERO entraîne une élévation du niveau de MDA qui entraîne la mort des neurones en oxydant divers composants du système cellulaire (**Al-Enazi, 2007**). En outre, le traitement des rats avec le BECS (200 mg/Kg) a réduit considérablement le niveau de MDA et rétabli l'activité de la LDH par rapport à l'antidiabétique utilisé; la metformine. L'augmentation de l'activité de la LDH cérébrale observée dans le groupe BECS+STZ peut manifester la résurrection de l'intégrité de la membrane neuronale. Le CK-BB présent dans les astrocytes joue un rôle dans le transfert d'énergie dans les tissus ayant des besoins énergétiques élevés tels que le cerveau (**Nehlig et Coles, 2007**). L'induction du diabète à la STZ a entraîné une réduction du taux plasmatique de CK-BB, alors que le groupe des rats traités par *C.spinosa* a montré une amélioration significative du taux plasmatique de CK-BB semblable à la réduction notée chez le groupe des rats traités par la metformine. Plusieurs recherches ont indiqué que les taux plasmatiques de CK-BB peuvent s'augmenter dans divers cas de lésions cérébrales et déclencher des événements neurodégénératifs qui entraînent des pertes neuronales (**Sharma et al.**, 2019 ; **Zhou et al.**, 2019).

La STZ est un analogue de N-méthyl-N-nitrosurée associé à l'hexose neurotoxique qui manifeste des symptômes semblables à des troubles neurodégénératifs progressifs associés à l'âge, comme la maladie d'Alzheimer (**Grieb, 2016**). La STZ est responsable du

dysfonctionnement de la mémoire en provoquant la désensibilisation des récepteurs de l'insuline dans les cellules neuronales (**Hoyer, 2004**). Toutefois, la STZ cause des dommages aux neurones en raison de niveaux accrus de stress oxydatif en raison d'une énergie et d'un métabolisme du glucose altérés et d'un niveau accru d'ERO dans le cerveau qui est responsable de la neurodégénérescence (**Prickaerts et al., 2000**). Bien que l'absorption de glucose par les transporteurs de glucose (GLUTs) dans le système nerveux central soit indépendante de la signalisation de l'insuline, une carence dans la production d'insuline et un manque de contrôle glycémique peuvent conduire à des troubles du métabolisme du glucose central et perturber la fonction cérébrale (**Lopez-Gambero et al., 2018**).

Le développement de l'encéphalopathie diabétique est corrélé avec une hyperglycémie persistante et la génération des ERO, qui causent l'angiopathie cérébrale ainsi que des anomalies neuronales (**Jing et al., 2013**). En outre, selon les résultats précédents, l'hyperglycémie peut causer une altération de la mémoire en induisant un dysfonctionnement cholinergique. Par conséquent, la prise en charge de l'activité de la cholinestérase en plus du contrôle de l'hyperglycémie est un facteur à considérer dans la neurodégénérescence induite par le diabète (**Ademiluyi et al., 2015**). Les manifestations de ces troubles chez les patients diabétiques comprennent des altérations de la neurotransmission et du déficit cognitif (**Duarte, 2015**). L'insuline exerce certains effets sur plusieurs neurotransmetteurs impliqués dans la formation de la mémoire, comme la lignée d'acétylcholine (**Ly et al., 2017**).

L'AChE et la BChE sont deux formes majeures de cholinestérase impliquées dans la pathogenèse des troubles neurologiques (**Kumar, 2015**). Dans la présente étude, aucun changement significatif dans les activités BChE et AChE n'a été noté, chez le groupe des rats traités par le BECS comparativement au groupe contrôle, bien que l'injection de la STZ aux rats induit une altération cérébrale marquée, comme en témoigne une élévation significative des niveaux d'AChE et de BChE. Le traitement des rats par le BECS (200 mg/Kg) ainsi que par la metformine (200 mg/Kg) quotidiennement pendant 28 jours a significativement inhibé les activités des deux enzymes précédentes au niveau du cerveau. Comme mentionné ci-dessus dans cette étude, la STZ présentait une carence en insuline, par conséquent, l'effet stimulant des actions de l'insuline sur la synthèse des protéines peut être perturbé, entraînant ainsi des troubles neurologiques associés à un dysfonctionnement cognitif (**Blurton-Jones et al., 2009**). La STZ provoque une augmentation significative de l'activité de l'AChE, signe d'un déclin du système cholinergique. Notre conclusion ci-

dessus confirme l'hypothèse de **Suzuki et Clayton (2000)**, mentionnant que les lésions cérébrales oxydatives sont une complication à long terme, elles pourraient donc conduire à une diminution de l'efficacité de la neurotransmission cholinergique, en raison de la réduction des niveaux d'acétylcholine dans la fente synaptique du cerveau des rats diabétiques. Une activité élevée de la cholinestérase conduit à la dégradation de l'ACh ; un neurotransmetteur qui améliore les fonctions cognitives et renforce les cellules nerveuses et glandulaires du cerveau (**Sonkusare et al., 2005**). L'inhibition de la cholinestérase observée présentée par le BECS ou la metformine pourrait empêcher la dégradation rapide de l'ACh, la rendant plus disponible pour la transmission de l'influx nerveux à travers les neurones. Une étude de **Mollica et al. (2019)** sur les activités inhibitrices *in vitro* de la cholinestérase a révélé que différents extraits de *Capparis* présentaient des effets inhibiteurs sur les deux enzymes AChE et BChE. L'activité observée pour l'extrait de *Capparis* pourrait être attribuée à sa forte teneur en rutine. Conformément à notre hypothèse, certains chercheurs ont rapporté que la rutine est un inhibiteur efficace de l'AChE et du BChE (**Ademosun et al., 2016; Nugroho et al., 2017**). À notre connaissance, les résultats scientifiques sur les effets inhibiteurs de la cholinestérase des *Capparis* sont pour le moment très limités (**Chaudhary et al., 2012**); par conséquent, la présente étude *in vivo* pourrait apporter une contribution précieuse dans ce domaine.

Des études antérieures avaient montré que la monoamines oxydases (MAO) est une source majeure de stress oxydatif et que son activité accrue provoque une carence en dopamine dans le cerveau (**Maker et al., 1981**). La dopamine est un neurotransmetteur important qui est largement distribué dans le système nerveux central et a été exploré comme biomarqueur dans les troubles métaboliques et neurologiques (**Morari et al., 1998**). Le glutamate est une cause majeure de mort des cellules neuronales dans un certain nombre de maladies neurodégénératives (**Lees, 1993**). Les changements dans les concentrations d'acide glutamique semblent être intéressant, car cet acide aminé joue un rôle de neurotransmetteur dans le cerveau et est impliqué dans la pathogenèse du cerveau (**Olney, 1982**). La libération excessive de glutamate et la stimulation neuronale glutamatergique qui en résulte contribuent à la production accrue des ERO, à l'excitotoxicité et aux dommages neuronaux (**Deshpande et al., 1998**).

Dans la présente étude, nous avons remarqué que l'injection des rats à la STZ réduisait le niveau de la dopamine, et augmentait le niveau de glutamate dans les tissus cérébraux, mais le traitement des rats par le BECS a exercé un effet contraire en entraînant une augmentation significative du taux de la dopamine et une diminution du glutamate, la

metformine a aussi marqué un effet similaire. L'inhibition accrue de l'activité de l'ACChE et du BChE, l'augmentation du taux de la dopamine et la diminution du glutamate après le traitement avec 200 mg/Kg du BECS pourraient être attribuées à sa grande richesse en composés phytochimiques, notamment les composés polyphénoliques, qui ont été considérés comme des inhibiteurs de la cholinestérase. Cela concorde avec le rapport de **Rahimi et al. (2020)** qui ont montré que la plante *C. spinosa* a une dose de 100 et 300 mg/Kg agit comme modulateur des paramètres comportementaux et biochimiques, **Mohebbali et al. (2018)** qui ont démontré les effets de *C. spinosa* sur les gènes liés à l'amyloïdogenèse chez le rat ayant reçu une injection du peptide β -amyloïde (A β), ainsi que **Turgut et al. (2015)** qui ont montré que l'utilisation de *C. spinosa* (100 et 200 mg/Kg) améliore les déficiences cognitives causées par le D-galactose.

Dans la présente étude, l'induction du diabète par la STZ a clairement réduit le niveau de GSH cérébral ainsi que les enzymes liées à ce dernier, en marquant la baisse des niveaux de GSH, GST, GR et GPx. Cependant, le traitement des rats avec 200 mg/Kg du BECS a restauré le niveau de GSH et les enzymes du système GSH vers des niveaux normaux. Cette efficacité était comparable à celle de la metformine dans la restauration de GPx, GST et GR.

Le glutathion qui est un tripeptide de glutamate, de cystéine et de glycine, présent dans les neurones à des concentrations de 0,2 à 2 mM (**Shaw, 2007**) est un antioxydant majeur et un régulateur redox dans les cellules (**Dickinson et Forman, 2002**). En plus de ses rôles essentiels dans l'homéostasie redox, il fonctionne comme cofacteur pour une multitude d'enzymes (**Sedlak et al., 2019**). **Person et al. (2006)** ont montré que la synthèse du glutathion était directement liée à l'absorption microgliale du glutamate et à la libération des métabolites du glutamate. **Barger et al. (2007)** ont montré que la déplétion des niveaux de glutathion due au stress oxydatif est liée à la libération de glutamate microglial. En plus de son soutien de la fonction antioxydante, le cycle glutathion sert également de réservoir de glutamate neural intracellulaire (**Koga et al., 2011**). Plusieurs études ont émis l'hypothèse que la synthèse du glutathion dépend directement du métabolisme du glucose, qui est en corrélation avec une diminution de la teneur en précurseur du glutamate du précurseur du glutathion (**Chassain et al., 2008 ; Gao et al., 2013**). Une autre explication possible de la perte de GSH du cerveau est que le glutamate affecte son niveau, où la concentration extracellulaire élevée de glutamate bloque l'absorption de cystéine (un acide aminé essentiel pour la synthèse de glutathion soutenue). Par conséquent, ce blocage finit par diminuer la concentration de glutathion (**Schubert et Piasecki, 2001**). Nos résultats ci-

dessus sur les niveaux de glutamate sous traitement à la STZ, confirment que l'épuisement des niveaux de glutathion sous stress oxydatif peut être lié à la libération de glutamate microglial. L'effet de restauration du BECS sur le glutathion et les enzymes métabolisant le glutathion pourrait être dû aux propriétés antioxydantes des composés contenus dans cet extrait qui améliorent l'élimination des ERO. La surexpression du système antioxydant glutathion cérébral chez les rats traités avec le BECS suggère que cette défense antioxydante potentielle peut être réactivée par des composés phénoliques végétaux comme les flavonoïdes (**Myhrstad et al., 2002**). Toutes les données recueillies au cours des dernières décennies sur la composition chimique de *C.spinosa* ont démontré que la plante est une riche source de composés bioactifs, principalement des composés polyphénoliques (**Vahid et al., 2017**). En outre, d'après les données de la LC-MS/MS, le BECS est riche en différents antioxydants phénoliques, dont les plus abondants sont l'acide chlorogénique et la rutine, avec une petite quantité des autres composés (quercétine, acide p-hydroxybenzoïque, acide caféique, acide gentsique, acide gallique, kaempferol et acide rosmarinique; qui ont des propriétés antioxydantes (**Sayahi et Shirali, 2017 ; Elmastas et al., 2018 ; Kalantari et al., 2018**)).

Bien que certaines études aient montré une diminution des enzymes antioxydantes (SOD et CAT) dans le cerveau des rats diabétiques (**Pari et Latha, 2004 ; Ramzani et al., 2021**), d'autres études ont rapporté une augmentation de l'activité de ces enzymes au cours du diabète (**Şahin et Gümüşlü, 2004 ; Celik et Erdogan, 2008 ; Mashayekhi et al., 2021**). D'après les résultats obtenus dans cette expérimentation, une diminution de l'activité des enzymes antioxydantes dans le cerveau a été constatée, ce qui peut être dû à l'activation ou à l'inhibition de l'enzyme par une production accrue de radicaux libres pendant le diabète. Cependant, aucun rapport antérieur n'a mesuré les enzymes antioxydantes dans le cerveau des rats rendus diabétiques à la STZ, et traités par la plante *C.spinosa*. Le traitement avec l'extrait de *C.spinosa* a provoqué une restauration significative des niveaux de SOD et de catalase dans le tissu cérébral des rats. Ces résultats sont en accord avec d'autres études démontrant la puissante activité antioxydante de *C.spinosa* au niveau des cellules hépatiques (**Assadi et al., 2021**). De plus, la nature antioxydante de l'extrait *n*-BuOH de *C.spinosa*, ainsi que la restauration des enzymes antioxydantes observés dans cette étude, peuvent être liés à une baisse des niveaux de peroxydation lipidique.

Au total, il existe des rapports controversés sur l'activité de GPx, SOD et CAT dans le cerveau des rats diabétiques. Ces différents résultats dépendent de plusieurs facteurs, y

compris l'expression différentielle des enzymes et les différences dans les modèles animaux et les techniques d'essai utilisées pour la détermination de l'activité du GPx, SOD et CAT. Cette différence peut être également attribuée à la dose de la streptozotocine utilisée. Dans la présente étude, nous avons utilisé une dose élevée de STZ (60 mg/Kg), contrairement aux d'autres études qui utilisaient une dose varie entre 30 à 55 mg/Kg.

Mamun-or-Rashid *et al.* (2014) ont rapporté que les agents bioactifs couramment utilisés pour gérer le diabète étaient les flavonoïdes, les tanins, les composés phénoliques et les alcaloïdes, il a été rapporté aussi que les alcaloïdes améliorent les activités de l'hexokinase et de la phosphofructokinase, entraînant le transport du glucose, la digestion et l'absorption des glucides (**Barky *et al.*, 2017**), tandis que les alcaloïdes et les saponines régénèrent les cellules β pancréatiques et la sécrétion d'insuline et inhibent leur dégradation. De plus, plusieurs études ont montré que les flavonoïdes et les composés phénoliques étaient impliqués dans la sécrétion d'insuline et le piégeage des radicaux libres (**Bharti *et al.*, 2018**). Par conséquent, la présence de terpènes, de composés phénoliques, de rutine, de quercétine, de tocophérols, de caroténoïdes et de vitamine C pourrait être responsable de l'activité antioxydante de la plante *C.spinosa*. Ces composés sont d'une grande importance en raison de leurs propriétés biologiques et le potentiel de liaison des radicaux libres (**Wu *et al.*, 2007 ; Dembinska-Kiec *et al.*, 2008 ; Gonzalez-Burgos et Gomez-Serranillos, 2012 ; Sayahi et Shirali, 2017 ; Grimalt *et al.*, 2019**). En outre, l'acide caféique, la coumarine, l'acide férulique et la lutéoline améliorent considérablement la capacité antioxydante des animaux diabétiques (au niveau du tissu hépatique, rénales et cardiaques) en abaissant les niveaux des ERO et de substances réactives d'acide thiobarbiturique, ainsi que l'augmentation des activités de superoxyde dismutase, catalase et glutathion peroxydase (**Jung *et al.*, 2006 ; Chao *et al.*, 2009 ; Rajarajeswari et Pari, 2011 ; Wang *et al.*, 2011 ; Wang *et al.*, 2012 ; Ramar *et al.*, 2012**).

Le diabète est toujours associé à une chaîne d'événements moléculaires, y compris l'inflammation qui s'est avérée être un facteur clé de cette maladie (**Mokhtari *et al.*, 2011**). Les conditions hyperglycémiques chroniques pourraient affecter le métabolisme neuronal des astrocytes et de la microglie, dont il a été démontré qu'ils élaborent des cytokines inflammatoires dans le cerveau (**Griffiths *et al.*, 2009**). Les effets diabétogènes et cytotoxiques de la STZ sont associés à la production de radicaux libres causant des dommages oxydatifs aux cellules et également couplés à la propagation de l'auto-immunité liée au diabète (**Pari et Sankaranarayanan, 2009 ; Hector *et al.*, 2011**). Une réactivité

élevée des ERO exerce des effets toxiques sur les cellules pancréatiques et est liée à la production de médiateurs inflammatoires (Marimoutou *et al.*, 2015). Il existe de nombreuses preuves que l'hyperglycémie induit l'activation de la microglie et des astrocytes, ce qui est corrélé à une expression accrue de marqueurs de stress inflammatoires et oxydatifs tels que le l'iNOS (oxyde nitrique synthase induite), TNF- α , les ERO et d'autres cytokines pro-inflammatoires (Bahadar *et al.*, 2021).

Le TNF- α est l'un des premiers biomarqueurs proinflammatoires associés à la pathogénèse de la résistance à l'insuline et aux anomalies du glucose liées au diabète de type II et joue un rôle important dans la production d'ERO (Imai *et al.*, 2013). L'IL-6 est également produit dans les microglies, les astrocytes et les neurones, et il joue un rôle central dans diverses fonctions du système nerveux central telles que l'induction et la modulation de la réactivation astrocytaire, l'inflammation pathologique et la neuroprotection (Akash *et al.*, 2018). Pour examiner si le traitement avec le BECS exerçait un effet anti-inflammatoire, nous avons analysé l'abondance relative de certaines cytokines pro-inflammatoires telles que l'IL-6 et le TNF- α . En ce qui concerne les niveaux d'IL-6 et de TNF- α , il a été constaté que le groupe des rats diabétiques avait un niveau significativement élevé par rapport aux rats normaux. Entre-temps, le traitement des rats diabétiques avec le BECS ainsi que l'utilisation de la metformine a réduit de manière significative les niveaux d'IL-6 et de TNF- α . Nos résultats corroborent ceux mentionnés, des augmentations d'IL-6, et de TNF- α ont été rapportées dans le diabète de type II (Akash *et al.*, 2013 ; Cruz *et al.*, 2013) En plus des mécanismes mentionnés ci-dessus, un autre mécanisme important par lequel les cellules β sont partiellement détruites est la formation de radicaux libres d'oxyde nitrique (Hamby *et al.*, 2008).

De nombreuses études ont montré que la molécule NO contribue aux dommages à l'ADN induits à la STZ et provoque une production excédentaire de NO par l'activation pathologique d'iNOS qui entraîne une neurodégénérescence et une perte de mémoire (Szkudelski, 2001). Le traitement des rats diabétiques avec le BECS ou à la metformine a considérablement réduit les taux de NO. Néanmoins, des niveaux excessifs de nitrite dans le cerveau conduisent à une neurodégénérescence (Shen et Pervaiz, 2006) et il potentialise également la production de NO dans les astrocytes (Hamby *et al.*, 2008). Fait intéressant, nos résultats ont montré que les groupes recevant la dose de 200 mg/Kg du BECS avaient des niveaux inférieurs de cytokines inflammatoires (IL-6 et TNF- α) dans tout le cerveau. À cet égard, la plante *C.spinosa* était utilisée comme médicament thérapeutique traditionnel pour soulager divers maux (Romeo *et al.*, 2007 ; Aliyazicioglu *et al.*, 2013) comme les

rhumatismes, l'arthrite rhumatoïde et la goutte (**Zhang et Ma, 2018**). Ces résultats concordent avec d'autres études liées à l'effet anti-inflammatoire de différents types de *C.spinosa*, **Moutia et al. (2016)** qui ont montré que la partie aérienne de cette plante (100 et 300 mg/Kg) régule positivement l'expression génique d'une cytokine anti-inflammatoire interleukine (IL)-4, en plus de **Mohebbali et al. (2018)** qui ont révélé que *C.spinosa* a régulé les gènes impliqués dans l'inflammation. Dans la présente étude, l'effet anti-inflammatoire du BECS pourrait être dû à sa richesse en polyphénols identifiés par l'analyse LC-MS/MS, les agents les plus abondants et les plus puissants signalés étaient l'acide chlorogénique et la rutine, qui sont les principaux agents anti-inflammatoires (**Lee et al., 2013**). Les interactions synergiques possibles de tous les composés phénoliques contenus ont montré des propriétés anti-inflammatoires.

L'histopathologie du pancréas de rats rendus diabétiques à la STZ a montré la diminution de la taille des îlots de Langerhans, l'expansion de la nécrose suivie par l'induction de l'atrophie et de la fibrose et la diminution de la taille des cellules β (**Ren, 2019**). Selon **Deeds et al. (2011)**, la STZ provoque la mort éventuelle des cellules β en provoquant une alkylation de l'ADN. L'histopathologie des rats traités par l'extrait de *C.spinosa* a montré la modification de la taille des îlots de Langerhans, l'augmentation de la taille des cellules β et la stimulation supplémentaire de la sécrétion d'insuline en protégeant les cellules β de l'activité des radicaux libres par le biais d'enzymes antioxydantes, cet effet histopathologique est presque similaire à celui de la metformine. Les présents résultats concordent avec d'autres études selon lesquelles l'administration de l'extrait aqueux de *Capparis decidua* a protégé le pancréas contre les dommages oxydatifs et amélioré les dommages histologiques (**Ramzani et al., 2021**).

En outre, les résultats de l'analyse histopathologique du tissu cérébral ont montré que l'induction du diabète à la STZ provoque une désorganisation de la couche cellulaire. Dans cette étude, il y avait une différence significative entre les tissus cérébraux des diabétiques et des diabétiques traités avec la plante *C. spinosa*. Cette découverte montre qu'elle peut être destinée à protéger le cerveau contre les fluctuations du glucose et est conforme à la littérature. D'autre étude selon laquelle l'analyse histopathologique a montré que le prétraitement par l'extrait hydro-alcoolique de *Centella asiatica* (10 et 20 $\mu\text{g/mL}$) inverse considérablement les dommages dans l'analyse histopathologique, qui était significative par rapport au groupe des rats rendus diabétiques à la STZ (**Verma et al., 2021**).



***Conclusion et
perspectives***

Conclusion et perspectives

Notre attention s'est portée sur l'effet antidiabétique et neuroprotecteur de l'extrait *n*-BuOH de la plante *Capparis spinosa* chez des rats rendu diabétiques à la streptozotocine.

De nombreuses études *in vivo* et *in vitro* sont menées à travers le monde afin de pouvoir évaluer les applications cliniques et pharmacologiques de *C. spinosa* dans le but de développer un nouveau médicament naturel aux effets moins toxiques et indésirables. En plus de cela, d'autres études sont menées pour caractériser et quantifier les différentes molécules bioactives présentes dans la plante en utilisant différentes techniques, telles que LC/MS que nous avons utilisé dans notre étude et qui a montré que l'extrait *n*-butanolique est riche en antioxydant tels que les flavonoïdes et les acides phénoliques avec la présence de l'acide chlorogénique et de rutine en quantités considérablement élevées.

Lors de ce travail, l'extrait *n*-BuOH de *Capparis spinosa*, obtenu après une extraction par le *n*-butanol, a été mis à un criblage phytochimique qualitatif révélant la présence de nombreuses métabolites bioactives telles que : les alcaloïdes, les saponines, les terpénoïdes, les composés phénoliques, les anthocyanes, les flavonoïdes, les glycosides, les tanins et les stérols.

Les résultats concernant l'activité antioxydante de l'extrait *n*-BuOH montrent une forte activité antioxydante en piégeant plusieurs radicaux libres, cela est dû au contenu élevé en polyphénols et flavonoïdes présents dans la plante qui peuvent être responsables des effets biologiques trouvés de cette plante. De plus un effet inhibiteur prometteur sur l' α -glucosidase et l' α -amylase a été démontré par l'extrait étudié.

L'étude des activités biologiques *in vivo* sur des rats diabétiques de type Wistar a prouvé que l'extrait *n*-BuOH de *Capparis spinosa* a des effets :

- Antidiabétique, par abaissement de la glycémie, une réduction du taux de l'hémoglobine glyquée (HbA1c), augmentation du taux de l'insuline plasmatique et cérébrale, ainsi qu'une amélioration du profil lipidique.
- anti-inflammatoire et neuroprotecteur, en atténuant les marqueurs de dysfonctionnement cérébral (dopamine, L-glutamate, activités AChE, BChE et LDH), et également ajuster les niveaux des marqueurs neuroinflammatoires tels que le TNF- α , IL-6 et le NO.

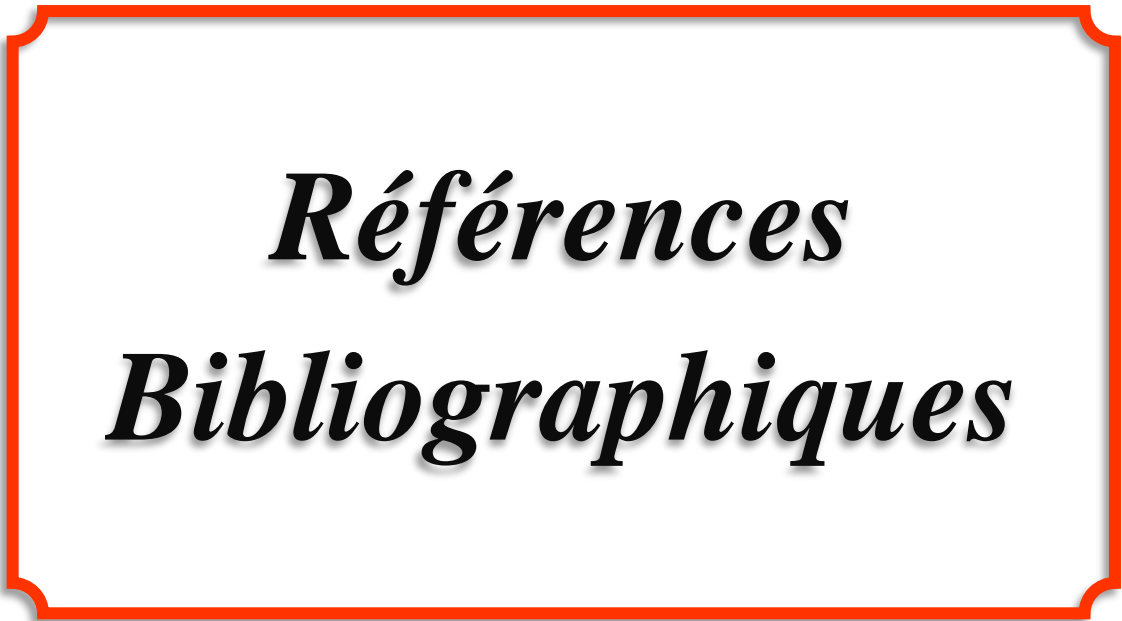
- Antioxydant, par empêchement des dommages pancréatiques et cérébraux induits à la streptozotocine en rétablissant les défenses antioxydantes des (SOD, CAT et système glutathion) et en réduisant le taux du MDA.

L'extrait *n*-BuOH de *C.spinosa* a également réduit le pourcentage des changements histomorphologiques provoqués à la streptozotocine.

Nous concluons que l'extrait *n*-BuOH de la plante *C. spinosa* peut jouer un rôle préventif dans le développement du diabète sucré par l'amélioration des métabolismes glucidique et lipidique, ainsi que l'effet neuroprotecteur de cette plante pourrait être dû à sa diversité phytochimique et semble être lié à la richesse en polyphénols confirmée par l'analyse LC/ MS.

Malgré l'importance de notre travail, des études complémentaires approfondies et plus poussées seront nécessaires :

- Envisager et mieux comprendre les molécules bioactives de la plante dans chacune des activités testés pour les isoler et les caractériser, et les mécanismes par lesquels ces molécules agissent en étudiant leurs pharmacocinétiques.
- Clarifier l'effet anti-inflammatoire de cette plante en ciblant l'interaction des molécules isolées avec les voies de signalisation de l'inflammation et la mort cellulaire.
- Ce travail laisse aussi entrevoir d'autres perspectives qui pourraient servir de modèle pour la fabrication d'un complément alimentaire ou d'un nouveau agent pharmacologique.



Références
Bibliographiques

Références bibliographiques

Adawia, K., Yaser, A. M., & Molham, A. N. (2020). Comparison between Total Phenolic and Flavonoid Contents and Antidiabetic Activities of Different Parts of *Capparis spinosa* L. growing in Aleppo, Syria. *International journal of pharmacognosy and phytochemical research*, 12(3), 143-152.

Ademiluyi, A. O., Oboh, G., Boligon, A. A., & Athayde, M. L. (2015). Dietary supplementation with fermented legumes modulate hyperglycemia and acetylcholinesterase activities in Streptozotocin-induced diabetes. *Pathophysiology*, 22(4), 195-201.

Ademosun, A. O., Oboh, G., Bello, F., & Ayeni, P. O. (2016). Antioxidative properties and effect of quercetin and its glycosylated form (Rutin) on acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase activities. *Journal of evidence-based complementary & alternative medicine*, 21(4), NP11-NP17.

Adisakwattana, S., Lerdsuwankij, O., Poputtachai, U., Minipun, A., & Suparpprom, C. (2011). Inhibitory activity of cinnamon bark species and their combination effect with acarbose against intestinal α -glucosidase and pancreatic α -amylase. *Plant foods for human nutrition*, 66(2), 143-148.

Aebi, H. (1984). [13] Catalase in vitro. In *Methods in enzymology*, 105:121-126. Academic press.

AG, H. B. B. (1994). Pharmacology of α - glucosidase inhibition. *European journal of clinical investigation*, 24(S3), 3-10.

Aghel, N., Rashidi, I., & Mombeini, A. (2007). Hepatoprotective activity of *Capparis spinosa* root bark against CCl₄ induced hepatic damage in mice. *Iranian journal of pharmaceutical research*, 6(4): 285- 290.

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*, 1-12.

Akash, M. S. H., Rehman, K., & Chen, S. (2013). Role of inflammatory mechanisms in pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. *Journal of cellular biochemistry*, 114(3), 525-531.

Akash, M. S. H., Rehman, K., & Liaqat, A. (2018). Tumor necrosis factor- α : role in development of insulin resistance and pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. *Journal of cellular biochemistry*, 119(1), 105-110.

- Akbari, R., Javaniyan, M., Fahimi, A., & Sadeghi, M. (2017). Renal function in patients with diabetic foot infection; does antibiotherapy affect it?. *Journal of renal injury prevention*, 6(2), 117.
- Aksay, O., Selli, S., & Kelebek, H. (2021). LC- DAD- ESI- MS/MS-based assessment of the bioactive compounds in fresh and fermented caper (*Capparis spinosa*) buds and berries. *Food Chemistry*, 337, 127959.
- Alarifi, S., Ali, H., Alkahtani, S., & Alessia, M. S. (2017). Regulation of apoptosis through bcl-2/bax proteins expression and DNA damage by nano-sized gadolinium oxide. *International journal of nanomedicine*, 12, 4541.
- Alemán-González-Duhart, D., Tamay-Cach, F., Álvarez-Almazán, S., & Mendieta-Wejebe, J. E. (2016). Current advances in the biochemical and physiological aspects of the treatment of type 2 diabetes mellitus with thiazolidinediones. *PPAR research*, 2016.
- Al-Enazi, M. M. (2007). Effect of thymoquinone on malformations and oxidative stress-induced diabetic mice. *Pakistan journal of biological sciences: PJBS*, 10(18), 3115-3119.
- Alipour, F., Nabigol, A., & Nabizadeh, E. (2021). Variation in volatile organic compounds in fruits of Iranian *Capparis spinosa* L. accessions. *Saudi journal of biological sciences*, 28(8), 4664-4667.
- Aliyazicioglu, R., Eyupoglu, O. E., Sahin, H., Yildiz, O., & Baltas, N. (2013). Phenolic components, antioxidant activity, and mineral analysis of *Capparis spinosa* L. *African journal of biotechnology*, 12(47), 6643-6649.
- Aliyazicioglu, R., Sahin, H., Erturk, O., Ulusoy, E., & Kolayli, S. (2013). Properties of phenolic composition and biological activity of propolis from Turkey. *International journal of food properties*, 16(2), 277-287.
- Alkhaibari, A. M., & Alanazi, A. D. (2022). Chemical Composition and Insecticidal, Antiplasmodial, and Anti-Leishmanial Activity of *Capparis spinosa* Essential Oil and Its Main Constituents. *Evidence-based complementary and alternative medicine*, 2022.
- Al-Shabib, N. A., Khan, J. M., Malik, A., Sen, P., Alsenaidy, M. A., Husain, F. M., ... & Shahzad, S. A. (2019). A quercetin-based flavanoid (rutin) reverses amyloid fibrillation in β -lactoglobulin at pH 2.0 and 358 K. *Spectrochimica acta part A: Molecular and biomolecular spectroscopy*, 214, 40-48.
- Ameen, M., Bobaker, R., & Ahleis, H. (2021). The Pancreas.
- American Diabetes Association. (2012). Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*, 35(1): 64-71.

American Diabetes Association. (2018). 2. Classification and diagnosis of diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes—2018. *Diabetes Care*, 41(1) :13-27.

Anand, P., Murali, K. Y., Tandon, V., Murthy, P. S., & Chandra, R. (2010). Insulinotropic effect of cinnamaldehyde on transcriptional regulation of pyruvate kinase, phosphoenolpyruvate carboxykinase, and GLUT4 translocation in experimental diabetic rats. *Chemico-biological interactions*, 186(1), 72-81.

Asadipooya, K., & Uy, E. M. (2019). Advanced glycation end products (AGEs), receptor for AGEs, diabetes, and bone: review of the literature. *Journal of the endocrine society*, 3(10), 1799-1818.

Asadi-Samani, M., Moradi, M. T., Mahmoodnia, L., Alaei, S., Asadi-Samani, F., & Luther, T. (2017). Traditional uses of medicinal plants to prevent and treat diabetes; an updated review of ethnobotanical studies in Iran. *Journal of nephropathology*, 6(3), 118.

Asciutto, G., Dias, N. V., Edsfeldt, A., Nitulescu, M., Persson, A., Nilsson, M., ... & Gonçalves, I. (2015). Low elastin content of carotid plaques is associated with increased risk of ipsilateral stroke. *PloS one*, 10(3), e0121086.

Assadi, S., Shafiee, S. M., Erfani, M., & Akmali, M. (2021). Antioxidative and antidiabetic effects of *Capparis spinosa* fruit extract on high-fat diet and low-dose streptozotocin-induced type 2 diabetic rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 138, 111391.

Aswathy, T. S., & Jessykutty, P. C. (2017). Anti-diabetic phyto resources: a review. *Journal Of medicinal plants studies*, 5(3), 165-169.

Atanasov, A. G., Waltenberger, B., Pferschy-Wenzig, E. M., Linder, T., Wawrosch, C., Uhrin, P., ... & Stuppner, H. (2015). Discovery and resupply of pharmacologically active plant-derived natural products: A review. *Biotechnology advances*, 33(8), 1582-1614.

Atlas du diabete. (2019). 9ème édition, Société Francophone du Diabète. 2019. <https://diabetesatlas.org/fr/>.

Awad, N. E., Seida, A. A., El-Khayat, Z., Shaffie, N., & Abd El-Aziz, A. M. (2012). Hypoglycemic activity of Artemisia herba-alba (Asso.) used in Egyptian traditional medicine as hypoglycemic remedy. *Journal of applied pharmaceutical science*, (Issue), 30-39.

Azad, M., Mohammadi, P., Bohlooli, S., & Mostafalou, S. (2020). Protective Effect of *Capparis spinosa* Hydroalcoholic Extract on the Integrity of Rat Pancreatic Islets. *Journal of advances in medical and biomedical research*, 28(129), 204-211.

- Babukumar, S., Vinothkumar, V., Sankaranarayanan, C., & Srinivasan, S. (2017). Geraniol, a natural monoterpene, ameliorates hyperglycemia by attenuating the key enzymes of carbohydrate metabolism in streptozotocin-induced diabetic rats. *Pharmaceutical biology*, 55(1), 1442-1449.
- Badawi, A., Klip, A., Haddad, P., Cole, D. E., Bailo, B. G., El-Soheily, A., & Karmali, M. (2010). Type 2 diabetes mellitus and inflammation: Prospects for biomarkers of risk and nutritional intervention. *Diabetes, Metabolic syndrome and obesity*, 3, 173.
- Bae, H., Jeong, C. H., Cheng, W. N., Hong, K., Seo, H. G., & Han, S. G. (2017). Oxidative stress-induced inflammatory responses and effects of N-acetylcysteine in bovine mammary alveolar cells. *Journal of dairy research*, 84(4), 418-425.
- Baek, G. H., Jang, Y. S., Jeong, S. I., Cha, J., Joo, M., Shin, S. W., ... & Jeong, H. S. (2012). *Rehmannia glutinosa* suppresses inflammatory responses elicited by advanced glycation end products. *Inflammation*, 35(4), 1232-1241.
- Bagri, P., Ali, M., Aeri, V., Bhowmik, M., & Sultana, S. (2009). Antidiabetic effect of *Punica granatum* flowers: effect on hyperlipidemia, pancreatic cells lipid peroxidation and antioxidant enzymes in experimental diabetes. *Food and chemical toxicology*, 47(1), 50-54.
- Bahadar, G. A., & Shah, Z. A. (2021). Intracerebral Hemorrhage and Diabetes Mellitus: Blood-Brain Barrier Disruption, Pathophysiology and Cognitive Impairments. *CNS & Neurological Disorders-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-CNS & Neurological Disorders)*, 20(4), 312-326.
- Bailey, C. J. (2017). Metformin: historical overview. *Diabetologia*, 60(9), 1566-1576.
- Bakr, R. O., Bishbishy, E., & Helmy, M. (2016). Profile of bioactive compounds of *Capparis spinosa* var. *aegyptiaca* growing in Egypt. *Revista brasileira de farmacognosia*, 26, 514-520.
- Balkrishna, A., Pathak, R., Bhatt, S., & Arya, V. (2022). Molecular Insights of Plant Phytochemicals Against Diabetic Neuropathy. *Current diabetes reviews*.
- Barger, S. W., Goodwin, M. E., Porter, M. M., & Beggs, M. L. (2007). Glutamate release from activated microglia requires the oxidative burst and lipid peroxidation. *Journal of neurochemistry*, 101(5), 1205-1213.
- Barky, A. E. H., Alm-Eldeen, S. A., Hafez, A. A. E., Mohamed, Y. A., & Mostafa, T. (2017). Saponins and their potential role in diabetes mellitus, *Diabetes management*, 7(1), 148-158.

Barrajón-Catalán, E., Fernández-Arroyo, S., Saura, D., Guillén, E., Fernández-Gutiérrez, A., Segura-Carretero, A., & Micol, V. (2010). Cistaceae aqueous extracts containing ellagitannins show antioxidant and antimicrobial capacity, and cytotoxic activity against human cancer cells. *Food and chemical toxicology*, 48(8-9), 2273-2282.

Bathina, S., Srinivas, N., & Das, U. N. (2017). Streptozotocin produces oxidative stress, inflammation and decreases BDNF concentrations to induce apoptosis of RIN5F cells and type 2 diabetes mellitus in Wistar rats. *Biochemical and biophysical research communications*, 486(2), 406-413.

Batkulwar, K. B., Bansode, S. B., Patil, G. V., Godbole, R. K., Kazi, R. S., Chinnathambi, S., ... & Kulkarni, M. J. (2015). Investigation of phosphoproteome in RAGE signaling. *Proteomics*, 15(2-3), 245-259.

Batkulwar, K., Godbole, R., Banarjee, R., Kassar, O., Williams, R. J., & Kulkarni, M. J. (2018). Advanced glycation end products modulate amyloidogenic APP processing and tau phosphorylation: a mechanistic link between glycation and the development of Alzheimer's disease. *ACS chemical neuroscience*, 9(5), 988-1000.

Bellakhdar, J. (2006). Plantes médicinales au Maghreb et soins de base. *Précis de phytothérapie moderne. Editions le Fennec, Casablanca, Maroc. 386p.*

Belmouhoub, M., Tacherfiout, M., Boukhalfa, F., Khodja, Y. K., & Bachir-Bey, M. (2022). Traditional medicinal plants used in the treatment of diabetes: Ethnobotanical and ethnopharmacological studies and mechanisms of action. *International journal of plant based pharmaceuticals*, 2(2), 145-154.

Bentabet, N., Boucherit-Otmani, Z., & Boucherit, K. (2014). Composition chimique et activité antioxydante d'extraits organiques des racines de *Fredolia aretioides* de la région de Béchar en Algérie. *Phytothérapie*, 12(6), 364-371.

BENZIDANE, N., CHAREF, N., KRACHE, I., BAGHIANI, A., & ARRAR, L. (2013). In vitro bronchorelaxant effects of *Capparis spinosa* aqueous extracts on rat trachea. *Journal of applied pharmaceutical science*, 3(9), 085-088.

Beretta, G., Granata, P., Ferrero, M., Orioli, M., & Facino, R. M. (2005). Standardization of antioxidant properties of honey by a combination of spectrophotometric/fluorimetric assays and chemometrics. *Analytica chimica acta*, 533(2), 185-191.

Beriault, D., Shi, Y., & Werstuck, G. (2013). Investigating the role of the hexosamine biosynthesis pathway in diabetic atherosclerosis. *Canadian journal of cardiology*, 29(10), S254.

- Berkels, R., Purol-Schnabel, S., & Roesen, R. (2004). Measurement of nitric oxide by reconversion of nitrate/nitrite to NO. In *nitric oxide protocols* (pp. 1-8). Humana Press.
- Bessaguet, F., & Desmoulière, A. (2021). Le pancréas. *Actualités pharmaceutiques*, 60(607), 55-59.
- Bharti, S. K., Krishnan, S., Kumar, A., & Kumar, A. (2018). Antidiabetic phytoconstituents and their mode of action on metabolic pathways. *Therapeutic advances in endocrinology and metabolism*, 9(3), 81-100.
- Bishnoi, M., Bosgraaf, C. A., Abooj, U., Zhong, L., & Premkumar, L. S. (2011). Streptozotocin-induced early thermal hyperalgesia is independent of glycemic state of rats: role of transient receptor potential vanilloid 1 (TRPV1) and inflammatory mediators. *Molecular pain*, 7, 1744-8069.
- Blurton-Jones, M., Kitazawa, M., Martinez-Coria, H., Castello, N. A., Müller, F. J., Loring, J. F., ... & LaFerla, F. M. (2009). Neural stem cells improve cognition via BDNF in a transgenic model of Alzheimer disease. *Proceedings of the national academy of sciences*, 106(32), 13594-13599.
- Boga, C., Forlani, L., Calienni, R., Hindley, T., Hochkoeppler, A., Tozzi, S., & Zanna, N. (2011). On the antibacterial activity of roots of *Capparis spinosa* L. *Natural product research*, 25(4), 417-421.
- Boizot, N., & Charpentier, J. P. (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. *Cahier des Techniques de l'INRA*, 79-82.
- Bonina, F., Puglia, C., Ventura, D., Aquino, R., Tortora, S., Sacchi, A., ... & de Capariis, P. (2002). In vitro antioxidant and in vivo photoprotective effects of a lyophilized extract of *Capparis spinosa* L. buds. *Journal of cosmetic science*, 53(6), 321-336.
- Bonnefont-Rousselot, D., Beaudeau, J. L., Thérond, P., Peynet, J., Legrand, A., & Delattre, J. (2004). Diabète sucré, stress oxydant et produits de glycation avancée. In *Annales pharmaceutiques françaises*, 62(3), 147-157.
- Bouaziz, A., Abdalla, S., Baghiani, A., & Charef, N. (2015). Phytochemical analysis, hypotensive effect and antioxidant properties of *Myrtus communis* L. growing in Algeria. *Asian Pacific journal of tropical biomedicine*, 5(1), 19-28.
- Boudries, H., Nabet, N., Chougui, N., Souagui, S., Loupassaki, S., Madani, K., & Dimitrov, K. (2019). Optimization of ultrasound-assisted extraction of antioxidant phenolics from *Capparis spinosa* flower buds and LC-MS analysis. *Journal of food measurement and characterization*, 13(3), 2241-2252.

Bourgaud, F., Gravot, A., Milesi, S., & Gontier, E. (2001). Production of plant secondary metabolites: a historical perspective. *Plant science*, 161(5), 839-851.

Bowman, P., McDonald, T. J., Shields, B. M., Knight, B. A., & Hattersley, A. T. (2012). Validation of a single- sample urinary C- peptide creatinine ratio as a reproducible alternative to serum C- peptide in patients with Type 2 diabetes. *Diabetic medicine*, 29(1), 90-93.

Brahimaj, A., Ligthart, S., Ghanbari, M., Ikram, M. A., Hofman, A., Franco, O. H., ... & Dehghan, A. (2017). Novel inflammatory markers for incident pre-diabetes and type 2 diabetes: the Rotterdam Study. *European journal of epidemiology*, 32(3), 217-226.

Brunton, L. L., Lazo, J. S., & Parker, K. L. (2006). The pharmacological basis of therapeutics. *Goodman, Gilmans, editors*, 11.

Brussee, V., Cunningham, F. A., & Zochodne, D. W. (2004). Direct insulin signaling of neurons reverses diabetic neuropathy. *Diabetes*, 53(7), 1824-1830.

Budin, S. B., Ismail, H., & Chong, P. L. (2013). Psidium guajava fruit peel extract reduces oxidative stress of pancreas in streptozotocin-induced diabetic rats. *Sains Malaysiana*, 42(6), 707-713.

Byun, A. R., Chun, H., Lee, J., Lee, S. W., Lee, H. S., & Shim, K. W. (2015). Effects of a dietary supplement with barley sprout extract on blood cholesterol metabolism. *Evidence-based complementary and alternative medicine*, 2015.

Cagliero, E. (2016). Diabetes and long-term complications. *Jameson JL, de Kretser DM, Marshall JC, De Groot LJ. Endocrinology: Adult and pediatric (7th Ed.). Philadelphia: WB Saunders*, 898-906.

Çalış, İ., Kuruüzüm, A., & Rüedi, P. (1999). 1H-Indole-3 acetonitrile glycosides from *Capparis spinosa* fruits. *Phytochemistry*, 50(7), 1205-1208.

Callaghan, B. C., Little, A. A., Feldman, E. L., & Hughes, R. A. (2012). Enhanced glucose control for preventing and treating diabetic neuropathy. *Cochrane database of systematic reviews*, (6).

Can, Z., Yildiz, O., Sahin, H., Turumtay, E. A., Silici, S., & Kolayli, S. (2015). An investigation of Turkish honeys: their physico-chemical properties, antioxidant capacities and phenolic profiles. *Food chemistry*, 180, 133-141.

Cao, Y. L., Li, X., & Zheng, M. (2010). *Capparis spinosa* protects against oxidative stress in systemic sclerosis dermal fibroblasts. *Archives of dermatological research*, 302(5), 349-355.

- Casqueiro, J., Casqueiro, J., & Alves, C. (2012). Infections in patients with diabetes mellitus: A review of pathogenesis. *Indian journal of endocrinology and metabolism*, 16(11), 27-36.
- Catullo, G., Montmollin, B. D., & Radford, E. A. (2011). Zones importantes pour les plantes en Méditerranée méridionale et orientale: sites prioritaires pour la conservation.
- Celik, S., & Erdogan, S. (2008). Caffeic acid phenethyl ester (CAPE) protects brain against oxidative stress and inflammation induced by diabetes in rats. *Molecular and cellular biochemistry*, 312(1), 39-46.
- Chahar, M. K., Sharma, N., Dobhal, M. P., & Joshi, Y. C. (2011). Flavonoids: A versatile source of anticancer drugs. *Pharmacognosy reviews*, 5(9), 1.
- Chang, C. I., Tseng, H. I., Liao, Y. W., Yen, C. H., Chen, T. M., Lin, C. C., & Cheng, H. L. (2011). In vivo and in vitro studies to identify the hypoglycaemic constituents of *Momordica charantia* wild variant WB24. *Food chemistry*, 125(2), 521-528.
- Chang, C. L., Lin, Y., Bartolome, A. P., Chen, Y. C., Chiu, S. C., & Yang, W. C. (2013). Herbal therapies for type 2 diabetes mellitus: chemistry, biology, and potential application of selected plants and compounds. *Evidence-based complementary and alternative medicine*, 2013.
- Chao, P. C., Hsu, C. C., & Yin, M. C. (2009). Anti-inflammatory and anti-coagulatory activities of caffeic acid and ellagic acid in cardiac tissue of diabetic mice. *Nutrition & metabolism*, 6(1), 1-8.
- Chaouche, T. M., Haddouchi, F., Ksouri, R., & Atik-Bekkara, F. (2014). Evaluation of antioxidant activity of hydromethanolic extracts of some medicinal species from South Algeria. *Journal of the Chinese medical association*, 77(6), 302-307.
- Chassain, C., Bielicki, G., Durand, E., Lolignier, S., Essafi, F., Traoré, A., & Durif, F. (2008). Metabolic changes detected by proton magnetic resonance spectroscopy in vivo and in vitro in a murin model of Parkinson's disease, the MPTP- intoxicated mouse. *Journal of neurochemistry*, 105(3), 874-882.
- Chatterjea, M. N., & Shinde, R. (2002). *Textbook of medical biochemistry*. New Delhi: Jaypee Brothers.
- Chattopadhyay, R. R. (1999). A comparative evaluation of some blood sugar lowering agents of plant origin. *Journal of ethnopharmacology*, 67(3), 367-372.
- Chaudhary, A. K., Solanki, R., Singh, V., & Singh, U. K. (2012). Inhibitory effect of *Capparis zeylanica* Linn. on acetylcholinesterase activity and attenuation of scopolamine-induced amnesia. *CELLMED*, 2(2), 19-1.

Chedraoui, S., Abi-Rizk, A., El-Beyrouthy, M., Chalak, L., Ouaini, N., & Rajjou, L. (2017). *Capparis spinosa* L. in a systematic review: A xerophilous species of multi values and promising potentialities for agrosystems under the threat of global warming. *Frontiers in plant science*, 8, 1845.

Chen, Y., & Lippincott-Schwartz, J. (2015). Selective visualization of GLUT4 storage vesicles and associated Rab proteins using IRAP-pHluorin. In *Rab GTPases* (pp. 173-179). Humana Press, New York, NY.

Cheng, J. T., Huang, C. C., Liu, I. M., Tzeng, T. F., & Chang, C. J. (2006). Novel mechanism for plasma glucose-lowering action of metformin in streptozotocin-induced diabetic rats. *Diabetes*, 55(3), 819-825.

Chetyrkin, S., Mathis, M., Pedchenko, V., Sanchez, O. A., McDonald, W. H., Hachey, D. L., ... & Voziyan, P. (2011). Glucose autoxidation induces functional damage to proteins via modification of critical arginine residues. *Biochemistry*, 50(27), 6102-6112.

Cho, S. J., Roman, G., Yeboah, F., & Konishi, Y. (2007). The road to advanced glycation end products: a mechanistic perspective. *Current medicinal chemistry*, 14(15), 1653-1671.

Choi, H. J., Jang, H. J., Chung, T. W., Jeong, S. I., Cha, J., Choi, J. Y., ... & Ha, K. T. (2013). Catalpol suppresses advanced glycation end-products-induced inflammatory responses through inhibition of reactive oxygen species in human monocytic THP-1 cells. *Fitoterapia*, 86, 19-28.

Choudhary, M. I., Adhikari, A., Rasheed, S., Marasini, B. P., Hussain, N., & Kaleem, W. A. (2011). Cyclopeptide alkaloids of *Ziziphus oxyphylla* Edgw as novel inhibitors of α -glucosidase enzyme and protein glycation. *Phytochemistry letters*, 4(4), 404-406.

Chung, E., & Chen, R. H. (2002). Spindle checkpoint requires Mad1-bound and Mad1-free Mad2. *Molecular biology of the cell*, 13(5), 1501-1511.

Ciarlone, A. E. (1978). Further modification of a fluorometric method for analyzing brain amines. *Microchemical journal*, 23(1), 9-12.

Classics Lowry, O., Rosebrough, N., Farr, A., & Randall, R. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. *Journal of biological chemistry*, 193(1), 265-75.

Coballase-Urrutia, E., Pedraza-Chaverri, J., Cárdenas-Rodríguez, N., Huerta-Gertrudis, B., García-Cruz, M. E., Ramírez-Morales, A., ... & Espinosa-Aguirre, J. J. (2011). Hepatoprotective effect of acetonic and methanolic extracts of *Heterotheca inuloides*

against CCl₄-induced toxicity in rats. *Experimental and toxicologic pathology*, 63(4), 363-370.

Cooke, D. W., & Lane, M. D. (1999). The transcription factor nuclear factor I mediates repression of the GLUT4 promoter by insulin. *Journal of biological chemistry*, 274(18), 12917-12924.

Coskun, O., Kanter, M., Korkmaz, A., & Oter, S. (2005). Quercetin, a flavonoid antioxidant, prevents and protects streptozotocin-induced oxidative stress and β -cell damage in rat pancreas. *Pharmacological research*, 51(2), 117-123.

Cruz, N. G., Sousa, L. P., Sousa, M. O., Pietrani, N. T., Fernandes, A. P., & Gomes, K. B. (2013). The linkage between inflammation and Type 2 diabetes mellitus. *Diabetes research and clinical practice*, 99(2), 85-92.

Cuendet, M. (1999). *Recherche de nouveaux composés capteur de radicaux libres et antioxydants à partir d'une plante d'Indonésie: Fragraea blumei (Loganiaceae) et de trois plantes d'altitude: Bartsia alpina (Scrophulariaceae), Loiseleuria procumbens (Ericaceae) et Campanula ba* (Doctoral dissertation, Université de Lausanne, Faculté des sciences).

Czech, M. P. (2017). Insulin action and resistance in obesity and type 2 diabetes. *Nature medicine*, 23(7), 804-814.

D'souza, M. R. (2021). Traditional Indian Herbs for the Management of Diabetes Mellitus and their Herb–Drug Interaction Potentials: An Evidence-Based Review. *Structure and Health Effects of Natural Products on Diabetes Mellitus*, 279-296.

Dai, J., Vrensen, G. F., & Schlingemann, R. O. (2002). Blood–brain barrier integrity is unaltered in human brain cortex with diabetes mellitus. *Brain research*, 954(2), 311-316.

Daoudi, A., Aarab, L., & Abdel-Sattar, E. (2013). Screening of immunomodulatory activity of total and protein extracts of some Moroccan medicinal plants. *Toxicology and industrial health*, 29(3), 245-253.

Darwish, R. M., & Aburjai, T. A. (2010). Effect of ethnomedicinal plants used in folklore medicine in Jordan as antibiotic resistant inhibitors on Escherichia coli. *BMC complementary and alternative medicine*, 10(1), 1-8.

Deeds, M. C., Anderson, J. M., Armstrong, A. S., Gastineau, D. A., Hiddinga, H. J., Jahangir, A., ... & Kudva, Y. C. (2011). Single dose streptozotocin-induced diabetes: considerations for study design in islet transplantation models. *Laboratory animals*, 45(3), 131-140.

Delattre, J., Beaudeau, J. L., & Bonnefont-Rousselot, D. (2005). Radicaux libres et stress oxydant(aspects biologiques et pathologiques). Lavoisier édition TEC & DOC éditions médicales internationales Paris. 2005 ; 1 - 405.

Delattre, J., Durand, G., & Jardillier, J. C. (2003). *Biochimie pathologique: aspects moléculaires et cellulaire*. Flammarion médecine-sciences.

Delaviz, H., Mohammadi, J., Ghalamfarsa, G., Mohammadi, B., & Farhadi, N. (2017). A review study on phytochemistry and pharmacology applications of *Juglans regia* plant. *Pharmacognosy reviews*, 11(22), 145.

Delobel, M. (2021). *Inhibiteur de Tpl2 et agoniste du récepteur GLP-1: Une nouvelle combinaison thérapeutique prometteuse pour lutter contre le diabète de type 2?* (Doctoral dissertation, Université Montpellier).

Delobel, M., & Dalle, S. (2021). G-protein–coupled receptors controlling pancreatic β -cell functional mass for the treatment of type 2 diabetes. *Current opinion in endocrine and metabolic research*, 16, 113-118.

Dembinska-Kiec, A., Mykkänen, O., Kiec-Wilk, B., & Mykkänen, H. (2008). Antioxidant phytochemicals against type 2 diabetes. *British journal of nutrition*, 99(E-S1), ES109-ES117.

Deng, G. F., Xu, X. R., Guo, Y. J., Xia, E. Q., Li, S., Wu, S., ... & Li, H. B. (2012). Determination of antioxidant property and their lipophilic and hydrophilic phenolic contents in cereal grains. *Journal of functional foods*, 4(4), 906-914.

Deshmukh, R., Sharma, V., Mehan, S., Sharma, N., & Bedi, K. L. (2009). Amelioration of intracerebroventricular streptozotocin induced cognitive dysfunction and oxidative stress by vinpocetine—a PDE1 inhibitor. *European journal of pharmacology*, 620(1-3), 49-56.

Deshpande, S. S., Lalitha, V. S., Ingle, A. D., Raste, A. S., Gadre, S. G., & Maru, G. B. (1998). Subchronic oral toxicity of turmeric and ethanolic turmeric extract in female mice and rats. *Toxicology letters*, 95(3), 183-193.

Dickinson, D. A., & Forman, H. J. (2002). Cellular glutathione and thiols metabolism. *Biochemical pharmacology*, 64(5-6), 1019-1026.

Dimo, T., Ngueguim, F. T., Kamtchouing, P., Dongo, E., & Tan, P. V. (2006). Glucose lowering efficacy of the aqueous stem bark extract of *Trema orientalis* (Linn) Blume in normal and streptozotocin diabetic rats. *Die Pharmazie-An international journal of pharmaceutical sciences*, 61(3), 233-236.

- Djenidi, H., Khennouf, S., & Bouaziz, A. (2020). Antioxidant activity and phenolic content of commonly consumed fruits and vegetables in Algeria. *Progress in nutrition*, 22(1), 224-235.
- Dragan, S., Andrica, F., Serban, M. C., & Timar, R. (2015). Polyphenols-rich natural products for treatment of diabetes. *Current medicinal chemistry*, 22(1), 14-22.
- Drews, G., Krippeit-Drews, P., & Düfer, M. (2010). Oxidative stress and beta-cell dysfunction. *Pflügers archiv-European journal of physiology*, 460(4), 703-718.
- Duarte, J. M. (2015). Metabolic alterations associated to brain dysfunction in diabetes. *Aging and disease*, 6(5), 304.
- Durand, G., & Beaudeau, J. L. (2011). *Biochimie médicale: Marqueurs actuels et perspectives*. Lavoisier. 2e édition. Edition Chantal Arpino. Paris. 2011 : P216.
- Dureshahwar, K., Mubashir, M., & Une, H. D. (2017). Quantification of quercetin obtained from *Allium cepa* Lam. leaves and its effects on streptozotocin-induced diabetic neuropathy. *Pharmacognosy research*, 9(3), 287.
- Dzib-Guerra, W. D. C., Escalante-Erosa, F., Garcia-Sosa, K., Derbré, S., Blanchard, P., Richomme, P., & Pena-Rodriguez, L. M. (2016). Anti-advanced glycation end-product and free radical scavenging activity of plants from the Yucatecan flora. *Pharmacognosy research*, 8(4), 276.
- Eddouks, M., Lemhadri, A., Hebi, M., Hidani, A. E., Zeggwagh, N. A., Bouhali, B. E., ... & Burcelin, R. (2017). *Capparis spinosa* L. aqueous extract evokes antidiabetic effect in streptozotocin-induced diabetic mice. *Avicenna journal of phytomedicine*, 7(2), 191.
- Eddouks, M., Ouahidi, M. L., Farid, O., Moufid, A., Khalidi, A., & Lemhadri, A. (2007). L'utilisation des plantes médicinales dans le traitement du diabète au Maroc. *Phytothérapie*, 5(4), 194-203.
- Edwards, J. L., Vincent, A. M., Cheng, H. T., & Feldman, E. L. (2008). Diabetic neuropathy: mechanisms to management. *Pharmacology & therapeutics*, 120(1), 1-34.
- Eidi, A., Eidi, M., & Esmaeili, E. (2006). Antidiabetic effect of garlic (*Allium sativum* L.) in normal and streptozotocin-induced diabetic rats. *Phytomedicine*, 13(9-10), 624-629.
- El Azhary, K., Tahiri Jouti, N., El Khachibi, M., Moutia, M., Tabyaoui, I., El Hou, A., ... & Badou, A. (2017). Anti-inflammatory potential of *Capparis spinosa* L. in vivo in mice through inhibition of cell infiltration and cytokine gene expression. *BMC complementary and alternative medicine*, 17(1), 1-12.
- El Sayed, S. A., & Mukherjee, S. (2017). Physiology, pancreas.

- Ellman, G. L., Courtney, K. D., Andres Jr, V., & Featherstone, R. M. (1961). A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical pharmacology*, 7(2), 88-95.
- Elmarakby, A. A., & Sullivan, J. C. (2012). Relationship between oxidative stress and inflammatory cytokines in diabetic nephropathy. *Cardiovascular therapeutics*, 30(1), 49-59.
- Elmastas, M., Celik, S. M., Genc, N., Aksit, H., Erenler, R., & Gulcin, İ. (2018). Antioxidant activity of an Anatolian herbal tea—*Origanum minutiflorum*: isolation and characterization of its secondary metabolites. *International journal of food properties*, 21(1), 374-384.
- Elmastaş, M., Telci, İ., Akşit, H., & Erenler, R. (2015). Comparison of total phenolic contents and antioxidant capacities in mint genotypes used as spices/Baharat olarak kullanılan nane genotiplerinin toplam fenolik içerikleri ve antioksidan kapasitelerinin karşılaştırılması. *Turkish journal of biochemistry*, 40(6), 456-462.
- El-Naser, Z. (2016). Analysis of essential oil of *Capparis spinosa L.* leaves and interaction between *Pieris brassicae L.*(Lepidopteran) which attack caper and natural enemy *Cotesia glomerata (L.)*. *International journal of chemtech research*, 9(7), 477-485.
- Engstrom, M., Schott, U., Nordstrom, C. H., Romner, B., & Reinstrup, P. (2006). Increased lactate levels impair the coagulation system—a potential contributing factor to progressive hemorrhage after traumatic brain injury. *Journal of neurosurgical anesthesiology*, 18(3), 200-204.
- Etuk, E. U., & Muhammed, B. J. (2010). Evidence based analysis of chemical method of induction of diabetes mellitus in experimental rats.
- Evans, J. L., Goldfine, I. D., Maddux, B. A., & Grodsky, G. M. (2003). Are oxidative stress- activated signaling pathways mediators of insulin resistance and β -cell dysfunction?. *Diabetes*, 52(1), 1-8.
- Ewald, N., & Bretzel, R. G. (2013). Diabetes mellitus secondary to pancreatic diseases (Type 3c)—are we neglecting an important disease?. *European journal of internal medicine*, 24(3), 203-206.
- Fadili, K., Zerkani, H., Smail 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.
- Fardini, Y., Dehennaut, V., Lefebvre, T., & Issad, T. (2013). O-GlcNAcylation: a new cancer hallmark?. *Frontiers in endocrinology*, 4, 99.

- Farombi, E. O., & Ige, O. O. (2007). Hypolipidemic and antioxidant effects of ethanolic extract from dried calyx of *Hibiscus sabdariffa* in alloxan- induced diabetic rats. *Fundamental & clinical pharmacology*, 21(6), 601-609.
- Faure, S. (2017). Les inhibiteurs des alpha-glucosidases. *Actualités pharmaceutiques*, 56(571), 18-20.
- Feldman, E. L., Callaghan, B. C., Pop-Busui, R., Zochodne, D. W., Wright, D. E., Bennett, D. L., ... & Viswanathan, V. (2019). Diabetic neuropathy. *Nature reviews disease primers*, 5(1), 1-18.
- Flohe, L. (1984). [10] Superoxide dismutase assays. In *Methods in enzymology*, 105: 93-104. Academic press.
- Foretz, M., & Viollet, B. (2009). Mécanisme d'action hépatique de la metformine dans le diabète de type 2. *Médecine des maladies métaboliques*, 3(1), 48-54.
- Foti, M. C. (2015). Use and Abuse of the DPPH• Radical. *Journal of agricultural and food chemistry*, 63(40), 8765-8776.
- Frusciante, L., Carli, P., Ercolano, M. R., Pernice, R., Di Matteo, A., Fogliano, V., & Pellegrini, N. (2007). Antioxidant nutritional quality of tomato. *Molecular nutrition & food research*, 51(5), 609-617.
- Fu, X. P., Aisa, H. A., Abdurahim, M., Yili, A., Aripova, S. F., & Tashkhodzhaev, B. (2007). Chemical composition of *Capparis spinosa* fruit. *Chemistry of natural compounds*, 43(2), 181-183.
- Galicia-Garcia, U., Benito-Vicente, A., Jebari, S., Larrea-Sebal, A., Siddiqi, H., Uribe, K. B., ... & Martín, C. (2020). Pathophysiology of type 2 diabetes mellitus. *International journal of molecular sciences*, 21(17), 6275.
- Gao, H. C., Zhu, H., Song, C. Y., Lin, L., Xiang, Y., Yan, Z. H., ... & Li, X. K. (2013). Metabolic changes detected by ex vivo high resolution ¹H NMR spectroscopy in the striatum of 6-OHDA-induced Parkinson's rat. *Molecular neurobiology*, 47(1), 123-130.
- Gao, H., Wen, J. J., Hu, J. L., Nie, Q. X., Chen, H. H., Xiong, T., ... & Xie, M. Y. (2018). Polysaccharide from fermented *Momordica charantia* L. with *Lactobacillus plantarum* NCU116 ameliorates type 2 diabetes in rats. *Carbohydrate polymers*, 201, 624-633.
- Gautam, S., Pal, S., Maurya, R., & Srivastava, A. K. (2015). Ethanolic extract of *Allium cepa* stimulates glucose transporter typ 4-mediated glucose uptake by the activation of insulin signaling. *Planta medica*, 81(03), 208-214.

- Gerber, P. A., & Rutter, G. A. (2017). The role of oxidative stress and hypoxia in pancreatic beta-cell dysfunction in diabetes mellitus. *Antioxidants & redox signaling*, 26(10), 501-518.
- Germano, M. P., De Pasquale, R., D'angelo, V., Catania, S., Silvari, V., & Costa, C. (2002). Evaluation of extracts and isolated fraction from *Capparis spinosa L.* buds as an antioxidant source. *Journal of agricultural and food chemistry*, 50(5), 1168-1171.
- Gerson, M. (2007). Le répaglinide Antidiabétiques oraux: portrait de famille (4e partie). *Médecine*, 3(4), 155-157.
- Ghorbani, Y., Schwenger, K. J., & Allard, J. P. (2021). Manipulation of intestinal microbiome as potential treatment for insulin resistance and type 2 diabetes. *European journal of nutrition*, 60(5), 2361-2379.
- Giacco, F., & Brownlee, M. (2010). Oxidative stress and diabetic complications. *Circulation research*, 107(9), 1058-1070.
- Giannoulaki, P., Kotzakioulafi, E., Chourdakis, M., Hatzitolios, A., & Didangelos, T. (2020). Impact of *Crocus sativus L.* on metabolic profile in patients with diabetes mellitus or metabolic syndrome: A systematic review. *Nutrients*, 12(5), 1424.
- Goldszmid, R. S., & Trinchieri, G. (2012). The price of immunity. *Nature immunology*, 13(10), 932-938.
- Gonzalez-Burgos, E., & Gómez-Serranillos, M. P. (2012). Terpene compounds in nature: a review of their potential antioxidant activity. *Current medicinal chemistry*, 19(31), 5319-5341.
- Gorogawa, S. I., Kajimoto, Y., Umayahara, Y., Kaneto, H., Watada, H., Kuroda, A., ... & Hori, M. (2002). Probucol preserves pancreatic β -cell function through reduction of oxidative stress in type 2 diabetes. *Diabetes research and clinical practice*, 57(1), 1-10.
- Gottsäter, A., Ahmed, M., Fernlund, P., & Sundkvist, G. (1999). Autonomic neuropathy in Type 2 diabetic patients is associated with hyperinsulinaemia and hypertriglyceridaemia. *Diabetic medicine*, 16(1), 49-54.
- Governa, P., Bains, G., Borgonetti, V., Cettolin, G., Giachetti, D., Magnano, A. R., ... & Biagi, M. (2018). Phytotherapy in the management of diabetes: a review. *Molecules*, 23(1), 105.
- Grieb, P. (2016). Intracerebroventricular streptozotocin injections as a model of Alzheimer's disease: in search of a relevant mechanism. *Molecular neurobiology*, 53(3), 1741-1752.

Griffiths, M. R., Gasque, P., & Neal, J. W. (2009). The multiple roles of the innate immune system in the regulation of apoptosis and inflammation in the brain. *Journal of neuropathology & experimental neurology*, 68(3), 217-226.

Grimalt, M., Almansa, M. S., Amorós, A., García, S., Legua, P., & Hernández, F. (2019). Antioxidant activity and total phenols in capers (*Capparis spinosa*). In *IV International symposium on pomegranate and minor mediterranean fruits 1254* (pp. 311-316).

Grimalt, M., García-Martínez, S., Carbonell, P., Hernández, F., Legua, P., Almansa, M. S., & Amorós, A. (2022). Relationships between chemical composition, antioxidant activity and genetic analysis with ISSR markers in flower buds of caper plants (*Capparis spinosa* L.) of two subspecies *spinosa* and *rupestris* of Spanish cultivars. *Genetic resources and crop evolution*, 69(4), 1451-1469.

Grimalt, M., Hernández, F., Legua, P., Amorós, A., & Almansa, M. S. (2022). Antioxidant activity and the physicochemical composition of young caper shoots (*Capparis spinosa* L.) of different Spanish cultivars. *Scientia horticultrae*, 293, 110646.

Grover, J. K., Yadav, S., & Vats, V. (2002). Medicinal plants of India with anti-diabetic potential. *Journal of ethnopharmacology*, 81(1), 81-100.

Grunberger, G., & Sima, A. A. (2004). The C-peptide signaling. *Experimental diabetes research*, 5(1), 25-36.

Guan, T., Song, J., Wang, Y., Guo, L., Yuan, L., Zhao, Y., ... & Wei, J. (2017). Expression and characterization of recombinant bifunctional enzymes with glutathione peroxidase and superoxide dismutase activities. *Free radical biology and medicine*, 110, 188-195.

Guignard, J.L. (2000). *Biochimie végétale*. 2ème édition. Edition Dunod, Paris; pp 198-207.

Guillausseau, P. J., Meas, T., Virally, M., Laloi-Michelin, M., Médeau, V., & Kevorkian, J. P. (2008). Abnormalities in insulin secretion in type 2 diabetes mellitus. *Diabetes & metabolism*, 34, S43-S48.

Gull, T., Anwar, F., Sultana, B., Alcayde, M. A. C., & Nouman, W. (2015). *Capparis* species: A potential source of bioactives and high-value components: A review. *Industrial crops and products*, 67, 81-96.

Gull, T., Sultana, B., Bhatti, I. A., & Jamil, A. (2015). Antibacterial potential of *Capparis spinosa* and *Capparis decidua* extracts. *International journal of agriculture and biology*, 17(4), 727-733.

- Gupta, A., Birhman, K., Raheja, I., Sharma, S. K., & Kar, H. K. (2016). Quercetin: A wonder bioflavonoid with therapeutic potential in disease management. *Asian pacific journal of tropical disease*, 6(3), 248-252.
- Habig, W. H., Pabst, M. J., & Jakoby, W. B. (1974). Glutathione S-transferases: the first enzymatic step in mercapturic acid formation. *Journal of biological chemistry*, 249(22), 7130-7139.
- Hacıseferoğulları, H., Özcan, M. M., & Duman, E. (2011). Biochemical and technological properties of seeds and oils of *Capparis spinosa* and *Capparis ovata* plants growing wild in Turkey. *Journal of food processing and technology*, 2(6), 129-34.
- Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J. O., Charlier, C., & Chapelle, J. P. (2007). Le stress oxydant. *Revue médicale de Liège*, 62(10), 628-38.
- Hall, J. E., & Hall, M. E. (2020). *Guyton and Hall textbook of medical physiology e-Book*. Elsevier Health Sciences.
- Hallschmid, M., & Schultes, B. (2009). Central nervous insulin resistance: a promising target in the treatment of metabolic and cognitive disorders?. *Diabetologia*, 52(11), 2264-2269.
- Hamby, M. E., Gragnolati, A. R., Hewett, S. J., & Hewett, J. A. (2008). TGFβ1 and TNFα potentiate nitric oxide production in astrocyte cultures by recruiting distinct subpopulations of cells to express NOS-2. *Neurochemistry international*, 52(6), 962-971.
- Hamuti, A., Li, J., Zhou, F., Aipire, A., Ma, J., Yang, J., & Li, J. (2017). *Capparis spinosa* fruit ethanol extracts exert different effects on the maturation of dendritic cells. *Molecules*, 22(1), 97.
- Hamza, N., Berke, B., Cheze, C., Agli, A. N., Robinson, P., Gin, H., & Moore, N. (2010). Prevention of type 2 diabetes induced by high fat diet in the C57BL/6J mouse by two medicinal plants used in traditional treatment of diabetes in the east of Algeria. *Journal of ethnopharmacology*, 128(2), 513-518.
- Hamza, N., Berke, B., Umar, A., Cheze, C., Gin, H., & Moore, N. (2019). A review of Algerian medicinal plants used in the treatment of diabetes. *Journal of ethnopharmacology*, 238, 111841.
- Harborne JB. (1998). *Phytochemical Methods, a guide to modern techniques of plant analysis*. 3rd ed. London: Chapman and Hall..
- Harju, Anni M., and Martti Venäläinen. "Measuring the decay resistance of Scots pine heartwood indirectly by the Folin-Ciocalteu assay." *Canadian journal of forest research* 36.7 (2006): 1797-1804.

Hassan, S., & Mohammad, N. A. (2010). Ethnobotanical and pharmaceutical evaluation of *Capparis spinosa* L, validity of local folk and Unani system of medicine. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4(17), 1751-1756.

Hectors, T. L. M., Vanparys, C., Van Der Ven, K., Martens, G. A., Jorens, P. G., Van Gaal, L. F., ... & Blust, R. (2011). Environmental pollutants and type 2 diabetes: a review of mechanisms that can disrupt beta cell function. *Diabetologia*, 54(6), 1273-1290.

Hoang Do, O., & Thorn, P. (2015). Insulin secretion from beta cells within intact islets: location matters. *Clinical and experimental pharmacology and physiology*, 42(4), 406-414.

Hope, S. V., Knight, B. A., Shields, B. M., Strain, W. D., Hattersley, A. T., Choudhary, P., & Jones, A. G. (2016). Low c-peptide is associated with high glycaemic variability and hypoglycaemia in insulin-treated patients with type 2 diabetes. *Diabetic medicine*, 33(144), 18.

Hoyer, S. (2004). Glucose metabolism and insulin receptor signal transduction in Alzheimer disease. *European journal of pharmacology*, 490(1-3), 115-125.

Huising, M. O. (2020). Paracrine regulation of insulin secretion. *Diabetologia*, 63(10), 2057-2063.

Hurrle, S., & Hsu, W. H. (2017). The etiology of oxidative stress in insulin resistance. *Biomedical journal*, 40(5), 257-262.

Huseini, H. F., Hasani-Rnjbar, S., Nayebi, N., Heshmat, R., Sigaroodi, F. K., Ahvazi, M., ... & Kianbakht, S. (2013). *Capparis spinosa* L.(Caper) fruit extract in treatment of type 2 diabetic patients: a randomized double-blind placebo-controlled clinical trial. *Complementary therapies in medicine*, 21(5), 447-452.

IA Al-khan, H., & JM Alnuaimy, R. (2012). Effect of aqueous extract of *Capparis spinosa* on biochemical and histological changes in paracetamol-induced liver damage in rats. *Iraqi journal of veterinary sciences*, 26(1), 1-10.

Ighodaro, O. M. (2018). Molecular pathways associated with oxidative stress in diabetes mellitus. *Biomedicine & pharmacotherapy*, 108, 656-662.

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.

Imai, Y., Dobrian, A. D., Weaver, J. R., Butcher, M. J., Cole, B. K., Galkina, E. V., ... & Nadler, J. L. (2013). Interaction between cytokines and inflammatory cells in islet dysfunction, insulin resistance and vascular disease. *Diabetes, obesity and metabolism*, 15(s3), 117-129.

Imran, A., Shehzad, M. T., Shah, S. J. A., Laws, M., Al-Adhami, T., Rahman, K. M., ... & Iqbal, J. (2022). Development, Molecular Docking, and In Silico ADME Evaluation of Selective ALR2 Inhibitors for the Treatment of Diabetic Complications via Suppression of the Polyol Pathway. *ACS omega*, 7(30), 26425-26436.

Indyk, D., Bronowicka-Szydelko, A., Gamian, A., & Kuzan, A. (2021). Advanced glycation end products and their receptors in serum of patients with type 2 diabetes. *Scientific reports*, 11(1), 1-14.

Inocencio, C., Rivera, D., Alcaraz, F., & Tomás-Barberán, F. A. (2000). Flavonoid content of commercial capers (*Capparis spinosa*, *C. sicula* and *C. orientalis*) produced in mediterranean countries. *European food research and technology*, 212(1), 70-74.

Inocencio, C., Rivera, D., Obón, M. C., Alcaraz, F., & Barreña, J. A. (2006). A systematic revision of *capparis* section *Capparis* (Capparaceae) 1, 2. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 93(1), 122-149.

Jadeja, R., Thounaojam, M., Ramachandran, A. V., & Devkar, R. (2009). Phytochemical constituents and free radical scavenging activity of *Clerodendron glandulosum*. Coleb methanolic extract. *Journal of complementary and integrative medicine*, 6(1).

Jalali, M. T., Mohammadtaghvaei, N., & Larky, D. A. (2016). Investigating the effects of *Capparis spinosa* on hepatic gluconeogenesis and lipid content in streptozotocin-induced diabetic rats. *Biomedicine & pharmacotherapy*, 84, 1243-1248.

Jang, M. H., Piao, X. L., Kim, J. M., Kwon, S. W., & Park, J. H. (2008). Inhibition of cholinesterase and amyloid- β aggregation by resveratrol oligomers from *Vitis amurensis*. *Phytotherapy Research: An International journal devoted to pharmacological and toxicological evaluation of natural product derivatives*, 22(4), 544-549.

Jantrawut, P., Akazawa, H., & Ruksiriwanich, W. (2014). Anti-cancer activity of rutin encapsulated in low methoxyl pectin beads. *International journal of pharmacy and pharmaceutical sciences*, 6, 199-202.

Januel, C. (2003). *Stress oxydant au niveau des plaquettes sanguines humaines dans le contexte du diabète: étude du glutathion et de la glutathion peroxydase 4* (Doctoral dissertation, Lyon, INSA).

Jeong, S. M., Kim, S. Y., Kim, D. R., Jo, S. C., Nam, K. C., Ahn, D. U., & Lee, S. C. (2004). Effect of heat treatment on the antioxidant activity of extracts from citrus peels. *Journal of agricultural and food chemistry*, 52(11), 3389-3393.

- Jha, J. C., Banal, C., Chow, B. S., Cooper, M. E., & Jandeleit-Dahm, K. (2016). Diabetes and kidney disease: role of oxidative stress. *Antioxidants & redox signaling*, 25(12), 657-684.
- Jiang, H. E., Li, X., Ferguson, D. K., Wang, Y. F., Liu, C. J., & Li, C. S. (2007). The discovery of *Capparis spinosa* L.(Capparidaceae) in the Yanghai Tombs (2800 years bp), NW China, and its medicinal implications. *Journal of ethnopharmacology*, 113(3), 409-420.
- Jiménez-López, J., Ruiz-Medina, A., Ortega-Barrales, P., & Llorent-Martínez, E. J. (2018). Phytochemical profile and antioxidant activity of caper berries (*Capparis spinosa* L.): Evaluation of the influence of the fermentation process. *Food chemistry*, 250, 54-59.
- Jing, Y. H., Chen, K. H., Kuo, P. C., Pao, C. C., & Chen, J. K. (2013). Neurodegeneration in streptozotocin-induced diabetic rats is attenuated by treatment with resveratrol. *Neuroendocrinology*, 98(2), 116-127.
- Jońca, J., Żuk, M., Wasąg, B., Janaszak-Jasiecka, A., Lewandowski, K., Wielgomas, B., ... & Jasiecki, J. (2015). New insights into butyrylcholinesterase activity assay: serum dilution factor as a crucial parameter. *PLoS One*, 10(10), e0139480.
- Jones, M. E., Paniccia, J. E., Lebonville, C. L., Reissner, K. J., & Lysle, D. T. (2018). Chemogenetic manipulation of dorsal hippocampal astrocytes protects against the development of stress-enhanced fear learning. *Neuroscience*, 388, 45-56.
- Juárez-Rojop, I. E., Díaz-Zagoya, J. C., Ble-Castillo, J. L., Miranda-Osorio, P. H., Castell-Rodríguez, A. E., Tovilla-Zárate, C. A., ... & Bermúdez-Ocaña, D. Y. (2012). Hypoglycemic effect of *Carica papaya* leaves in streptozotocin-induced diabetic rats. *BMC complementary and alternative medicine*, 12(1), 1-11.
- Jung, U. J., Lee, M. K., Park, Y. B., Jeon, S. M., & Choi, M. S. (2006). Antihyperglycemic and antioxidant properties of caffeic acid in db/db mice. *Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 318(2), 476-483.
- Jwad, S. M., & AL-Fatlawi, H. Y. (2022). Types of Diabetes and their Effect on the Immune System. *Journal of advances in pharmacy practices (e-ISSN: 2582-4465)*, 21-30.
- Kajimoto, Y., & Kaneto, H. (2004). Role of oxidative stress in pancreatic β -cell dysfunction. In *Mitochondrial Pathogenesis*, pp. 168-176. Springer, Berlin, Heidelberg.
- Kalantari, H., Forouzandeh, H., Khodayar, M. J., Siahpoosh, A., Saki, N., & Kheradmand, P. (2018). Antioxidant and hepatoprotective effects of *Capparis spinosa* L. fractions and Quercetin on tert-butyl hydroperoxide-induced acute liver damage in mice. *Journal of traditional and complementary medicine*, 8(1), 120-127.

Kamiya, H., Murakawa, Y., Zhang, W., & Sima, A. A. (2005). Unmyelinated fiber sensory neuropathy differs in type 1 and type 2 diabetes. *Diabetes/metabolism research and reviews*, 21(5), 448-458.

Kang, B., Wang, X., Xu, Q., Wu, Y., Si, X., & Jiang, D. (2018). Effect of 3-nitropropionic acid inducing oxidative stress and apoptosis of granulosa cells in geese. *Bioscience reports*, 38(5).

Kasetti, R. B., Rajasekhar, M. D., Kondeti, V. K., Fatima, S. S., Kumar, E. G. T., Swapna, S., ... & Rao, C. A. (2010). Antihyperglycemic and antihyperlipidemic activities of methanol: water (4: 1) fraction isolated from aqueous extract of *Syzygium alternifolium* seeds in streptozotocin induced diabetic rats. *Food and chemical toxicology*, 48(4), 1078-1084.

Kassab, A., & Piwovar, A. (2012). Cell oxidant stress delivery and cell dysfunction onset in type 2 diabetes. *Biochimie*, 94(9), 1837-1848.

Kaur, N., Kishore, L., & Singh, R. (2017). Therapeutic effect of *Linum usitatissimum* L. in STZ-nicotinamide induced diabetic nephropathy via inhibition of AGE's and oxidative stress. *Journal of food science and technology*, 54(2), 408-421.

Kazemian, M., Abad, M., reza Haeri, M., Ebrahimi, M., & Heidari, R., (2015). Antidiabetic effect of *Capparis spinosa* L. root extract in diabetic rats. *Avicenna journal of phytomedicine*, 5(4), 325.

Kdimy, A., El Yadini, M., Guaadaoui, A., Bourais, I., El Hajjaji, S., & Le, H. V. (2022). Phytochemistry, Biological Activities, Therapeutic Potential, and Socio- Economic Value of the Caper Bush (*Capparis spinosa* L.). *Chemistry & biodiversity*, 19(10), e202200300

Keane, K. N., Cruzat, V. F., Carlessi, R., De Bittencourt, P. I. H., & Newsholme, P. (2015). Molecular events linking oxidative stress and inflammation to insulin resistance and β -cell dysfunction. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2015.

Kernouf, N., Bouriche, H., Kada, S., Messaoudi, D., Assaf, A. M., & Senator, A. (2018). Anti-inflammatory and Immuno-modulatory Effects of *Capparis spinosa* Flower Bud Extract. *Annual research & review in biology*, 1-11.

Khan, N. A., Venkatachalam, V. V., Al Akhali, K. M., Alavudeen, S. S., Dhanapal, C. K., & Mohammad, A. A. S. (2015). Overview of glycemic control, knowledge, awareness and attitude among type-2 diabetes male patient's. *Journal of applied pharmacy*, 7, 75-82.

Khandelwal, K. R. (2001). Preliminary phytochemicals screening: Practical Pharmacognosy-Techniques and Experiments. 149-156.

Khang, P. V., Thuong, S. D., Nhuong, V. V., Shen, S., & Ma, L. (2022). Two new polycyclic compounds and cytotoxic activities of ethanol and ethyl acetate extract of leaves of *Capparis dongvanensis* (Sy.) and their chemotaxonomic significance. *Polycyclic aromatic compounds*, 42(6), 3717-3723.

Khatib, M., Pieraccini, G., Innocenti, M., Melani, F., & Mulinacci, N. (2016). An insight on the alkaloid content of *Capparis spinosa* L. root by HPLC-DAD-MS, MS/MS and 1H qNMR. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 123, 53-62.

Khatoon, F., Aboelnaga, S. M. H., Al-Mhwes, A., Ahmed, B., & Balouch, Z. (2021). A Study of Vitamin D Status in Type 2 Diabetes Mellitus and Association of Vitamin D Levels with Glycemic Control. *Progress in medical sciences*, 5(1), 1 – 7.

Kilkenny, C., Browne, W., Cuthill, I. C., Emerson, M., & Altman, D. G. (2010). Animal research: reporting in vivo experiments: the ARRIVE guidelines. *British journal of pharmacology*, 160(7), 1577.

Kim, K. S., & Jang, H. J. (2015). Medicinal plants qua glucagon-like peptide-1 secretagogue via intestinal nutrient sensors. *Evidence-based complementary and alternative medicine*, 2015.

Kim, S. H., Jo, S. H., Kwon, Y. I., & Hwang, J. K. (2011). Effects of onion (*Allium cepa* L.) extract administration on intestinal α -glucosidases activities and spikes in postprandial blood glucose levels in SD rats model. *International journal of molecular sciences*, 12(6), 3757-3769.

Kirkan, B., Ceylan, O., SARIKÜRKÜ, C., & Bektas, T. E. P. E. (2021). Phenolic profile, antioxidant and enzyme inhibitory activity of the ethyl acetate, methanol and water extracts of *Capparis spinosa* L. *International journal of secondary metabolite*, 8(4), 337-351.

Kishore, L., Kaur, N., & Singh, R. (2016). Renoprotective effect of *Bacopa monnieri* via inhibition of advanced glycation end products and oxidative stress in STZ-nicotinamide-induced diabetic nephropathy. *Renal failure*, 38(9), 1528-1544.

Kishore, L., Kaur, N., & Singh, R. (2017). Bacosine isolated from aerial parts of *Bacopa monnieri* improves the neuronal dysfunction in Streptozotocin-induced diabetic neuropathy. *Journal of functional foods*, 34, 237-247.

Koeppen, B. M., & Stanton, B. A. (2017). *Berne and levy physiology e-book*. Elsevier Health Sciences.

Koga, M., Serritella, A. V., Messmer, M. M., Hayashi-Takagi, A., Hester, L. D., Snyder, S. H., ... & Sedlak, T. W. (2011). Glutathione is a physiologic reservoir of

neuronal glutamate. *Biochemical and biophysical research communications*, 409(4), 596-602.

Kooti, W., Farokhipour, M., Asadzadeh, Z., Ashtary-Larky, D., & Asadi-Samani, M. (2016). The role of medicinal plants in the treatment of diabetes: a systematic review. *Electronic physician*, 8(1), 1832-1842.

Kornberg, A. (1955). [67] Lactic dehydrogenase of muscle: Pyruvate+ DPNH \rightleftharpoons Lactate+ DPN.

Kumar, D., Mitra, A., & Manjunatha, M. (2011). Azadirachtolide: An anti-diabetic and hypolipidemic effects from Azadirachta indica leaves. *Pharmacognosy Communications*, 1, 78-84.

Kumar, M., & Bansal, N. (2018). Effects of Chronic Lithium Chloride and L-Arginine Treatment on Prevention of Streptozotocin Induced Cognitive Deficits by Ellagic Acid. *Biomedical and pharmacology journal*, 11(1), 53-65.

Kumar, N., & Goel, N. (2019). Phenolic acids: Natural versatile molecules with promising therapeutic applications. *Biotechnology reports*, 24, e00370.

Kumar, S. (2015). Dual inhibition of acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase enzymes by allicin. *Indian journal of pharmacology*, 47(4), 444.

Kumaran, A., & Karunakaran, R. J. (2007). In vitro antioxidant activities of methanol extracts of five Phyllanthus species from India. *LWT-Food science and technology*, 40(2), 344-352.

Kumarasamy, Y., Byres, M., Cox, P. J., Jaspars, M., Nahar, L., & Sarker, S. D. (2007). Screening seeds of some Scottish plants for free radical scavenging activity. *Phytotherapy Research: An International journal devoted to pharmacological and toxicological evaluation of natural product derivatives*, 21(7), 615-621.

Łabuzek, K., Suchy, D., Gabryel, B., Bielecka, A., Liber, S., & Okopień, B. (2010). Quantification of metformin by the HPLC method in brain regions, cerebrospinal fluid and plasma of rats treated with lipopolysaccharide. *Pharmacological reports*, 62(5), 956-965.

Lacour, B., & Belon, J. P. (2015). Physiologie du système digestif. In *Physiologie*. pp. 225-258. Elsevier Masson Issy-les-Moulineaux.

Lanzillotta, C., Tramutola, A., Di Giacomo, G., Marini, F., Butterfield, D. A., Di Domenico, F., ... & Barone, E. (2021). Insulin resistance, oxidative stress and mitochondrial defects in Ts65dn mice brain: A harmful synergistic path in down syndrome. *Free radical biology and medicine*, 165, 152-170.

- Lebovitz, H. E. (2019). Thiazolidinediones: the forgotten diabetes medications. *Current diabetes reports*, 19(12), 1-13.
- Lee, C. C., Shen, S. R., Lai, Y. J., & Wu, S. C. (2013). Rutin and quercetin, bioactive compounds from tartary buckwheat, prevent liver inflammatory injury. *Food & function*, 4(5), 794-802
- Lee, J., Noh, S., Lim, S., & Kim, B. (2021). Plant extracts for type 2 diabetes: From traditional medicine to modern drug discovery. *Antioxidants*, 10(1), 81.
- Lees, G. J. (1993). Contributory mechanisms in the causation of neurodegenerative disorders. *Neuroscience*, 54(2), 287-322.
- Leighton, E., Sainsbury, C. A., & Jones, G. C. (2017). A practical review of C-peptide testing in diabetes. *Diabetes therapy*, 8(3), 475-487.
- Lemhadri, A., Eddouks, M., Sulpice, T., & Burcelin, R. (2007). Anti-hyperglycaemic and Anti-obesity Effects of *Capparis spinosa* and *Chamaemelum nobile* Aqueous Extracts in HFD Mice. *American journal of pharmacology and toxicology*, 2(3), 106-110.
- Li, Z. G., Zhang, W., & Sima, A. A. (2002). C-peptide prevents hippocampal apoptosis in type 1 diabetes. *International journal of experimental diabetes research*, 3(4), 241-245.
- Li, Z. G., Zhang, W., & Sima, A. A. (2003). C- peptide enhances insulin- mediated cell growth and protection against high glucose-induced apoptosis in SH- SY5Y cells. *Diabetes/metabolism research and reviews*, 19(5), 375-385.
- Liang, J., Wu, S. Y., Zhang, D., Wang, L., Leung, K. K., & Leung, P. S. (2016). NADPH oxidase-dependent reactive oxygen species stimulate β -cell regeneration through differentiation of endocrine progenitors in murine pancreas. *Antioxidants & redox signaling*, 24(8), 419-433.
- Lien, C. F., Chen, S. J., Tsai, M. C., & Lin, C. S. (2021). Potential role of protein kinase C in the pathophysiology of diabetes-associated atherosclerosis. *Frontiers in pharmacology*, 12, 716332.
- Lin, F., Yang, D., Huang, Y., Zhao, Y., Ye, J., & Xiao, M. (2019). The potential of neoagaro-oligosaccharides as a treatment of type II diabetes in mice. *Marine drugs*, 17(10), 541.
- Litwinoff, E. M. S., Hurtado Del Pozo, C., Ramasamy, R., & Schmidt, A. M. (2015). Emerging targets for therapeutic development in diabetes and its complications: the RAGE signaling pathway. *Clinical pharmacology & therapeutics*, 98(2), 135-144.

Liu, C., Zhang, M., Hu, M. Y., Guo, H. F., Li, J., Yu, Y. L., ... & Liu, X. D. (2013). Increased glucagon-like peptide-1 secretion may be involved in antidiabetic effects of ginsenosides. *Journal endocrinology*, 217(2), 185-196.

Liu, S., Li, D., Huang, B., Chen, Y., Lu, X., & Wang, Y. (2013). Inhibition of pancreatic lipase, α -glucosidase, α -amylase, and hypolipidemic effects of the total flavonoids from *Nelumbo nucifera* leaves. *Journal of ethnopharmacology*, 149(1), 263-269.

Longnecker, D. S., Gorelick, F., & Thompson, E. D. (2018). Anatomy, histology, and fine structure of the pancreas. *The pancreas: an integrated textbook of basic science, medicine, and surgery*, 10-23.

López-Gambero, A. J., Martínez, F., Salazar, K., Cifuentes, M., & Nualart, F. (2019). Brain glucose-sensing mechanism and energy homeostasis. *Molecular neurobiology*, 56(2), 769-796.

Lund, P. (1984). UV-method with glutaminase and glutamate dehydrogenase. *Methods of enzymatic analysis, Vol. VIII*, 357.

Ly, H., Verma, N., Wu, F., Liu, M., Saatman, K. E., Nelson, P. T., ... & Despa, F. (2017). Brain microvascular injury and white matter disease provoked by diabetes-associated hyperamylinemia. *Annals of neurology*, 82(2), 208-222.

Lyons, T. J., & Basu, A. (2012). Biomarkers in diabetes: hemoglobin A1c, vascular and tissue markers. *Translational Research*, 159(4), 303-312.

Ma, J., Whittaker, P., Keller, A. C., Mazzola, E. P., Pawar, R. S., White, K. D., ... & Rader, J. I. (2010). Cucurbitane-type triterpenoids from *Momordica charantia*. *Planta medica*, 76(15), 1758-1761.

Mahboubi, M., & Mahboubi, A. (2014). Antimicrobial activity of *Capparis spinosa* as its usages in traditional medicine. *Herba polonica*, 60(1), 39-48.

Mahmoodi, M., Karimi, M., Hoseini, F., Heydari, R., Salehi, M., & Yousefi, A. (2013). Effect of hydroalcoholic extract of *Capparis spinosa* fruit on blood sugar and lipid profile of diabetic and normal rats. *Zahedan journal of research in medical sciences*, 15(11).

Mahmoud, A. M., Ahmed, O. M., Ashour, M. B., & Abdel-Moneim, A. (2015). In vivo and in vitro antidiabetic effects of citrus flavonoids; a study on the mechanism of action. *International journal of diabetes in developing countries*, 35(3), 250-263.

Mahmoud, M. F., El Ashry, F. E. Z. Z., El Maraghy, N. N., & Fahmy, A. (2017). Studies on the antidiabetic activities of *Momordica charantia* fruit juice in streptozotocin-induced diabetic rats. *Pharmaceutical biology*, 55(1), 758-765.

Maideen, N. M. P., & Balasubramaniam, R. (2018). Pharmacologically relevant drug interactions of sulfonylurea antidiabetics with common herbs. *Journal of herbmed pharmacology*, 7(3), 200–10.

Maker, H. S., Weiss, C., Silides, D. J., & Cohen, G. (1981). Coupling of dopamine oxidation (monoamine oxidase activity) to glutathione oxidation via the generation of hydrogen peroxide in rat brain homogenates. *Journal of neurochemistry*, 36(2), 589-593.

Makhloufi, C., Ait Abderrahim, L., & Taibi, K. (2021). Characterization of some Algerian honeys belonging to different botanical origins based on their physicochemical properties. *Iranian journal of science and technology, transactions A: science*, 45(1), 189-199.

Mamun-or-Rashid, A. N. M., Hossain, M. S., Hassan, N., Dash, B. K., Sapon, M. A., & Sen, M. K. (2014). A review on medicinal plants with antidiabetic activity. *Journal of pharmacognosy and phytochemistry*, 3(4), 149-159.

Mandarim-de-Lacerda, C. A. (2019). L'îlot pancréatique: ce que nous savons 150 ans après Langerhans. *Bulletin de l'académie nationale de médecine*, 203(8-9), 670-682.

Manikandaselvi, S., & Brindha, P. (2014). Chemical standardization studies on *Capparis spinosa* L. *International journal of pharmaceutical investigation*, 6(Suppl 1), 47-54.

Manikandaselvi, S., Vadivel, V., & Brindha, P. (2016). Review on ethnobotanical studies of nutraceutical plant: *Capparis spinosa* L.(Caper). *Asian journal of pharmaceutical and clinical research*, 9(3), 123-126.

Manukumar, H. M., Shiva Kumar, J., Chandrasekhar, B., Raghava, S., & Umesha, S. (2017). Evidences for diabetes and insulin mimetic activity of medicinal plants: present status and future prospects. *Critical reviews in food science and nutrition*, 57(12), 2712-2729.

Mao, L. C., Pan, X., Que, F., & Fang, X. H. (2006). Antioxidant properties of water and ethanol extracts from hot air-dried and freeze-dried daylily flowers. *European food research and technology*, 222(3), 236-241.

Mapanga, R. F., & Essop, M. F. (2016). Damaging effects of hyperglycemia on cardiovascular function: spotlight on glucose metabolic pathways. *American journal of physiology-heart and circulatory physiology*, 310(2), H153-H173.

Marimoutou, M., Le Sage, F., Smadja, J., Lefebvre d'Hellencourt, C., Gonthier, M. P., & Silva, R. D. (2015). Antioxidant polyphenol-rich extracts from the medicinal plants *Antirhea borbonica*, *Doratoxylon apetalum* and *Gouania mauritiana* protect 3T3-L1

preadipocytes against H₂O₂, TNF α and LPS inflammatory mediators by regulating the expression of superoxide dismutase and NF- κ B genes. *Journal of inflammation*, 12(1), 1-15.

Marles, R. J. (1994). Plants as sources of antidiabetic agents. *Journal of medicinal plants for economic*, 6, 149-187.

Marre, M. (2017). Sulfamides hypoglycémiant: les diurétiques de la diabétologie. *Médecine des maladies métaboliques*, 11(6), 543-545.

Mashayekhi, S., Khodadadi, I., Mirzaei, F., Tayebinia, H., & Komaki, A. (2021). Memory and Learning Improvement by Resveratrol and Probiotics via the Gut-Brain Axis and Antioxidant Activity in Diabetic Rats. *Avicenna journal of neuro psycho physiology*, 8(2), 102-108.

Masiello, P., Broca, C., Gross, R., Roye, M., Manteghetti, M., Hillaire-Buys, D., ... & Ribes, G. (1998). Experimental NIDDM: development of a new model in adult rats administered streptozotocin and nicotinamide. *Diabetes*, 47(2), 224-229.

Matalqah, S.M., & Al-Tawalbeh, D.M.(2019). Medicinal plants potential against diabetes mellitus. *International journal of pharmacognosy*, 6(2): 39-53.

Mathebula, S. D. (2015). Polyol pathway: A possible mechanism of diabetes complications in the eye. *African vision and eye health*, 74(1), 5.

Matsuda, Y. (2019). Age- related morphological changes in the pancreas and their association with pancreatic carcinogenesis. *Pathology international*, 69(8), 450-462.

Matsuura, N., Aradate, T., Sasaki, C., Kojima, H., Ohara, M., Hasegawa, J., & Ubukata, M. (2002). Screening system for the Maillard reaction inhibitor from natural product extracts. *Journal of health science*, 48(6), 520-526.

Matsuzaki, J., & Ochiya, T. (2018). Extracellular microRNAs and oxidative stress in liver injury: a systematic mini review. *Journal of clinical biochemistry and nutrition*, 17-123.

Matthäus, B., & Özcan, M. (2002). Glucosinolate composition of young shoots and flower buds of capers (*Capparis* species) growing wild in Turkey. *Journal of agricultural and food chemistry*, 50(25), 7323-7325.

Mauro, N. M. (2006). Synthèse d'alcaloïdes biologiquement actifs: la (+)-anatoxine-a et la (\pm)-camptothécine. *Th. Doctorat, université Joseph Fourier-GRENOBLE*, p13, 16-28.

Meddour, A., Yahia, M., & Hambaba, L. (2019). Safety evaluation and analgesic studies of defatted methanol extract of *Capparis spinosa* L.(Capparidaceae) fruits and roots

bark in albino wistar rats. *Journal of biological research-bollettino della società Italiana di biologia sperimentale*, 92(1).

Meghana, K., Sanjeev, G., & Ramesh, B. (2007). Curcumin prevents streptozotocin-induced islet damage by scavenging free radicals: a prophylactic and protective role. *European journal of pharmacology*, 577(1-3), 183-191.

Mishra, P., Panda, P., Chowdary, K., & Panigrahi, S. (2012). Antidiabetic and antihyperlipidemic activity of *Capparis spinosa* extract. *Int J Pharm Sci Rev Res*, 14(1), 38-43.

Mobasser, M., Shirmohammadi, M., Amiri, T., Vahed, N., Fard, H. H., & Ghojzadeh, M. (2020). Prevalence and incidence of type 1 diabetes in the world: a systematic review and meta-analysis. *Health promotion perspectives*, 10(2), 98.

Modi, P. (2007). Diabetes beyond insulin: review of new drugs for treatment of diabetes mellitus. *Current drug discovery technologies*, 4(1), 39-47.

MOHAMADI, J., Mirzaei, A., Delaviz, H., & Mohammadi, B. (2012). Effects of hydroalcoholic extract of *Capparis spinosa* on histomorphological changes of pancreas in diabetic rats model. *19(3)*, 235-44.

Mohammad, H., Ahmad, O., Ahmad-Reza, H., & Adel, M. (2012). Blood glucose levels and pathology of organs in alloxan-induced diabetic rats treated with hydro-ethanol extracts of *Allium sativum* and *Capparis spinosa*. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 6(21), 1559-1564.

Mohammadi, J., Mirzaei, A., Delaviz, H., & Mohammadi, B., (2012). Effects of hydroalcoholic extract of *Capparis spinosa* on histomorphological changes of pancreas in diabetic rats model. *Journal of birjand university of medical sciences*, 19(3), 235–244.

Mohebbali, N., Shahzadeh Fazeli, S. A., Ghafoori, H., Farahmand, Z., MohammadKhani, E., Vakhshiteh, F., ... & Sanati, M. H. (2018). Effect of flavonoids rich extract of *Capparis spinosa* on inflammatory involved genes in amyloid-beta peptide injected rat model of Alzheimer's disease. *Nutritional neuroscience*, 21(2), 143-150.

Mohora, M., Greabu, M., Muscurel, C., Duta, C., & Totan, A. (2007). The sources and the targets of oxidative stress in the etiology of diabetic complications. *Romanian journal of biophysics*, 17(2), 63-84.

Mokhtari, D., Li, T., Lu, T., & Welsh, N. (2011). Effects of imatinib mesylate (Gleevec) on human islet NF-kappaB activation and chemokine production in vitro. *PLoS One*, 6(9), e24831.

- Mollica, A., Stefanucci, A., Macedonio, G., Locatelli, M., Luisi, G., Novellino, E., & Zengin, G. (2019). Chemical composition and biological activity of *Capparis spinosa* L. from Lipari Island. *South African journal of botany*, 120, 135-140.
- Mollica, A., Zengin, G., Locatelli, M., Stefanucci, A., Mocan, A., Macedonio, G., Novellino, E., (2017). Anti-diabetic and anti-hyperlipidemic properties of *Capparis spinosa* L.: In vivo and in vitro evaluation of its nutraceutical potential. *Journal of functional foods*, 35, 32-42.
- Molyneux, P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarinn journal of science and technology*, 26(2), 211-219.
- Monnier, L., & Colette, C. (2008). Efficacité des inhibiteurs de la dipeptidyl peptidase-4 sur le contrôle glycémique, *Médecine des maladies métaboliques*, 2(1), 42-46.
- Monnier, L., & Colette, C. (2019). *Diabétologie*. Elsevier Health Sciences.
- Montano, M. E., Molpeceres, V., Mauriz, J. L., Garzo, E., Cruz, I. B. M., González, P., & Barrio, J. P. (2010). Effect of melatonin supplementation on food and water intake in streptozotocin-diabetic and non-diabetic male Wistar rats. *Nutricion hospitalaria*, 25(6), 931-938.
- Mooradian, A. D. (2009). Dyslipidemia in type 2 diabetes mellitus. *Nature reviews endocrinology*, 5(3), 150-159.
- Morari, M., Marti, M., Sbrenna, S., Fuxe, K., Bianchi, C., & Beani, L. (1998). Review Article Reciprocal dopamine-glutamate modulation of release in the basal ganglia. *Neurochemistry international*, 33(5), 383-397.
- Morot-Gaudry, J. F., Prat, R., Bohn-Courseau, I., Jullien, M., Parcy, F., Perrot-Rechenmann, C., ... & Richard, L. (2017). *Biologie végétale: Croissance et développement-3e éd.* Dunod.
- Moskaug, J. Ø., Carlsen, H., Myhrstad, M. C., & Blomhoff, R. (2005). Polyphenols and glutathione synthesis regulation. *The American journal of clinical nutrition*, 81(1), 277S-283S.
- Moufid, A., Farid, O., & Eddouks, M. (2015). Pharmacological Properties of *Capparis spinosa* Linn. *International journal of diabetology & vascular disease research*, 3, 99-104.
- Moutia, M., El Azhary, K., Elouaddari, A., Al Jahid, A., Jamal Eddine, J., Seghrouchni, F., ... & Badou, A. (2016). *Capparis Spinosa* L. promotes anti-inflammatory response in vitro through the control of cytokine gene expression in human peripheral blood mononuclear cells. *BMC immunology*, 17(1), 1-12.

Muruganathan, U., Srinivasan, S., & Vinothkumar, V. (2017). Antidiabetogenic efficiency of menthol, improves glucose homeostasis and attenuates pancreatic β -cell apoptosis in streptozotocin–nicotinamide induced experimental rats through ameliorating glucose metabolic enzymes. *Biomedicine & pharmacotherapy*, 92, 229-239.

Mutee, A. F., Salhimi, S. M., Yam, M. F., Lim, C. P., Abdullah, G. Z., Ameer, O. Z., ... & Asmawi, M. Z. (2010). In vivo anti-inflammatory and in vitro antioxidant activities of *Peperomia pellucida*. *International journal of pharmacology*, 6(5), 686-90.

Myhrstad, M. C., Carlsen, H., Nordström, O., Blomhoff, R., & Moskaug, J. Ø. (2002). Flavonoids increase the intracellular glutathione level by transactivation of the γ -glutamylcysteine synthetase catalytical subunit promoter. *Free radical biology and medicine*, 32(5), 386-393.

Nabavi, S. F., Maggi, F., Daglia, M., Habtemariam, S., Rastrelli, L., & Nabavi, S. M. (2016). Pharmacological effects of *Capparis spinosa* L. *Phytotherapy research*, 30(11), 1733-1744.

Nacer, W., Baba Ahmed, F. Z., Merzouk, H., Benyagoub, O., & Bouanane, S. (2020). Evaluation of the anti-inflammatory and antioxidant effects of the microalgae *Nannochloropsis gaditana* in streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of diabetes & metabolic disorders*, 19(2), 1483-1490.

Nazarian-Samani, Z., Sewell, R. D., Lorigooini, Z., & Rafieian-Kopaei, M. (2018). Medicinal plants with multiple effects on diabetes mellitus and its complications: a systematic review. *Current diabetes reports*, 18(10), 1-13.

Nehlig, A., & Coles, J. A. (2007). Cellular pathways of energy metabolism in the brain: is glucose used by neurons or astrocytes?. *Glia*, 55(12), 1238-1250.

Newsholme, P., Morgan, D., Rebelato, E., Oliveira-Emilio, H. C., Procopio, J., Curi, R., & Carpinelli, A. (2009). Insights into the critical role of NADPH oxidase (s) in the normal and dysregulated pancreatic beta cell. *Diabetologia*, 52(12), 2489-2498.

Niimi, N., Yako, H., Takaku, S., Chung, S. K., & Sango, K. (2021). Aldose reductase and the polyol pathway in schwann cells: old and new problems. *International journal of molecular sciences*, 22(3), 1031.

Nugroho, A., Choi, J. S., Hong, J. P., & Park, H. J. (2017). Anti-acetylcholinesterase activity of the aglycones of phenolic glycosides isolated from *Leonurus japonicus*. *Asian Pacific journal of tropical biomedicine*, 7(10), 849-854.

Nussey, S. S., & Whitehead, S. A. (2001). *Endocrinology: an integrated approach*. BIOS Scientific Publishers: Oxford

O'G'Li, F. J. S. (2022). *CAPPARIS SPINOSA* EXTRACTS. *International journal of medical science and public health research*, 3(04), 01-04.

Oghbaei, H., Asl, N. A., Sheikhzadeh, F., & Alipour, M. R. (2015). The effect of regular moderate exercise on miRNA-192 expression changes in kidney of streptozotocin-induced diabetic male rats. *Advanced pharmaceutical bulletin*, 5(1), 127.

Oguntibeju, O. O. (2019). Type 2 diabetes mellitus, oxidative stress and inflammation: examining the links. *International journal of physiology, pathophysiology and pharmacology*, 11(3), 45.

Ohkawa, H., Ohishi, N., & Yagi, K. (1979). Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Analytical biochemistry*, 95(2), 351-358.

Ola, M. S., Ahmed, M. M., Shams, S., & Al-Rejaie, S. S. (2017). Neuroprotective effects of quercetin in diabetic rat retina. *Saudi journal of biological sciences*, 24(6), 1186-1194.

Olmos-Ortiz, A., Flores-Espinosa, P., Díaz, L., Velázquez, P., Ramírez-Isarraraz, C., & Zaga-Clavellina, V. (2021). Immunoendocrine dysregulation during gestational diabetes mellitus: the central role of the placenta. *International journal of molecular sciences*, 22(15), 8087.

Olney, J. W. (1982). The toxic effects of glutamate and related compounds in the retina and the brain. *Retina (Philadelphia, Pa.)*, 2(4), 341-359.

Orban, J. C., & Ichai, C. (2011). Complications métaboliques aiguës du diabète. In *Désordres métaboliques et réanimation* (pp. 347-360). Springer, Paris.

Ordonez, A. A. L., Gomez, J. D., & Vattuone, M. A. (2006). Antioxidant activities of *Sechium edule* (Jacq.) Swartz extracts. *Food chemistry*, 97(3), 452-458.

Ou, B., Huang, D., Hampsch-Woodill, M., Flanagan, J. A., & Deemer, E. K. (2002). Analysis of antioxidant activities of common vegetables employing oxygen radical absorbance capacity (ORAC) and ferric reducing antioxidant power (FRAP) assays: a comparative study. *Journal of agricultural and food chemistry*, 50(11), 3122-3128.

Oyedemi, S. O., Adewusi, E. A., Aiyegoro, O. A., & Akinpelu, D. A. (2011). Antidiabetic and haematological effect of aqueous extract of stem bark of *Azela africana* (Smith) on streptozotocin-induced diabetic Wistar rats. *Asian Pacific journal of tropical biomedicine*, 1(5), 353-358.

Ozkan, G., Baydar, H., & Erbas, S. (2010). The influence of harvest time on essential oil composition, phenolic constituents and antioxidant properties of Turkish oregano (*Origanum onites* L.). *Journal of the science of food and agriculture*, 90(2), 205-209.

Paneni, F., Costantino, S., & Cosentino, F. (2015). Role of oxidative stress in endothelial insulin resistance. *World journal of diabetes*, 6(2), 326.

Paoletti, R., Bolego, C., Poli, A., & Cignarella, A. (2006). Metabolic syndrome, inflammation and atherosclerosis. *Vascular health and risk management*, 2(2), 145.

Papatheodorou, K., Papanas, N., Banach, M., Papazoglou, D., & Edmonds, M. (2016). Complications of diabetes 2016. *Journal of diabetes research*, 2016.

Pari, L., & Latha, M. (2004). Protective role of *Scoparia dulcis* plant extract on brain antioxidant status and lipidperoxidation in STZ diabetic male Wistar rats. *BMC Complementary and alternative medicine*, 4(1), 1-8.

Pari, L., & Sankaranarayanan, C. (2009). Beneficial effects of thymoquinone on hepatic key enzymes in streptozotocin–nicotinamide induced diabetic rats. *Life sciences*, 85(23-26), 830-834.

Pari, L., & Saravanan, R. (2004). Antidiabetic effect of diasulin, a herbal drug, on blood glucose, plasma insulin and hepatic enzymes of glucose metabolism in hyperglycaemic rats. *Diabetes, obesity and metabolism*, 6(4), 286-292.

Patani, S., Nayak, M., & Sharma, R. (2018). Study of relation between hyperglycemia and inflammation in type 2 diabetes mellitus. *International journal of biotechnology and biochemistry*, 14(1), 1-4.

Patel, D. K., Kumar, R., Laloo, D., & Hemalatha, S. (2012). Diabetes mellitus: an overview on its pharmacological aspects and reported medicinal plants having antidiabetic activity. *Asian Pacific journal of tropical biomedicine*, 2(5), 411-420.

Patel, D. K., Prasad, S. K., Kumar, R., & Hemalatha, S. (2012). An overview on antidiabetic medicinal plants having insulin mimetic property. *Asian Pacific journal of tropical biomedicine*, 2(4), 320-330.

Patel, O. P., Mishra, A., Maurya, R., Saini, D., Pandey, J., Taneja, I., ... & Yadav, P. P. (2016). Naturally occurring carbazole alkaloids from *Murraya koenigii* as potential antidiabetic agents. *Journal of natural products*, 79(5), 1276-1284.

Pearson, T., Wattis, J. A., King, J. R., MacDonald, I. A., & Mazzatti, D. J. (2016). The effects of insulin resistance on individual tissues: an application of a mathematical model of metabolism in humans. *Bulletin of mathematical biology*, 78(6), 1189-1217.

Perez Gutierrez, R. M., & de Jesus Martinez Ortiz, M. (2014). Beneficial effect of *Azadirachta indica* on advanced glycation end-product in streptozotocin-diabetic rat. *Pharmaceutical biology*, 52(11), 1435-1444.

Perez-Gutierrez, R. M., & Damian-Guzman, M. (2012). Meliacinolin: a potent α -glucosidase and α -amylase inhibitor isolated from *Azadirachta indica* leaves and in vivo antidiabetic property in streptozotocin-nicotinamide-induced type 2 diabetes in mice. *Biological and pharmaceutical bulletin*, 35(9), 1516-1524.

Perrone, A., Giovino, A., Benny, J., & Martinelli, F. (2020). Advanced glycation end products (AGEs): biochemistry, signaling, analytical methods, and epigenetic effects. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2020.

Persson, M., Sandberg, M., Hansson, E., & Rönnbäck, L. (2006). Microglial glutamate uptake is coupled to glutathione synthesis and glutamate release. *European journal of neuroscience*, 24(4), 1063-1070.

Pessler, D., Rudich, A., & Bashan, N. (2001). Oxidative stress impairs nuclear proteins binding to the insulin responsive element in the GLUT4 promoter. *Diabetologia*, 44(12), 2156-2164.

Peter, E. L., Kasali, F. M., Deyno, S., Mtewa, A., Nagendrappa, P. B., Tolo, C. U., ... & Sesaazi, D. (2019). *Momordica charantia* L. lowers elevated glycaemia in type 2 diabetes mellitus patients: Systematic review and meta-analysis. *Journal of ethnopharmacology*, 231, 311-324.

Pizzino, G., Irrera, N., Cucinotta, M., Pallio, G., Mannino, F., Arcoraci, V., ... & Bitto, A. (2017). Oxidative stress: harms and benefits for human health. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2017.

Ponnusamy, S., Haldar, S., Mulani, F., Zinjarde, S., Thulasiram, H., & RaviKumar, A. (2015). Gedunin and azadiradione: human pancreatic alpha-amylase inhibiting limonoids from neem (*Azadirachta indica*) as anti-diabetic agents. *PloS one*, 10(10), e0140113.

Pournaghi, P., Sadrkhanlou, R. A., Hasanzadeh, S., & Foroughi, A. (2012). An investigation on body weights, blood glucose levels and pituitary-gonadal axis hormones in diabetic and metformin-treated diabetic female rats. In *Veterinary research forum*, 3(2), 79. Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran.

Pradeep, S. R., Barman, S., & Srinivasan, K. (2019). Attenuation of diabetic nephropathy by dietary fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*) seeds and onion (*Allium cepa*) via suppression of glucose transporters and renin-angiotensin system. *Nutrition*, 67, 110543.

Prickaerts, J., De Vente, J., Honig, W., Steinbusch, H., Markerink-van Ittersum, M., Blokland, A., & Steinbusch, H. W. M. (2000). Nitric oxide synthase does not mediate

neurotoxicity after an icv injection of streptozotocin in the rat. *Journal of neural transmission*, 107(7), 745-766.

Prieto, P., Pineda, M., & Aguilar, M. (1999). Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. *Analytical biochemistry*, 269(2), 337-341.

Punthakee, Z., Goldenberg, R., & Katz, P. (2018). Definition, classification and diagnosis of diabetes, prediabetes and metabolic syndrome. *Canadian journal of diabetes*, 42, S10-S15.

Putta, S., & Kilari, E. K. (2015). A review on methods of estimation of advanced glycation end products. *World journal of pharmaceutical research*, 4(9), 689-699.

Qi, X. Y., Chen, W. J., Zhang, L. Q., & Xie, B. J. (2008). Mogrosides extract from *Siraitia grosvenori* scavenges free radicals in vitro and lowers oxidative stress, serum glucose, and lipid levels in alloxan-induced diabetic mice. *Nutrition research*, 28(4), 278-284.

Quézel, P., Santa, S., & Schotter, O. (1962). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales-v. 1-2.

Rad, M. K., Ghani, A., & Ghani, E. (2021). In vitro effects of *Capparis spinosa* L. extract on human sperm function, DNA fragmentation, and oxidative stress. *Journal of ethnopharmacology*, 269, 113702.

Raha, S., & Robinson, B. H. (2000). Mitochondria, oxygen free radicals, disease and ageing. *Trends in biochemical sciences*, 25(10), 502-508.

Rahimi, V. B., Rajabian, A., Rajabi, H., Vosough, E. M., Mirkarimi, H. R., Hasanpour, M., ... & Askari, V. R. (2020). The effects of hydro-ethanolic extract of *Capparis spinosa* (*C. spinosa*) on lipopolysaccharide (LPS)-induced inflammation and cognitive impairment: evidence from in vivo and in vitro studies. *Journal of ethnopharmacology*, 256, 112706.

Rahman, M. S., Hossain, K. S., Das, S., Kundu, S., Adegoke, E. O., Rahman, M. A., ... & Pang, M. G. (2021). Role of insulin in health and disease: an update. *International journal of molecular sciences*, 22(12), 6403.

Rains, J. L., & Jain, S. K. (2011). Oxidative stress, insulin signaling, and diabetes. *Free radical biology and medicine*, 50(5), 567-575.

Rajarajeswari, N., & Pari, L. (2011). Antioxidant role of coumarin on streptozotocin–nicotinamide- induced type 2 diabetic rats. *Journal of biochemical and molecular toxicology*, 25(6), 355-361.

Rajasekaran, S., Sivagnanam, K., & Subramanian, S. (2005). Antioxidant effect of Aloe vera gel extract in streptozotocin-induced diabetes in rats. *Pharmacol Rep*, 57(1), 90-96.

Rajesh, P., Latha, S., Selvamani, P., & Kannan, V. R. (2010). Phytochemical screening and toxicity studies on the leaves of *Capparis sepiaria* Linn.(Capparidaceae). *Journal of basic and clinical pharmacy*, 1(1).

Ramar, M., Manikandan, B., Raman, T., Priyadarsini, A., Palanisamy, S., Velayudam, M., ... & Vaseeharan, B. (2012). Protective effect of ferulic acid and resveratrol against alloxan-induced diabetes in mice. *European journal of pharmacology*, 690(1-3), 226-235.

Ramdani, M., Lograda, T., & Chalard, P. (2020). Chemical composition and antibacterial activities of *Capparis spinosa* essential oils from Algeria. *Biodiversitas journal of biological diversity*, 21(1).

Ramesh, V., Rao, B. A., Sharma, P., Swarna, B., Thummuri, D., Srinivas, K., ... & Rao, V. J. (2014). Synthesis and biological evaluation of new rhodanine analogues bearing 2-chloroquinoline and benzo [h] quinoline scaffolds as anticancer agents. *European journal of medicinal chemistry*, 83, 569-580.

Ramzani Ghara, A., Ezzati Ghadi, F., Hosseini, S. H., Piacente, S., Cerulli, A., Alizadeh, A., & Mirmahmoudi, R. (2021). Antioxidant and Antidiabetic Effect of *Capparis decidua* Edgew (Forssk.) Extract on Liver and Pancreas of Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *Journal of applied biotechnology reports*, 8(1).

Rasouli, H., Hosseini-Ghazvini, S. M. B., Adibi, H., & Khodarahmi, R. (2017). Differential α -amylase/ α -glucosidase inhibitory activities of plant-derived phenolic compounds: a virtual screening perspective for the treatment of obesity and diabetes. *Food & function*, 8(5), 1942-1954.

Rathee, P., Rathee, D., Rathee, D., & Rathee, S. (2012). In vitro anticancer activity of stachydrine isolated from *Capparis decidua* on prostate cancer cell lines. *Natural product research*, 26(18), 1737-1740.

Ravi, K., Ramachandran, B., & Subramanian, S. (2004). Protective effect of Eugenia jambolana seed kernel on tissue antioxidants in streptozotocin-induced diabetic rats. *Biological and pharmaceutical bulletin*, 27(8), 1212-1217.

Ren, L. (2019). Protective effect of ganoderic acid against the streptozotocin induced diabetes, inflammation, hyperlipidemia and microbiota imbalance in diabetic rats. *Saudi journal of biological sciences*, 26(8), 1961-1972.

Robertson, R. P. (2006). Oxidative stress and impaired insulin secretion in type 2 diabetes. *Current opinion in pharmacology*, 6(6), 615-619.

Roden, M., & Shulman, G. I. (2019). The integrative biology of type 2 diabetes. *Nature*, 576(7785), 51-60.

Rodrigo, M., Lazaro, M. J., Alvarruiz, A., & Giner, V. (1992). Composition of capers (*Capparis spinosa*): influence of cultivar, size and harvest date. *Journal of food Science*, 57(5), 1152-1154.

Rojas, L. B. A., & Gomes, M. B. (2013). Metformin: an old but still the best treatment for type 2 diabetes. *Diabetology & metabolic syndrome*, 5(1), 1-15.

Roland, J. C., & Roland, F. (2001). Daniel Come: Presentation d'ouvrage: Atlas de biologie végétale. II. Organisation des plantes à fleurs. *COMPTES RENDUS-ACADEMIE D AGRICULTURE DE FRANCE*, 87(2), 217-218.

Romeo, V., Ziino, M., Giuffrida, D., Condurso, C., & Verzera, A. (2007). Flavour profile of capers (*Capparis spinosa* L.) from the Eolian Archipelago by HS-SPME/GC-MS. *Food chemistry*, 101(3), 1272-1278.

Rop, O., Mlcek, J., Kramarova, D., & Jurikova, T. (2010). Selected cultivars of cornelian cherry (*Cornus mas* L.) as a new food source for human nutrition. *African journal of biotechnology*, 9(8).

Rotruck, J. T., Pope, A. L., Ganther, H. E., Swanson, A. B., Hafeman, D. G., & Hoekstra, W. (1973). Selenium: biochemical role as a component of glutathione peroxidase. *Science*, 179(4073), 588-590.

Rubio- Cabezas, O., Hattersley, A. T., Njølstad, P. R., Mlynarski, W., Ellard, S., White, N., ... & Craig, M. E. (2014). The diagnosis and management of monogenic diabetes in children and adolescents. *Pediatric diabetes*, 15(S20), 47-64.

Rumora, A. E., LoGrasso, G., Hayes, J. M., Mendelson, F. E., Tabbey, M. A., Haidar, J. A., ... & Feldman, E. L. (2019). The divergent roles of dietary saturated and monounsaturated fatty acids on nerve function in murine models of obesity. *Journal of Neuroscience*, 39(19), 3770-3781.

Sadek, K. M., Lebda, M. A., Nasr, S. M., & Shoukry, M. (2017). Spirulina platensis prevents hyperglycemia in rats by modulating gluconeogenesis and apoptosis via modification of oxidative stress and MAPK-pathways. *Biomedicine & pharmacotherapy*, 92, 1085-1094.

Şahin, E., & Gümüşlü, S. (2004). Alterations in brain antioxidant status, protein oxidation and lipid peroxidation in response to different stress models. *Behavioural brain research*, 155(2), 241-248.

Saisho, Y. (2015). β -cell dysfunction: Its critical role in prevention and management of type 2 diabetes. *World journal of diabetes*, 6(1), 109.

Saisho, Y., Butler, A. E., Meier, J. J., Monchamp, T., Allen- Auerbach, M., Rizza, R. A., & Butler, P. C. (2007). Pancreas volumes in humans from birth to age one hundred taking into account sex, obesity, and presence of type- 2 diabetes. *Clinical anatomy*, 20(8), 933-942.

Saleem, H., Khurshid, U., Sarfraz, M., Ahmad, I., Alamri, A., Anwar, S., ... & Ahemad, N. (2021). Investigation into the biological properties, secondary metabolites composition, and toxicity of aerial and root parts of *Capparis spinosa L.*: An important medicinal food plant. *Food and chemical toxicology*, 155, 112404.

Salvatore, T., Pafundi, P.C., Galiero, R., Rinaldi, L., Caturano, A., Vetrano, E., Aprea, C., Albanese, G., Di Martino, A., Riconzi, C., et al. (2021). Can Metformin Exert as an Active Drug on Endothelial Dysfunction in Diabetic Subjects? *Biomedicines*, 9(1), 3.

Samarghandian, S., Borji, A., & Hidar Tabasi, S. (2013). Effects of *Cichorium intybus* linn on blood glucose, lipid constituents and selected oxidative stress parameters in streptozotocin-induced diabetic rats. *Cardiovascular & haematological disorders-drug targets*, 13(3), 231-236.

Saravanan, G., Ponmurugan, P., Kumar, G. P. S., & Rajarajan, T. (2009). Antidiabetic properties of S-allyl cysteine, a garlic component on streptozotocin-induced diabetes in rats. *Journal applied biomedicine*, 7(3), 151-59.

Sari, R., & Balci, M. K. (2005). Relationship between C peptide and chronic complications in type-2 diabetes mellitus. *Journal of the national medical association*, 97(8), 1113.

Satyanarayana, T., Anjana, A., & Vijetha, P. (2008). PHCOG REV.: plant review phytochemical and pharmacological review of some Indian *Capparis* species. *Pharmacognosy Reviews*, 2(4), 36-45.

Sayahi, M., & Shirali, S. (2017). The antidiabetic and antioxidant effects of carotenoids: a review. *Asian journal of pharmaceutical research and health care*, 9(4), 186-191.

Schmidt, A. M. (2017). 2016 ATVB Plenary Lecture: Receptor for Advanced Glycation Endproducts and Implications for the Pathogenesis and Treatment of Cardiometabolic Disorders: Spotlight on the Macrophage. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 37(4), 613-621.

Schubert, D., & Piasecki, D. (2001). Oxidative glutamate toxicity can be a component of the excitotoxicity cascade. *Journal of neuroscience*, 21(19), 7455-7462.

Sedlak, J., & Hanus, L. (1982). Changes of glutathione and protein bound SH-groups concentration in rat adrenals under acute and repeated stress. *Endocrinologia experimentalis*, 16(2), 103-109.

Sedlak, T. W., Paul, B. D., Parker, G. M., Hester, L. D., Snowman, A. M., Taniguchi, Y., ... & Sawa, A. (2019). The glutathione cycle shapes synaptic glutamate activity. *Proceedings of the national academy of sciences*, 116(7), 2701-2706.

Sen, S., & Chakraborty, R. (2011). The role of antioxidants in human health. In *Oxidative stress: diagnostics, prevention, and therapy* (pp. 1-37). American Chemical Society.

Serafini, M., Bellocco, R., Wolk, A., & Ekström, A. M. (2002). Total antioxidant potential of fruit and vegetables and risk of gastric cancer. *Gastroenterology*, 123(4), 985-991.

Sergi, D., Boulestin, H., Campbell, F. M., & Williams, L. M. (2021). The role of dietary advanced glycation end products in metabolic dysfunction. *Molecular nutrition & food research*, 65(1), 1900934.

Shalaby, E. A., & Shanab, S. M. (2013). Comparison of DPPH and ABTS assays for determining antioxidant potential of water and methanol extracts of *Spirulina platensis*.

Sharaf, M., El-Ansari, M. A., & Saleh, N. A. (1997). Flavonoids of four *Cleome* and three *Capparis* species. *Biochemical systematics and ecology*, 25(2), 161-166.

Sharaf, M., El-Ansari, M. A., & Saleh, N. A. M. (2000). Quercetin triglycoside from *Capparis spinosa*. *Fitoterapia*, 71(1), 46-49.

Sharma, M. K., Kumar, M., & Kumar, A. (2005). Protection against mercury-induced renal damage in Swiss albino mice by *Ocimum sanctum*. *Environmental toxicology and pharmacology*, 19(1), 161-167.

Sharma, R., Rosenberg, A., Bennett, E. R., Laskowitz, D. T., & Acheson, S. K. (2017). A blood-based biomarker panel to risk-stratify mild traumatic brain injury. *PLoS one*, 12(3), e0173798.

Shaw, O. C. (2007). 15 Glutathione in the Nervous System: Roles in Neural Function and Health and Implications for Neurological Disease. *Handbook of neurochemistry and molecular neurobiology: amino acids and peptides in the nervous system*.

She, H., & Mao, Z. (2011). Regulation of myocyte enhancer factor-2 transcription factors by neurotoxins. *Neurotoxicology*, 32(5), 563-566.

Shen, H. M., & Pervaiz, S. (2006). TNF receptor superfamily- induced cell death: redox- dependent execution. *FASEB J*, 20(10), 1589-1598

Sheng, B., Truong, K., Spitler, H., Zhang, L., Tong, X., & Chen, L. (2017). The long-term effects of bariatric surgery on type 2 diabetes remission, microvascular and macrovascular complications, and mortality: a systematic review and meta-analysis. *Obesity surgery*, 27(10), 2724-2732.

Shinde, A. N., Malpathak, N., & Fulzele, D. P. (2010). Determination of isoflavone content and antioxidant activity in *Psoralea corylifolia* L. callus cultures. *Food chemistry*, 118(1), 128-132.

Shirwaikar, A., Rajendran, K., & Punitha, I. S. R. (2005). Antidiabetic activity of alcoholic stem extract of *Coscinium fenestratum* in streptozotocin-nicotinamide induced type 2 diabetic rats. *Journal of ethnopharmacology*, 97(2), 369-374.

Sicree, R., Shaw, J., Zimmet, P., (2006). The global burden. Diabetes and impaired glucose tolerance. Prevalence and projections. In: Gan, D. (Ed.), *Diabetes Atlas*, third ed. International Diabetes Federation, Brussels, pp. 16–103.

Singh, A., Kukreti, R., Saso, L., & Kukreti, S. (2022). Mechanistic Insight into Oxidative Stress-Triggered Signaling Pathways and Type 2 Diabetes. *Molecules*, 27(3), 950.

Singh, R., Kaur, N., Kishore, L., & Gupta, G. K. (2013). Management of diabetic complications: a chemical constituents based approach. *Journal of ethnopharmacology*, 150(1), 51-70.

Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American journal of enology and viticulture*, 16(3), 144-158.

Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventós, R. M. (1999). [14] Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. In *Methods in enzymology* (Vol. 299, pp. 152-178). Academic press.

Sini, K. R., Sinha, B. N., & Rajasekaran, A. (2011). Protective effects of *Capparis zeylanica* Linn. Leaf extract on gastric lesions in experimental animals. *Avicenna Journal of Medical Biotechnology*, 3(1), 31.

Siracusa, L., Kulisic-Bilusic, T., Politeo, O., Krause, I., Dejanovic, B., & Ruberto, G. (2011). Phenolic composition and antioxidant activity of aqueous infusions from *Capparis spinosa* L. and *Crithmum maritimum* L. before and after submission to a two-step in vitro digestion model. *Journal of agricultural and food chemistry*, 59(23), 12453-12459.

Skehan, P., Storeng, R., Scudiero, D., Monks, A., McMahon, J., Vistica, D., ... & Boyd, M. R. (1990). New colorimetric cytotoxicity assay for anticancer-drug screening. *JNCI: Journal of the national cancer institute*, 82(13), 1107-1112.

Small, D. M., Coombes, J. S., Bennett, N., Johnson, D. W., & Gobe, G. C. (2012). Oxidative stress, anti-oxidant therapies and chronic kidney disease. *Nephrology*, 17(4), 311-321.

Smitha Grace, S. R., Chandran, G., & Chauhan, J. B. (2019). Terpenoids: an activator of “fuel-sensing enzyme AMPK” with special emphasis on antidiabetic activity. *Plant and Human Health, Volume 2*, 227-244.

Song, Y., Huang, L., & Yu, J. (2016). Effects of blueberry anthocyanins on retinal oxidative stress and inflammation in diabetes through Nrf2/HO-1 signaling. *Journal of neuroimmunology*, 301, 1-6.

Sonkusare, S., Srinivasan, K., Kaul, C., & Ramarao, P. (2005). Effect of donepezil and lercanidipine on memory impairment induced by intracerebroventricular streptozotocin in rats. *Life sciences*, 77(1), 1-14.

Soumyanath, A. (2005). *Traditional medicines for modern times: antidiabetic plants*. CRC press. 2006 ; 6: 19-82.

Spagnuolo, L., Della Posta, S., Fanali, C., Dugo, L., & De Gara, L. (2021). Antioxidant and antiglycation effects of polyphenol compounds extracted from hazelnut skin on advanced glycation end-products (ages) formation. *Antioxidants*, 10(3), 424.

Srivastava, A., & Shivanandappa, T. (2005). Hexachlorocyclohexane differentially alters the antioxidant status of the brain regions in rat. *Toxicology*, 214(1-2), 123-130.

Srivastava, R., & Kulshreshtha, D. K. (1989). Bioactive polysaccharides from plants. *Phytochemistry*, 28(11), 2877-2883.

Stalikas, C. D. (2007). Extraction, separation, and detection methods for phenolic acids and flavonoids. *Journal of separation science*, 30(18), 3268-3295.

Stefanucci, A., Zengin, G., Locatelli, M., Macedonio, G., Wang, C. K., Novellino, E., ... & Mollica, A. (2018). Impact of different geographical locations on varying profile of bioactives and associated functionalities of caper (*Capparis spinosa L.*). *Food and chemical toxicology*, 118, 181-189.

Strachan, M. W. J., Frier, B. M., & Deary, I. J. (2003). Type 2 diabetes and cognitive impairment. *Diabetic medicine: a journal of the British diabetic association*, 20(1), 1-2.

Strugała, P., Dzydzan, O., Brodyak, I., Kucharska, A. Z., Kuropka, P., Liuta, M., ... & Sybirna, N. (2019). Antidiabetic and antioxidative potential of the blue Congo variety of purple potato extract in streptozotocin-induced diabetic rats. *Molecules*, 24(17), 3126.

Stumvoll, M., Goldstein, B. J., & Van Haeften, T. W. (2005). Type 2 diabetes: principles of pathogenesis and therapy. *The Lancet*, 365(9467), 1333-1346.

Suzuki, W. A., & Clayton, N. S. (2000). The hippocampus and memory: a comparative and ethological perspective. *Current opinion in neurobiology*, 10(6), 768-773.

Syed Ikmal, S. I. Q., Zaman Huri, H., Vethakkan, S. R., & Wan Ahmad, W. A. (2013). Potential biomarkers of insulin resistance and atherosclerosis in type 2 diabetes mellitus patients with coronary artery disease. *International journal of endocrinology*, 2013.

Szkudelski, T. (2001). The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas. *Physiological research*, 50(6), 537-546.

Tagnaout, I., Zerkani, H., Mahjoubi, M., Bourakhouadar, M., Alistiqsa, F., Bouzoubaa, A., & Zair, T. (2016). Phytochemical study, antibacterial and antioxidant activities of extracts of *Capparis spinosa* L. *International journal of pharmacognosy and phytochemical research*, 8(12), 1993-2005.

Taparra, K., Tran, P. T., & Zachara, N. E. (2016). Hijacking the hexosamine biosynthetic pathway to promote EMT-mediated neoplastic phenotypes. *Frontiers in Oncology*, 6, 85.

Tenenbaum, M., Bonnefond, A., Froguel, P., & Abderrahmani, A. (2018). Physiopathologie du diabète. *Revue francophone des laboratoires*, 2018(502), 26-32.

Tessier, F. J. (2010). The Maillard reaction in the human body. The main discoveries and factors that affect glycation. *Pathologie biologie*, 58(3), 214-219.

Tibaut, M. (2016). Oxidative stress genes, antioxidants and coronary artery disease in type 2 diabetes mellitus. *Cardiovascular & hematological agents in medicinal chemistry*, 14(1), 23-38.

Tir, M., Feriani, A., Labidi, A., Mufti, A., Saadaoui, E., Nasri, N., ... & Tlili, N. (2019). Protective effects of phytochemicals of *Capparis spinosa* seeds with cisplatin and CCl₄ toxicity in mice. *Food bioscience*, 28, 42-48.

Tlili, N., Elfalleh, W., Saadaoui, E., Khaldi, A., Triki, S., & Nasri, N. (2011). The caper (*Capparis* L.): Ethnopharmacology, phytochemical and pharmacological properties. *Fitoterapia*, 82(2), 93-101.

- Tlili, N., Khaldi, A., Triki, S., & Munné-Bosch, S. (2010). Phenolic compounds and vitamin antioxidants of caper (*Capparis spinosa*). *Plant foods for human nutrition*, 65(3), 260-265.
- Tlili, N., Mejri, H., Anouer, F., Saadaoui, E., Khaldi, A., & Nasri, N. (2015). Phenolic profile and antioxidant activity of *Capparis spinosa* seeds harvested from different wild habitats. *Industrial crops and products*, 76, 930-935.
- Tlili, N., Nasri, N., Saadaoui, E., Khaldi, A., & Triki, S. (2009). Carotenoid and tocopherol composition of leaves, buds, and flowers of *Capparis spinosa* grown wild in Tunisia. *Journal of agricultural and food chemistry*, 57(12), 5381-5385.
- Tokarz, V. L., MacDonald, P. E., & Klip, A. (2018). The cell biology of systemic insulin function. *Journal of cell biology*, 217(7), 2273-2289.
- Tomlinson, D. R., & Gardiner, N. J. (2008). Glucose neurotoxicity. *Nature reviews neuroscience*, 9(1), 36-45.
- 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.
- Turgut, N. H., Kara, H., Arslanbaş, E., Mert, D. G., Tepe, B., & Güngör, H. (2015). Effect of *Capparis spinosa* L. on cognitive impairment induced by D-galactose in mice via inhibition of oxidative stress. *Turkish journal of medical sciences*, 45(5), 1127-1136.
- Turk, Z. (2010). Glycotoxines, carbonyl stress and relevance to diabetes and its complications. *Physiological research*, 59(2).
- Uemura, T., Hirai, S., Mizoguchi, N., Goto, T., Lee, J. Y., Taketani, K., ... & Kawada, T. (2010). Diosgenin present in fenugreek improves glucose metabolism by promoting adipocyte differentiation and inhibiting inflammation in adipose tissues. *Molecular nutrition & food research*, 54(11), 1596-1608.
- Uhde, K., van Tol, H. T., Stout, T. A., & Roelen, B. A. (2018). Exposure to elevated glucose concentrations alters the metabolomic profile of bovine blastocysts. *PLoS one*, 13(6), e0199310.
- Ustinova, M., Anson, L., Silamikelis, I., Rovite, V., Elbere, I., Silamikele, L., ... & Klovins, J. (2020). Whole-blood transcriptome profiling reveals signatures of metformin and its therapeutic response. *PLoS One*, 15(8), e0237400.
- Vahid, H., Rakhshandeh, H., & Ghorbani, A. (2017). Antidiabetic properties of *Capparis spinosa* L. and its components. *Biomedicine & pharmacotherapy*, 92, 293-302.

Van den Oever, I. A., Raterman, H. G., Nurmohamed, M. T., & Simsek, S. (2010). Endothelial dysfunction, inflammation, and apoptosis in diabetes mellitus. *Mediators of inflammation*, 2010,1-15

Verma, B., Singh, C., & Singh, A. (2021). Effect of hydro-alcoholic extract of centella asiatica on streptozotocin induced memory dysfunction in adult zebrafish. *Current research in behavioral sciences*, 2, 100059.

Vichai, V., & Kirtikara, K. (2006). Sulforhodamine B colorimetric assay for cytotoxicity screening. *Nature Protocol*, 1(3), 1112–1116.

Vigneri, R., Pezzino, V., Wong, K. Y., & Goldfine, I. D. (1982). Comparison of the in vitro effect of biguanides and sulfonylureas on insulin binding to its receptors in target cells. *The journal of clinical endocrinology & metabolism*, 54(1), 95-100.

Wahren, J., Shafqat, J., Johansson, J., Chibalin, A., Ekberg, K., & Jörnvall, H. (2004). Molecular and cellular effects of C-peptide—new perspectives on an old peptide. *Experimental diabetes research*, 5(1), 15-23.

Wallerath, T., Kunt, T., Forst, T., Closs, E. I., Lehmann, R., Flohr, T., ... & Förstermann, U. (2003). Stimulation of endothelial nitric oxide synthase by proinsulin C-peptide. *Nitric oxide*, 9(2), 95-102.

Wang, G. G., Lu, X. H., Li, W., Zhao, X., & Zhang, C. (2011). Protective effects of luteolin on diabetic nephropathy in STZ-induced diabetic rats. *Evidence-based complementary and alternative medicine*, 2011.

Wang, G., Li, W., Lu, X., Bao, P., & Zhao, X. (2012). Luteolin ameliorates cardiac failure in type I diabetic cardiomyopathy. *Journal of diabetes and its complications*, 26(4), 259-265.

Wautier, M. P., Guillausseau, P. J., & Wautier, J. L. (2017). Activation of the receptor for advanced glycation end products and consequences on health. *Diabetes & metabolic syndrome: clinical research & reviews*, 11(4), 305-309.

Weiss, M., Steiner, D. F., & Philipson, L. H. (2015). Insulin biosynthesis, secretion, structure, and structure-activity relationships.

Wichtl M, Anton R. (2003). *Plantes thérapeutiques – Tradition, pratique officinale, science et thérapeutique*, 2ème édition, Ed. TEC & DOC.

Wiese, S., Wubshet, S. G., Nielsen, J., & Staerk, D. (2013). Coupling HPLC-SPE-NMR with a microplate-based high-resolution antioxidant assay for efficient analysis of antioxidants in food—Validation and proof-of-concept study with caper buds. *Food chemistry*, 141(4), 4010-4018.

- Wilcox, G. (2005). Insulin and insulin resistance. *Clinical biochemist reviews*, 26(2), 19.
- Wolfe, K., Wu, X., & Liu, R. H. Antioxidant activity of apple peels. (2003). *J Agric Food Chem*, 51(3), 609-614.
- World Health Organization. (2019). Classification of diabetes mellitus. ISBN 978-92-4-151570-2. ©
- World Health Organization.(2010). Guidelines for registration of traditional medicines in the WHO African Region. Regional Office for Africa, 11.
- Wu, J. H., Ward, N. C., Indrawan, A. P., Almeida, C. A., Hodgson, J. M., Proudfoot, J. M., ... & Croft, K. D. (2007). Effects of α -tocopherol and mixed tocopherol supplementation on markers of oxidative stress and inflammation in type 2 diabetes. *Clinical chemistry*, 53(3), 511-519.
- Wu, J., Shi, S., Wang, H., & Wang, S. (2016). Mechanisms underlying the effect of polysaccharides in the treatment of type 2 diabetes: A review. *Carbohydrate polymers*, 144, 474-494.
- Xing, L. V., Gao-Hong, L. V., Guo-Ying, D. A. I., Hong-Mei, S. U. N., & Hui-Qin, X. U. (2016). Food-advanced glycation end products aggravate the diabetic vascular complications via modulating the AGEs/RAGE pathway. *Chinese journal of natural medicines*, 14(11), 844-855.
- Yan, Z., Fan, R., Yin, S., Zhao, X., Liu, J., Li, L., ... & Ge, L. (2015). Protective effects of Ginkgo biloba leaf polysaccharide on nonalcoholic fatty liver disease and its mechanisms. *International journal of biological macromolecules*, 80, 573-580.
- Yang, N., Chen, P., Tao, Z., Zhou, N., Gong, X., Xu, Z., ... & Yang, Z. (2012). Beneficial effects of ginsenoside-Rg1 on ischemia-induced angiogenesis in diabetic mice. *Acta Biochimica et Biophysica Sinica*, 44(12), 999-1005.
- Yang, T., Liu, Y. Q., Wang, C. H., & Wang, Z. T. (2008). Advances on investigation of chemical constituents, pharmacological activities and clinical applications of *Capparis spinosa*. *Zhongguo Zhong yao za zhi= Zhongguo zhongyao zazhi= China journal of Chinese materia medica*, 33(21), 2453-2458.
- Yang, T., Wang, C. H., Chou, G. X., Wu, T., Cheng, X. M., & Wang, Z. T. (2010). New alkaloids from *Capparis spinosa*: Structure and X-ray crystallographic analysis. *Food chemistry*, 123(3), 705-710.
- Yang, T., Wang, C., Liu, H., Chou, G., Cheng, X., & Wang, Z. (2010). A new antioxidant compound from *Capparis spinosa*. *Pharmaceutical biology*, 48(5), 589-594.

Yang, T., Wang, Y. L., Zhang, Y. L., Liu, Y. T., Tao, Y. Y., Zhou, H., & Liu, C. H. (2022). The protective effect of *Capparis spinosa* fruit on triptolide-induced acute liver injury: A metabolomics-based systematic study. *Journal of functional foods*, *90*, 104989.

Yang, Y., Hayden, M. R., Sowers, S., Bagree, S. V., & Sowers, J. R. (2010). Retinal redox stress and remodeling in cardiometabolic syndrome and diabetes. *Oxidative medicine and cellular longevity*, *3*(6), 392-403.

Yar, A. S., Menevse, S., & Alp, E. (2011). The effects of resveratrol on cyclooxygenase-1 and-2, nuclear factor kappa beta, matrix metalloproteinase-9, and sirtuin 1 mRNA expression in hearts of streptozotocin-induced diabetic rats. *Genetics and Molecular Research*, *10*(4), 2962-2975.

Yaribeygi, H., Katsiki, N., Butler, A. E., & Sahebkar, A. (2019). Effects of antidiabetic drugs on NLRP3 inflammasome activity, with a focus on diabetic kidneys. *Drug discovery today*, *24*(1), 256-262.

Yaribeygi, H., Sathyapalan, T., Atkin, S. L., & Sahebkar, A. (2020). Molecular mechanisms linking oxidative stress and diabetes mellitus. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2020.

Yeo, J., & Shahidi, F. (2019). Critical re-evaluation of DPPH assay: Presence of pigments affects the results. *Journal of agricultural and food chemistry*, *67*(26), 7526-7529.

Yosri, M., Ahmeda, H. Y., Amin, B. H., Elaassera, M. M., & Aziz, M. M. A. (2022). Evaluation of pleotropic protective activity of *Capparis spinosa* extract on arthritis rat model. *Anti-inflammatory & anti-allergy agents in medicinal chemistry*.

Zakaria, F. R., Prangdimurti, E., & Damanik, R. (2015). Anti-inflammatory of purple roselle extract in diabetic rats induced by streptozotocin. *Procedia food science*, *3*, 182-189.

Zater, H., Huet, J., Fontaine, V., Benayache, S., Stévigny, C., Duez, P., & Benayache, F. (2016). Chemical constituents, cytotoxic, antifungal and antimicrobial properties of *Centaurea diluta* Ait. subsp. algeriensis (Coss. & Dur.) Maire. *Asian Pacific journal of tropical medicine*, *9*(6), 554-561.

Zeng, L., Alongkronrusmee, D., & van Rijn, R. M. (2017). An integrated perspective on diabetic, alcoholic, and drug-induced neuropathy, etiology, and treatment in the US. *Journal of pain research*, *10*, 219.

Zenk, M. H., & Juenger, M. (2007). Evolution and current status of the phytochemistry of nitrogenous compounds. *Phytochemistry*, *68*(22-24), 2757-2772.

Zhang, H., & Ma, Z. F. (2018). Phytochemical and pharmacological properties of *Capparis spinosa* as a medicinal plant. *Nutrients*, *10*(2), 116.

Zhang, S., Hu, D. B., He, J. B., Guan, K. Y., & Zhu, H. J. (2014). A novel tetrahydroquinoline acid and a new racemic benzofuranone from *Capparis spinosa* L., a case study of absolute configuration determination using quantum methods. *Tetrahedron*, *70*(4), 869-873.

Zhang, W., Kamiya, H., Ekberg, K., Wahren, J., & Sima, A. A. (2007). C- peptide improves neuropathy in type 1 diabetic BB/Wor- rats. *Diabetes/metabolism research and reviews*, *23*(1), 63-70.

Zhang, Y., Wu, L., Ma, Z., Cheng, J., & Liu, J. (2015). Anti-diabetic, anti-oxidant and anti-hyperlipidemic activities of flavonoids from corn silk on STZ-induced diabetic mice. *Molecules*, *21*(1), 7.

Zhao, R., Lu, Z., Yang, J., Zhang, L., Li, Y., & Zhang, X. (2020). Drug delivery system in the treatment of diabetes mellitus. *Frontiers in bioengineering and biotechnology*, *8*, 880.

Zheng, T., Shu, G., Yang, Z., Mo, S., Zhao, Y., & Mei, Z. (2012). Antidiabetic effect of total saponins from *Entada phaseoloides* (L.) Merr. in type 2 diabetic rats. *Journal of ethnopharmacology*, *139*(3), 814-821.

Zheng, Y., Ley, S. H., & Hu, F. B. (2018). Global aetiology and epidemiology of type 2 diabetes mellitus and its complications. *Nature reviews endocrinology*, *14*(2), 88-98.

Zhou, G., Yan, M., Guo, G., & Tong, N. (2019). Ameliorative effect of berberine on neonatally induced type 2 diabetic neuropathy via modulation of BDNF, IGF-1, PPAR- γ , and AMPK expressions. *Dose-Response*, *17*(3), 1559325819862449.

Zhou, H. F., Xie, C., Jian, R., Kang, J., Li, Y., Zhuang, C. L., ... & Wu, X. (2011). Biflavonoids from *Caper* (*Capparis spinosa* L.) fruits and their effects in inhibiting NF-kappa B activation. *Journal of agricultural and food chemistry*, *59*(7), 3060-3065.

Zhou, X., Zhang, F., Hu, X., Chen, J., Wen, X., Sun, Y., ... & Song, Y. (2015). Inhibition of inflammation by astaxanthin alleviates cognition deficits in diabetic mice. *Physiology & behavior*, *151*, 412-420.



Algerian *Capparis spinosa* n-BuOH Extract Alleviates Diabetic Neuropathy Induced with Streptozotocin in Rats

Sakrani Ibtissem^a, Ameddah souad^{a*}, Mouad Benrebai^a, Bouaroudge Abdelahamid^b,
Ramazan Erenler^c, Benkiniouar Rachid^b, Ercan Cacan^d, Menad Ahmed^a

^aBiology and Environment Laboratory, Faculty of Natural Sciences and Life, University of Mentouri Brothers-Constantine, 25000 Constantine, Algeria

^bLaboratory of Natural Product and Organic Synthesis, Department of Chemistry, Faculty of Sciences, University of Mentouri Brothers-Constantine, 25000 Constantine, Algeria

^cDepartment of Chemistry, Faculty of Arts and Sciences, Tokat Gaziosmanpaşa University, 60240 Tokat, Turkey

^dDepartment of Molecular Biology and Genetics, Gaziosmanpaşa University, 60250 Tokat, Turkey



Abstract

Diabetic neuropathy (DN) is the most common diabetes complication. This study aimed to investigate the possible neuroprotective effects of the n-BuOH extract of *Capparis spinosa* (BECS) against DM-neuropathy induced with streptozotocin (STZ) and explore its phytoconstituents. From our results, BECS showed no toxicity against C6 brain cancer cell lines. The treatment of male Swiss albino rats with BECS (200 mg/kg) for a period of 28 days significantly attenuated the adverse effects of STZ-induced diabetes (60 mg/kg). A decrease in blood glucose was noted in the BECS-STZ group, associated with a significant ($p < 0.01$) improvement in serum and brain insulin levels. The BECS-treated group showed a significant ($p < 0.01$) improvement in serum C-peptide, serum AGE and serum CK-BB levels. BECS was also successful in restricting HbA1c in STZ-treated rats. Furthermore, a resurrection of neuronal membrane integrity was manifested in the BECS+STZ group, as evidenced by increased brain LDH activity and reduced brain MDA level. Treatment of STZ-treated rat with BECS was also able to significantly ($p < 0.01$) regulate markers of brain dysfunction (AChE and BChE activities and glutamate, dopamine levels). Additionally, treatment of rats with BECS efficacy restored the GSH level and GSH-system enzymes towards normal levels. Regarding the levels of (IL-6, TNF- α , and NO) produced by diabetogenic effects of STZ, the BECS successfully regulated these inflammatory mediators. From all these results, the neuroprotective effect of BECS could be due to its richness in polyphenols identified by LC-MS/MS (both positive and negative modes) analysis, mainly chlorogenic acid and rutin, as well as the synergistic interactions of all contents.

Keywords: Diabetic Neuropathy, Streptozotocin, *Capparis spinosa*, LC-MS/MS analysis, Oxidative stress, Inflammation.

1. Introduction

Diabetes mellitus (DM) is now the biggest health problem in the world despite the understanding of the pathogenesis of DM, existing drugs have only a temporary antidiabetic effect and have failed to completely prevent the progression of these anomalies [1]. Diabetes mellitus is caused by the breakdown of carbohydrates, proteins and lipids, characterized by increased blood glucose levels, resulting from inadequate or insufficient production of insulin [2]. Diabetic neuropathy (DN) is the most common diabetes complication and its prevalence ranges from 40 % to 50 % of patients with diabetes [3]. Previous studies have shown that uncontrolled blood sugar in long-standing diabetes leads to astroglial abnormalities in certain brain regions that decrease cognitive function, anxiety, memory

impairment, and depression [4, 5]. Insulin resistance in the brain can trigger key pathophysiological events of neurodegenerative disorders such as oxidative stress [6], neuro-inflammation [7], Glycation End Products (AGE) [8], CK-BB release [9], increased C-reactive peptide [10], changes in neurotransmitters and impaired brain repair processes [11]. Clinical approaches have been studied to combat diabetes. Among the most available diabetes medications are the sulfonylurea, metformin and meglitinides, glipizide, rosiglitazone and glimepiride [12]. Unfortunately, the consumption of these synthetic agents could lead to various side effects [13]. These are therefore, bring to the new insights on using the natural plant as a remedy for the cognitive impairment due to diabetes that were safer, and more effective for treating and managing diabetes

*Corresponding author e-mail: amedsouad@yahoo.fr; (Souad Ameddah).

Receive Date: 16 August 2022, Revise Date: 20 September 2022, Accept Date: 19 October 2022

DOI: 10.21608/EJCHEM.2022.156714.6790

©2022 National Information and Documentation Center (NIDOC)

complications, especially in long-term therapy [14]. Indeed, the inhabitants of the world, including the Algerians, believed that eating and consuming fresh medicinal plants could cure diseases and ailments; among these plants was *Capparis spinosa*, which belongs to the family Capparidaceae [15]. Different parts of *Capparis spinosa* are used in the management of various conditions and have been shown to have a wide range of biological activities such as antioxidants [16], and anti-inflammatories [17, 18]. Several experimental and clinical studies have investigated the antidiabetic effects [19-21], and have referred *C. spinosa* as an improvement cognitive impairment agent [22, 23]. The body of data collected over the past decades on the chemical composition of

C. spinosa has led to evidence that the plant is a rich source of bioactive compounds, mainly polyphenolic compounds [24]. However, it has been reported that a difference between these levels of chemical compounds may be related to different geographical locations which may vary the profile of bioactives associated with caper functionalities [25]. Taking into account that leaves and flowers of n-BuOH fraction from *C. spinosa* (BECS) grown in East of Algeria have never been screened for diabetic neuropathy, the present study investigated whether *C. spinosa* attenuates

DM-induced neurodegeneration, and explored its possible underlying mechanisms, particularly, the possible involvement of anti-inflammatory and antioxidant properties. The present study is also an attempt to identify and enrich the knowledge on the variation in the chemical composition of *C. spinosa* (MILA region; Algeria) by using

LC-MS/MS analyses.

2. Materials and methods

2.1. Chemicals

Streptozotocin (STZ), Aluminium chloride (AlCl_3), Folin-Ciocalteu's phenol reagent, quercetin, sodium carbonate (Na_2CO_3), thiobarbituric acid (TBA), high glucose Dulbecco's Modified Eagle's medium (DMEM), trypsin, sulforhodamine B (SRB), rat TNF- α , rat IL-6, ELISA kits were purchased from eBioscience (San Diego, CA USA), reduced glutathione (GSH), glutathione reductase (GR),

5,5-dithiobis-2-nitrobenzoic (DTNB) and 1-chloro-2,4-dinitrobenzene (CDNB), acetylthiocholine iodide (ATCI), Glutamine/Glutamate Determination Kit, Human haemolysate [glycated haemoglobin (HbA [sub]1c)] Kit. Standards for LC-MS/MS analysis (chlorogenic acid, p-hydroxybenzoic acid, kaempferol, gentisic acid, gallic acid, rosmarinic acid, cichoric acid, caffeic acid, 4-hydroxybenzaldehyde, and rutin), were purchased from Extrasynthese (Genay, France). The solvents and/or reagents were purchased from Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, USA).

2.2. Plant material and extract preparation

Aerial parts of *C. spinosa* (Capparidaceae) were collected in the flowering stage from the area of Mila region; Algeria and authenticated on the basis of Quézel *et al.* [26]. Air-dried aerial parts (leaves and flowers, 500 g) of *C. spinosa* were macerated at room temperature with MeOH-H₂O (80:20, v/v) three times (24 hours for each time). The filtrates were combined, concentrated under reduced pressure, diluted in H₂O (1000 mL). After filtration, the resulting solution was successively extracted with solvents with increasing polarities: chloroform (CHCl_3), ethyl acetate (EtOAc) and

n-butanol (n-BuOH). The organic layers were dried with anhydrous Na_2SO_4 , filtered and concentrated under vacuum at room temperature [27] to obtain CHCl_3 (0.20 g), EtOAc (1.3 g) and n-BuOH (7.71 g) extracts. A part of n-BuOH extract of *C. spinosa* (BECS) was used for the neuroprotective study (This extraction was repeated as needed).

2.3. Phytochemical screening

2.3.1. Phytochemical screening of n-BuOH extract of *C. spinosa* aerial parts

Aerial part of *C. spinosa* was subjected to qualitative tests in order to characterize several chemical groups using standard procedures [28, 29].

2.3.2. Estimation of total phenolic compounds (TPC)

TPC was determined with the Folin-Ciocalteu reagent following the method of Wolfe *et al.* [30], with a slight modification using Gallic acid as standard. Results were expressed as micrograms of Gallic acid equivalents per milligrams of extract (μg GAE/mg).

2.3.3. Determination of total flavonoid content (TFC)

The concentration of flavonoids was achieved using the method described by Ordonez *et al.* [31], by using the aluminium chloride reagent. Results were expressed as μg quercetin equivalents (QE)/ mg extract.

2.3.4. Liquid-chromatography tandem mass spectrometry (LC-MS/MS)

The LC-MS/MS was used for analysis and for indicating the profile of chemical constituents present in the n-BuOH extract and quantified their concentrations in milligrams. For quantitative analysis, a Thermo Scientific Dionex Ultimate 3000 - TSQ Quantum with a Thermo ODS Hypersil column (250×4.6 mm, particle size of $5 \mu\text{m}$) was employed. The injection volume was 20 μL , where water with 0.1% formic acid and methanol were used in mobile phase as eluent A & B respectively. At 40 °C, the

flow rate was 0.7 mL/min. The gradient program was fixed as follow: 0-1 min, 100 % A, 5-20 min, 95 % A, 1-22 min, 5 % A, 25 min, 5 % A, 30 min 0 % A. Plant extract was prepared and analyzed at a concentration of 1 mg/mL, while the entire time procedure took 30 min. For each component, the correlation between peak area and concentration was found to be linear from 0.5 to 10 mg/L and the linearity was determined using 6 points linear regression analysis. Three replicates are used per point in a linear plot. The correlation coefficients (R² values) for all studies were found to be ≥ 0.99 . For ionization of the substances, electrospray ionization (ESI) source of the mass spectrometer was operated in both positive and negative modes. The spray voltages for positive and negative polarities were 4000 and 2500 V, respectively. Compound limit of detection (LOD) and limit of quantification (LOQ) values are determined using the LC-MS/MS technique. According to Eurachem Guide (Second Edition, 2014), LOD and LOQ were obtained by measuring reagent blanks spiked with low concentrations of analyte. A 0.1 ppm spike was added to blank solution. The standards used for LC-MS/MS analysis were chlorogenic acid, sisoric acid, p-hydroxybenzoic acid, kaempferol, gentisic acid, quercetin, gallic acid, rosmarinic acid, caffeic acid and rutin.

2.4. Cytotoxicity assay

-Sulforhodamine B (SRB assay)

The human brain cancer cells (C6) was used for the cytotoxicity studies, C6 astroglial cell line was obtained from the American Type Culture. The procedures described by Vichai and kirtikara [32] were followed. The method described here has been optimized for the toxicity screening of extract to adherent cells in 96 well formats. After an incubation period, cell monolayer is fixed with 10 % (wt/vol) TCA and stained for 30 min, after which the excess dye is removed by washing repeatedly with 1 % (vol/vol) acetic acid. The protein-bound dye is dissolved in 10 mM Tris base solution for OD determination 510 nm using a microplate reader. The results are linear over a 20-fold range of cell numbers and the sensitivity is comparable to those of fluorometric methods. IC₅₀ values can be derived using curve-fitting methods with statistical analysis software or IC₅₀ calculation software.

2.5. Antidiabetic studies

-Animals and experimental design

Sixty male Swiss albino rats weighing 180-210 g obtained from the Animal Research and Service Centre, Brothers Mentouri University, Constantine, were used in the study. All the animals were kept under standard laboratory conditions (temperature 25

± 2 °C and 12 h light/12 h dark cycle). They were fed with standard rodent pellet diet and water *ad libitum*. The *in vivo* experimental protocol was approved by the Institutional Project Committee (D01N01UN250120190002). The experimental procedures adopted in this study were in strict compliance with the Guidelines for Reporting Animal Research [33].

2.5.1. Induction of diabetes mellitus

Development of diabetes was confirmed by polydipsia, polyuria and by determining glucose concentrations three days after intraperitoneal (ip) injection of STZ (dissolved in 0.1 M citrate buffer, pH 4.5) at a dose of 60 mg/Kg [34]. Rats with a blood glucose level of 250 mg/dL or above were considered to be diabetic; the diabetes was confirmed by measuring fasting blood glucose levels from a tail vein using an Accu-Chek Glucometer.

The rats were divided into five groups comprising twelve animals in each group as follows:

Group 1 (control-group): served as control, received an ip injection of an equal volume of citrate buffer, after two hours, the rats were administered with 4 mL/Kg of distilled water, once daily for 28 days, continuously.

Group 2 (BECS-group) treated orally with BECS (200 mg/kg b.w.28 days), after vehicle injection.

Group 3 (diabetic-group): diabetic rats, received 4 mL/Kg of distilled water, once a day for 28 days, continuously

Group 4 (STZ+metformin-group): diabetic rats, administered orally with metformin (200 mg/kg b.w.), once daily for 28 days, continuously.

Group 5 (STZ+BECS-group): diabetic rats, orally administered with BECS (200 mg/kg b.w.), once daily for 28 days, continuously.

At the end of the experimental period, the rats were euthanized by decapitation for brain tissue collection. Their brains were quickly removed out on an ice-cold plate, washed with ice cold phosphate-buffered saline solution (pH 7.4), weighed and stored at -80 °C until further biochemical studies. The blood sample was centrifuged 3000 x g for 15 minute at 4 °C, serum was collected and stored at until analyses.

2.5.2. Assay of Advanced Glycation End Products (AGE) in serum

The amount of blood plasma AGEs was determined following the method described by Putta and Kilari [35]. Plasma was diluted in a 1:50 ratio with PBS (pH 7.4). Bovine serum albumin preparation (1 mg/mL of 0.1 N NaOH) was used as a standard. The level of AGEs in plasma was determined by measuring the fluorescence at an excitation wavelength of 370 nm and emission wavelength of 440 nm. The fluorescence intensity of the samples was expressed as AU per mg of protein.

2.5.3. Biochemical diabetic parameters

Glycation of haemoglobin (GlycHb), serum insulin, brain insulin, plasma C-peptide, plasma CK-BB levels, TNF- α , IL-6, were evaluated using Enzyme Immunoassay Kit, according to the manufacturer's instructions.

2.5.4. Effect of BECS on diabetic neuropathy

- Brain homogenate preparation

An aliquot of brain tissue was homogenized in 0.1 M phosphate buffered saline (pH 7.4) containing KCl (1.15 %) to give a final concentration of 10 % weight/volume (w/v). The homogenate was first centrifuged first at $800 \times g$ for 5 min at 4 °C, and then at $10,000 \times g$ for further 10 min at 4 °C to estimate antioxidant status and LDH activity.

2.5.4.1. Measurement of brain malondialdehyde (MDA) level

The levels of MDA were measured spectrophotometrically at 535 nm using the method of Ohkawa *et al.* [36]. The amount of MDA was calculated using a molar extinction coefficient of $1.56 \times 10^5 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$. The results were expressed as nmol/mg protein.

2.5.4.2. Determination of LDH activity in rat brain

The total reaction mixture (3 mL) contained 1 mL of 200 mM Tris-HCl buffer (pH 7.4), 0.15 mL of 100mM KCl, 0.15 mL of 50 mM sodium pyruvate, 0.20 mL of 2.4 mM NADH and supernatant of homogenate. A decrease in extinction ($6220 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$) at $\lambda_{\text{max}} = 340 \text{ nm}$ for 2 min at 25°C was measured and result was expressed in U/mg protein (U: μM NADH oxidized/min/mg protein) [37].

2.5.5. Effect of BECS on neurochemical markers

2.5.5.1. Determination of acetylcholinesterase (AChE) and butyrylcholinesterase (BChE) activities

In the STZ-rat brain, AChE activity was determined based on the methods of Ellman *et al.* [38] adapted for a microtiter plate format. Briefly, for each assay data point, 50 μL of 3 mM DTNB, 50 μL rat brain homogenate, 35 μL of 50 mM Tris/HCl pH 8.0. The assay was initiated by the addition of 25 μL of 15 mM ATCI, with production of 5-thio-2-nitrobenzoate anion read at 412 nm every 30 sec for 10 min using a microplate reader AChE activity was calculated using molar extinction coefficient of chromophore ($1.36 \times 10^4 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$). Results were expressed as $\mu\text{mol} / \text{mg}$ protein, while the activities of BChE in the brain were analyzed following a method described by Jońca *et al.* [39].

2.5.5.2. Estimation of dopamine content

The quantitative determination of dopamine levels was carried out fluorometrically according to the method of Ciarlone [40]. Apart of the frozen brain samples were taken out and thawed on the day of experiment. An aliquot of brain tissues was homogenized with acidified n-butanol to give 10 % weight/volume (w/v) homogenate. The method is based on estimation of dopamine fluorophors formed after oxidation by iodine at excitation/emission wave lengths of 320/375 nm. The results were expressed as ng/mg tissue.

2.5.5.3. Determination of L-glutamate content

Equal volumes of brain homogenate and 1.2 M perchloric acid were mixed, centrifuged at $600 \times g$ at 4 °C for 15 min. The supernatant was used according to Lund [41]. Glutamine/glutamate determination Kit was used for spectrophotometric measurement of L-glutamate via enzymatic deamination of L-glutamine and dehydrogenation of L-glutamate with conversion of NAD $^{+}$ to NADH. Spectrophotometric assessment was done at 340 nm and results were expressed in nmoL/mg tissue.

2.6. Measurement of glutathione-metabolizing enzymes

Reduced glutathione (GSH) levels estimation was based on the GSH reaction with DTNB producing a yellow colored complex estimated at 412 nm according to the method of Sedlak and Hanus [42]. The GSH levels were calculated using an extinction coefficient of $13600 \text{ mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$, the values were expressed as nmoL/mg protein. Glutathione-S-transferase (GST) activity was assayed by quantifying the conjugate glutathione resulting from the conjugation of CDNB with GSH following the method of Habig *et al.* [43]. GST activity was monitored at 340 nm for 3 min. The enzyme activity was expressed as units/mg protein; one unit of GST activity was defined as μmoles CDNB conjugate formed/min/mg protein using a molar extinction coefficient of $9.6 \times 10^3 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$. Glutathione peroxidase (GPx) activity was determined by the method of Rotruck *et al.* [44] based on the degradation of H $_2$ O $_2$ in the presence of GSH. Enzyme activity was expressed as units/mg protein; one unit of GPx activity was defined as nmoles GSH/mg protein. Glutathione reductase (GR) activity was tested by measuring NADPH oxidation at 340 nm using oxidized glutathione as a substrate [45]. GR was estimated, and the results were expressed as units/mg protein (U: μmol NADPH oxidized/min). The protein estimation in brain tissue was assayed by Lowry method [46] using bovine serum albumin as standard.

2.7. Measurement of nitrite content in rat brain

A mixture of 0.5 mL of Greiss reagent (equal volumes of 1% sulphanilamide in 3 M HCl and 0.1%

N-1-Naphthyl ethylene diamine dihydrochloride in water) and 0.1 mL supernatant was incubated at room temperature in the dark for 10 min, and absorbance was measured at 548 nm. Total nitrite content ($\mu\text{M}/\text{mg}$ of protein) was determined from standard curve of sodium nitrite (10-100 μM) [47].

2.8. Statistical analysis

Results were expressed as the mean \pm standard deviation (SD). Data were analyzed using a one-way analysis of the variance test (One-way ANOVA) followed by Honest significant difference test (HSD) of Tukey used as post hoc test to compare significance between groups at $p < 0.05$ and $p < 0.01$, using Open stat 2014 program. $n = 12$ for in vivo studies. Values of $p < 0.05$ was regarded as significant.

3. Results and Discussion

3.1. Phytochemical studies

3.1.1. Preliminary phytochemical screening of *n*-BuOH extract of *Capparis spinosa* aerial parts

Preliminary phytochemical screening of aerial part of *C. spinosa* revealed the presence of a wide range of natural compounds such as alkaloids, saponins, terpenoids, phenolic compounds, anthocyanins, flavonoids, Glycosides, tannins and sterols (Table 1). Our findings are in agreement with those reported by Yang *et al.* [48] and Rajesh *et al.* [49].

Table 1

Phytochemical profile of *n*-BuOH extract of *Capparis spinosa* aerial parts (BECS)

Chemical groups	Aerial parts	Chemical groups	Aerial parts
Alkaloids	+	Anthocyanins	+
Glycoside	+	Phenolic compounds	+
Terpenoid	+	Flavonoids	+
sterols	+	Saponins	+
		Tannins	+

“+” Presence

3.1.2. Polyphenol and flavonoid contents

Table 2.

Polyphenol and flavonoid contents of *n*-BuOH extract of *Capparis spinosa* aerial part (BECS)

Extract	TPC (μg GAE/ mg extract)	TFC (μg QE/ mg extract)
BECS	1000.44 \pm 6.48	568.27 \pm 5.80

BECS : *n*-BuOH extract of *Capparis spinosa*.

Results are expressed as means \pm SD deviation of three measures. Total phenolics (TPC) is expressed as μg Gallic acid equivalents/mg of extract; Total flavonoids (TFC) are expressed as μg Quercetin equivalents/ mg of extract.

Total phenol content varies with different plant types and parts, growth condition and stage, extraction method, and other factors [50]. *C. spinosa* has been reported for its richness in secondary metabolites, in particular flavonoids and phenolic acids [24]. Despite that, *C. spinosa* has been previously studied with an exclusive attention to ethanolic, hydro-ethanolic, methanolic, chloroform, ethyl acetate and aqueous extracts [51-56], no studies have been carried out on the *n*-BuOH fraction. In the present results, phenolic and flavonoid contents were recorded in *n*-BuOH plant extract from *C. spinosa* with values of 1000.44 \pm 6.48 μg GAE/mg extract of TP and 568.27 \pm 5.80 μg QE /mg extract of TF (Table 2), which seems ranged between (140.86 \pm 0.62 to 1670.1 \pm 62.2 μg GA-Eq/g of TP and 230.50 \pm 0.76 μg Q-Eq/g to 530.8 \pm 8.9 μg Eq Rutin/g of TF when recorded in different fractions of Algerian *C. spinosa* [16, 57]. In fact, the variation between TP and TF results could be due to many factors such as harvest time and place, climate, geographical conditions, plant organ used, extraction method, solubility and the degree of plant maturation [50, 58].

3.1.3. LC-MS/MS analysis

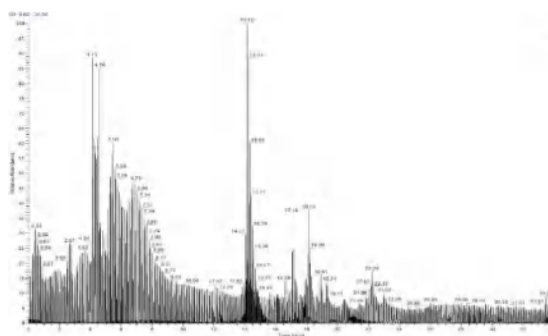


Figure 1: LC-MS/MS profile of *n*-BuOH extract of *Capparis spinosa* aerial parts (BECS)

Table 3.

LC-MS/MS analysis of the phenolic constituents of *n*-BuOH extract of *Capparis spinosa* (BECS).

N°	Name	MS/MS ions studied			LOD	LOQ	RT	mg phenolic/Kg Extract
		Parent	Product	CE				
1	p-Hydroxybenzoic acid	137,9	66,6	38	-	0,243	0,519	14,64
			94,6	17	-			
2	Gentic acid	153,7	109,5	21	-	0,026	0,039	13,87
			80,5	25	-			
3	Gallic acid	169,7	126,2	16	-	0,058	0,091	10,1
			135,2	27	-			
4	Cafeic acid	179,7	136,2	18	-	0,042	0,058	15,26
			153	33	+			
5	Kaempferol	286,97	165	28	+	0,188	0,447	21,92
			179,9	20	-			
6	Quercetin	301	152,1	23	-	0,141	0,181	20,51
			179,9	20	-			
7	Chlorogenic acid	353,4	86,5	43	-	0,051	0,072	14,25
			192,1	21	-			
8	Rosmarinic acid	359,18	134,2	44	-	0,029	0,050	17,86
			162,2	20	-			
9	Skoric acid	473,1	136,3	48	-	0,090	0,237	27,8486
			180,1	29	-			
10	Rutin	609,37	300,6	38	-	0,022	0,034	18,04
			301,7	34	-			

Several phytochemical studies that were performed on BECS, revealed differences, among phenolic contents. In our results, the LC-MS/MS profile of BECS is illustrated in (Table 3 and Figure 1). Several compounds were detected; only ten phenolic compounds were identified in the BECS by comparing their retention times with those of available commercial standards. The most abundant was chlorogenic acid (5659.158 mg/kg extract) and rutin (2037.19 mg/Kg), followed by quercetin (487.543 mg/Kg), *p*-hydroxy benzoic acid (313.392 mg/Kg), sisoric acid (278.486 mg/Kg), caffeic acid (159.115), gentisic acid (150.402 mg/Kg), gallic acid (132.519 mg/Kg), kaempferol (36.519 mg/Kg) and rosmarinic acid (25.05 mg/Kg). In agreement with our findings, several studies have noted that rutin is the most abundant in *C. spinosa*. Our results corroborate those obtained by Boudries *et al.* [51], reported the presence of five common products and other different compounds in which rutin had the highest concentration in the ethanol extract from flower buds of *C. spinosa* (Bejaia region; North Algeria). Mollica *et al.* [20] reported that methanolic extract from the leaf and buds of *C. spinosa* contains a large amount of flavonoids in which rutin has been determined as a major flavonoid along with other different compounds. On the other hand, Stefanucci *et al.* [25] and Mollica *et al.* [59] also found that rutin was as predominant phenolic compound in *C. spinosa* buds harvested from different areas. In general, different compounds such as quercetin, kaempferol, rutin (quercetin-3-*O*-rhamnoglucoside), kaempferol-3-*O*- β -rutinoside (kaempferol-3-*O*-rhamnoglucoside), kaempferol-3-rhamnosyl-rutinoside, have been reported in many parts of the *C. spinosa* plant, such as leaves, seeds, berries and flower buds [60-63] at different concentrations. Despite the fact that *C. spinosa* are generally known for their richness in rutin, the specific phenolic composition of *C. spinosa* extracts is dependent on several factors, which may be due to the used technique, the type of solvents, and the origin of samples, as has been previously reported for many species [56, 62, 63].

3.2. Cytotoxicity assay

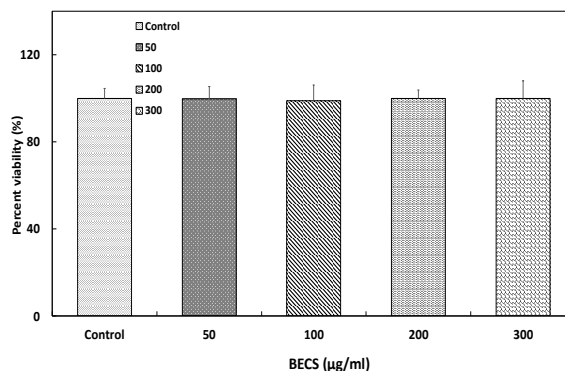


Figure 2: The cytotoxicity of the *n*-BuOH extract of *Capparis spinosa* aerial parts (BECS) against human brain cancer cell lines C6 (SRB assay).

This is just a preliminary toxicity testing of the studied BECS. The cytotoxicity of the BECS was performed against human brain cancer cell lines C6, (Figure2). From the results, it is clear that BECS showed no toxicity against C6 brain cancer cell lines. Several data are currently available regarding the potential adverse effects of *C. spinosa*. Literature reports suggested that *C. spinosa* was safe, in a 2-month clinical trial; diabetic patients given *C. spinosa* fruit extract (400 mg three times a day) showed no signs of adverse effects [64]. An acute *in vivo* toxicity study of methanolic extracts of fruits and root barks of *C. spinosa* at oral doses ranging from 500 to 5000 mg/kg body weight showed no renal or hepatic toxicity[65]. These findings were in agreement with those found by Karanayil *et al.*[66], who reported an LD50 superior to 5000 mg/kg for *C. spinosa*.

3.3. Antidiabetic studies

Table 4.

Effect of *n*-BuOH extract of *Capparis spinosa* aerial parts (BECS) on diabetic parameters in brain of STZ-treated rats

	Glucose plasma level(mg/dl)	plasma insulin level (pg/dl)	Brain insulin (pg/l)	C-peptide (ng/mL)	GlycHb (%)	PlasmaAGE (AU/mg protein)
Control	98.75±5.3	65.75±4.3	59.6±4.2	1.14±0.25	3.5±0.8	1.09±0.01
BECS	96.98±4.8	66.80±4.8	58.7±4.1	1.12±0.11	3.8±0.2	1.05±0.02
STZ	368.75±10 ^{***}	39.33±3.18 ^{***}	42.3±3.8 ^{***}	0.53±0.01 ^{***}	14.23±1.8 ^{***}	2.11±0.01 ^{***}
STZ+Metf	166.3±6.3 ^{***EE} (74.98 %)	60.1±4.1 ^{***EE} (78.61 %)	56.51±1.08 ^{***EE} (79.76 %)	1.02±0.2 ^{***EE} (80.32 %)	9.96±1.02 ^{***EE} (75.43 %)	1.2±0.08 ^{££} (89.21 %)
STZ+BECS	180.2±4.8 ^{***EE§§} (69.83 %)	58.22±5.2 ^{***EE} (73.16 %)	54.3±4.2 ^{***EE§§} (74.56 %)	0.9±0.01 ^{££} (65.69 %)	10.4±1.04 ^{***EE} (69.65 %)	1.33±0.05 ^{***EE} (75.49 %)

Values are mean \pm SD, (n = 12),

: Comparison of groups vis controls; (ns: no significant); (p <0.05); (** p <0.01).

¥: Comparison of groups vis BECS; (¥ p <0.05); (¥¥ p <0.01).

£: Comparison of groups vis STZ-group; (£ p <0.05); (££ p <0.01).

§: Comparison between STZ + Metf-group and STZ + BECS-group; (§ p <0.05); (§§ p <0.01).

Values in parentheses indicate percent protection. The % of protection is calculated as: $100 \times (\text{values of STZ}) - \text{values of samples} / (\text{values of STZ}) - \text{values of control}$.

3.3.1. Effect of BECS on blood glucose level in diabetic rats

In our study, the induction of diabetes was confirmed by elevated fasting blood glucose levels [67]. The level of blood glucose of STZ-rats reached 368.75 ± 10 mg/dL throughout the 28 days experimental period, compared to the control group (98.75 ± 5 mg/dL) (Table 4). The results of the current study indicated that the administration of BECS (200 mg/kg b.w.) for a period of 28 days significantly alleviated (69.83 %) the adverse effects of STZ-induced diabetes. The decrease in blood glucose of BECS was similar to that of standard antidiabetic drug metformin, (74.98 %). In experimental diabetes, different parts of the *C. spinosa* plant have been shown to be very effective in controlling blood glucose [54, 68]. The possible mechanism by which BECS mediates its antihyperglycemic action may be through potentiation of pancreatic insulin secretion from islet β cells or through enhancement of blood glucose transport to peripheral tissue [69].

3.3.2. Effect of BECS on serum and brain insulin levels and plasma C-peptide level

STZ has been used as an inducing agent to induce diabetes mellitus by causing selective damage to pancreatic insulin-generating β cells [70]. In the central nervous system (CNS), insulin is involved not only in regulating glucose output, but also in maintaining neuronal survival and development [71]. Disorders of the insulin signaling pathway in the periphery and brain have been implicated in diabetes [72]. Therefore, insulin deficiency may play a driving role in the development of diabetic encephalopathy in the STZ-induced animal model. In the present study, induction of diabetes with STZ, resulted in approximately 1.67-fold reduction in serum insulin level (39.33 ± 3.18 pg/dL; $p < 0.01$) and in brain insulin (42.3 ± 3.8 pg/dL; $p < 0.01$) compared to control rats (65.75 ± 4.3 pg/dL; $p < 0.01$) and (59.6 ± 4.2 pg/dL; $p < 0.01$) respectively (Table 4). *C. spinosa* treated - group showed a significant ($p < 0.01$) improvement in the serum and brain insulin (73.16 %; 74.56 %; $p < 0.01$) respectively, similar to that of metformin (78.61 %; 79.76 %; $p < 0.01$) respectively (Table 4). In STZ diabetic-group, the induced pathological lesion in islets of langerhans of pancreas was resulted in low insulin secretion from β cells in comparison to that of the normal control group. Insulin has been reported to have the ability to cross the blood-brain barrier and is abundantly detected in the brain [73]. It should be mentioned that the amount of insulin in the CSN is much lower than the amount of insulin in the serum; although their levels are correlated, we therefore know that the most important source of insulin to the

brain is its transport across the blood-brain barrier [74]. Long-term DM can disrupt the structure of the blood-brain barrier resulting in vascular damage [75]. From the current study we speculate that *C. spinosa* treatment look like the effect of metformin that may crosses the blood-brain barrier fast [76]. C-peptide which secreted by pancreatic cells [77] is one of the factors reflecting insulin deficiency [78]. The lower levels of C-peptide and decreased beta cell function have been linked to greater levels of glucose variability [79], therefore, C-peptide is a useful for assessing pancreatic beta cells function [80, 81]. As shown in (Table 4), induction of diabetes with STZ resulted in approximately 2.15-fold reduction in serum C-peptide level (0.53 ± 0.01 ng/mL) compared to control rats (1.14 ± 0.25 ng/mL). Serum C-peptide levels reflect the absolute amount of endogenous insulin secretion [82]. The BECS-treated group showed significant ($p < 0.01$) improvement in the serum C-peptide (60.65 %) as compared to metformin-treated rats with (80.32 %) (Table 4). Preliminary phytochemical screening of aerial part of *C. spinosa* revealed the presence of a wide range of natural compounds such as alkaloids, saponins that have been mentioned as ant diabetic agents, in diabetic rats or clinical trials [83, 84]. Interestingly, the possible synergistic interactions of the phenolic compounds contained in BECS, mainly quercetin, rutin, 4-hydroxybenzoic, and chlorogenic acid may be beneficial [85].

3.3.3. Effect BECS on AGEs and HbA1c levels

AGEs and glycated hemoglobin are other markers of oxidative stress and subsequent protein damage under DM conditions. Excess glucose availability promotes increased production of AGEs [86]. AGEs which have been considered as possible biomarkers for diagnosing diabetes complications, are generated by a non-enzymatic reaction of glucose using amino groups on protein amino acids during diabetes [87]. Hyperglycemia which is a clinical feature of poorly controlled diabetes mellitus, results in increased protein glycation resulting in structural and functional alteration of proteins, including hemoglobin [88]. In our study, we observed an increase (2.11 ± 0.1 AU/ mg protein) in the AGEs level under the STZ-treatment compared with the control group (1.09 ± 0.01 AU/ mg protein) (Table 4). BECS showed a significant ($p < 0.01$) improvement in the serum AGE levels (75.49 %) as compared to metformin (89.21 %). The amount of glycated haemoglobin (% GHb) was also increased (14.23 ± 1.8 %; 4.06-fold) compared with the control group (3.5 ± 0.8 %). In the present study, the HbA1c level was significantly elevated in diabetic rats, which is in agreement with previous studies [89, 90]. Nonetheless, BECS significantly lowered (69.65 %; $p < 0.05$) HbA1c compared to metformin (75.43 %; $p < 0.05$). The high level of HbA1c is due to the

persistently high blood glucose level, which leads to hemoglobin glycation [91]. These results suggest that BECS may prevent formation of Amadori products [92] that can lead to protein oxidation and indicate that the overall blood glucose level is controlled, which must be due to improvement in insulin secretion as noted above. Moreover, BECS could directly decrease the formation of glycated hemoglobin, possibly due to antioxidant activity [93]. These findings are also, alongside the study Huseini *et al.* [64] reported that patients who took 1200 mg *C. spinosa* fruit extracts daily for 2 months had a significantly lower glycosylated hemoglobin levels. Interestingly, the anti-AGE effect of BECS could be due to its richness in polyphenols identified by LC-MS/MS analysis, in particular the most abundant and potent agents reported; chlorogenic acid and rutin which have all been reported to significantly inhibit glucose-mediated protein modification, the primary inhibitors of AGEs [94, 95].

3.4. Effect of BECS on neurodegeneration

3.4.1. Effects of BECS on LDH activity, on MDA and CK-BB Levels.

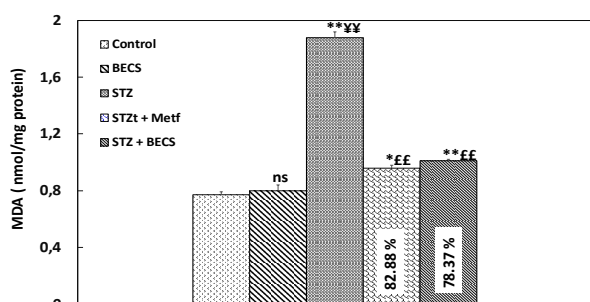


Figure 3: The effect of *n*-BuOH extract of *Capparis spinosa* aerial parts (BECS) (200 mg/Kg) on MDA level in the brain of STZ treated -group.

Values are mean \pm SD, (n = 12),

*: Comparison of groups vis controls; (ns: no significant); ($*p < 0.05$); ($**p < 0.01$).

¥: Comparison of groups vis BECS; ($¥p < 0.05$); ($¥¥p < 0.01$).

£: Comparison of groups vis STZ-group; ($£p < 0.05$); ($££p < 0.01$).

§: Comparison between STZ + Met-group and STZ + BECS-group; ($§p < 0.05$); ($§§p < 0.01$).

Values in box indicate percent protection. The % of protection is calculated as: $100 \times (\text{values of STZ}) - \text{values of samples} / (\text{values of STZ}) - \text{values of control}$.

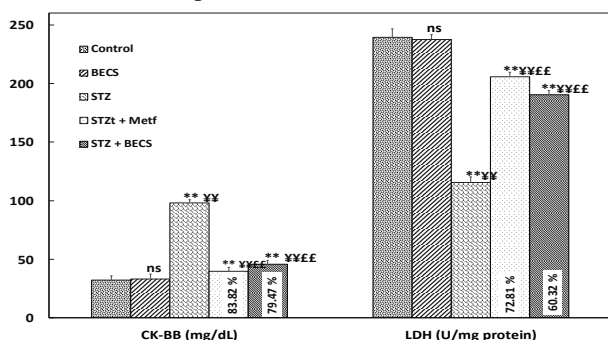


Figure 4: The effect of *n*-BuOH extract of *Capparis spinosa* aerial parts (BECS)(200 mg/Kg) on CK-BB level and LDH activity in the brain of STZ- treated group

Values are mean \pm SD, (n = 12),

*: Comparison of groups vis controls; (ns: no significant); ($*p < 0.05$); ($**p < 0.01$).

¥: Comparison of groups vis BECS; ($¥p < 0.05$); ($¥¥p < 0.01$).

£: Comparison of groups vis STZ-group; ($£p < 0.05$); ($££p < 0.01$).

§: Comparison between STZ + Met-group and STZ + BECS-group; ($§p < 0.05$); ($§§p < 0.01$).

Values in box indicate percent protection. The % of protection is calculated as: $100 \times (\text{values of STZ}) - \text{values of samples} / (\text{values of STZ}) - \text{values of control}$.

Figure 3, showed that the level of brain MDA was significantly ($P < 0.01$) increased in STZ-diabetic rats by about 2.44 fold. LDH is associated with adverse clinical outcomes of traumatic brain injury. Neurons are largely dependent on lactate as the main energy substrate which also promotes neuroprotection [96, 97]. However, LDH activity was decreased approximately 2.06 times, compared to healthy rats (Figure 4). STZ-treated rats showed a reduction in brain LDH activity, which signified a loss of cell viability. Our results support the results of Kumar and Bansal [98], who found that central administration of STZ impaired neural coherence evident by increased brain LDH activity. LDH leakage may be due to the oxidation of PUFAs making them more hydrophilic, which changes the structure of the membrane [99]. These PUFAs are rich in the brain and cause oxygen free radical origin. Increase in ROS level results in elevated MDA level causes death of neurons by oxidizing various components of the cellular system [100]. Treatment with the BECS (200 mg/kg) decreased significantly ($P < 0.01$) the level of MDA up to 78.37 %; and restored (60.97 %) LDH activity as compared to metformin (82.88 %; 72.81 %) respectively (Figure 3, 4). The increase in brain LDH activity seen in the BECS+STZ group may manifest the resurrection of neuronal membrane integrity. CK-BB found in astrocytes plays a role in energy transfer in tissues with high-energy requirement such as brain [101]. As shown in Figure 4, induction of diabetes with STZ resulted in approximately 3.05-fold reduction in serum CK-BB level compared to control rats, *C. spinosa*-treated group showed significant improvement ($p < 0.01$) serum CK-BB (79.47%) compared to metformin (83.82%) (Figure 4). It has been reported that serum CK-BB levels can increase in various brain injury cases, and trigger neurodegenerative events that lead to neuronal losses [102, 103].

3.4.2. Effect of BECS on neurochemical markers: AChE, BChE, dopamine and glutamate levels

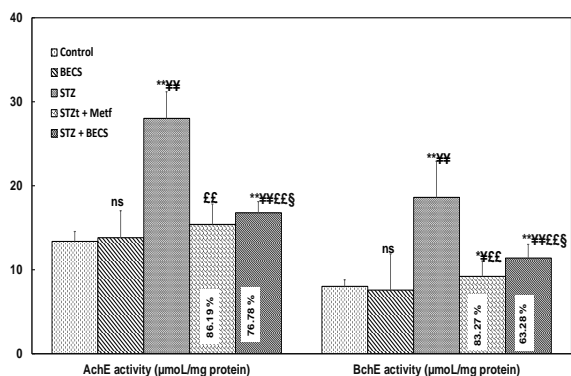


Figure 5a: The effect of *n*-BuOH extract of *Capparis spinosa* aerial parts (BECS), (200 mg/Kg) on AChE activity and BChE activity in the brain of STZ-treated group.

Values are mean \pm SD, (n = 12),

: Comparison of groups vis controls; (ns: no significant); (p <0.05); (** p <0.01).

¥: Comparison of groups vis BECS; (¥ p <0.05); (¥¥ p <0.01).

£: Comparison of groups vis STZ-group; (£ p <0.05); (££ p <0.01).

§: Comparison between STZ + Met-group and STZ + BECS-group; (§ p <0.05); (§§ p <0.01).

Values in box indicate percent protection. The % of protection is calculated as: 100 x (values of STZ)-values of samples/ (values of STZ)-values of control.

The development of diabetic encephalopathy is correlated with persistent hyperglycemia and generation of ROS, which cause cerebral angiopathy as well which cause cerebral angiopathy as well as neuron and glial cell abnormalities in brain tissue [104]. The manifestations of these disorders in diabetic patients include; alterations in neurotransmission and cognitive deficit [105]. Insulin has been reported to exert some effects on several neurotransmitters involved in memory formation, such as the acetylcholine line [106]. AChE and BChE are two major forms of cholinesterase implicated in the pathogenesis of neurological disorders [107]. In the present study, no significant change (p >0.05) was noted when compare to the normal control, BECS and metformin groups in the BChE and AChE activities, STZ administration to rat induced marked brain impairment, as evidenced by significant (p <0.01) elevation of AChE (28 ± 3.2 $\mu\text{mol/mg}$ protein) and BChE (18.6 ± 4.3 $\mu\text{mol/mg}$ protein) levels and in the cerebral tissue of STZ-group, when compared to the control group (13.35 ± 1.2 $\mu\text{mol/mg}$ protein; 7.99 ± 0.8 $\mu\text{mol/mg}$ protein) respectively. BECS treatment (200 mg/kg) or metformin treatment (200 mg/kg) daily for 28 days, significantly (p <0.01) inhibited (63.18 % or 83.27 %) the BChE and AChE (76.70 % or 86.19 %) activities in the brain

respectively, (Figure 5a). As mentioned above in this study, STZ exhibited an insulin deficiency, therefore, the stimulatory effect of insulin actions on protein synthesis may be disrupted, thus leading to neurological disorders associated with cognitive dysfunction [108]. The STZ gives rise to a significant increase in the AChE activity, an indicative of declining cholinergic system. Our conclusion above confirms the hypothesis of Suzuki and Clayton [109], mentioning that oxidative brain damage is a long-term complication, therefore it could lead to a decrease in the efficiency of cholinergic neurotransmission, due to the decrease levels of acetylcholine in the synaptic cleft of diabetic rats brain. High cholinesterase activity leads to non-degradation of ACh; a neurotransmitter that improves cognitive functions and strengthens nerve and gland cells in the brain [10]. The observed cholinesterase inhibition exhibited by BECS or metformin could prevent the rapid breakdown of ACh, making it more available for transmission of nerve impulses through neurons. A study by Mollica *et al.* [59] revealed the *in vitro* cholinesterase inhibitory activities of *Capparis*. In accordance with our hypothesis, some researchers have reported that rutin is an effective AChE and BChE inhibitor [110, 111].

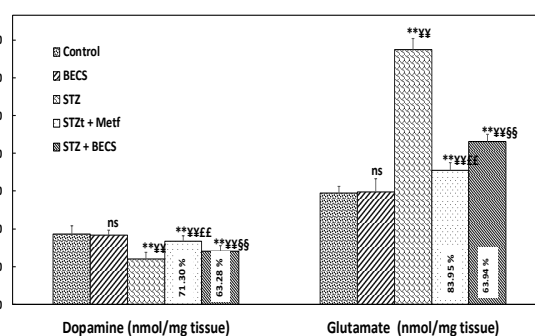


Figure 5b: The effect of *n*-BuOH extract of *Capparis spinosa* aerial parts (BECS), (200 mg/Kg) on Dopamin and Glutamate levels in the brain of STZ-treated group.

Values are mean \pm SD, (n = 12),

: Comparison of groups vis controls; (ns: no significant); (p <0.05); (** p <0.01).

¥: Comparison of groups vis BECS; (¥ p <0.05); (¥¥ p <0.01).

£: Comparison of groups vis STZ-group; (£ p <0.05); (££ p <0.01).

§: Comparison between STZ + Met-group and STZ + BECS-group; (§ p <0.05); (§§ p <0.01).

Values in box indicate percent protection. The % of protection is calculated as: 100 x (values of STZ)-values of samples/ (values of STZ)-values of control.

An earlier study had shown that MAO is a major source of oxidative stress and that its increased

activity causes dopamine deficiency in the brain [112]. Dopamine is an important neurotransmitter that is widely distributed in the central nervous system and has been explored as a biomarker in metabolic and neurological disorders [113]. Glutamate is a major cause of neuronal cell death in a number of different neurodegenerative diseases [114]. Changes in glutamic acid concentrations seem to be of interest, as this amino acid plays a role as a neurotransmitter in the brain and is involved in the brain pathogenesis [115]. A contributing factor in many such conditions is excessive glutamate release, and subsequent glutamatergic neuronal stimulation, which leads to increased ROS production, excitotoxicity and neuronal damage [116]. In the present study, we noticed that STZ treatment depleted the level of cerebral DA (35.91 ± 4.2 ng/mg tissue); ($P < 0.01$) compared to control group (55.81 ± 6.5 ng/mg tissue) (Figure 5, b), but increased the glutamate level (202.8 ± 10.6 nmol/mg tissue; ($P < 0.01$) in cerebral tissues at the end of the study, as compared with control group (88.33 ± 5.4 nmol/mg tissue) (Figure, 5 b). Treatment with BECS resulted in significant increase in DA level (67.73 % $P < 0.01$) and decrease in glutamate (63.94 %; $P < 0.01$), metformin-treatment resulted in similar effects (71.3 %; 83.95 %) respectively (Figure, 5 b). The increased inhibition of AChE and BChE activities, increased DA level and decreased glutamate after treatment with 200 mg/kg BECS extract, could be attributed to the significant amounts of its phytochemical composition, especially polyphenolic compounds (Table 2), which have been reported to exhibit cholinesterase inhibiting activities. This is consistent with the report by Rahimi *et al.* [22] which shows *C. spinosa* (100 and 300 mg/kg) as a modulator of behavioral and biochemical parameters, Mohebbi *et al.* [23] demonstrated the effects of *C. spinosa* on amyloidogenesis-related genes in A β -injected rat, Turgut *et al.* [117] showed that 100 and 200 mg/kg of *C. spinosa* improve cognitive impairments by D-galactose.

3.5. Effect of BECS on Glutathione and Glutathione-metabolizing enzymes in STZ-animals

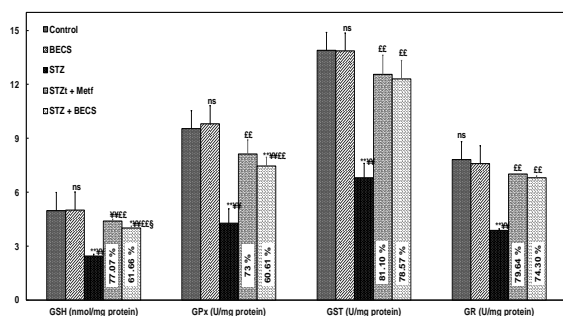


Figure 6: The effect of *n*-BuOH extract of *Capparis spinosa* aerial parts (BECS)(200 mg/Kg) on Glutathione-metabolizing enzymes in the brain of STZ-treated group.

Values are mean \pm SD, (n = 12),

: Comparison of groups vis controls; (ns: no significant); ($p < 0.05$); (** $p < 0.01$).

‡: Comparison of groups vis BECS; (‡ $p < 0.05$); (‡‡ $p < 0.01$).

£: Comparison of groups vis STZ-group; (£ $p < 0.05$); (££ $p < 0.01$).

§: Comparison between STZ + Met-group and STZ + BECS-group; (§ $p < 0.05$); (§§ $p < 0.01$).

Values in box indicate percent protection. The % of protection is calculated as: $100 \times (\text{values of STZ}) - \text{values of samples} / (\text{values of STZ}) - \text{values of control}$.

Streptozotocin is an unstable molecule that accumulates in pancreatic β -cells and breaks down into carbonium radicals; highly reactive carboxylic radicals produce direct and indirect toxic effects on pancreatic islet cells by increasing the ROS formation [118]. Several investigations have shown that STZ enters the pancreatic β -cells by glucose protein-2 transporter and disrupts the balance between antioxidant and oxidant systems damaging the insulin-producing islet β -cells and inducing the progression of diabetes [119, 120]. Reduction of endogenous antioxidant defense system can promote free radical formation, degradation of GSH-dependent antioxidant defense system and sequential alteration of cellular redox balance [121]. In the current study, STZ-treatment clearly depleted brain GSH level and reduced the GSH-related enzymes as evidenced by the decline in the GSH, GST, GR, and GPx levels ((Figure 6). Treatment of rats with 200 mg/kg of BECS efficacy restored the GSH level and GSH-system enzymes towards normal levels. A marked response (61.66 %) of GSH was observed in the brain of BECS-STZ treated rats as compared to metformin treatment (70.07 %). Treatment with *C. spinosa* reversed (60.61 %) GPx, (78.57 %) GST, and GR (74.30 %) levels. The efficacy of BECS was comparable to that of metformin in restoring GPx (73 %), GST (81.10 %) and GR (79.64 %) (Figure 6).

Glutathione which is a tripeptide of glutamate, cysteine and glycine, occurring in neurons at concentrations of 0.2–2 mM [122], is a major antioxidant and redox regulator in cells [123]. In addition to its essential roles in redox homeostasis, it functions as cofactors for a multitude of enzymes [124]. Persson *et al.* [125] showed that glutathione synthesis was directly related to microglial glutamate uptake and the release of glutamate metabolites. Barger *et al.* [126] showed that the depletion of glutathione levels due to oxidative stress is linked to microglial glutamate release. And that in addition to

its support of antioxidant function, the glutathione cycle also serves as a reservoir of intracellular neural glutamate [127]. Several studies have hypothesized that glutathione synthesis is directly dependent on glucose metabolism, which is correlates with a decrease in the content of glutamate precursor of glutathione precursor [128, 129]. Another possible explanation for the loss of brain GSH, is that glutamate affects its level, where the high extracellular concentration of glutamate blocks the uptake of cysteine (an essential amino acid for sustained glutathione synthesis). Consequently, this blockade eventually decreases glutathione concentration [130]. Our above findings on glutamate levels under STZ treatment, confirm that depletion of glutathione levels under oxidative stress may be related to microglial glutamate release. The restoration effect of the BECS on the glutathione, and glutathione-metabolizing enzymes, could be due to the antioxidant properties of the compounds contained in BECS that enhance the ROS elimination. The over expression of the brain glutathione antioxidant system in BECS-treated rats suggests that this potential antioxidant defense may be reactivated by Plant phenolic compounds such as flavonoid [131]. The whole body of data collected in the past decades on the chemical composition of *C. spinosa*, has led to evidence that the plant is a rich source of bioactive compounds, mostly polyphenolic compounds [21]. Moreover, as mentioned above in the current study from the LC-MS/MS data, BECS is rich in many different phenolic antioxidants, among which the most abundant are; chlorogenic acid, rutin and a small amount of other compounds (quercetin, *p*-hydroxy benzoic acid, caffeic acid, gentsic acid, gallic acid, kaempferol and rosmarinic acid; which have property of antioxidant activities [132-134].

3.6. Effect of BECS on NO and pro-inflammatory cytokines in the brain

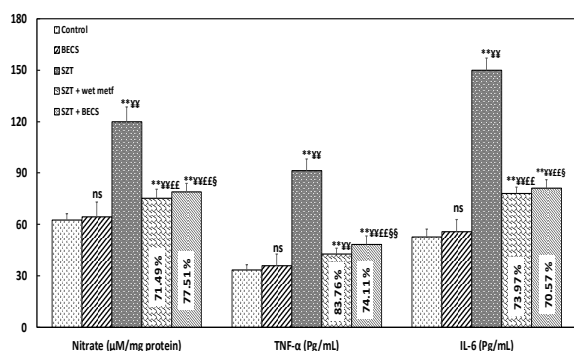


Figure 7: The effect of *n*-BuOH extract of *Capparis spinosa* aerial parts (BECS)(200 mg/Kg) on inflammatory parameters in the brain of STZ-treated group.

Values are mean \pm SD, (n = 12),

: Comparison of groups vis controls; (ns: no significant); (p <0.05); (** p <0.01).

¥: Comparison of groups vis BECS; (¥ p <0.05); (¥¥ p <0.01).

£: Comparison of groups vis STZ-group; (£ p <0.05); (££ p <0.01).

§: Comparison between STZ + Met-group and STZ + BECS-group; (§ p <0.05); (§§ p <0.01).

Values in box indicate percent protection. The % of protection is calculated as: $100 \times (\text{values of STZ}) - \text{values of samples} / (\text{values of STZ}) - \text{values of control}$.

DM propagation is associated with a chain of molecular events, including inflammation which has been shown to be a key factor in this disease [135]. Chronic hyperglycemic conditions could affect the neuronal metabolism of astrocytes and microglia which have been shown to elaborate inflammatory cytokines in the brain [136]. The diabetogenic and cytotoxic effects of STZ are associated with the production of free radicals causing oxidative damage to cells and also coupled with propagation of diabetes-linked autoimmunity [137, 138]. High reactivity of ROS exerts toxic effects on pancreatic acinar cells and is linked to the production of inflammatory mediators [139]. There is a strong body of evidence that hyperglycemia induces the activation of microglia and astrocyte which correlates with increased expression of inflammatory and oxidative stress markers such as TNF- α , INOS, ROS, and other pro-inflammatory cytokines [140]. TNF- α is one of the first pro-inflammatory biomarkers to be associated with the pathogenesis of insulin resistance and T2D-related glucose abnormalities and plays an important role in ROS production [141]. IL-6 is also produced in microglia, astrocytes and neurons, and it plays a pivotal role in various CNS functions such as induction and modulation of astrocyte reactivation, pathological inflammation and neuroprotection [142]. To examine if the BECS treatment exerted an anti-inflammatory effect, we analyzed the relative abundance of some pro-inflammatory cytokines such as IL-6 and TNF- α , (Figure 7). Regarding the levels of IL-6 and TNF- α , it was found that the STZ-group had a significantly (p <0.01) high level (149.8 ± 7.1 ; 91.41 ± 6.8 pg/mL) compared to normal control levels (p <0.01) 52.6 ± 4.8 ; 33.38 ± 3.1 pg/mL; (p <0.01) respectively (Figure 7). Meanwhile, treatment of diabetic rats with BECS or metformin significantly (p <0.01), reduced IL-6 (70.57 %) and TNF- α , (74.11 %) levels as compared to metformin-rats (73.97 %; 83.76 %; p < 0.01) respectively. Our results corroborate those mentioned, increased of IL-6, TNF- α have been reported in T2DM [143, 144]. In addition to the mechanisms mentioned above, another important mechanism by which β cells are partially destroyed is the formation of nitric oxide free radicals [145]. It has been proposed that the NO molecule

contributes to STZ-induced DNA damage and causes excess NO production through the pathological activation of iNOS which results in neurodegeneration and memory loss [146]. The treatment of diabetic rats with either BECS or metformin significantly ($p < 0.01$), reduced NO (77.51 %; 71.49 %) levels respectively. Nevertheless, excessive nitrite levels in brain leads to neurodegeneration [147] and it also potentiates NO production in astrocytes [145]. Interestingly, our findings showed that the groups receiving the 200 mg/kg dose of BECS extract had lower levels of inflammatory cytokines (IL-6 and TNF- α) throughout the brain. In this regard, *C. spinosa* has been reported to be used as therapeutic traditional medicine to relieve various ailments [148, 149] such as rheumatism, rheumatoid arthritis and gout [150]. These results were consistent with other studies related to the anti-inflammatory effect of different types of *C. spinosa*, Moutia et al. [151] showed that aerial part of *C. spinosa* (100 and 300 mg/kg) up-regulates the gene expression of an anti-inflammatory cytokine interleukin (IL)-4, Mohebbali et al. [23] revealed that *C. spinosa* down-regulated the genes involved in inflammation. In the current study, the anti-inflammatory effect of BECS could be due to its richness in polyphenols identified by LC-MS/MS analysis. The most abundant and potent agents reported were chlorogenic acid and rutin, have been reported to be the major anti-inflammatory agents [152]. Possible synergistic interactions of all contained phenolic compounds have shown anti-inflammatory properties.

Conclusion

Altogether, the results presented here demonstrate, for the first time, that treatment with *n*-BuOH extract of *Capparis spinosa* (BECS) can prevent the DM-neuropathy induced with STZ, that could be mostly attributed to different mechanisms, such as reducing the blood glucose, improvement in the serum and brain insulin, the serum C-peptide, and the serum CK-BB levels. BECS was also successful in restricting HbA1c, resurrection of neuronal membrane integrity through restoration of LDH, attenuation of markers of brain dysfunction (AChE and BChE activities; glutamate level) and increased dopamine level. Moreover, the effectiveness of the BECS treatment restored GSH level and GSH-system enzymes. And successfully regulated the diabetogenic production of the inflammatory mediators IL-6, TNF- α , NO and MPO. From all of these results, the neuro-protective effect of BECS could be due to its richness in polyphenols identified by LC-MS/MS analysis, mainly chlorogenic acid and rutin, as well as the synergistic interactions of all the constituents.

Abbreviations

DN: Diabetic neuropathy, STZ: streptozotocin, BECS: *n*-BuOH extract of *Capparis spinosa*, AGE: Glycation End Products, LC-MS/MS: Liquid-chromatography tandem mass spectrometry, SRB: Sulforhodamine B, Met :metformin CK-BB: Creatine Kinase BB, TNF- α : *Tumor Necrosis factor*, IL-6: Interleukin-6, MDA: malondialdehyde, HbA1c: *hemoglobin A1c*, AChE : Aetylcholinesterase , BChE: Butyrylcholinesterase , LDH: Lactate dehydrogenase ,GST: Glutathione-S-transferase, GPx: Glutathione peroxidase ,GR:Glutathione reductase, MAO: Monoamine oxidase, NO: Nitric Oxide

Disclosure statement

No potential conflict of interest was reported by the author(s).

Funding and Acknowledgements

We thank Algerian government for financial support. The project was funded by the Ministry of Higher Education and Scientific Research of Algeria. Grant n°: D01N01UN250120190002

4. References

- [1] Lotfy, M., Adeghate, J., Kalasz, H., Singh, J., & Adeghate, E. Chronic complications of diabetes mellitus: a mini review. *Curr Diabetes Rev*, 13(1), 3-10, 2017, doi.org/10.2174/1573399812666151016101622
- [2] Giannoulaki, P., Kotzakioulafi, E., Chourdakis, M., Hatzitolios, A., & Didangelos, T. Impact of *Crocus sativus L.* on metabolic profile in patients with diabetes mellitus or metabolic syndrome: A systematic review. *Nutrients*, 12(5), 1424, 2020, doi.org/10.3390%2Fnu12051424
- [3] Figueroa-Romero, C., Sadidi, M., & Feldman, E. L. Mechanisms of disease: the oxidative stress theory of diabetic neuropathy. *Rev Endocr Metab Disord*, 9(4), 301-314, 2008, doi.org/10.1007/s11154-008-9104-2
- [4] Liu, S. Y., Chen, L., Li, X. C., Hu, Q. K., & He, L. J. *Lycium barbarum* polysaccharide protects diabetic peripheral neuropathy by enhancing autophagy via mTOR/p70S6K inhibition in Streptozotocin-induced diabetic rats. *J Chem Neuroanat*, 89, 37-42, 2018, doi.org/10.1016/j.jchemneu.2017.12.011
- [5] Shinohara, M., & Sato, N. The roles of apolipoprotein E, lipids, and glucose in the pathogenesis of Alzheimer's disease. *Diabetes Mellitus*, 85-101, 2019, doi.org/10.1007/978-981-13-3540-2_5
- [6] Sivitz, W. I., & Yorek, M. A. Mitochondrial dysfunction in diabetes: from molecular mechanisms to functional significance and therapeutic opportunities. *Antioxid Redox*

- Signal*, 12(4), 537-577, 2010, doi.org/10.1089/ars.2009.2531
- [7] Gratas-Delamarche, A., Derbré, F., Vincent, S., & Cillard, J. Physical inactivity, insulin resistance, and the oxidative-inflammatory loop. *Free Radic Res*, 48(1), 93-108, 2014, doi.org/10.3109/10715762.2013.847528
- [8] Perez Gutierrez, R. M., & de Jesus Martinez Ortiz, M. Beneficial effect of *Azadirachta indica* on advanced glycation end-product in streptozotocin-diabetic rat. *Pharm Biol*, 52(11), 1435-1444, 2014, doi.org/10.3109/13880209.2014.895389
- [9] Vázquez, M. D., Sánchez-Rodríguez, F., Osuna, E., Diaz, J., Cox, D. E., Pérez-Cárceles, M. D., ... & Pounder, D. J. Creatine kinase BB and neuron-specific enolase in cerebrospinal fluid in the diagnosis of brain insult. *Am J Forensic Med Pathol*, 16(3), 210-214, 1995, doi.org/10.1097/00000433-199509000-00004.
- [10] Sonkusare, S., Srinivasan, K., Kaul, C., & Ramarao, P. Effect of donepezil and lercanidipine on memory impairment induced by intracerebroventricular streptozotocin in rats. *Life Sci*, 77(1), 1-14, 2005, doi.org/10.1016/j.lfs.2004.10.036
- [11] Hamed, S. A. Brain injury with diabetes mellitus: evidence, mechanisms and treatment implications. *Expert Rev Clin Pharmacol*, 10(4), 409-428, 2017, doi.org/10.1080/17512433.2017.1293521
- [12] Dai, Y., & A Kamal, M. Fighting Alzheimer's disease and type 2 diabetes: pathological links and treatment strategies. *CNS Neurol Disord Drug Targets*, 13(2), 271-282, 2014, doi.org/10.2174/18715273113126660134
- [13] Adler, B. L., Yarchoan, M., Hwang, H. M., Louneva, N., Blair, J. A., Palm, R., ... & Casadesus, G. Neuroprotective effects of the amylin analogue pramlintide on Alzheimer's disease pathogenesis and cognition. *Neurobiol Aging*, 35(4), 793-801, 2014, doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2013.10.076
- [14] Salazar-García, M., & Corona, J. C. The Use of Natural Compounds as a Strategy to Counteract Oxidative Stress in Animal Models of Diabetes Mellitus. *Int J Mol Sci*, 22(13), 7009, 2021, doi.org/10.3390/ijms22137009
- [15] Nabavi, S. F., Maggi, F., Daglia, M., Habtemariam, S., Rastrelli, L., & Nabavi, S. M. Pharmacological effects of *Capparis spinosa* L. *Phytother Res*, 30(11), 1733-1744, 2016, doi.org/10.1002/ptr.5684
- [16] Arrar, L., Benzidane, N., Krache, I., Charef, N., Khennouf, S., & Baghiani, A. Comparison between polyphenol contents and antioxidant activities of different parts of *Capparis spinosa* L. *Pharmacogn Commun*, 3(2), 70, 2013, doi.org/10.5530/pc.2013.2.14
- [17] Zhou, H., Jian, R., Kang, J., Huang, X., Li, Y., Zhuang, C., ... & Wu, X. Anti-inflammatory effects of caper (*Capparis spinosa* L.) fruit aqueous extract and the isolation of main phytochemicals. *J Agric Food Chem*, 58(24), 12717-12721, 2010, doi.org/10.1021/jf1034114
- [18] Zhu, X., Yang, Y., Gao, W., Jiang, B., & Shi, L. *Capparis spinosa* alleviates DSS-induced ulcerative colitis via regulation of the gut microbiota and oxidative stress. *J Evid Based Complementary Altern Med*, 2021, 2021, doi.org/10.1155/2021/1227876
- [19] Kazemian, M., Abad, M., reza Haeri, M., Ebrahimi, M., & Heidari, R. Anti-diabetic effect of *Capparis spinosa* L. root extract in diabetic rats. *Avicenna J Phytomed*, 5(4), 325, 2015.
- [20] Mollica, A., Zengin, G., Locatelli, M., Stefanucci, A., Mocan, A., Macedonio, G., ... & Novellino, E. Anti-diabetic and anti-hyperlipidemic properties of *Capparis spinosa* L.: in vivo and in vitro evaluation of its nutraceutical potential. *J Funct Foods*, 35, 32-42, 2017, doi.org/10.1016/j.jff.2017.05.001
- [21] Vahid, H., Rakhshandeh, H., & Ghorbani, A. Antidiabetic properties of *Capparis spinosa* L. and its components. *Biomed Pharmacother*, 92, 293-302, 2017, doi.org/10.1016/j.biopha.2017.05.082
- [22] Rahimi, V. B., Rajabian, A., Rajabi, H., Vosough, E. M., Mirkarimi, H. R., Hasanpour, M., ... & Askari, V. R. The effects of hydro-ethanolic extract of *Capparis spinosa* (*C. spinosa*) on lipopolysaccharide (LPS)-induced inflammation and cognitive impairment: evidence from in vivo and in vitro studies. *J Ethnopharmacol*, 256, 112706, 2020, doi.org/10.1016/j.jep.2020.112706
- [23] Mohebali, N., Shahzadeh Fazeli, S. A., Ghafouri, H., Farahmand, Z., MohammadKhani, E., Vakhshiteh, F., ... & Sanati, M. H. Effect of flavonoids rich extract of *Capparis spinosa* on inflammatory involved genes in amyloid-beta peptide injected rat model of Alzheimer's disease. *Nutr neurosci*, 21(2), 143-150, 2018, doi.org/10.1080/1028415X.2016.1238026
- [24] Germano, M. P., De Pasquale, R., D'angelo, V., Catania, S., Silvari, V., & Costa, C. Evaluation of extracts and isolated fraction from *Capparis spinosa* L. buds as an antioxidant source. *J agric food chem*, 50(5), 1168-1171, 2002, doi.org/10.1021/jf010678d
- [25] Stefanucci, A., Zengin, G., Locatelli, M., Macedonio, G., Wang, C. K., Novellino, E., ... & Mollica, A. Impact of different geographical locations on varying profile of bioactives and

- associated functionalities of caper (*Capparis spinosa* L.). *Food Chem Toxicol*, 118, 181-189, 2018, doi.org/10.1016/j.fct.2018.05.003
- [26] Quézel, P., Santa, S., & Schotter, O. Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales-v. 1-2, 1962.
- [27] Zater, H., Huet, J., Fontaine, V., Benayache, S., Stévigny, C., Duez, P., & Benayache, F. Chemical constituents, cytotoxic, antifungal and antimicrobial properties of *Centaurea diluta* Ait. subsp. algeriensis (Coss. & Dur.) Maire. *Asian Pac J trop med*, 9(6), 554-561, 2016, doi.org/10.1016/j.apjtm.2016.04.016
- [28] Harborne JB. *Phytochemical Methods. A guide to modern techniques of plant analysis*, 3rd Ed. Chapman and Hall, London, pp235, 1998.
- [29] Khandelwal KR. Preliminary phytochemical screening, in: *Practical Pharmacognosy Techniques and Experiments*. 8th ed. Nirali Publication, Pune, 149-156, 2001.
- [30] Wolfe, K., Wu, X., & Liu, R. H. Antioxidant activity of apple peels. *J Agric Food Chem*, 51(3), 609-614, 2003, doi.org/10.1021/jf020782a
- [31] Ordonez, A. A. L., Gomez, J. D., & Vattuone, M. A. Antioxidant activities of *Sechium edule* (Jacq.) Swartz extracts. *Food chem*, 97(3), 452-458, 2006, doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.05.024
- [32] Vichai, V., & Kirtikara, K. Sulforhodamine B colorimetric assay for cytotoxicity screening. *Nat Protoc*, 1(3), 1112-1116, 2006, doi.org/10.1038/nprot.2006.179
- [33] Kilkenny, C., Browne, W., Cuthill, I. C., Emerson, M., & Altman, D. G. Animal research: reporting in vivo experiments: the ARRIVE guidelines. *Br J Pharmacol*, 160(7), 1577, 2010, doi.org/10.3390/ani4010035
- [34] Oghbaei, H., Asl, N. A., Sheikhzadeh, F., & Alipour, M. R. The effect of regular moderate exercise on miRNA-192 expression changes in kidney of streptozotocin-induced diabetic male rats. *Adv Pharm Bull*, 5(1), 127, 2015, doi.org/10.5681%2Fapb.2015.018
- [35] Putta, S., & Kilari, E. K. A review on methods of estimation of advanced glycation end products. *World J Pharm. Res*, 4(9), 689-699, 2015.
- [36] Ohkawa, H., Ohishi, N., & Yagi, K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem*, 95(2), 351-358, 1979, doi.org/10.1016/0003-2697(79)90738-3
- [37] Deshmukh, R., Sharma, V., Mehan, S., Sharma, N., & Bedi, K. L. Amelioration of intracerebroventricular streptozotocin induced cognitive dysfunction and oxidative stress by vinpocetine—a PDE1 inhibitor. *Eur J Pharmacol*, 620(1-3), 49-56, 2009, doi.org/10.1016/j.ejphar.2009.08.027
- [38] Ellman, G. L., Courtney, K. D., Andres Jr, V., & Featherstone, R. M. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem pharmacol*, 7(2), 88-95, 1961, doi.org/10.1016/0006-2952(61)90145-9
- [39] Jońca, J., Żuk, M., Wasąg, B., Janaszak-Jasiecka, A., Lewandowski, K., Wielgomas, B., ... & Jasiecki, J. New insights into butyrylcholinesterase activity assay: serum dilution factor as a crucial parameter. *PLoS One*, 10(10), e0139480, 2015, doi.org/10.1371/journal.pone.0139480
- [40] Ciarlone, A. E. Further modification of a fluorometric method for analyzing brain amines. *Microchem J*, 23(1), 9-12, 1978, doi.org/10.1016/0026-265X(78)90034-6
- [41] Lund, P. UV-method with glutaminase and glutamate dehydrogenase. *Methods of Enzymatic Analysis*, Vol. VIII, 357, 1984.
- [42] Sedlak, J. Changes of glutathione and protein bound SH-groups concentration in rat adrenals under acute and repeated stress. *Endocrinol Exp*, 16(2), 103-109, 1982.
- [43] Habig, W. H., Pabst, M. J., & Jakoby, W. B. Glutathione S-transferases: the first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J Biol Chem*, 249(22), 7130-7139, 1974, doi.org/10.1016/S0021-9258(19)42083-8
- [44] Rotruck, J. T., Pope, A. L., Ganther, H. E., Swanson, A. B., Hafeman, D. G., & Hoekstra, W. Selenium: biochemical role as a component of glutathione peroxidase. *Science*, 179(4073), 588-590, 1973, doi.org/10.1126/science.179.4073.588
- [45] Moss, D. W., & Butterworth, P. J. *Enzymology and medicine*. Pitman Medical, 1974.
- [46] Classics Lowry, O., Rosebrough, N., Farr, A., & Randall, R. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem*, 193(1), 265-75, 1951.
- [47] Berkels, R., Purol-Schnabel, S., & Roesen, R. Measurement of nitric oxide by reconversion of nitrate/nitrite to NO. In *Nitric Oxide Protocols* (pp. 1-8), Humana Press, 2004.
- [48] Yang, T., Liu, Y. Q., Wang, C. H., & Wang, Z. T. Advances on investigation of chemical constituents, pharmacological activities and clinical applications of *Capparis spinosa*. *Zhongguo Zhong yao za zhi = China journal of Chinese materia medica*, 33(21), 2453-2458, 2008.
- [49] Rajesh, P., Latha, S., Selvamani, P., & Kannan, V. R. Phytochemical screening and toxicity studies on the leaves of *Capparis sepiaria* Linn. (Capparidaceae). *JBCP*, 1(1), 2010,

- [50] Burri, S. C., Ekholm, A., Håkansson, Å., Tornberg, E., & Rumpunen, K. Antioxidant capacity and major phenol compounds of horticultural plant materials not usually used. *J Funct. Foods*, 38, 119-127, 2017, doi.org/10.1016/j.jff.2017.09.003
- [51] Boudries, H., Nabet, N., Chougui, N., Souagui, S., Loupassaki, S., Madani, K., & Dimitrov, K. Optimization of ultrasound-assisted extraction of antioxidant phenolics from *Capparis spinosa* flower buds and LC-MS analysis. *J Food Meas Charact*, 13(3), 2241-2252, 2019, doi.org/10.1007/s11694-019-00144-1
- [52] Farhangi, A., Mohammadi, A., Zamani, F., Hemati, H., Nosrati, F., Nazari, N., & Nazari, H. Antidiabetic activity of water extract of *Capparis spinosa* on STZ-induced diabetics Rat. *J Adv Pharm Educ Res*, 9(S2), 149, 2019.
- [53] Rajhi, I., Hernandez-Ramos, F., Abderrabba, M., Ben Dhia, M. T., Ayadi, S., & Labidi, J. Antioxidant, Antifungal and Phytochemical Investigations of *Capparis spinosa* L. *J Agric*, 11(10), 1025, 2021, doi.org/10.3390/agriculture11101025
- [54] Assadi, S., Shafiee, S. M., Erfani, M., & Akmal, M. Antioxidative and antidiabetic effects of *Capparis spinosa* fruit extract on high-fat diet and low-dose streptozotocin-induced type 2 diabetic rats. *Biomed Pharmacother*, 138, 111391, 2021, doi.org/10.1016/j.biopha.2021.111391
- [55] Saleem, H., Khurshid, U., Sarfraz, M., Ahmad, I., Alamri, A., Anwar, S., ... & Ahemad, N. Investigation into the biological properties, secondary metabolites composition, and toxicity of aerial and root parts of *Capparis spinosa* L.: An important medicinal food plant. *Food Chem Toxicol*, 155, 112404, 2021, doi.org/10.1016/j.fct.2021.112404
- [56] Kirkan, B., Ceylan, O., SARIKÜRKCÜ, C., & Bektas, T. E. P. E. Phenolic profile, antioxidant and enzyme inhibitory activity of the ethyl acetate, methanol and water extracts of *Capparis spinosa* L. *Int J Sec Metabolite*, 8(4), 337-351, 2021, doi.org/10.21448/ijsm.981149
- [57] Boumerfeg, S., Ameni, D., Adjad, M., Djarmouni, M., Khennouf, S., Arrar, L., & Baghiani, A. Antihymolytic and Antioxidant Effects of Medicinal Plant *Capparis spinosa* L. *J Life Sci*, 6(6), 637, 2012.
- [58] Rajhi, I., Ben Dhia, M. T., Abderrabba, M., Ouzari-Hadda, I., & Ayadi, S. Phytochemical screening, in vitro antioxidant and antibacterial activities of methanolic extracts of *Capparis spinosa* L. different parts from Tunisia. *J Mater Environ Sci*, 10(3), 234-43, 2019.
- [59] Mollica, A., Stefanucci, A., Macedonio, G., Locatelli, M., Luisi, G., Novellino, E., & Zengin, G. Chemical composition and biological activity of *Capparis spinosa* L. from Lipari Island. *S Afr J Bot*, 120, 135-140, 2019, doi.org/10.1016/j.sajb.2018.02.397
- [60] Wiese, S., Wubshet, S. G., Nielsen, J., & Staerk, D. Coupling HPLC-SPE-NMR with a microplate-based high-resolution antioxidant assay for efficient analysis of antioxidants in food-Validation and proof-of-concept study with caper buds. *Food Chem*, 141(4), 4010-4018, 2013, doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.06.115
- [61] Tagnaout, I., Zerkani, H., Mahjoubi, M., Bourakhouadar, M., Alistiqsa, F., Bouzoubaa, A., & Zair, T. Phytochemical study, antibacterial and antioxidant activities of extracts of *Capparis spinosa* L. *Int J Pharmacogn Phytochem Res*, 8(12), 1993-2005, 2016.
- [62] Jiménez-López, J., Ruiz-Medina, A., Ortega-Barrales, P., & Llorent-Martínez, E. J. Phytochemical profile and antioxidant activity of caper berries (*Capparis spinosa* L.): Evaluation of the influence of the fermentation process. *Food Chem*, 250, 54-59, 2018, doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.01.010
- [63] Aksay, O., Selli, S., & Kelebek, H. LC-DAD-ESI-MS/MS-based assessment of the bioactive compounds in fresh and fermented caper (*Capparis spinosa*) buds and berries. *Food Chem*, 337, 127959, 2021, doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127959
- [64] Huseini, H. F., Hasani-Rnjbar, S., Nayebi, N., Heshmat, R., Sigaroodi, F. K., Ahvazi, M., ... & Kianbakht, S. *Capparis spinosa* L. (Caper) fruit extract in treatment of type 2 diabetic patients: a randomized double-blind placebo-controlled clinical trial. *Complement Ther Med*, 21(5), 447-452, 2013, doi.org/10.1016/j.ctim.2013.07.003
- [65] Meddour, A., Yahia, M., & Hambaba, L. Safety evaluation and analgesic studies of defatted methanol extract of *Capparis spinosa* L. (Capparidaceae) fruits and roots bark in albino wistar rats. *J Biol Res - Boll della Soc Ital di Biol Sper*, 92(1), 2019, doi.org/10.4081/jbr.2019.7456
- [66] Karanayil R, S., Barij N, S., & Aiyolu, R. (2011). Protective effects of *Capparis zeylanica* linn. leaf extract on gastric lesions in experimental animals. *Avicenna J Med Biotech*, 3, 31-5, 2011.
- [67] Song, F., Xue, Y., Dong, D., Liu, J., Fu, T., Xiao, C., ... & Li, Z. Insulin restores an altered corneal epithelium circadian rhythm in mice with streptozotocin-induced type 1 diabetes. *Sci Rep*, 6(1), 1-9, 2016, doi.org/10.1038%2Fsrep32871

- [68] Mahmoodi, M., Karimi, M., Hoseini, F., Heydari, R., Salehi, M., & Yousefi, A. Effect of hydroalcoholic extract of *Capparis spinosa* fruit on blood sugar and lipid profile of diabetic and normal rats. *Zahedan J Res Med Sci*, 15(11), 2013.
- [69] Layam, A., & Reddy, C. L. K. Antidiabetic property of spirulina. *Diabetes Croat*, 35(2), 29-33, 2006.
- [70] Zhang, Y., Wu, L., Ma, Z., Cheng, J., & Liu, J. Anti-diabetic, anti-oxidant and anti-hyperlipidemic activities of flavonoids from corn silk on STZ-induced diabetic mice. *Molecules*, 21(1), 7, 2015, doi.org/10.3390/molecules21010007
- [71] Eidi, A., Eidi, M., & Esmaeili, E. Antidiabetic effect of garlic (*Allium sativum* L.) in normal and streptozotocin-induced diabetic rats. *Phytomed*, 13(9-10), 624-629, 2006, doi.org/10.1016/j.phymed.2005.09.010
- [72] Hallschmid, M., & Schultes, B. Central nervous insulin resistance: a promising target in the treatment of metabolic and cognitive disorders?. *Diabetologia*, 52(11), 2264-2269, 2009, doi.org/10.1007/s00125-009-1501-x
- [73] Zhou, X., Zhang, F., Hu, X., Chen, J., Wen, X., Sun, Y., ... & Song, Y. Inhibition of inflammation by astaxanthin alleviates cognition deficits in diabetic mice. *Physiol Behav*, 151, 412-420, 2015, doi.org/10.1016/j.physbeh.2015.08.015
- [74] Strachan, M. W. J., Frier, B. M., & Deary, I. J. Type 2 diabetes and cognitive impairment. *Diabet Med: a journal of the British Diabetic Association*, 20(1), 1-2, 2003, doi.org/10.1046/j.1464-5491.2003.00855.x
- [75] Dai, J., Vrensen, G. F., & Schlingemann, R. O. Blood-brain barrier integrity is unaltered in human brain cortex with diabetes mellitus. *Brain Res*, 954(2), 311-316, 2002, doi.org/10.1016/S0006-8993(02)03294-8
- [76] Łabuzek, K., Suchy, D., Gabryel, B., Bielecka, A., Liber, S., & Okopień, B. Quantification of metformin by the HPLC method in brain regions, cerebrospinal fluid and plasma of rats treated with lipopolysaccharide. *Pharmacol Rep*, 62(5), 956-965, 2010, doi.org/10.1016/S1734-1140(10)70357-1
- [77] Bowman, P., McDonald, T. J., Shields, B. M., Knight, B. A., & Hattersley, A. T. Validation of a single-sample urinary C-peptide creatinine ratio as a reproducible alternative to serum C-peptide in patients with Type 2 diabetes. *Diabet Med*, 29(1), 90-93, 2012, doi.org/10.1111/j.1464-5491.2011.03428.x
- [78] Gottsäter, A., Ahmed, M., Fernlund, P., & Sundkvist, G. (1999). Autonomic neuropathy in Type 2 diabetic patients is associated with hyperinsulinaemia and hypertriglyceridaemia. *Diabet Med*, 16(1), 49-54. doi.org/10.1046/j.1464-5491.1999.00001.x
- [79] Hope, S. V., Knight, B. A., Shields, B. M., Strain, W. D., Hattersley, A. T., Choudhary, P., & Jones, A. G. Low c-peptide is associated with high glycaemic variability and hypoglycaemia in insulin-treated patients with type 2 diabetes. *Diabet Med*, 33(144), 18, 2016.
- [80] Sari, R., & Balci, M. K. Relationship between C peptide and chronic complications in type-2 diabetes mellitus. *J Natl Med*, 97(8), 1113, 2005.
- [81] Saisho, Y. β -cell dysfunction: Its critical role in prevention and management of type 2 diabetes. *World J diabetes*, 6(1), 109, 2015, doi.org/10.4239%2Fwj.d.v6.i1.109
- [82] Leighton, E., Sainsbury, C. A., & Jones, G. C. A practical review of C-peptide testing in diabetes. *Diabetes Ther*, 8(3), 475-487, 2017, doi.org/10.1007/s13300-017-0265-4
- [83] Choudhary, M. I., Adhikari, A., Rasheed, S., Marasini, B. P., Hussain, N., & Kaleem, W. A. Cyclopeptide alkaloids of *Ziziphus oxyphylla* Edgew as novel inhibitors of α -glucosidase enzyme and protein glycation. *Phytochem lett*, 4(4), 404-406, 2011.
- [84] Zheng, T., Shu, G., Yang, Z., Mo, S., Zhao, Y., & Mei, Z. Antidiabetic effect of total saponins from *Entada phaseoloides* (L.) Merr. in type 2 diabetic rats. *J ethnopharmacol*, 139(3), 814-821, 2012, doi.org/10.1016/j.jep.2011.12.025
- [85] Patel, D. K., Kumar, R., Laloo, D., & Hemalatha, S. Diabetes mellitus: an overview on its pharmacological aspects and reported medicinal plants having antidiabetic activity. *Asian Pac J Trop Biomed*, 2(5), 411-420, 2012, doi.org/10.1016/S2221-1691(12)60067-7
- [86] Singh, R., Kaur, N., Kishore, L., & Gupta, G. K. Management of diabetic complications: a chemical constituents based approach. *J Ethnopharmacol*, 150(1), 51-70, 2013, doi.org/10.1016/j.jep.2013.08.051
- [87] Xing, L. V., Gao-Hong, L. V., Guo-Ying, D. A. I., Hong-Mei, S. U. N., & Hui-Qin, X. U. Food-advanced glycation end products aggravate the diabetic vascular complications via modulating the AGEs/RAGE pathway. *Chinese J Natl Med*, 14(11), 844-855, 2016, doi.org/10.1016/S1875-5364(16)30101-7
- [88] Lyons, T. J., & Basu, A. Biomarkers in diabetes: hemoglobin A1c, vascular and tissue markers. *Transl Res*, 159(4), 303-312, 2012, doi.org/10.1016/j.trsl.2012.01.009

- [89] Babukumar, S., Vinothkumar, V., Sankaranarayanan, C., & Srinivasan, S. Geraniol, a natural monoterpene, ameliorates hyperglycemia by attenuating the key enzymes of carbohydrate metabolism in streptozotocin-induced diabetic rats. *Pharm Biol*, 55(1), 1442-1449, 2017, doi.org/10.1080/13880209.2017.1301494
- [90] Muruganathan, U., Srinivasan, S., & Vinothkumar, V. Antidiabetogenic efficiency of menthol, improves glucose homeostasis and attenuates pancreatic β -cell apoptosis in streptozotocin–nicotinamide induced experimental rats through ameliorating glucose metabolic enzymes. *Biomed Pharmacother*, 92, 229-239, 2017, doi.org/10.1016/j.biopha.2017.05.068
- [91] Perumal, V., Manickam, T., Bang, K. S., Velmurugan, P., & Oh, B. T. Antidiabetic potential of bioactive molecules coated chitosan nanoparticles in experimental rats. *Int J Biol Macromol*, 92, 63-69, 2016, doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.07.006
- [92] Chatterjea, M. N., & Shinde, R. Textbook of medical biochemistry. New Delhi: Jaypee Brothers, 2002.
- [93] Pari, L., & Saravanan, R. Antidiabetic effect of diasulin, a herbal drug, on blood glucose, plasma insulin and hepatic enzymes of glucose metabolism in hyperglycaemic rats. *Diabetes Obes Metab*, 6(4), 286-292, 2004, doi.org/10.1111/j.1462-8902.2004.0349.x
- [94] Khan, M., Liu, H., Wang, J., & Sun, B. Inhibitory effect of phenolic compounds and plant extracts on the formation of advanced glycation end products: A comprehensive review. *Food Res Int*, 130, 108933, 2020, doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108933
- [95] Spagnuolo, L., Della Posta, S., Fanali, C., Dugo, L., & De Gara, L. Antioxidant and antiglycation effects of polyphenol compounds extracted from hazelnut skin on advanced glycation end-products (ages) formation. *Antioxidants*, 10(3), 424, 2021, doi.org/10.3390/antiox10030424
- [96] Li, W., Liu, J., Chen, J. R., Zhu, Y. M., Gao, X., Ni, Y., ... & Ao, G. Z. Neuroprotective effects of DTIO, a novel analog of Nec-1, in acute and chronic stages after ischemic stroke. *Neurosci*, 390, 12-29, 2018, doi.org/10.1016/j.neuroscience.2018.07.044
- [97] Engstrom, M., Schott, U., Nordstrom, C. H., Romner, B., & Reinstrup, P. Increased lactate levels impair the coagulation system—a potential contributing factor to progressive hemorrhage after traumatic brain injury. *J Neurosurg Anesth*, 18(3), 200-204, 2006, doi.org/10.1097/01.ana.0000211002.63774.8a
- [98] Kumar, M., & Bansal, N. Effects of Chronic Lithium Chloride and L-Arginine Treatment on Prevention of Streptozotocin Induced Cognitive Deficits by Ellagic Acid. *Biomed Pharmacol J*, 11(1), 53-65, 2018, doi.org/10.13005/bpj/1347
- [99] Sharma, M. K., Kumar, M., & Kumar, A. Protection against mercury-induced renal damage in Swiss albino mice by *Ocimum sanctum*. *Environ Toxicol Pharmacol*, 19(1), 161-167, 2005, doi.org/10.1016/j.etap.2004.06.002
- [100] Al-Enazi, M. M. Effect of thymoquinone on malformations and oxidative stress-induced diabetic mice. *Pak J Biol Sci: PJSB*, 10(18), 3115-3119, 2007, doi.org/10.3923/pjbs.2007.3115.3119
- [101] Nehlig, A., & Coles, J. A. Cellular pathways of energy metabolism in the brain: is glucose used by neurons or astrocytes?. *Glia*, 55(12), 1238-1250, 2007, doi.org/10.1002/glia.20376
- [102] Sharma, R., Rosenberg, A., Bennett, E. R., Laskowitz, D. T., & Acheson, S. K. A blood-based biomarker panel to risk-stratify mild traumatic brain injury. *PLoS one*, 12(3), e0173798, 2017, doi.org/10.1371/journal.pone.0173798
- [103] Zhou, G., Yan, M., Guo, G., & Tong, N. Ameliorative effect of berberine on neonatally induced type 2 diabetic neuropathy via modulation of BDNF, IGF-1, PPAR- γ , and AMPK expressions. *Dose Response*, 17(3), 1559325819862449, 2019, doi.org/10.1177%2F1559325819862449
- [104] Jing, Y. H., Chen, K. H., Kuo, P. C., Pao, C. C., & Chen, J. K. Neurodegeneration in streptozotocin-induced diabetic rats is attenuated by treatment with resveratrol. *Neuroendocrinol*, 98(2), 116-127, 2013, doi.org/10.1159/000350435
- [105] Duarte, J. M. Metabolic alterations associated to brain dysfunction in diabetes. *Aging and Dis*, 6(5), 304, 2015, doi.org/10.14336%2FAD.2014.1104
- [106] Ly, H., Verma, N., Wu, F., Liu, M., Saatman, K. E., Nelson, P. T., ... & Despa, F. Brain microvascular injury and white matter disease provoked by diabetes-associated hyperamylinemia. *Ann Neurol*, 82(2), 208-222, 2017, doi.org/10.1002/ana.24992
- [107] Kumar, S. Dual inhibition of acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase enzymes by allicin. *Indian J Pharmacol*, 47(4), 444, 2015, doi.org/10.4103%2F0253-7613.161274
- [108] Blurton-Jones, M., Kitazawa, M., Martinez-Coria, H., Castello, N. A., Müller, F. J., Loring, J. F., ... & LaFerla, F. M. Neural stem cells

- improve cognition via BDNF in a transgenic model of Alzheimer disease. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 106(32), 13594-13599, 2009, doi.org/10.1073/pnas.0901402106
- [109] Suzuki, W. A., & Clayton, N. S. The hippocampus and memory: a comparative and ethological perspective. *Curr Opin Neurobiol*, 10(6), 768-773, 2000, doi.org/10.1016/S0959-4388(00)00148-3
- [110] Ademosun, A. O., Oboh, G., Bello, F., & Ayeni, P. O. Antioxidative properties and effect of quercetin and its glycosylated form (Rutin) on acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase activities. *Evid Based Complementary Altern Med*, 21(4), 11-17, 2016, doi.org/10.1177/2156587215610032
- [111] Nugroho, A., Choi, J. S., Hong, J. P., & Park, H. J. Anti-acetylcholinesterase activity of the aglycones of phenolic glycosides isolated from *Leonurus japonicus*. *Asian Pac J Trop Biomed*, 7(10), 849-854, 2017, doi.org/10.1016/j.apjtb.2017.08.013
- [112] Maker, H. S., Weiss, C., Silides, D. J., & Cohen, G. Coupling of dopamine oxidation (monoamine oxidase activity) to glutathione oxidation via the generation of hydrogen peroxide in rat brain homogenates. *J Neurochem*, 36(2), 589-593, 1981, doi.org/10.1111/j.1471-4159.1981.tb01631.x
- [113] Morari, M., Marti, M., Sbrenna, S., Fuxe, K., Bianchi, C., & Beani, L. Review Article Reciprocal dopamine-glutamate modulation of release in the basal ganglia. *Neurochem Int*, 33(5), 383-397, 1998, doi.org/10.1016/S0197-0186(98)00052-7
- [114] Lees, G. J. Contributory mechanisms in the causation of neurodegenerative disorders. *Neurosci*, 54(2), 287-322, 1993, doi.org/10.1016/0306-4522(93)90254-D
- [115] Olney, J. W. The toxic effects of glutamate and related compounds in the retina and the brain. *Retina* (Philadelphia, Pa.), 2(4), 341-359, 1982.
- [116] Savolainen, K. M., Loikkanen, J., Eerikäinen, S., & Naarala, J. Interactions of excitatory neurotransmitters and xenobiotics in excitotoxicity and oxidative stress: glutamate and lead. *Toxicol Lett*, 102, 363-367, 1998, doi.org/10.1016/S0378-4274(98)00233-1
- [117] Turgut, N. H., Kara, H., Arslanbaş, E., Mert, D. G., Tepe, B., & Güngör, H. Effect of *Capparis spinosa* L. on cognitive impairment induced by D-galactose in mice via inhibition of oxidative stress. *Turk J Med Sci*, 45(5), 1127-1136, 2015, doi.org/10.3906/sag-1405-95
- [118] Sadek, K. M., Lebda, M. A., Nasr, S. M., & Shoukry, M. *Spirulina platensis* prevents hyperglycemia in rats by modulating gluconeogenesis and apoptosis via modification of oxidative stress and MAPK-pathways. *Biomed Pharmacother*, 92, 1085-1094, 2017, doi.org/10.1016/j.biopha.2017.06.023
- [119] Samarghandian, S., Borji, A., & Hidar Tabasi, S. Effects of *Cichorium intybus* linn on blood glucose, lipid constituents and selected oxidative stress parameters in streptozotocin-induced diabetic rats. *Cardiovasc Hematol Disord -Drug Targets*, 13(3), 231-236, 2013, doi.org/10.2174/1871529x13666131129103139
- [120] Strugała, P., Dzydzan, O., Brodyak, I., Kucharska, A. Z., Kuroпка, P., Liuta, M., ... & Sybirna, N. Antidiabetic and antioxidative potential of the blue Congo variety of purple potato extract in streptozotocin-induced diabetic rats. *Molecules*, 24(17), 3126, 2019, doi.org/10.3390/molecules24173126
- [121] Moskaug, J. Ø., Carlsen, H., Myhrstad, M. C., & Blomhoff, R. Polyphenols and glutathione synthesis regulation. *Am J Clin Nutr*, 81(1), 277-283, 2005, doi.org/10.1093/ajcn/81.1.277S
- [122] Shaw, O. C. 15 Glutathione in the Nervous System: Roles in Neural Function and Health and Implications for Neurological Disease. *Handbook Neurochem Mol Neurobiol: amino acids and peptides in the nervous system*, 2007.
- [123] Dickinson, D. A., & Forman, H. J. Cellular glutathione and thiols metabolism. *Biochem Pharmacol*, 64(5-6), 1019-1026, 2002, doi.org/10.1016/S0006-2952(02)01172-3
- [124] Sedlak, T. W., Paul, B. D., Parker, G. M., Hester, L. D., Snowman, A. M., Taniguchi, Y., ... & Sawa, A. The glutathione cycle shapes synaptic glutamate activity. *Proc National Acad Sci*, 116(7), 2701-2706, 2019, doi.org/10.1073/pnas.1817885116
- [125] Persson, M., Sandberg, M., Hansson, E., & Rönnbäck, L. Microglial glutamate uptake is coupled to glutathione synthesis and glutamate release. *Eur J Neurosci*, 24(4), 1063-1070, 2006, doi.org/10.1111/j.1460-9568.2006.04974.x
- [126] Barger, S. W., Goodwin, M. E., Porter, M. M., & Beggs, M. L. Glutamate release from activated microglia requires the oxidative burst and lipid peroxidation. *J Neurochem*, 101(5), 1205-1213, 2007, doi.org/10.1111/j.1471-4159.2007.04487.x
- [127] Koga, M., Serritella, A. V., Messmer, M. M., Hayashi-Takagi, A., Hester, L. D., Snyder, S. H., ... & Sedlak, T. W. Glutathione is a physiologic reservoir of neuronal glutamate. *Biochem Biophys Res Commun*, 409(4), 596-

- 602, 2011,doi.org/10.1111/j.1471-4159.2007.04487.x
- [128] Chassain, C., Bielicki, G., Durand, E., Lolignier, S., Essafi, F., Traoré, A., & Durif, F. Metabolic changes detected by proton magnetic resonance spectroscopy in vivo and in vitro in a murin model of Parkinson's disease, the MPTP-intoxicated mouse. *J Neurochem*, 105(3), 874-882, 2008,doi/full/10.1111/j.1471-4159.2007.05185.x
- [129] Gao, H. C., Zhu, H., Song, C. Y., Lin, L., Xiang, Y., Yan, Z. H., ... & Li, X. K. Metabolic changes detected by ex vivo high resolution 1H NMR spectroscopy in the striatum of 6-OHDA-induced Parkinson's rat. *Mol Neurobiol*, 47(1), 123-130, 2013,doi.org/10.1007/s12035-012-8336-z
- [130] Schubert, D., & Piasecki, D. Oxidative glutamate toxicity can be a component of the excitotoxicity cascade. *J Neurosci*, 21(19), 7455-7462, 2001,doi.org/10.1523/JNEUROSCI.21-19-07455.2001
- [131] Myhrstad, M. C., Carlsen, H., Nordström, O., Blomhoff, R., & Moskaug, J. Ø. Flavonoids increase the intracellular glutathione level by transactivation of the γ -glutamylcysteine synthetase catalytical subunit promoter. *Free Radic Biol Med*, 32(5), 386-393, 2002,doi.org/10.1016/S0891-5849(01)00812-7
- [132] Elmastas, M., Celik, S. M., Genc, N., Aksit, H., Erenler, R., & Gulcin, İ. Antioxidant activity of an Anatolian herbal tea—*Origanum minutiflorum*: isolation and characterization of its secondary metabolites. *Int J Food Prop*, 21(1), 374-384, 2018,doi.org/10.1080/10942912.2017.1416399
- [133] Sayahi, M., & Shirali, S. (2017). The antidiabetic and antioxidant effects of carotenoids: a review. *Asian J Pharm Res Health Care*, 9(4), 186-191,doi.org/10.18311/ajprhc/2017/7689
- [134] Kalantari, H., Foruozandeh, H., Khodayar, M. J., Siahpoosh, A., Saki, N., & Kheradmand, P. Antioxidant and hepatoprotective effects of *Capparis spinosa* L. fractions and Quercetin on tert-butyl hydroperoxide-induced acute liver damage in mice. *J Tradit Complem Med*, 8(1), 120-127, 2018, doi.org/10.1016/j.jtcme.2017.04.010
- [135] Mokhtari, D., Li, T., Lu, T., & Welsh, N. Effects of imatinib mesylate (Gleevec) on human islet NF-kappaB activation and chemokine production in vitro. *PLoS One*, 6(9), e24831, 2011, doi.org/10.1371/journal.pone.0024831
- [136] Griffiths, M. R., Gasque, P., & Neal, J. W. The multiple roles of the innate immune system in the regulation of apoptosis and inflammation in the brain. *J Neuropathol Exp Neurol*, 68(3), 217-226, 2019,doi.org/10.1097/NEN.0b013e3181996688
- [137] Pari, L., & Sankaranarayanan, C. Beneficial effects of thymoquinone on hepatic key enzymes in streptozotocin–nicotinamide induced diabetic rats. *Life Sci*, 85(23-26), 830-834, 2009,doi.org/10.1016/j.lfs.2009.10.021
- [138] Hectors, T. L. M., Vanparys, C., Van Der Ven, K., Martens, G. A., Jorens, P. G., Van Gaal, L. F., ... & Blust, R. Environmental pollutants and type 2 diabetes: a review of mechanisms that can disrupt beta cell function. *Diabetologia*, 54(6), 1273-1290, 2011,doi.org/10.1007/s00125-011-2109-5
- [139] Marimoutou, M., Le Sage, F., Smadja, J., Lefebvre d'Hellencourt, C., Gonthier, M. P., & Silva, R. D. Antioxidant polyphenol-rich extracts from the medicinal plants *Antirhea borbonica*, *Doratoxylonapetalum* and *Gouania mauritiana* protect 3T3-L1 preadipocytes against H₂O₂, TNF α and LPS inflammatory mediators by regulating the expression of superoxide dismutase and NF- κ B genes. *J Inflamm*, 12(1), 1-15, 2015,doi.org/1-15.10.1186/s12950-015-0055-6
- [140] Bahadar, G. A., & Shah, Z. A. Intracerebral Hemorrhage and Diabetes Mellitus: Blood-Brain Barrier Disruption, Pathophysiology and Cognitive Impairments. *CNS & Neurol Disord-Drug Targets*, 20(4), 312-326, 2021,doi.org/10.2174/1871527320666210223145112
- [141] Imai, Y., Dobrian, A. D., Weaver, J. R., Butcher, M. J., Cole, B. K., Galkina, E. V., ... & Nadler, J. L. Interaction between cytokines and inflammatory cells in islet dysfunction, insulin resistance and vascular disease. *Diabetes Obes Metab*, 15(s3), 117-129, 2013,doi.org/10.1111/dom.12161
- [142] Akash, M. S. H., Rehman, K., & Liaqat, A. Tumor necrosis factor-alpha: role in development of insulin resistance and pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. *J Cell Biochem*, 119(1), 105-110, 2018, doi.org/10.1002/jcb.26174
- [143] Akash, M. S. H., Rehman, K., & Chen, S. Role of inflammatory mechanisms in pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. *J Cell Biochem*, 114(3), 525-531, 2013,doi.org/10.1002/jcb.24402
- [144] Cruz, N. G., Sousa, L. P., Sousa, M. O., Pietrani, N. T., Fernandes, A. P., & Gomes, K. B. The linkage between inflammation and Type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Res Clin Pract*, 99(2), 85-92, 2013,doi.org/10.1016/j.diabres.2012.09.003
- [145] Hamby, M. E., Gragnolati, A. R., Hewett, S. J., & Hewett, J. A. TGF β 1 and TNF α potentiate

- nitric oxide production in astrocyte cultures by recruiting distinct subpopulations of cells to express NOS-2. *Neurochem Int*, 52(6), 962-971, 2008,doi.org/10.1016/j.neuint.2007.10.010
- [146]Szkudelski, T. The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas. *Physiol Res*, 50(6), 537-546, 2001.
- [147]Shen, H. M., & Pervaiz, S. TNF receptor superfamily-induced cell death: redox-dependent execution. *FASEB J*, 20(10), 1589-1598, 2006,doi.org/10.1096/fj.05-5603rev
- [148]Romeo, V., Ziino, M., Giuffrida, D., Concurso, C., & Verzera, A. Flavour profile of capers (*Capparis spinosa L.*) from the Eolian Archipelago by HS-SPME/GC-MS. *Food Chem*, 101(3), 1272-1278, 2007,doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.12.029
- [149]Aliyazıcıoğlu, R., Sahin, H., Erturk, O., Ulusoy, E., & Kolaylı, S. Properties of phenolic composition and biological activity of propolis from Turkey. *Int J Food Prop*, 16(2), 277-287, 2013,doi.org/10.1080/10942912.2010.551312
- [150]Zhang, H., & Ma, Z. F. Phytochemical and pharmacological properties of *Capparis spinosa* as a medicinal plant. *J Nutr*, 10(2), 116, 2018,doi.org/10.3390/nu10020116
- [151]Moutia, M., El Azhary, K., Elouaddari, A., Al Jahid, A., Jamal Eddine, J., Seghrouchni, F., ... & Badou, A. *Capparis Spinosa L.* promotes anti-inflammatory response in vitro through the control of cytokine gene expression in human peripheral blood mononuclear cells. *BMC immunol*, 17(1), 1-12, 2016, doi.org/10.1186/s12865-016-0164-x
- [152]Lee, C. C., Shen, S. R., Lai, Y. J., & Wu, S. C. Rutin and quercetin, bioactive compounds from tartary buckwheat, prevent liver inflammatory injury. *J Funct Foods*, 4(5), 794-802, 2013,doi.org/10.1039/c3fo30389f

Intitulé

L'effet préventif des polyphénols du *Capparis spinosa* sur les altérations cellulaires pancréatiques et cérébrales du rat rendu diabétique à la streptozotocine.

Thèse en vue de l'obtention du diplôme de doctorat**Résumé**

Cette étude a été conçue pour évaluer les effets antidiabétiques, antioxydants et anti-inflammatoires de l'extrait n-BuOH de *Capparis spinosa* chez des rats Wistar rendus diabétiques à la streptozotocine (STZ) vis-à-vis les complications pancréatique et cérébrale. Les études *in vitro* ont révélé que le BECS possédait une forte activité antioxydante en utilisant différents dosages (DPPH°, ABTS•+, pouvoir réducteur, test de phosphomolybdate) et une activité antidiabétique élevée (activité inhibitrice de α -glucosidase et α -amylase). D'autre part, le BECS n'a montré aucune toxicité contre les lignées cellulaires de cancer du cerveau C6. Concernant l'étude *in vivo*, le traitement des rats au BECS (200 mg/Kg) pendant une période de 28 jours a considérablement atténué les effets indésirables du diabète induit à la STZ (60 mg/Kg). Une diminution de la glycémie et des taux d'HbA1C a été observée dans le groupe BECS-STZ, associée à une amélioration des taux d'insuline plasmatique et cérébrale. Le groupe traité par le BECS a montré une amélioration des concentrations plasmatiques de peptide C, d'AGE et de CK-BB. Le BECS a également réussi à réduire le profil lipidique des rats traités à la STZ. Parallèlement, le niveau de la MDA pancréatique est réduit et les paramètres du statut redox sont améliorés chez les rats diabétiques. Par ailleurs, une résurrection de l'intégrité de la membrane neuronale a été manifestée dans le groupe BECS-STZ, comme en témoigne l'augmentation de l'activité cérébrale de la LDH et la réduction du niveau de la MDA cérébrale. De plus, le traitement des rats par le BECS a permis de réguler les marqueurs du dysfonctionnement cérébral (activités AChE, BChE, niveaux du glutamate et de la dopamine). Egalement, le traitement des rats avec le BECS a rétabli les niveaux de la SOD, de la CAT et les enzymes du système GSH à des niveaux normaux. En ce qui concerne les niveaux de (IL-6, TNF- α et NO) produits par les effets diabéto-gènes de la STZ, le BECS a réussi à réguler ces médiateurs inflammatoires. De tous ces résultats, les effets antioxydants et anti-inflammatoires du BECS pourraient être dus à sa richesse en polyphénols identifiés par l'analyse LC-MS/MS, principalement l'acide chlorogénique et la rutine, ainsi que les interactions synergiques de tous les contenus. En outre, l'histopathologie du pancréas et du cerveau confirme l'effet protecteur du BECS dans le diabète induit à la STZ chez les animaux. Les résultats indiquent clairement que le traitement par le BECS exerce un caractère protecteur contre le diabète en diminuant le stress oxydatif, la neuro-inflammation et en modulant les niveaux élevés du glucose.

Mots clés : Diabète, Streptozotocine, *Capparis spinosa*, Stress oxydatif, Inflammation.

Laboratoire de recherche : Biologie et environnement (LBE)