

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

ECOLE NORMALE SUPERIEURE DE LAGHOuat



DEPARTEMENT DES SCIENCES NATURELLES



MEMOIRE DE MAGISTER

En vue de l'obtention du diplôme de Magister en Biologie

Option : Valorisation des bio - ressources végétales

THEME DU PROJET :

**Etude de l'effet inhibiteur des extraits des différentes parties de la
plante *Cleome arabica* L sur l' α - amylase d'*Aspergillus oryzae***

Présenté par :

M. CHAOUA Houssen

Dirigé par :

Dr. KHACHEBA Ihcen

DEVANT LES MEMBRES DU JURY

M. DJERIDANE Amar,	Pr.,	Université de Laghouat,	Président
M. GOURINE Nadhir,	M.C.A.,	Université de Laghouat,	Examineur
Mme. BENAROUS Khedidja,	M.C.A.,	Université de Laghouat,	Examinatrice
Mme. KHACHEBA Ihcen,	M.C.A.,	Université de Laghouat,	Directrice du mémoire.
M. YOUSFI Mohamed,	Pr.,	Université de Laghouat,	Co - Directeur.

ANNÉE UNIVERSITAIRE : 2017-2018

Dédicaces

Je dédie ce modeste mémoire

À mes Parents

À toute ma famille

À tout mes amies

Premièrement, je remercie Allah, le bon Dieu, qui m'a donné l'ambitieux, le défi, la santé et le courage pour terminer ce modeste mémoire.

Mon travail de mémoire s'est déroulé au laboratoire des sciences fondamentales de l'université Amar Telidji - Laghouat -, dont je remercie son directeur Mr le Professeur YOUSFI Mohamed.

J'exprime toute ma reconnaissance envers les membres du jury, qu'il me soit ainsi permis de vous remercier très sincèrement pour avoir spontanément accepté de juger ce travail et d'avoir consacré une partie de votre temps précieux à l'examen de ce mémoire.

Je remercie M r DJERIDANE Amar, Professeur, à l'université Amar Telidji de Laghouat, de m'avoir honoré en acceptant la présidence du jury.

Je tiens à exprimer ma reconnaissance aux examinateurs, Mme BENAROUS Khedidja, M C A, Université Amar Telidji de Laghouat et M r GOURINE Nadir, M C A, Université Amar Telidji de Laghouat, qui ont accepté d'évaluer ce travail.

Je tiens à adresser mes précieux remerciements à M^{me} KHECHEBA Ihcen directrice de ce mémoire ; enseignante chercheuse à l'université Amar Telidji de Laghouat, qui a bien voulu m'encadrer. Je ne serais pas arrivé jusque là sans son aide. Je la remercie pour la qualité de ses conseils, pour sa disponibilité et pour son investissement constant.

Je tiens à remercier d'une façon toute particulière, mon co - directeur, M r YOUSFI Mohamed, Professeur chercheur à l'université Amar Telidji de Laghouat. Qui a bien voulu m'encadrer et m'accueillir dans son laboratoire et qui m'a toujours soutenu. Je le remercie de m'avoir donné confiance à travers sa modestie scientifique et ses qualités humaines. Je le remercie aussi pour l'accueil et les conditions matérielles et scientifiques qui m'ont été offertes.

Je remercie également Melle BOUSSOUSSA Hadjer ; enseignante chercheuse à l'université Amar Telidji de Laghouat pour sa générosité, sa gentillesse, sa disponibilité et son encouragement.

Je tiens également à remercier toute l'équipe pédagogique qui m'a formé durant la première année de Magister.

Mes vifs remerciements s'adressent aux membres du laboratoire des sciences fondamentales à l'université Amar Telidji.

Mes remerciements iront également à mes collègues et amies du lycée Keyal Arras : BOUKTHIR ABD ELMALEK, MOURAD ABADOU, MOKHTAR ROUABAH, KHALED FOUHAN ANWAR MEDDOUR, qui m'on aidé et soutenu pendant mes années d'études.

دراسة التأثير المثبط لمستخلصات مختلف أعضاء نبات النتينة على إنزيم α -أميلاز اسبارجيلوز اوريذا

الملخص

الهدف من هذه الدراسة هو تقييم آثار تثبيط إنزيم α - أميلاز والنشاط المضاد للأكسدة باستعمال إختبار DPPH للمستخلصات الفينولية لمختلف أعضاء نبات النتينة .

تم استخلاص المركبات الفينولية بطريقة النقع (مثنول / ماء و أسيتون/ماء) متبعة باستخلاص سائل - سائل حيث تم الحصول على ثلاث مستخلصات ناتجة عن مذيبات مختلفة القطبية الهكسان ، الكلوروفورم و خلات الإيثيل. أظهر التحليل الكمي للمركبات الفينولية باستخدام كاشف فولان سيوكالتو قيم تراوحت ما بين $0,80 \pm 1,87$ و $0,83 \pm 107,21$ مغ مكافئ حمض الغاليك /100غ من المادة الجافة . في حين كمية الفلافونويدات المتحصل عليها باستخدام كلوريد الألومنيوم تراوحت ما بين $0,07 \pm 0,12$ و $1,21 \pm 88,5$ مغ مكافئ للكيرستين/100غ من المادة الجافة.

تبين تجربة تقييم النشاط المضاد للأكسدة باستخدام تجربة محاصرة الجذور الحرة $\bullet$ DPPH, أن المستخلص الكلوروفورم للجذر (ميثانول/ ماء) أبدى أكبر تأثير إزاحي لجذر الـ $0,002 \pm 0,0029$ DPPH (EC_{50} مغ / مل)

أظهرت نتائج دراسة النشاط التثبيطي قدرة مختلف ا لأعضاء على تثبيط انزيم الأميلاز حيث أعطى مستخلص خلات الإيثيل (أسيتون/ماء 3/7) لأغلفة البذور أحسن فعالية تثبيطية للإنزيم بقيمة قدرت بـ $0,017 \pm 0,15 = IC_{50}$ غ/ل

الكلمات المفتاحية: النتينة، المركبات الفينولية، النشاط المضاد للأكسدة، DPPH ،النشاط التثبيطي، α الأميلاز.

ETUDE DE L'EFFET INHIBITEUR DES EXTRAITS DES DIFFERENTES PARTIES DE LA PLANTE CLEOME ARABICA L SUR L' α – AMYLASE D'ASPERGILLUS ORYZAE

Résumé

Le but de cette étude, est d'évaluer l'effet inhibiteur sur l' α -amylase et l'activité antioxydante par le test de DPPH des extraits phénoliques obtenus des organes de *Cleome arabica*.

Les composés phénoliques ont été extraits par macération (méthanol/eau et acétone/eau) suivi d'extraction liquide - liquide où nous avons obtenu trois extraits issus de solvants à polarité croissante hexane, chloroforme et acétate d'éthyle. L'analyse de la teneur en phénols totaux de nos extraits par le réactif Folin Ciocalteu a montré des valeurs allons de $1,87 \pm 0,80$ à $107,21 \pm 0,83$ mg équivalent d'acide gallique /100g de matière sèche. En revanche, Les teneurs en flavonoïdes obtenues par complexation au trichlorure d'aluminium varient de $0,12 \pm 0,07$ et $88,5 \pm 1,21$ mg équivalent de quercétine /100g de matière sèche.

L'évaluation de l'activité antioxydante en utilisant le test DPPH• a montré que l'extrait chloroformique de la racine obtenu avec le système de solvant (méthanol /eau 8/2) a montré l'effet scavenger du DPPH le plus élevé ($EC_{50} = 0,0029$ mg / ml $\pm 0,00$).

Les résultats de l'étude de l'effet inhibiteur ont montré que la majorité des organes ont une activité inhibitrice vis-à-vis de l' α -amylase, dont la meilleurs inhibition est enregistré pour l'extrait chloroformique des gousses (Acetone/Eau 7/3) avec un $IC_{50}=0,15 \pm 0,017$ g / l.

Mots clés: *Cleome arabica* L, extrait phénolique, activité antioxydante, DPPH, effet inhibiteur, α -amylase.

STUDY OF THE INHIBITOR EFFECT OF EXTRACTS FROM DIFFERENT PARTS OF THE CLEOME ARABICA L PLANT ON α -AMYLASE FROM ASPERGILLUS ORYZAE

Abstract

The aim of this study is to evaluate the α -amylase inhibitory effect and the antioxidant activity with DPPH assay of the polyphenolic extract from *Cleome Arabica* organ.

The phenolic compounds were extracted by maceration where we obtained by maceration (methanol / water and acetone / water) followed by liquid-liquid extraction where we got three extracts from solvents with increasing polarity hexane, chloroform and ethyl acetate. Analysis of the total phenol content of our extracts by the Folin Ciocalteu reagent showed values ranging from 1.87 ± 0.80 to 107.21 ± 0.83 mg gallic acid equivalent / 100 g dry matter. On the other hand, the flavonoid contents obtained by complexing with aluminum trichloride vary from 0.12 ± 0.07 and 88.5 ± 1.21 mg equivalent of quercetin / 100 g of dry matter.

The evaluation of antioxidant activity using DPPH• test, showed that the chloroformic extract of the root (methanol / water 8/2) showed the highest DPPH-scavenging effect ($EC_{50} = 0.0029$ mg / ml ± 0.00).

The results of the study of the inhibitory effect showed that the majority of the organs have an inhibitory activity against the α -amylase, whose the best inhibition was recorded for the chloroformic extract (Acetone / Water 7/3) of the pods with an $IC_{50} = 0.15 \pm 0.017$ g / l.

Key words: *Cleome Arabica* L , phenolic extract, antioxidant activity, DPPH, inhibition effect, α -amylase

A	Acétone
A.E	Acétone / Eau
DNS	Acide 3,5-dinitrosalicylique
DPPH	1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl
E	Eau
EAG	Equivalent en acide gallique
EAQ	Equivalent en quercétine
EC₅₀	Efficienc concentration
I %	Inhibition pourcentage
IC₅₀	Inhibition concentration at 50 %
R (%)	Rendement d'extraction (m/m)
M	Méthanol
M.E	Méthanol / Eau

INTRODUCTION GENERALE	1
 CHAPITRE I. APERÇU BIBLIOGRAPHIQUE	
I. Introduction	3
II. Les substances actives des plantes	3
II.1. La Biosynthèse	3
II.2. Classification des composés phénoliques	4
II.3. Activités biologiques des composés phénoliques	5
III. La plante investiguée : <i>Cléome arabica</i> L	6
III.1. Classification botanique	7
III.2. Description botanique	7
III.3. Composition chimique	8
III.4. Utilisation de <i>Cléome arabica</i> en médecine traditionnelle	10
III.5. Activités biologiques	11
IV. Définition du diabète	11
IV.1. Approches thérapeutiques	11
IV.2. Stress oxydant et diabète	12
 CHAPITRE II. MATERIELS ET METHODES	
I. Matériel végétal	13
II. Prétraitement des échantillons	13
III. Tests phytochimique	13
1. Les tannins	13
2. Les flavonoïdes	13
3. Les saponines	13
4. Les alcaloïdes	14

IV. Préparation des extraits	14
IV. 1. Macération	14
a. Hydro- méthanolique	14
b. Hydro- acétonique	15
IV.2. Purification	15
V. Quantification des composés phénoliques	15
V.1. Dosage des phénols totaux	15
V.2. Dosage des flavonoïdes	16
VI. Evaluation de l'activité antioxydante	16
VII. Etude de l'effet inhibiteur sur l' α – amylase	17

CHAPITRE III. RESULTATS ET DISCUSSION

I. Préparations et analyses des extraits	21
I.1. Tests phytochimique	21
I.2. Teneurs d'extraction	23
I.3. Quantification des phénols totaux et des flavonoïdes	25
I.4. Evaluation de l'activité antioxydante des extraits phénoliques de <i>Cléome</i> par le test DPPH	30
I.5. Etude de l'effet inhibiteur sur l' α – amylase	35

CONCLUSION	38
-------------------	-----------

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	40
------------------------------------	-----------

ANNEXE I	50
-----------------	-----------

ANNEXE II	51
------------------	-----------

ANNEXE III	62
-------------------	-----------

Figure I.1. Photos de la plante <i>Cleome arabica</i> L ainsi que ses différents organes.	8
Figure I.2. Un nouveau stéroïde isolé à partir des parties aériennes de la plante <i>Cleome arabica</i> L.	10
Figure. II. 1. Réduction du radical libre DPPH.	17
Figure. II. 2. Produit de dégradation de l'amidon par l' α - amylase.	19
Figure III. 1. Comparaison des teneurs d'extraction des différents extraits de <i>Cleome arabica</i> .	24

Tableau I.1. Principales classes des composés phénoliques.	5
Tableau I. 2. Activités biologiques des composés phénoliques.	6
Tableau I. 3. Classification botanique de <i>Cleome arabica</i> L.	7
Tableau I. 4. Constituants des feuilles et des tiges de <i>Cleome arabica</i> L.	9
Tableau III. 1. Résultats des tests phytochimiques.	21
Tableau. III.2. Rendement massique des extraits des différents organes de la plante étudiée (<i>Cleome arabica</i> L).	23
Tableau. III.3. Teneur en phénols totaux et en flavonoïdes des différents organes de la plante étudiée (<i>Cleome arabica</i> L.).	26
Tableau. III.4. Valeurs d'EC ₅₀ en (mg/mL) des différents extraits d'acétate d'éthyle et chloroformique issus de l'extraction (acétone/eau) et (méthanol/eau).	32
Tableau. III.5. Coefficients de corrélation obtenus entre les teneurs en phénols totaux/flavonoïdes et les valeurs d'EC ₅₀ des différents extraits.	34
Tableau. III.6. Valeurs des IC ₅₀ des extraits des différents organes de la plante étudiée (<i>Cleome arabica</i> L) vis - à vis de l' α – amylase.	35

Introduction générale

Depuis la nuit des temps, les plantes médicinales étaient l'une des sources de guérisons. Nos ancêtres, les ont utilisées pour soulager leurs souffrances causées par les maladies. De nos jours ces plantes restent encore le premier réservoir de nouveaux médicaments, elles sont considérées comme source de matière première essentielle pour la découverte de nouvelles molécules nécessaires à la mise au point de futurs médicaments (Abdul Motaleb, 2011; Prabhakar et Doble, 2011).

Cette matière végétale produit une vaste gamme de métabolites secondaires qui ont des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie alimentaire, en cosmétologie et en pharmacie comme ils se sont surtout illustrés en thérapeutique. Parmi ces composés on retrouve : les alcaloïdes et leurs dérivés, les terpènes, les coumarines, les stéroïdes et les composés phénoliques (flavonoïdes, acides phénoliques, tannins) (Jaganath et Crozier, 2010).

L'intérêt de ces plantes, est lié aux différents principes actifs qu'elles renferment. On distingue parmi eux, les composés phénoliques et notamment les flavonoïdes qui ont prouvé leurs effets bénéfiques auprès de nombreuses affections, ainsi ils sont considérés en thérapeutique comme des agents préventifs de plusieurs maladies parmi lesquels celles associés au stress oxydant (Ma *et al.*, 2009 ; Médart, J., 2009 ; Sulaiman *et al.*, 2014).

Aussi s'ajoutent à leurs propriétés biologiques leurs capacités d'inhiber l'activité d'un bon nombre d'enzymes digestive tel que l' α -amylase notamment par les flavonoïdes et leurs dérivés sucrés ce qui représente une nouvelle alternative pour le traitement du diabète, qui est une pathologie qui touche actuellement plus de trente millions d'individus dans le monde et est devenue aujourd'hui un enjeu majeur en termes de santé publique. (Andrade-Cetto *et al.*, 2007 ; Apostolidis *et al.*, 2007 ; Chethan *et al.*, 2008; Khacheba *et al.*, 2014^a).

En Algérie, les plantes entrant précisément dans ce cadre sont nombreuses, et un nombre important d'espèces végétales est utilisé comme remède à plusieurs maladies. La flore algérienne avec plus de 3000 espèces dont une grande partie médicinales, est à ce jour peu explorée et la majorité n'est pas évaluée scientifiquement (Medjdoub, 2013). Parmi ces plantes médicinales riche en molécules prometteuses de grade thérapeutique, on trouve *Cleome arabica*, une plante saharienne commune dans quelques régions du Sahara algérien, et

très utilisée en médecine traditionnelles par les populations locales et les nomades surtout pour ses effets antirhumatismaux (Tigrine, 2014).

La présente étude, est consacrée à la valorisation phytochimique d'une plante spontanée locale *Cleome arabica*, qui consiste à étudier ces extraits phénoliques en évaluant leur activités antioxydante et inhibitrice de l' α - amylase . Le choix de cette plante est basé sur le fait que cette dernière n'est pas connue chez les herboristes dans le traitement du diabète, malgré son utilisation à une échelle très réduite et qu'aucune étude n'a été entreprise pour la valorisation de cette plante dans l'inhibition enzymatique.

Ce travail rentre dans les activités de l'équipe de chimie organique appliquée du laboratoire des sciences fondamentales de l'université Amar Telidji de Laghouat, est une continuité d'une étude d'activité antioxydante déjà réalisé par Djeridane *et al* en 2010 sur la même plante.

Ce mémoire est structuré en trois chapitres. Le premier est consacré à un aperçu bibliographique sur les composés phénoliques et leurs activités, la description de la plante *Cleome arabica* et la relation stress oxydant – diabète.

Le deuxième est réservé à la description du protocole expérimental dans lequel sont exposés les méthodes de préparation des extraits phénoliques, avec le dosage des phénols totaux et des flavonoïdes, puis l'évaluation de l'activité antioxydante de ces composés en adoptant un test chimique mesurant le pouvoir des extraits phénoliques de balayer le radical stable DPPH $\cdot$ et pour finir l'étude de l'effet inhibiteur de nos extraits phénoliques sur l'activité enzymatique de l' α - amylase responsable en partie à l'augmentation de la glycémie et l'apparition du diabète sucré.

L'interprétation et la discussion des résultats obtenus seront présentée dans le dernier chapitre.

Chapitre I.

Aperçu

bibliographiques

I. Introduction

L'utilisation des plantes aux propriétés thérapeutiques est une pratique aussi ancienne que la civilisation humaine (Rates, 2001). Les premiers peuples ont probablement découvert ces propriétés de façon empirique au cours des siècles et à chaque génération, ils ont ainsi accumulé des connaissances sur les plantes médicinales (Rogers et Hosien, 2005).

Étant donné l'intérêt fulgurant que suscite actuellement l'emploi des plantes médicinales pour combattre les maladies ou préserver la santé, la connaissance de celles-ci et des molécules actives dont elles présentent est aujourd'hui essentielle, et revêt même une importance capitale pour les producteurs agricoles, les économistes, les enseignants, les professionnels de la santé et les responsables de l'industrie pharmaceutique (Ramawat et Mérillon, 2008).

II. Les substances actives des plantes

Les plantes sont capables de produire de nombreuses molécules naturelles appartenant à différentes familles chimiques (Small et Catling, 2000). En effet, à côté des métabolites primaires (glucides, protéines, lipides, acides nucléiques...), ils accumulent fréquemment des métabolites dits secondaires dont la fonction physiologique n'est pas toujours évidente mais qui représentent une source importante de molécules utilisables par l'homme dans des domaines aussi différents que la pharmacologie (Macheix et *al*, 2005).

Les métabolites secondaires des plantes font l'objet de nombreuses recherches basées sur les cultures de tissus végétaux. Ceci est notamment le cas des polyphénols végétaux qui sont largement utilisés en thérapeutique comme vasculoprotecteurs, anti-inflammatoires, inhibiteurs enzymatiques, antioxydants et antiradicaux, en particulier les flavonoïdes et les proanthocyanidines (Bahorun, 1997).

II.1. La Biosynthèse des polyphénols

Les grandes lignes des voies de biosynthèse des principaux composés phénoliques sont maintenant bien connues. Les deux acides aminés aromatiques, phénylalanine et tyrosine, sont à l'origine de la formation de la plupart des molécules phénoliques chez les végétaux. Ils sont eux même formés à partir de sucres simples issus du métabolisme primaire, par la voie

connue de l'acide shikimique. Bien que la formation de composés particuliers (alcaloïdes phénoliques, certaines coumarines complexes...) puisse passer par des voies différentes (Macheix *et al*, 2005) une autre voie peut aussi participer à la biosynthèse des polyphénols c'est la voie de l'acétate, qui génère par réaction de cyclisation des composés souvent polycycliques (Bruneton, 1999).

Les polyphénols végétaux ont d'abord été étudiés pour leurs effets protecteurs contre les pathogènes ou le rayonnement UV.

II.2. Classification des composés phénoliques

Le grand nombre de structures chimiques des composés phénoliques peut être regroupé en nombreuses classes qui se différencient par la complexité du squelette de base, le degré de modifications de ce squelette (degré d'oxydation, d'hydroxylation, de méthylation...) et par les liaisons possibles avec d'autres molécules (Tableau I.1) (Machiex *et al*, 2005).

Tableau I.1. Principales classes des composés phénoliques (Macheix *et al*, 2005 ; Wilfred *et* Ralph, 2006).

Squelette carboné	Classe	Exemple
C ₆	Phénols simples	Catéchol
C ₆ -C ₁	Acide hydroxybenzoïques	<i>P</i> -hydroxybenzoïques
C ₆ -C ₃	Acide hydroxycinnamiques	Acide caféique, férulique
	Coumarines	Scopolétine, esculétine
C ₆ -C ₄	Naphtoquinones	Juglone
C ₆ -C ₂ - C ₆	Stilbènes	Resvératrol
C ₆ -C ₃ - C ₆	Flavonoïdes	
	• Flavonols • Anthocyanes • Flavanols • Flavanones	Kaempférol, quercétine Cyanidine, pélargonidine Catéchine, épicatechine Naringénine
	Isoflavonoides	Diadzéine
(C ₆ -C ₃) ₂	Lignanes	Pinorésinol
(C ₆ -C ₃) _n	Lignines	
(C ₁₅) _n	Tannins	

II.3. Activités biologiques des composés phénoliques

Les polyphénols sont probablement les composés naturels les plus répandus dans la nature (Bahorun, 1997). Les propriétés des composées phénoliques notamment, des flavonoïdes sont largement étudiées dans le domaine médical où on leur reconnaît des activités antivirales, antiinflammatoires, antiallergiques et anti-cancéreuses (Tableau I.2). De plus ce sont de puissants antioxydants qui comptent plus de 8 000 composés regroupés en plusieurs familles (Pandey et Rizvi, 2009), parmi lesquelles figurent les flavonoïdes qui totalisent environ 4 000 substances (Bennick, 2002 ; Scalbert, 2003).

Tableau I.2. Activités biologiques des composés phénoliques (Macheix et *al*, 2006).

Polyphénols	Activités
Acides Phénols (cinnamiques et benzoïques)	Antibactériennes
	Antifongiques
	Antioxydantes
Coumarines	Protectrices vasculaires et antioedémateuses
Flavonoïdes	Antitumorales
	Anticarcinogènes
	Anti-inflammatoires
	Hypotenseurs et diurétiques
	Antioxydantes
Anthocyanes	Protectrices capillaro-veineux
Proanthocyanidines	Effets stabilisants sur le collagène
	Antioxydantes
	Antitumorales
	Antifongiques
	Anti-inflammatoires
Tanins galliques et catéchiques	Antioxydantes

III. La plante investiguée : *Cléome arabica* L

Le nom Cléome vient du grec 'kleio' qui signifie entourer. Le genre Cléome contient 250 espèces dont 7 seulement sont utilisées en médecine traditionnelle (Tigrine, 2014).

C'est une espèce septentrionale poussant au Maghreb et dans les régions sahariennes, commune dans la Hodna (M'sila) et dans quelques région du Sahara algérien: *Cléome arabica*

ozenda (Ozenda, 1991). Elle est dénommée localement « Netten » et « Netteina » (Baba Aissa, 2000).

III.1. Classification botanique

La systématique de l'espèce *Cleome arabica* L a été établie selon (Ozenda., 1958). La classification botanique de la plante est présentée dans le tableau I.3.

Tableau I.3. Classification botanique de Cléome arabica L (Guy, 1979 in Tigrine, 2014).

Règne	Plantes
Sous règne	Plantes vasculaires
Embranchement	Spermaphytes
Sous embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous classe	Dialypétales
Ordre	Pariétales
Famille	Capparidacées
Genre	Cléome
Espèce	Cléome arabica

III.2. Description botanique

Cléome arabica est une plante herbacée ou buissons bas, annuelle, glanduleuse, visqueuse, fétide, d'aspect général vert grisâtre. à feuilles composées de 3 folioles parfois 5 à 9 lancéolées ou ovales, non linéaires et alternes portant à leur aisselle des fleurs jaunes bordées de brin pourpre. Ces feuilles sont à 3 Ces périanthes possèdent quatre pétales, quatre sépales verts et six étamines. Elle possède aussi des fruits en forme de capsules oblongues, de 1 à 2 cm de long environ, dont la particularité est d'apparaître avant que les pétales ne flétrissent et qui ressemble à des haricots et ils portent des graines à poils très courts Les pétales sont pourpre- foncé. La plante a une odeur fétide (Baba Aissa, 2000 ; Quezel et Santa, 1963 in Tigrine, 2014).

La cléome appartient à la famille des capparidacées, une famille très importante qui comprend environ quarante-cinq genres et plus de milles espèces. Elle est peu représentée dans le nord et le centre du Sahara (quatre genres et quatre espèces seulement) (Ozenda ,1958).

Cette espèce est utilisée dans la médecine populaire comme diurétique, analgésique des douleurs névralgiques et antirhumatismales.

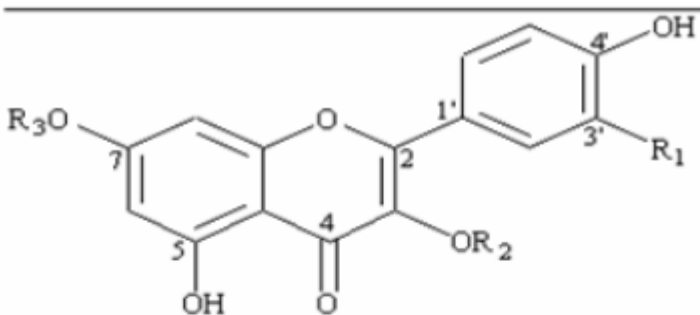
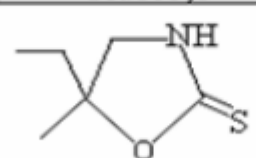


Figure I.1. . Photos de la plante *Cleome arabica* L (Djeridane, 2008) ainsi que ses différents organes.

III.3. Composition chimique

La famille des capparidacées est riche en flavonoïdes. Ces derniers sont présents dans plusieurs plantes du genre *Cléome* : *Cleome chrysantha*, *Cléome spinosa*, *Cléome ampicarpa*, *Cléome brachycarpa*, *Cléome chrysantha* et *Cléome droserifolia* y compris *Cléome arabica* (Touil *et al.*, 1998 in Tigrine, 2014; Bouriche *et al.*, 2003 ; Wollenweber & Dorr, 1992 in in Tigrine, 2014). Selon Ismail et ses collaborateurs (2005), l'extrait des feuilles et des tiges de *Cléome arabica* est très riche en flavonoïdes glucosylés et rhamnosylés (Tableau I.4).

Tableau I.4. Constituants des feuilles et des tiges de *Cléome arabica* (Ismail *et al.*, 2005).

			
	R ₁	R ₂	R ₃
1	OH	Glucosyl	Rhamnosyl
2	H	Glucosyl	Rhamnosyl
3	OCH ₃	Glucosyl	Rhamnosyl
4	OH	Rhamnosyl	Rhamnosyl
5	H	Rhamnosyl	Rhamnosyl
6	OCH ₃	Rhamnosyl	Rhamnosyl
7	OH	Glucosyl	H
8	H	Glucosyl	H
9	OCH ₃	Glucosyl	H
10	 Cléomine		
1-3: 3-O-glycosyl-7-O- rhamnopyranosides de quercetine			
4-6: 3,7-O-di rhamnopyranosides de kaempferol			
7-9: 3-O-glycopyranoside de isorhamnetine			

En plus, les recherches faites par Djeridane *et al* (2010), sur plusieurs espèces spontanées locales parmi lesquelles figuré *Cleome arabica* L, ont abouti à la caractérisation d'un nouveau dérivé stéroïdien à partir de cette dernière (17-(4- hydroxy-1,5-dimethylhexyl)-2,3,7-(acetyloxy)-1,3,5(10)-trien-15-ol) (Figure 12) doté d'activité antioxydante très remarquable .

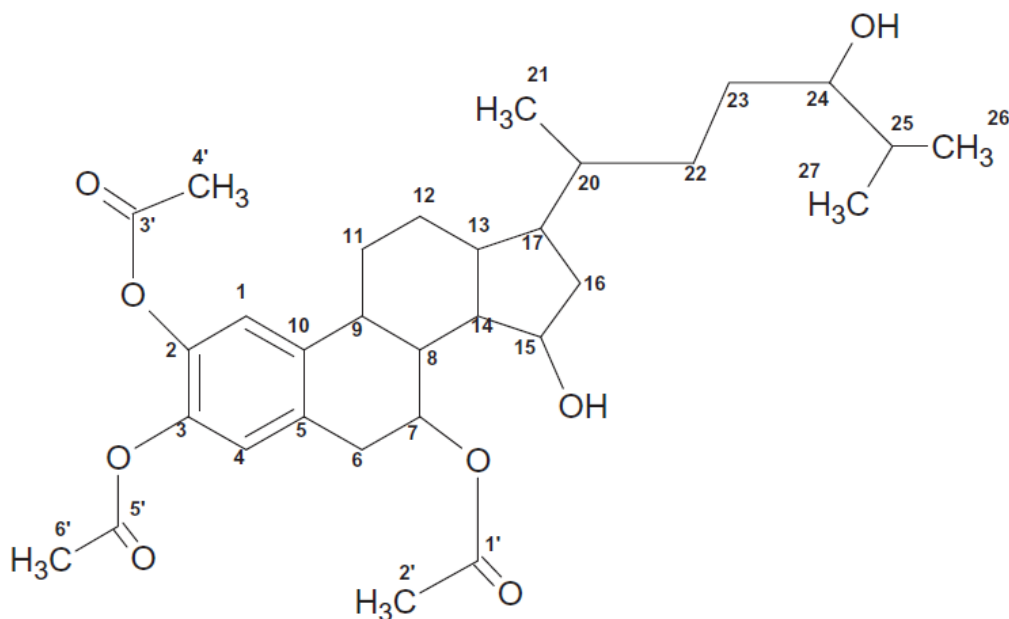


Figure 1.2. Un nouveau stéroïde isolé à partir des parties aériennes de la plante *Cléome arabica* Djeridane et al (2010).

III.4. Utilisation de *Cléome arabica* en médecine traditionnelle

Cléome arabica est utilisée en médecine traditionnelle par les populations locales et les nomades du Sahara comme analgésique des douleurs névralgiques et rhumatismales et comme diurétique (Sharaf *et al.*, 1992 in Tigrine, 2014). Dans le Hoggar les feuilles séchées de *Cléome arabica* ou leur poudre sont ajoutés à l'alimentation comme un diurétique, pour le traitement des rhumatismes, ou pour provoquer la transpiration (Burkill, 1985 in Tigrine, 2014). Les habitants de la région de Boussaâda, utilisent les feuilles de *Cléome arabica* dans des cataplasmes à application externe, sur la peau, pour traiter certaines formes rhumatismales. (Djeridane *et al.*, 2010). Il s'agit de:

- Faire chauffer les feuilles hachées de la plante au bain-marie puis les presser pour éliminer l'excès du liquide.
- Recouvrir la partie douloureuse, préalablement lubrifiée par l'huile d'olive, avec la plante encore chaude.
- Laisser agir pendant 2 à 3 heures, le cataplasme est renouvelé plusieurs fois.

En Mauritanie, les femmes ajoutent la poudre de la plante entière au lait et aux boissons, pour obtenir un aliment d'engraissement. De même, elles mélangent les feuilles grillées avec la

nourriture pour traiter les affections rénales et dorsales et pour donner la virilité aux hommes (Burkill, 1985 in Tigrine, 2014).

III.5. Activités biologiques

Les activités biologiques de *Cléome arabica* sont peu étudiées. Selon Bouriche et ses collaborateurs (2003 et 2005), un précipité jaune obtenu à partir des feuilles de cette plante, en utilisant le système d'extraction méthanol/eau suivie d'acétate d'éthyle, a exercé un effet anti-inflammatoire remarquable *in vivo*, en réduisant l'œdème des pattes des rats, et *in vitro* en modulant l'activité de la lipo-oxygénase.

Djeridane et ses collaborateurs, ont indiqué que l'extrait hydromethanolique de *Cléome arabica* est doté d'activité antioxydante remarquable, un stéroïde isolé à partir des parties aériennes de cette plante semble en être le responsable (Djeridane, 2008 ; Djeridane et al, 2010).

IV. Définition du diabète

Le diabète sucré est une maladie (trouble) métabolique endocrinienne importante causée par l'alternation du métabolisme des glucides, qui se caractérise par des niveaux anormalement élevés de glucose plasmatique causant l'élévation de la glycémie ce qui est qualifié d'hyperglycémie. Cette maladie est la conséquence d'une interaction de variables facteurs héréditaires (acquis) et environnementaux (Deutschlnder et al., 2009 ; Rajalakshmi et al., 2009 ; Shobana et al., 2009).

IV.1. Approches thérapeutiques

Diverses approches pharmacologiques sont utilisées pour améliorer le traitement du diabète par différents modes d'action telles que la stimulation de la sécrétion d'insuline, l'augmentation du nombre de transporteurs de glucose, l'inhibition de la néoglucogenèse et la réduction de l'absorption du glucose à partir de l'intestin. La meilleure approche thérapeutique pour le traitement du diabète et de diminuer l'hyperglycémie surtout après un repas est de retarder et réduire la digestion des glucides ingérés par l'intermédiaire de l'inhibition des principales enzymes hydrolysant les glucides alimentaires l' α -amylase et l' α -glucosidase dans les organes digestifs par des agents hypoglycémiant de synthèse (Nickavar et Nasibeh., 2009 ; Heo et al., 2009), qui prolonge le temps global de la digestion des

glucides, ce qui mène à une réduction du taux d'absorption du glucose par l'intestin grêle et par conséquent la diminution du niveau de glucose plasmatique dans le sang (Adediwura *et al.*, 2009).

Toutefois, l'utilisation continue de ces agents de synthèse devraient être réduite car ces inhibiteurs sont connus pour provoquer de nombreux effets secondaires, tels que les symptômes gastro-intestinaux indésirables (flatulences, ballonnement, crampes abdominales, vomissements, distension abdominale et diarrhée). En outre, certains d'entre eux peuvent augmenter l'incidence des tumeurs du rein, des troubles du foie (l'atteinte hépatique et d'hépatite aiguë) (Heo *et al.*, 2009). Ces effets secondaires ont pu être causés par l'inhibition excessive de α -amylase pancréatique, conduisant à une fermentation bactérienne des glucides non digérés dans le côlon (Adediwura *et al.*, 2009).

Par conséquent, de nombreux efforts ont été faits pour identifier de nouvelles sources antidiabétiques provenant de différentes plantes médicinales traditionnelles pour un traitement du diabète efficace et sans danger (Nickavar et Mosazadeh, 2009).

IV.2. Stress oxydant et diabète

Une abondante littérature existante sur les corrélations entre stress oxydant et diabète de type II (Médart, 2009). Le stress oxydatif a un effet important dans l'étiologie du diabète ainsi que les complications liées à ce dernier (Changer et Kuttan, 2004 ; Changer et Kuttan, 2009). Il a été suggéré que l'augmentation des niveaux de radicaux libres est un important déclencheur de résistance à l'insuline (Ranga *et al.*, 2009).

Des expériences conduites *in - vitro* et *in - vivo* ont établi que l'hyperglycémie induit, de manière générale, un dysfonctionnement endothélial. Ce dysfonctionnement endothélial peut être prévenu par l'administration d'antioxydants, ce qui suggère un rôle essentiel des agents redox du stress oxydatif dans la réduction du niveau de glucose sanguin (Changer et Kuttan, 2009 ; Changer et Kuttan, 2004). Montonen *et al* (2004) ont démontré dans une étude épidémiologique que la supplémentation en vitamine E (particulièrement sous les formes alpha, gamma, delta – tocophérol et bêta – tocotriénol) et en caroténoïdes (sous la forme de bêta – cryptoxanthine) est associée à une réduction du risque de diabète (Montonen *et al.*, 2004). Limiter la production des radicaux libres représente donc un objectif thérapeutique de premier ordre pour l'équilibre glycémique (Pournaras, C., 2008).

Chapitre II.

Matériels et

méthodes

I. Matériel végétal

La plante étudiée a été récoltée à proximité de la station de panneaux solaires, de la Wilaya de Laghouat à environ 70 km au Nord du chef lieu; durant le mois de Décembre 2016, dans un endroit propre, loin de tout impact de pollution.

II. Prétraitement des échantillons

Après la récolte, la plante a été séchée à l'obscurité et loin de l'humidité. Après séchage, les différents organes de la plante ont été séparés à savoir : les feuilles, les gousses, la tige, les graines et les racines et réduits en poudre.

III. Tests phytochimique

Chaque organe choisi pour l'extraction, a subi des tests phytochimiques afin d'avoir une idée sur l'existence ou non de certains métabolites secondaires.

1. Les tannins

Une masse de 0,5 g de la poudre végétale a été macérée dans l'éthanol pendant 24H, après filtration 200 μ l du FeCl_3 ont été ajoutés à 2 ml du filtrat. L'apparition d'une couleur verte foncée indique la présence des tannins (Surmaghi *et al.*, 1992 in Khacheba, 2014).

2. Les flavonoïdes

Une masse de 0,5 g de la poudre végétale a été macérée dans le méthanol pendant 24H, après filtration 2ml de AlCl_3 ont été ajoutés à 1ml du filtrat. L'apparition d'une couleur jaune foncée indique la présence des flavonoïdes (Quettier, 2000 in Khacheba, 2014).

3. Les saponines

Une masse de 1g de la poudre végétale a été chauffée dans de 100 ml d'eau distillée jusqu'à l'ébullition, après refroidissement la solution a été filtrée et agitée, l'apparition d'une mousse stable supérieure à 1cm après 15 min indique la présence des saponines (Mojab *et al.*, 2003 in Khacheba, 2014).

4. Les alcaloïdes

Une masse de 1 g de chaque poudre végétale a été macérée dans 20 ml d'éthanol absolu pendant une nuit. Après filtration, le mélange a été évaporé à sec à l'aide d'un rotavapeur, le résidu est solubilisé dans 5 ml d'acide chlorhydrique 2 N, puis il est chauffé dans un bain Marie à 100 °C pendant 5 min. Après refroidissement et filtration, quelques gouttes du réactif de Mayer ont été ajoutés. L'apparition d'une turbidité ou d'un précipité blanc indique la présence des alcaloïdes (Chhetri *et al.*, 2008 in Khacheba, 2014).

IV. Préparation des extraits

Plusieurs méthodes ont été utilisées pour extraire les principes actifs à partir des tissus végétaux, nous citons par exemple : la macération, l'infusion, la décoction, l'extraction en continu à chaud (Soxhlet), l'extraction assistée par micro-ondes, l'extraction par ultrasons (sonication), et l'extraction avec les fluides supercritiques (Tiwari *et al.*, 2011).

L'extraction solide-liquide est la méthode utilisée pour extraire les composés phénoliques du matériel végétal. Cette méthode est l'opération fondamentale qui a pour but d'extraire ou de séparer par dissolution dans un liquide un ou plusieurs composants de polarité similaire (Velickovic *et al.*, 2006).

La solubilité des composés phénoliques est régie par leur degré de polymérisation, ainsi que par leur interaction avec d'autres constituants. Par conséquent, il n'y a pas de procédure uniforme ou complètement satisfaisante et adaptée pour l'extraction de tous les composés phénoliques ou une classe spécifique des substances phénoliques dans les substances végétales. Le Méthanol, l'éthanol, l'acétone, l'eau, l'acétate d'éthyle et, dans une moindre mesure, le propanol, le diméthylformamide, et leurs combinaisons sont fréquemment utilisés pour l'extraction des composés phénoliques (Naczek et Shahidi, 2004).

Dans la présente étude, l'extraction a été réalisée selon deux étapes : macération et purification en démarrant par deux systèmes de solvant : hydro- méthanolique et hydro – acétonique.

IV. 1. Macération

a. Hydro- méthanolique

Une quantité de 5 g de la poudre de chaque organe précédemment obtenue est macérée dans 100 ml d'un mélange hydro-alcoolique (méthanol/eau) (80/20 : V/V) pendant 24 heures à

température ambiante et à l'obscurité. Après filtration nous avons obtenu l'extrait hydro-méthanolique brut.

b. Hydro- acétonique

Une quantité de 5 g de la poudre de chaque organe précédemment obtenue est macérée dans 100 ml d'un mélange hydro-acétonique (acétone/eau) (70/30 : V/V) pendant 24 heures à température ambiante et à l'obscurité. Après filtration nous avons obtenu l'extrait hydro-acétonique brut.

IV.2. Fractionnement

Les phases organiques des extraits brut on été évaporé sous pression réduite à 42°C, puis les phases aqueuse restantes on été lavée jusqu'à épuisement, avec de l'héxane, du chloroforme et de l'acétate d'éthyle successivement. Ce qui nous a permis d'avoir trois fractions différentes pour chaque système de solvants. À priori, elles contiennent des composés apolaires et peu polaires.

Les extraits organiques ainsi obtenus sont séchés avec du sodium anhydre puis évaporés à sec à pression réduite à 42°C. Les résidus secs sont repris dans 10 ml de méthanol pur donnant les fractions correctement purifiées et conservées au réfrigérateur jusqu' a leur analyse.

V. Quantification des composés phénolique

V.1. Dosage des phénols totaux

Le dosage des phénols totaux a été effectué par une méthode adaptée selon Singleton et Ross (1965) avec le réactif de Folin - Ciocalteu commercial (Giner-Chavez., 1996 in Khacheba, 2014).

En milieu basique, Le réactif de Folin qui est constitué d'un mélange d'acide phosphotungestique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$), est réduit lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxyde bleu de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_{23}) (Boizot et Charpentier, 2006). La coloration bleue produite, dont l'absorption maximale est à 760 nm est proportionnelle à la quantité de polyphénols présente dans les extraits végétaux.

Pour quantifier les phénols totaux dans nos extraits, 100 µl de chaque extrait dilué on été mis dans un tube auquel on été ajouté 500 µl du réactif de folin-Ciocalteu (10 fois diluée). Après 2

min d'incubation, 2 ml de carbonate de sodium (Na_2CO_3) à 5 % on été ajouté. Les tubes on été ensuite agités et placés à l'obscurité pendant 30 minutes à température ambiante.

La lecture de l'absorbance de chaque solution préparée a été mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Visible de type Shimadzu 1601, à une longueur d'onde de 760 nm contre un blanc. Les teneurs en phénols totaux on été exprimés en équivalent d'acide gallique / 100 g de matière sèche.

V.2. Dosage des flavonoïdes

Les teneurs des flavonoïdes ont été mesurées par une méthode adaptée de Lamaison et Carnat (1991) (Bahorun., 1997 in Khacheba, 2014), en utilisant le trichlorure d'aluminium (AlCl_3) comme réactif. Le AlCl_3 a la capacité de se complexer avec les oxygènes des groupements hydroxyles des flavonoïdes, produisant ainsi un complexe de couleur jaune, dont l'absorbance maximale est enregistrée à 409 nm.

Afin de quantifier les teneurs en flavonoïdes dans nos extraits, 1 ml de chaque extrait dilué a été placé dans un tube à essai suivi par l'addition d' 1 ml du trichlorure d'aluminium à 2 %. Les tubes on été agités légèrement et incubés à l'obscurité pendant 20 minutes à température ambiante. La lecture de l'absorbance de chaque solution préparée a été mesurée dans le même spectrophotomètre à une longueur d'onde de 430 nm contre un blanc. Les teneurs en flavonoïdes on été exprimés en équivalent quercétine / 100 g de matière sèche.

VI. Evaluation de l'activité antioxydante

Cette méthode est basée sur le balayage du radical 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl (DPPH $\cdot$) par des antioxydants, (Figure II.1) (Molyneux, P., 2004)) qui produit une diminution de l'absorbance à 517 nm.

Quand une solution de DPPH $\cdot$ est mélangée avec une substance qui peut donner un atome d'hydrogène, la forme réduite du radical est générée et accompagnée d'une perte de couleur. (Raquibul *et al.*, 2009 ; Shahin, 2008).

Le radical DPPH est représenté par $Z\cdot$ et la molécule donateur par AH, la réaction primaire est la suivante : (Shahin, 2008) $Z\cdot + \text{AH} \rightarrow \text{ZH} + \text{A}\cdot$

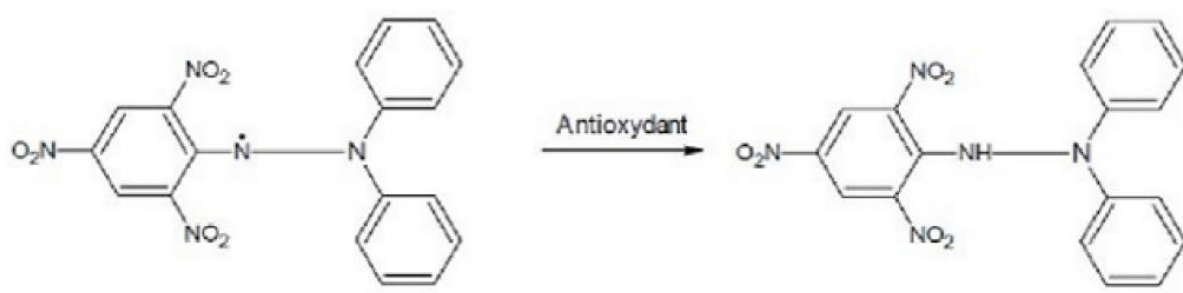


Figure. II.1. Réduction du radical libre DPPH[•]

La réduction du radical libre DPPH[•] par un antioxydant peut être suivie par spectrophotométrie UVvisible, en mesurant la diminution de l'absorbance à 517 nm provoquée par la présence des extraits phénoliques.

Pour réaliser le test DPPH[•] dans un tube à essai 500 µl de chaque fraction d'extrait phénolique dilué dans du méthanol de concentration croissante a été additionné à 500 µl d'une solution de DPPH[•] (100 µM) préparé dans le méthanol. Le mélange réactionnel a été secoué immédiatement, puis maintenu à l'obscurité pendant une durée de 30 minutes à une température ambiante pour que la réaction s'accomplisse.

L'absorbance du milieu réactionnel a été mesurée à 517 nm contre un blanc avec le même spectrophotomètre utilisé pour les procédures expérimentales des deux chapitres précédents. Nous avons également, mesuré le pouvoir antiradicalaire par la même procédure pour la vitamine C pris comme antioxydant de référence à fin de référer l'activité de nos extraits.

L'efficacité antioxydante des extraits est déterminée ensuite par le calcul du paramètre EC₅₀ «efficient concentration» qui représente la concentration d'inhibiteur (antioxydant) nécessaire pour diminuer 50% du taux des radicaux libres.

VII. Etude de l'effet inhibiteur sur l' α – amylase

Les α - amylases ont la capacité d'hydrolyser les liaisons de types α - (1,4) à l'intérieur des chaînes d'amidon. Ce sont donc des endo - enzymes (Lévêque *et al.*, 2000). Les α - amylases existent dans le règne animal, végétal et microbien (Baron *et al.*, 1985). Elles apparaissent au cours de la germination des céréales. Elles sont aussi présentes dans la salive et dans le suc pancréatique (Weil., 2001).

L'analyse de l'effet inhibiteur de nos extraits sur l' α - amylase, est effectuée par un dosage spectrophotométrique du produit libéré dans le milieu réactionnel par unité de temps, lors de l'hydrolyse du substrat par une α - amylase fongique d'*Aspergillus oryzae*, dans des conditions opératoires bien définies Figure II.2. L'activité enzymatique de l'enzyme est exprimée par l'augmentation des unités de maltose libérées par unité de temps lors de l'hydrolyse du substrat (amidon), dans des conditions de températures et de pH favorables.

L'activité enzymatique de l' α - amylase est dosée sur son substrat l'amidon (mélange de 2 homopolymères, l'amylose et l'amylopectine composés d'unités de molécules de D-Glucose). Elle catalyse l'hydrolyse de ce substrat qui libère le maltose et d'autres produits (Figure II.2). Le maltose libéré est dosé spectrophotométriquement.

La méthode suivie est celle de Bernfeld (1955), elle est basée sur le dinitrosalicylique DNS qui stoppe la réaction enzymatique par un changement de pH et forme un complexe avec le produit.

Cette méthode teste la présence d'un groupe carbonyle libre ($C = O$) des sucres dits réducteurs. Ceci implique l'oxydation du groupe fonctionnel présent dans le glucose, Simultanément, l'acide 3,5-dinitrosalicylique (DNS) est réduit à l'acide 5-nitrosalicylique 3-amino dans des conditions alcalines.

Chaque molécule de glucose (une liaison hydrolysée) libérée dans le milieu réactionnel, réagit avec le DNS en excès de couleur orange entraînant une réduction de ce dernier, induisant en parallèle un changement de couleur en rouge brique dont l'intensité est mesurée après dilution à 530 nm.

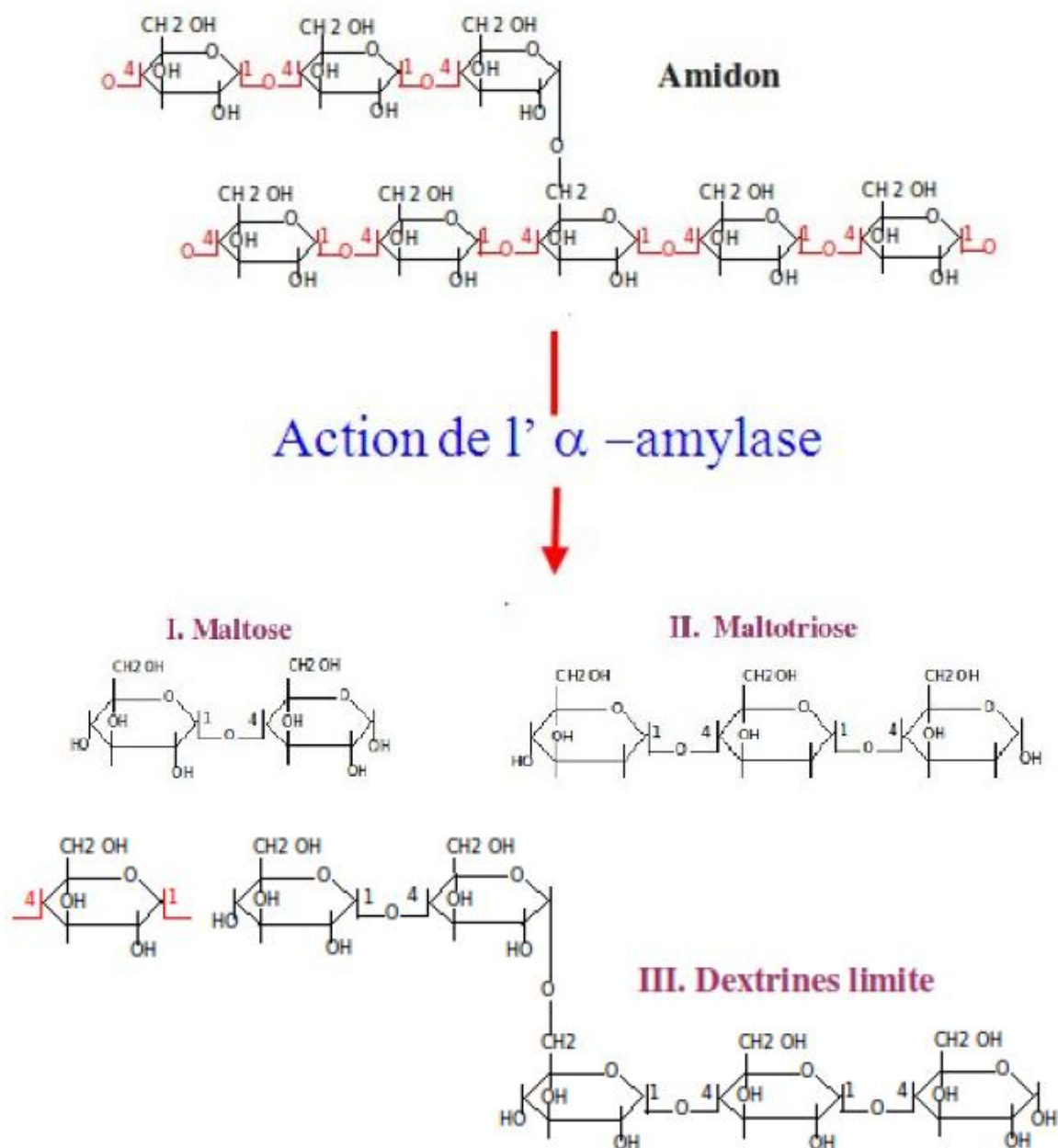


Figure II.2. Produit de dégradation de l'amidon par l'α - amylase.

L'activité anti - amylasique, est déterminé pour chaque extrait dans les mêmes conditions réactionnelles et est exprimé par le paramètre IC_{50} qui représente la concentration d'inhibiteur nécessaire pour diminuer la vitesse réactionnelle jusqu'à 50% de sa valeur maximale non - inhibée.

Pour cela, nous avons varié la concentration en inhibiteurs en utilisant trois concentrations différentes d'extraits.

L'activité enzymatique de l' α - amylase fongique d'*Aspergillus oryzae* en présence des différents extraits est dosée de la sorte (Bhandari *et al*, 2008):

Dans des tubes à essai les milieux réactionnels contenaient 200 μ l d'un tampon phosphate salé (pH 6,9), 100 μ l d'extrait et 100 μ l d'amidon de concentration 10g/l, le tout est incubés pendant 5 min à 37 °C, ensuite 100 μ l d'enzyme à 13 U/ml ont été ajoutés.

Le mélange est placé dans un bain marie à 37 °C pendant 2 min, puis la réaction enzymatique est stoppée par l'ajout d'1 ml de DNS, les tubes sont agités et placés immédiatement dans un bain marie porté à ébullition. Après 5 minutes de chauffage, les tubes sont sortis du bain marie et refroidis à l'eau de robinet puis dilué avec de l'eau distillée.

Les mesures de la densité optique de chaque solution préparée ont été effectuées à 530 nm contre un blanc dans le même spectrophotomètre utilisé précédemment

Le pourcentage d'inhibition de chaque extrait est calculée selon la formule suivante :

$$\text{Inhibition (\%)} = \frac{A_{\text{Contrôle}} - A_{\text{Échantillon du test}}}{A_{\text{Contrôle}}} \times 100$$

Où :

$A_{\text{Contrôle}}$: Densité optique du contrôle ou témoin.

$A_{\text{Échantillon du test}}$: Densité optique de l'échantillon avec inhibiteur.

Chapitre III.

Résultats et discussion

I. Préparations et analyses des extraits

I.1. Tests phytochimique

Avant d'entreprendre toute tentative d'extraction et d'étude, nous avons établis des tests phytochimiques sur l'échantillon de la plante *Cleome arabica* L récolté de la région de Laghouat pour confirmer l'existence ou non de certains métabolites secondaires.

Les tests phytochimiques consistent à détecter les différentes familles de composés existantes dans la plante comme des flavonoïdes d'alcaloïdes, tannins, Saponines Les tests phytochimiques sont basées de coloration par des réactifs spécifiques. Les résultats sont reportés dans le Tableau

Tableau III.1. Résultats des tests phytochimiques.

	Feuilles	Gousses	Racines	Tiges	Graines
Tannins	+++	+++	+	+++	++
Flavonoïdes	+++	+++	+	++	+++
Saponines	++	++	+	+	+
Alcaloïdes	++	+	-	+	-

Sachant que : Le symbole « + » est fonction de l'intensité de la coloration et/ou des mousses stables.

- + Présence de métabolite.
- ++ Présence importante de métabolite.
- +++ Présence très importante de métabolites

Les résultats des quatre tests phytochimiques réalisés sur la poudre de chaque organe de la plante étudiée, ont montré qu'elle contient des flavonoïdes, des tanins, des saponines et des alcaloïdes ; donc elle peut être considérée comme source de métabolites secondaires.

En vue des résultats des tests phytochimique, nous remarquons qu'il ya pratiquement la même présence en flavonoïdes et en tanins pour tout les organes, par contre une très grande

différence est remarquée pour le contenu en saponines et en alcaloïdes pour le quel il y a une forte présence pour les feuilles et les gousses.

Cette différence de répartition peut être dû et/ou influencé par la répartition des métabolites secondaire phénoliques dans les plantes étudiées. Les composés phénoliques ne sont pas répartis uniformément dans les plantes (aux niveaux tissulaires, niveaux cellulaires et subcellulaires). Les phénols insolubles sont les composants des parois cellulaires, tandis que les composés phénoliques solubles sont cloisonnés dans les vacuoles des cellules végétales. Au niveau tissulaire et les couches externes les plantes contiennent plus de composés phénoliques que celles situées dans leurs parties intérieures (Naczek et Shahidi, 2004).

Si on compare entre l'intensité de la coloration indiquant la présence de flavonoïdes et de tanins, par rapport aux autres métabolites, on remarque qu'il y a plus de synthèses de flavonoïdes que de tannins. Les tanins sont un groupe de métabolites secondaires qui sont synthétisés dans de nombreuses espèces de plantes supérieures, et qui semblent être fortement influencés par les facteurs environnementaux sous l'angle de ces deux facteurs quantitatifs et qualitatifs tels que la saisonnalité, les attaques d'insectes, la pollution de l'air, et la disponibilité de l'eau et des nutriments (macro et micronutriments). Ceux-ci semblent influencer directement sur la composition chimique et plus précisément la teneur en tanin présent dans les plantes, ce qui peut s'expliquer par le fait que la production de ces composés est liée à un type de réponse chimique de la plante à l'environnement (Sampaio *et al.*, 2011).

Les flavonoïdes sont un autre groupe de composés phénoliques dont les niveaux dans les tissus végétaux sont influencés par des facteurs environnementaux. Ils sont principalement accumulés dans les tissus superficiels (par exemple l'épiderme, la couche sous-épidermique et le matériel épicuticulaire) et utilisés par la plante en tant que filtres UV, qui absorbent les UV-B, sans changer la radiation photo synthétiquement (Sampaio *et al.*, 2011).

Les tests phytochimiques ont montré que les différentes parties de la plante sont riches en divers composés: flavonoïdes, alcaloïdes, saponines et tannins. Ces résultats sont confirmés

En comparant nos résultats à d'autres tests phytochimiques réalisés sur d'autre espèces du genre *Cleome*, *Cleome chrysantha*, *Cléome spinosa*, *Cléome amphicarpa*, *Cléome brachycarpa*, *Cléome chrysantha* et *Cléome droserifolia* y compris *Cléome arabica* nous avons remarqué l'existence de similitude de point de vue richesse en flavonoïdes (Touil *et al.*, 1998 in Tigrine, 2014; Bouriche *et al.*, 2003 ; Wollenweber & Dorr, 1992 in in Tigrine, 2014 ; Madi *et al.*, 2017). Selon Ismail et ses collaborateurs (2005), l'extrait des feuilles et des tiges de *Cléome arabica* est très riche en flavonoïdes glucosylés et rhamnosylés.

Aussi d'autres études réalisées sur la même espèce *Cleome arabica* on montée presque les mêmes résultats par rapport à la présence en flavonoïdes et en tanins, et une différence pour la présence en alcaloïdes qui est plus importante que celle de notre échantillon (Ismail *et al.*, 2005, Takhi *et al.* , 2011, Tigrine, 2014).

I.2. Teneurs d'extraction

Chaque organe choisi pour l'extraction de la plante étudiée, a subi rigoureusement le même traitement de séchage et d'extraction par macération. Les extraits obtenus présentent différents aspects (visqueux et plus au moins poudreux) et couleurs (jaune, vert et marron) . Les teneurs des extraits sont consignés dans le (Tableau III.2).

Tableau III.2. Rendement massique des extraits des différents organes de la plante étudiée (*Cleome arabica* L).

Système de solvants	Teneurs en %					
	Méthanol / Eau			Acétone / Eau		
Extrait	Hexane	Chloroforme	Acétate d'éthyle	Hexane	Chloroforme	Acétate d'éthyle
Organes						
Feuilles	0,38	1,68	2,91	4,22	1,30	2,62
Gousses	2,54	0,39	1,73	0,73	0,56	0,04
Graines	1,95	0,54	0,49	0,17	0,74	0,20
Racines	0,64	0,65	0,45	0,21	0,74	0,63
Tige	1,72	0,52	1,02	0,20	0,25	1,42

Selon les résultats obtenus, les teneurs des extraits varient globalement de 0,04 à 4,22 %. Allant de 0,2 à 2,91 pour le système solvant Méthanol/Eau et de 0,04 à 4,22 % pour le système solvant Acétone /Eau. La meilleure teneur est observée chez l'extrait Hénanique du système Acétone /Eau (4,22 %; m/m), et la plus faible par l'extrait acétate d'éthyle de système Acétone /Eau (0,04 %, m/m). Les plus faibles teneurs ont été obtenues pour la majorité des autres extraits ne dépassant pas 1 %. La majorité de nos plantes n'ont pas atteint plus de 5 % d'extraits. Tous les extraits montrent des couleurs et des aspects différents.

La nature chimique des composés phénoliques végétaux varie du simple aux substances très polymérisés qui incluent des proportions variables de composés phénoliques : acides, phénylpropanoïdes, anthocyanes et tannins, entre autres. Ils peuvent également exister sous forme de complexes avec des glucides, des protéines et d'autres composants, certains de haut poids moléculaire de ce fait les composés phénoliques peuvent être tout à fait insolubles. Par conséquent, les extraits phénoliques de matières végétales sont toujours un mélange de différentes classes de composés phénoliques dont certaines sont solubles dans le système de solvant utilisé (Nacz et Shahidi, 2004)

Pour des raisons de comparaison, nous représentons alors, dans l'histogramme qui suit les différentes valeurs des teneurs d'extractions.

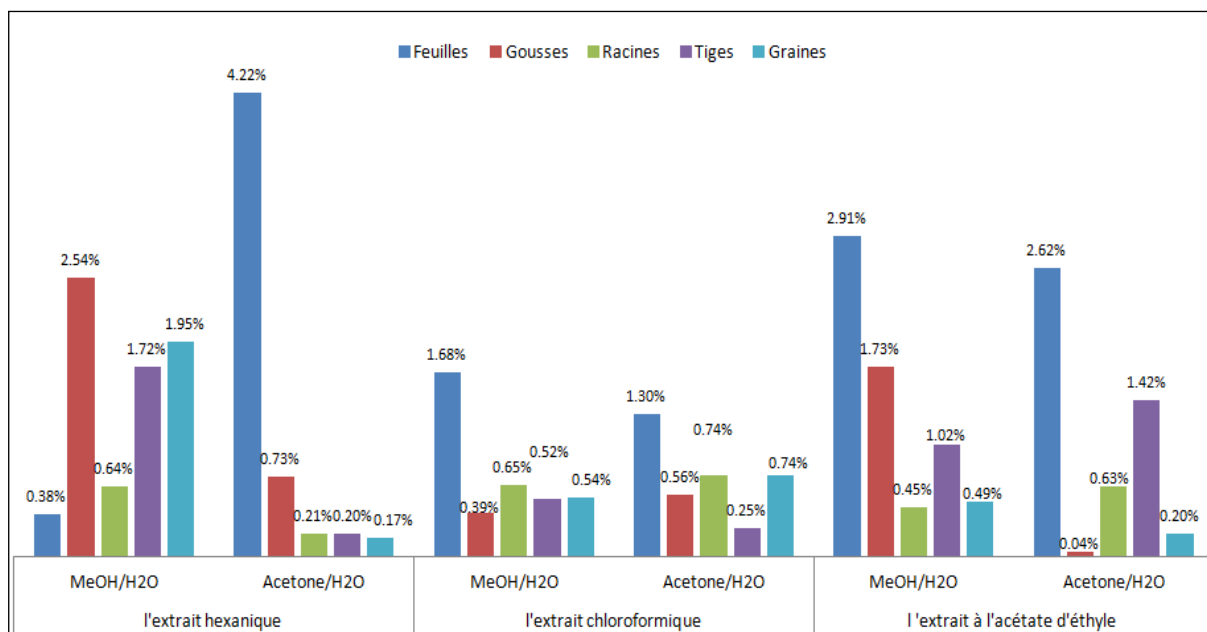


Figure III.1. Comparaison des teneurs d'extraction des différents extraits de *Cleome arabica*.

On remarque que les teneurs varient d'un système de solvant à un autre. Cette différence est aussi distinguée dans un même système d'un extrait (organe) à un autre. Cela veut dire qu'il y a une différence de diffusion du solvant dans la poudre des organes dans l'étape de macération et probablement à la nature des solvants utilisés pour l'extraction.

Les résultats montrent que les teneurs des extraits obtenus du système solvant méthanol / eau sont légèrement meilleures que celles obtenus du système acétone / eau, ce qui est peut-être dû à la différence de polarité entre les solvants, ce qui conduit à l'extraction de molécules de poids moléculaire différents (Jin Dai et al, 2010 ; Shwu Fun Kua, 2015; Bourgou, 2016).

De plus la nature chimique des composés phénoliques et la présence d'un ou plusieurs cycles benzéniques hydroxylés chez tous les composés phénoliques sont responsables de certaines propriétés communes utilisées pour les extraire à partir du matériel végétal, les caractériser chimiquement et les doser. Cependant, il faut noter que ces propriétés peuvent s'exprimer différemment selon la complexité de la molécule concernée et le nombre de groupements hydroxyles portés par chacun des cycles benzeniques.

Ainsi, bien que la méthode d'extraction à partir du matériel végétal que nous avons choisie dans notre étude est citée comme solvant et méthode de choix pour extraire des composés phénoliques ayant des activités importantes, elle devra quelquefois être modifiée pour être mieux adaptée à leur nature chimique, leur solubilité et leur degré de liaison avec d'autres constituants végétaux (Djeridane *et al.*, 2008).

I.3. Quantification des phénols totaux et des flavonoïdes

Il n'existe aucune méthode permettant de doser de manière satisfaisante et simultanée l'ensemble des composés phénoliques présents dans un extrait végétal non purifié (Macheix *et al.*, 2005). Un certain nombre de méthodes spectrophotométriques, pour la quantification des composés phénoliques dans les substances végétales ont été développées. Ces tests sont basés sur des principes différents et sont utilisés pour déterminer les différents groupes structuraux présents chez les composés phénoliques (Naczki et Shahidi, 2004).

Néanmoins, une estimation rapide et globale de la teneur en phénols totaux peut être obtenue par différentes méthodes, en particulier par l'utilisation d'un mélange de phosphomolybdate et phosphotungstate commercialisé sous la dénomination du réactif Folin – Ciocalteu, que nous avons choisi afin de déterminer la teneur en phénols totaux de nos extraits.

La teneur en composés phénoliques de chaque extrait de plante a été calculée à partir de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique précédemment réalisée et exprimée en milligrammes équivalents en acide gallique par cent gramme de la matière sèche. Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau III.3, tandis que, la quantification des flavonoïdes dans nos extraits a été déterminée par complexation au trichlorure d'aluminium. Les résultats obtenus exprimés en milligrammes équivalents de la quercétine par cent gramme de la matière sèche sont regroupés aussi dans le même tableau.

Tableau III.3. Teneur en phénols totaux et en flavonoïdes des différents organes de la plante étudiée (*Cleome arabica*).

Système de solvants	Méthanol / Eau			Acétone / Eau		
Extrait Organes	Hexane	Chloroforme	Acétate d'éthyle	Hexane	Chloroforme	Acétate d'éthyle
Teneur en Phénols Totaux (mg/100 g) équivalent en acide gallique						
Feuilles	4,48 ± 0,2	56,32 ± 4,62	73,67 ± 0,83	11,21 ± 5,10	67,25 ± 2,38	107,21 ± 0,83
Gousses	20,90 ± 2,15	18,87 ± 1,25	86,50 ± 2,92	15,34 ± 4,07	25,66 ± 1,72	79,59 ± 1,71
Graines	18,73 ± 1,92	8,76 ± 0,19	11,62 ± 0,51	6,49 ± 0,86	27,9 ± 1,48	95,00 ± 16,13
Racines	2,87 ± 0,23	12,78 ± 0,37	21,00 ± 0,51	11,86 ± 1,21	4,56 ± 0,43	19,04 ± 0,84
Tige	6,00 ± 1,13	13,95 ± 0,14	8,66 ± 0,08	1,87 ± 0,8	12,78 ± 2,35	49,32 ± 3,60
Teneur en Flavonoïdes (mg/100 g) équivalent en quercétine						
Feuilles	0,72 ± 0,02	26,31 ± 3,04	26,04 ± 2,32	4,86 ± 1,71	38,92 ± 3,04	88,50 ± 0,12
Gousses	3,53 ± 0,40	8,53 ± 1,31	75,34 ± 2,00	13,25 ± 3,29	13,61 ± 3,36	74,48 ± 2,97
Graines	0,86 ± 0,15	1,03 ± 0,07	7,46 ± 0,52	3,43 ± 0,64	14,84 ± 0,88	58,71 ± 5,29
Racines	0,12 ± 0,07	0,93 ± 0,15	2,87 ± 0,32	1,02 ± 0,42	3,00 ± 0,21	4,07 ± 1,43
Tige	0,27 ± 0,08	2,38 ± 0,18	2,71 ± 0,90	1,75 ± 0,46	7,61 ± 1,87	28,05 ± 1,23

D'après la synthèse de l'ensemble des résultats obtenus lors de la quantification des phénols totaux, on peut constater que les teneurs de ces composés de manière globale varient entre 1,87 et 107,21 mg équivalent d'acide gallique /100g de matière sèche.

Les taux des composés phénoliques les plus élevés ont été détectés chez les extraits acétate d'éthyle qui vont de 95,00 mg EAG/100 g pour les graines et 107,21 mg EAG/100 g pour les feuilles pour le système solvant (Acétone / Eau), tandis que, les plus basses teneurs sont remarquées chez les extraits hexanique qui vont de 2,87 mg EAG/100 g pour les racines et 4,48 mg EAG/100 g pour les feuilles pour le système solvant (Méthanol / Eau).

On remarque que les feuilles et les gousses ont consigné les valeurs les plus élevées en phénols totaux dans la majorité des solvants et ceci pour les deux systèmes d'extraction. Les teneurs en métabolites secondaires et notamment celle des composés phénoliques, peuvent être fortement influencé par beaucoup de facteurs intrinsèques et externes. Les facteurs intrinsèques reflètent l'état physiologique de la plante, qui dépend principalement de stade de croissance et de développement. Les facteurs externes comprennent les effets de l'environnement, à la fois abiotiques et biotiques (la température, la fertilité des sols, la disponibilité de l'eau et de la lumière). Ceci dépend éventuellement de l'espèce étudiée, de la nature des composés et de leur localisation dans la plante (Tiwari *et al.*, 2011).

De plus les partie aériennes des plantes sont confrontées aux conséquences des insectes phytophages ou d'autres animaux herbivores, à la concurrence avec les plantes voisines, et les interactions avec des agents pathogènes et parasites (bactéries, champignons, virus et nématodes) (Szakiel *et al.*, 2011); ce qui aurait un impact significatif sur le contenu en phénols totaux des feuilles et des gousses vu qu'il représente la majorité de la partie aérienne de la plante confronté aux conditions climatiques et atmosphériques.

Nous avons constaté également que les extraits acétate d'éthyle ont enregistré les valeurs les plus élevées en phénols totaux comparativement aux extraits hexanique et chloroformique. Les composés phénoliques sont extraits généralement par un solvant de polarité intermédiaire, l'acétate d'éthyle seul. Ainsi la plupart des phénols se retrouvent dans ce solvant, qui sont ensuite aisés d'éliminer sous vide (Macheix *et al.*, 2005 ; Ghedadba *et al.*, 2014 ; Benslama, 2012), mais dans notre étude l'extraction liquide – liquide qu'on a entreprise consiste en un premier lavage par un solvant peu polaire qui est le chloroforme ensuite un second lavage dans un solvant plus polaire qui est l'acétate d'éthyle. De ce fait on a voulu en quelque sorte séparer les phénols peu polaires de ceux polaires et comme la majorité des phénols sont caractérisés par leurs polarités on a pas eu de grands rendements en un solvant peu polaire par

contre et malgré le lavage préalable au chloroforme le rendement été nettement plus élevé dans l'acétate d'éthyle ce qui peut expliquer les faibles taux enregistrés dans les fractions chloroforme (Naczki et Shahidi, 2006).

On note également que les extraits obtenus de la macération Acétone /Eau contiennent plus de composés phénoliques par rapport aux extraits obtenus de la macération méthanol /Eau. Ce qui est en accord avec les études de Robey et Liu qui suggère que le mélange Acétone/ Eau est un bon solvant pour l'extraction des composés phénoliques. Ce qui a été rapporté par certaines études (Robey, 2012 ; Liu *et al.*, 2009).

Des études réalisées au laboratoire des sciences fondamentales sur d'autres espèces végétales de la région de Laghouat ayant utilisé la même procédure d'extraction réalisée dans notre étude excepté l'extraction liquide - liquide où il ont utilisé que l'acétate d'éthyle ont montré des teneurs en phénols largement plus importantes que celles observées chez nos plantes (Djeridane *et al.*, 2008 ; Djeridane *et al.*, 2010 ; Boussoussa *et al.*, 2016 ; Khacheba *et al.*, 2017). Ces faibles valeurs chez nos plantes peuvent être liées à une pauvreté de notre plante en polyphénols, car pendant le processus normal de croissance et de développement, les plantes sont soumises à différents types de stress comme la sécheresse, la chaleur, les rayons ultraviolet, la pollution de l'air et les attaques des agents pathogènes. La plupart des plantes souffrent à la fois de dommages physiologiques et biochimiques par l'exposition à des températures supérieures ou inférieures au niveau optimal pour la croissance. Le résultat de ces blessures, qui se reflètent dans la plupart des processus métaboliques, peut être une réduction de la capacité de croissance (Cannac *et al.*, 2007 ; Rivero *et al.*, 2001). Il a été démontré que ces contraintes et ces stress abiotiques induisent la production de composés phénoliques, tels que les flavonoïdes et les phénylpropanoïdes (Koç *et al.*, 2010) ainsi ils sont impliqués dans leur synthèse, on peut avancer que notre plante c'est développée dans des conditions biotiques favorables, ne stimulant pas la biosynthèse de ces molécules. On ne peut négliger aussi, leur distribution et leur composition qui peut être affectées par le stade de développement et de maturation, par le génotype, et par l'état de conservation.

Des teneurs en composés phénoliques de différent échantillon de l'espèce *Cleome arabica* récoltés à différents saisons et régions ont été rapportés. Les résultats de la quantité en phénols a été estimée pour l'échantillon végétal prélevé à Boussaâda en Mars 2007. A $322,1 \pm 3,44$

mg GAE / g) (Tigrine et al., 2014), $78,56 \pm 0,01$ mg GAE/g pour l'échantillon de Biskra en avril 2011 (Madi *et al.* ,2017) et Sidi Makhoulouf a Laghouat en septembre 2005 (2.17 mg GAE/g) (Djeridane *et al.*, 2010).

Cette différence dans le contenu en phénols est probablement due à l'impact de l'habitat ou du site de culture; des études ont montré que des plantes appartenant à la même espèce mais qui poussent dans différentes zones géographiques peuvent différer sensiblement en particulier en leur teneur en métabolites secondaires, tant qualitativement que quantitativement. ce phénomène est observé dans de nombreuses plantes contenant des phénols (Szakiel *et al.*, 2011 ; Makris *et al.*, 2006; Derradji, 2015). Aussi les échantillons choisis pour l'étude sont développées dans des sites géographiques différents avec des conditions de croissance complètement distinctes; Le climat local, les variations saisonnières, les conditions extérieures telles que la lumière, la température, l'humidité affectent la composition des métabolites secondaires (Ramakrishna et Ravishankar, 2011; Boukri, 2014). C'est pourquoi, dans le cadre de cette étude nous avons été confrontés à des résultats plus ou moins différents.

Comme l'extraction des composés phénoliques dans les substances végétales est influencée par leur nature chimique, la méthode d'extraction employée, la taille des particules de l'échantillon, le temps de stockage, ainsi que la présence de substances interférentes (Naczek et Shahidi, 2004). On ne passe pas à côté du mode d'extraction suivi, du type de solvants utilisés, de la durée d'extraction et du type du contact matière-solvant lors de notre traitement des échantillons.

Il faut noter que les teneurs d'extraits bruts et les teneurs en phénols totaux ne varient pas dans le même sens, car on remarque que pour des teneurs élevées en extraits on enregistre des quantités faibles en phénols totaux. Cette constatation est valable pratiquement pour tous les organes et notamment dans les feuilles qui ont enregistré la valeur la plus élevée en extrait 4,22 %; m/m alors que ce n'est pas le cas pour les teneurs en phénols totaux où la quantité est de 11,21 mg EAG/100 g seulement.

Le test de Folin-Ciocalteu est le procédé le plus utilisé pour la quantification de composés phénoliques totaux dans les matières végétales (Naczek et Shahidi, 2004). Cette méthode est très sensible mais malheureusement peu spécifique car beaucoup d'autres composés réducteurs

peuvent interférer, avec d'autres composés que les polyphénols (Macheix *et al.*, 2005) telles que les sucres, les protéines et les pigments qu'on estime ont pu passer dans le mélange polaire utilisé pour l'extraction.

Les valeurs obtenues n'ont pas été pour autant très satisfaisantes car elles restent très globales et ne donnent aucune indication sur les différents composés présents dans nos échantillons. D'autres techniques pour la quantification de ces composés tels que chromatographie en phase gazeuse (GC) et la chromatographie liquide à haute performance (HPLC) peuvent être utilisées. Ces analyses permettront la séparation et la quantification de composés phénoliques ainsi que la connaissance des principales classes de composés phénoliques présentes dans chaque extrait ainsi que leurs quantités relatives.

La quantification des flavonoïdes dans nos extraits a été déterminée en suivant le même protocole décrit lors de la préparation de la courbe d'étalonnage de la quercétine. Les résultats obtenus exprimés en milligrammes équivalent quercétine par cent gramme de la matière sèche sont regroupés dans le tableau III.3. D'après les résultats obtenus, on remarque que globalement les valeurs varient de 0,12 mg équivalent de quercétine /100g de matière sèche pour l'extrait hexanique des racines et 88,5 mg équivalent de quercétine /100g de matière sèche pour l'extrait acétate d'éthyle des feuilles.

Il est clair que les taux en flavonoïdes sont inférieurs mais très proches de ceux des phénols ce qui indique que presque tous les phénols extraits sont des flavonoïdes. Le reste pourrait être d'autres composés phénoliques possédant d'autres structures chimiques que celles des flavonoïdes (Acide phénoliques, tanins, stilbènes. . .) présentes en quantités minimales.

À travers les résultats cités dans le tableau III.3, et comparativement aux teneurs en phénols, on constate que presque toutes les plantes étudiées sont en possession d'un matériel riche en flavonoïdes. Ainsi, on peut déduire que l'analyse des polyphénols par les méthodes spectroscopiques nous offre une bonne idée sur l'identification quantitative et qualitative de ces composés.

I.4. Evaluation de l'activité antioxydante des extraits phénoliques de *Cléome* par le test DPPH

À l'heure actuelle, la capacité antioxydante des produits naturels contenant des polyphénols constitue un sujet de recherche très étudié. L'intérêt pour les antioxydants naturels a

commencé depuis les années 1990 où on a largement identifié l'influence de plusieurs produits alimentaires et boissons comprenant des fruits, des légumes, du thé, du café et du cacao sur la santé humaine qui s'avère être étroitement associée à la capacité antioxydante de polyphénols contenus (Sanchez-Moreno et *al.*, 1998).

Les antioxydants présents dans les plantes médicinales et plus spécifiquement les composés phénoliques, sont bénéfiques à la santé humaine en neutralisant les dommages cellulaires causés par les radicaux libres et les molécules de dioxygène ou de peroxyde (Rolland., 2004 ; Louis Léger., 2006 ; Sanchez-Moreno et *al.*, 1998).

L'activité antioxydante des polyphénols est due au caractère acide de la fonction phénol (donneur d'hydrogène) et à sa possibilité d'établir des liaisons hydrogènes. Cela lui confère la capacité de complexer les métaux, de se combiner à des molécules nucléophiles et de faire les réactions d'oxydoréduction. Leur propriété de piéger les radicaux libres est due à leur fonction hydrogène (Rice-Evans., 1995).

Parmi les critères prépondérants de sélection des extraits dans notre plante étant bien sûr leurs pouvoirs antioxydant. Le choix particulier de tester l'activité antioxydante par le test au DPPH a résidé dans la simplicité de mise en œuvre de la méthode et à sa bonne reproductibilité.

L'efficacité antioxydante de nos extraits a été déterminée en calculant le paramètre IC_{50} qui représente la concentration en inhibiteur (antioxydant) nécessaire pour obtenir une réduction de 50% des radicaux libres. Les résultats obtenus sont résumés dans (Tableau 4).

Les valeurs des IC_{50} ont été déterminées pour tous les extraits et à 30 min à partir des figures représentant les variations du pouvoir antioxydant (% d'inhibition) en fonction de la concentration de chaque extrait (voir Annexe). L' IC_{50} de la vitamine C choisie comme standard a été ainsi déterminée.

Tableau III.4. Valeurs d'EC₅₀ en (µg de résidu sec /mL) des différents extraits d'acétate d'éthyle et chloroformique issus de l'extraction (acétone/eau) et (méthanol/eau).

		EC ₅₀ (µg/ml)		
Système de solvants	Méthanol / Eau		Acétone / Eau	
Extrait	Chloroforme	Acétate d'éthyle	Chloroforme	Acétate d'éthyle
Organes				
Feuilles	950 ± 0,02	696 ± 0,17	800 ± 0,03	158 ± 0,04
Gousses	320 ± 0,03	386 ± 0,01	145 ± 0,02	9 ± 0,00
Racines	3 ± 0,00	282 ± 0,00	4 ± 0,03	221 ± 0,00
Tige	440 ± 0,01	1934 ± 0,13	161 ± 0,00	4,8 ± 0,00
Graines	490 ± 0,09	560 ± 0,02	1210 ± 0,07	87 ± 0,00
Standard				
Vitamine C	4,6 ± 0,00			

D'après les résultats du tableau ci-dessus, nous remarquons que les valeurs IC₅₀ des extraits phénoliques des différents organes de notre plante varient généralement de 3 à 1210 µg/ml. La valeur la plus élevée a été enregistrée pour l'extrait chloroformique des graines, Tandis que la plus faible valeur a été enregistrée pour l'extrait chloroformique des racines 3 µmg/ml.

Tous les extraits phénoliques de *Cleome arabica* ont montré une efficacité antioxydante vis-à-vis du radical libre DPPH plus importante par rapport à celle de l'antioxydant standard (la vitamine C : IC₅₀=4,6 µg/ml). L'extrait chloroformique des racines est considéré comme le plus puissant parmi tous nos extraits (IC₅₀=3 µg/ml), alors que l'extrait chloroformique des graines a le plus faible pouvoir antioxydant.

L'effet antioxydant de la partie aérienne des extraits phénoliques de *Cleome arabica* a été prouvé dans plusieurs travaux (Djeridane et al 2010 et Tigrin et al 2014) avec l'utilisation de différents tests antioxydants dans leurs études (DPPH, ABTS, test d'hémolyse, FRAP). Ces résultats, confirment le pouvoir antioxydant des composés phénoliques de *Cleome arabica*.

En comparant nos résultats avec ceux de Madi et *al* (2017), il est clair que nos extraits sont plus efficaces vis-à-vis du radical DPPH. Ceci, pourrait être expliqué par la différence de la structure chimique des composés phénoliques contenus dans chaque extrait et qui eux même, dépendent de la nature du solvant d'extraction, ainsi que de l'organe choisi. L'efficacité de ces composés phénoliques en tant qu'antioxydants dépend du nombre de groupes hydroxyles associés à l'anneau aromatique (Debouba et *al*, 2012).

L'activité antioxydante et la quantité de polyphénols d'un extrait sont deux paramètres qui dépendent fortement des conditions opératoires de l'extraction, de la nature et la polarité du solvant et en particulier de la matière végétale. En effet, contrairement aux métabolites dits primaires, les métabolites secondaires changent considérablement leur distribution parmi les espèces. En plus, la synthèse et l'accumulation de différents composés des métabolites secondaires au sein de la même plante reflètent différentes étapes de maturation et/ou de floraison (Laitinen, 2000).

En effet, les composés phénoliques et plus particulièrement les flavonoïdes sont reconnus comme des substances potentiellement antioxydantes ayant la capacité de piéger les espèces radicalaires et les formes réactives de l'oxygène à très faible dose, l'effet scavenger des flavonoïdes (FLOH) est attribué à leur faible potentiel redox qui les rend thermodynamiquement capable de réduire les radicaux libres ($R^{\bullet}$) par un transfert d'atome d'hydrogène à partir des groupements hydroxyle. Cette réaction donne naissance au radical aroxy (FLO $^{\bullet}$) et la molécule radicalaire est rendu stable (RH), le FLO $^{\bullet}$ subira par la suite un réarrangement structurale permettant la redistribution de l'électron célibataire sur le cycle aromatique et la stabilisation de radicaux aroxy (Javanovic et *al*, 1994).

D'après les résultats du dosage des phénols totaux et des flavonoïdes obtenus, nous avons pu constater que nos extraits sont riches en flavonoïdes. Pour cette raison, nous avons voulu étudier l'existence d'une corrélation entre les valeurs d'IC₅₀ et les teneurs en phénols totaux et celles des flavonoïdes. Les valeurs des coefficients de corrélation obtenues sont présentées dans le tableau ci-dessous.

Tableau III.5. Coefficients de corrélation obtenus entre les teneurs en phénols totaux/ flavonoïdes et les valeurs d'EC₅₀ des différents extraits.

	DPPH		DPPH	
	Macération acétone/Eau		Macération méthanol /Eau	
	l'extrait l'acétate d'éthyle	l'extrait chloroformique	l'extrait l'acétate d'éthyle	l'extrait chloroformique
Phénols totaux	-0,33	-0,18	-0,42	0,86
Flavonoïde	-0,38	-0,20	-0,37	0,81

Dans cette étude, cinq parties de l'espèce *Cleome arabica* ont été étudiées, ainsi nous avons évalué leurs activités antioxydantes par la méthode de DPPH, les résultats montrent une forte activité antioxydante.

Les extraits chloroformiques issus de la macération (méthanol /eau) montrent une bonne corrélation entre la capacité antioxydante des extraits et leur teneur en composés phénoliques ($r = 0,86$) et aussi en flavonoïdes ($r = 0,81$) (tableau III.5). Cela signifie que le piégeage du radical libre DPPH pourrait être attribué à la capacité des extraits à fournir de l'hydrogène à ce radical afin de le stabiliser (Kasangana et al, 2015). Cette stabilisation est visualisée par le changement de couleur de la solution de DPPH du violet au jaune, le degré de changement de couleur est proportionnelle à la concentration et à la puissance des antioxydants (Naima et al, 2012).

Une bonne corrélation significative a été trouvée entre le test de réduction de DPPH et le contenu du total composé phénolique des extraits chloroformiques avec $r = -0,86$, et $r = -0,81$ avec les teneurs en flavonoïdes. De ces résultats, nous pouvons déduire que les composés phénoliques sont plus efficaces que les flavonoïdes. Nos résultats sont en accord avec de nombreuses autres études qui confirment cette corrélation entre les polyphénols, la teneur en flavonoïdes et activités antioxydantes (Kasangana et al, 2015 ; Madi et al, 2017).

Nous notons ainsi, que les autres extraits (acétate d'éthyle et chloroformique issus de la macération acétone/eau) n'ont aucune corrélation entre la quantité en composés phénoliques

et/ou de flavonoïdes et la capacité antioxydante malgré leur efficacité élevée de piégeage du radical libre DPPH. Les explications possibles du fort pouvoir antioxydant en l'absence de relation avec la quantité en composés phénoliques est que les polyphénols de ces extraits ne sont pas les seuls responsables de l'inhibition du radical DPPH. (khacheba et al, 2014) ou de l'existence de certaines molécules individuelles responsables de cette activité antioxydante.

I.5. Etude de l'effet inhibiteur sur l' α – amylase

Les représentations graphiques de la variation des pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations en extraits (voir annexe), nous ont permis de déterminer les valeurs d'IC₅₀ pour chaque extrait que nous avons regroupés dans le tableau si dessous.

Tableau III.6. Valeurs des IC₅₀ des extraits des différents organes de la plante étudiée (*Cleome arabica*) vis - à vis de l' α – amylase.

Système de solvants	IC ₅₀ (mg/ml)					
	Méthanol / Eau			Acétone / Eau		
Extrait Organes	Hexane	Chloroforme	Acétate d'éthyle	Hexane	Chloroforme	Acétate d'éthyle
Feuilles	1,31 ± 0,12	8,30 ± 1,95	18,45 ± 0,6	14,82 ± 1,24	7,95 ± 1,6	12,85 ± 2,93
Gousses	7,09 ± 1,19	2,76 ± 0,46	5,16 ± 0,12	1,9 ± 0,11	3,93 ± 1,08	0,15 ± 0,017
Graines	8,71 ± 1,01	2,59 ± 0,15	1,77 ± 1,77	1,08 ± 0,06	2,35 ± 0,17	1,03 ± 0,078
Racines	1,67 ± 0,19	3,73 ± 0,66	2,16 ± 0,16	1,31 ± 0,1	3,14 ± 0,353	2,85 ± 0,40
Tige	8,01 ± 1,31	1,64 ± 0,07	4,76 ± 0,19	0,6 ± 0,09	0,79 ± 0,10	5,35 ± 0,16

Après analyses des résultats obtenus, nous avons constaté que tous les extraits phénoliques préparés des différents organes de la plante *Cleome arabica* présentent un potentiel d'inhibition vis-à-vis des deux enzymes l' α – amylase.

Au regard du tableau précédent, nous avons noté que les valeurs d'IC₅₀ dans la macération Méthanol / Eau varient globalement entre 1,31 mg/ml pour l'extrait hexanique des feuilles

18,45 mg/ml pour l'extrait acétate d'éthyle des feuilles, et pour la macération Acétone / Eau entre 0,15 mg/ml pour acétate d'éthyle des gousses et 14,82 mg/ml pour l'extrait hexanique des feuilles.

Nous avons remarqué, que les résultats obtenus pour deux système de solvant et ceci pour la majorité des organes ne sont pas espacés ils varient presque entre 1 et 8 mg/ml ne dépassant pas les 10 mg/ml excepté les extrait acétate d'éthyle (Méthanol / eau) et hexane et acétate déthyl (acétone / eau) qui a enregistré les plus forte valeurs 18,45, 14,82 et 12,85 mg/ ml respectivement. On peut dire alors que ces les fractions la plus faible du point de vu inhibition vue qu'elles nécessitent une quantité d'extraits plus importante que les autres fractions pour obtenir 50 % d'inhibition. D'un autre côté la fraction acétate d'éthyle des gousses a enregistré la plus faible valeur 0,15 mg/ml faisant de celle ci la meilleure fraction inhibitrice.

Ce rapprochement de valeurs dans les deux types d'extraction, est du peut être à l'existence de molécules actives de structure plus au moins rapproché ou ayant le même mécanisme d'action inhibitrice (Maghazi, 2016).

En comparant entre les valeurs obtenues pour chaque organes, nous avons constaté que celles des feuilles sont meilleures que celles des autres exceptées quelques cas, la encore nous percevront l'effet des conditions climatiques sur l'activité biologique.

Nous avons remarqué, que les résultats obtenus pour les extraits acétate d'éthyle sont meilleur que ceux du chlorophorme et l'hexane. Ceci a également été confirmer par l'étude de Khacheba *et al.*, 2014^b *in - vitro* de l'effet inhibiteur d'extraits hexaniques et dichloromethane sur cinq plantes spontanées *Agatophora alopecuroïde*, *Genista corsica*, *Hammada elegans*, *Helianthemum kahiricum* et *Salsola baryosma*.

Les fractions acétate d'éthyle ont montré des taux d'inhibition important vis-à-vis des deux enzymes par rapport aux fractions. Les deux solvants sont différents du point de vue polarité et comme nos deux enzymes sont des hydrolases spécifiques aux liaisons osidiques on peut expliquer l'importance des taux chez les fractions acétate d'éthyle par le fait que ce solvant de polarité supérieure aux autres a permis l'extraction d'un nombre plus important de composés phénoliques de type glycosilé (flavonoides particulièrement les glycosilés) ou une autre explication est envisagée, est que les principes actifs responsables à l'inhibition de nos enzymes ne sont pas extractibles par l'hexane et le chloroforme (Djeridane, 2013).

Une autre étude de Khacheba et ces collaborateurs en 2017 sur des extraits aqueux et organiques de trois plantes médicinales hypoglycémiantes : *Cistus SP*, *Salvia officinalis* et *Zygophyllum album* a montré des valeurs meilleures que celles de notre étude (0,38, 0,45 et 0,78 mg/ml respectivement).

Salehi et ces collaborateurs en 2013, ont étudié *in vitro* l'effet inhibiteur d'extraits hexaniques et dichlorométhanes sur les deux enzymes α -glucosidase and α -amylase avec des valeurs d'IC₅₀ allant de 0,3 à 1,1 et de 36,2 to 41,9 μ g/ml respectivement. En les comparant aux nôtres ces valeurs sont plus intéressantes et sont 10 à 100 fois meilleures; ceci est due à l'espèce végétale étudiée, le mois de récolte, le mode de traitement et d'extraction de l'échantillon et du protocole de dosage utilisé pour la détermination des IC₅₀ (Salehi *et al*, 2013).

le phénomène d'inhibition est le résultat d'une synergie entre plusieurs molécules on peut expliquer ces taux par la séparation de certaines molécules dans deux solvants d'extraction qui auraient pu donné des taux plus importants si ils été présent ensemble dans le même milieu réactionnel (Ranga *et al.*, 2009).

Ce qui est intéressant dans ces résultats, c'est l'existence d'effet inhibiteur pour les fractions apolaires et moyennement polaires, à savoir hexane et chloroforme ce qui rend ces deux fractions très intéressantes pour d'éventuels isollements de molécules à structures nouvelles.

Conclusion

Au cours de cette étude, ayant pour but de mieux connaître l'espèce *Cleome arabica* au travers de l'étude de l'effet inhibiteur d'enzyme et antioxydant de l'un de ces métabolites secondaires (les composés phénoliques), 30 extraits bruts provenant de 5 g de la plante ont été évalués à l'aide de méthodes de criblage chimique (extraction, dosage des phénols totaux et des flavonoïdes ainsi que l'évaluation des activités antioxydante et inhibitrice sur l' α – amylase). La première découverte intéressante, déroulant du criblage chimique préliminaire, a été l'existence d'effet inhibiteur par les extraits apolaire (hexane) et peu polaire (chloroforme) vis-à-vis de l'enzyme choisie pour l'étude l' α – amylase.

Nous avons étudié la composition chimique de la plante récoltée par des tests phytochimiques, qui ont montré la présence dans la majorité des organes des tanins, des flavonoïdes, des saponines et des alcaloïdes et nous avons déterminé les quantités des phénols totaux et des flavonoïdes dans les extraits de cette plante; les teneurs varient respectivement entre 1,87 et 107,21 mg équivalent d'acide gallique /100g de matière sèche et entre 0,12 et 88,5 mg équivalent de quercétine /100g de matière sèche.

L'évaluation du pouvoir antioxydant des extraits phénoliques et d'un antioxydant commercial pris comme références (la vitamine C) par le test chimique DPPH *in vitro* a décelé des activités antioxydantes très intéressantes chez la plante en question avec des valeur d'EC₅₀ comprise entre 0,08 et 1,93 mg/ml.

À la recherche d'activité inhibitrice des différents organes de *Cleome arabica* nous avons testé l'effet inhibiteur des extraits : hénaniques, chlorofromiques et acétate d'éthyle sur l' α - amylase. Nous avons pu prouver *in vitro* à travers cette étude la capacité inhibitrice des nouveaux extraits de la plante investiguée sur l'enzyme. L'étude cinétique de l'inhibition a montré des inhibitions vis-à-vis de l'activité catalytique de l'enzyme, avec des valeurs d'IC₅₀ de l'ordre du g/l variant entre 0,15 et 18,45 mg/ml.

Cette étude a donc permis, de confirmer la propriété inhibitrice des nouveaux extraits de *Cleome arabica*. Elle devrait inciter à une meilleure revalorisation de cette plante qui peut servir comme un véritable rempart contre l'une des plus graves maladies de l'heure : le diabète.

L'ensemble de ce travail a permis donc de mieux appréhender l'intérêt de l'étude des plantes locales de la région de Laghouat et de prouver *in – vitro* l'importance des caractéristiques chimiques de certaines de leurs substances d'intérêt bioactif.

Les résultats obtenus peuvent être d'une grande importance cependant, ne constitue qu'une première étape dans la recherche des substances et sources naturelles biologiquement actives. Des études complémentaires, précises et approfondies restent nécessaires pour pouvoir confirmer les résultats mis en évidence.

En perspective à cette étude plusieurs travaux peuvent être envisagés dans ce domaine de recherche en élargissant l'étude de l'effet des extraits *in vivo* pour confirmer les résultats précédents.

À fin de pouvoir trouver de potentiel inhibiteurs spécifiques et efficaces pour l' α – amylase, il sera intéressant d'essayer d'isoler et de caractériser ces inhibiteurs par la combinaison des techniques chromatographiques et spectroscopiques les principes actifs responsables à l'activité inhibitrice de l'enzymes qui nous permettra de préciser les fonctions métaboliques et de faire une bonne étude structure-fonction de l'enzyme.

Il faut signaler qu'il reste encore beaucoup de plantes locales utiles qui n'ont pas été étudiées et qui mériteraient d'être investiguées dans les domaines étudiés.

Il est également envisageable d'élargir le panel des tests ainsi que l'évaluation d'autres activités biologiques tel que l'activité antimicrobienne et l'activité anti-inflammatoire.

Ce travail a fourni de nouvelles connaissances ethnopharmacologiques et phytochimiques au sujet des plantes locales de la région de Laghouat et a permis de mettre en évidence le rôle des polyphénols naturels dans la régulation du stress oxydatif et la normalisation des troubles glycémiques.

Références bibliographiques

Abdul Motaleb, M., 2011. Selected medicinal plants of Chittagong Hill tracts. Edition IUCN.international union for conservation of nature and natural resources, Bangladesh country office. Pp 1 – 115.

Adediwura, F.- J., Abo, K., Wilkins, R., February 2009. α -Amylase inhibitory effect of 3b-olean-12-en-3-yl (9Z)-hexadec-9-enoate isolated from *Spondias mombin* leaf. Journal of Food Chemistry, volume 116, p 285-288.

Andrade-Cetto, A., Becerra-Jiménez, J., Cárdenas-Vázquez, R., December 2007. α -glucosidase-inhibiting activity of some Mexican plants used in the treatment of type II diabetes. Journal of Ethnopharmacology, volume 116, p 27-32.

Apostolidis, E., Kwon, Y.-I., et Shetty, K., 2007. Inhibitory potential of herb, fruit, and fungal-enriched cheese against key enzymes linked to type II diabetes and hypertension. Journal of Innovative Food Science and Emerging Technologies, volume 8, p 46–54

Baba Aissa, F., Encyclopédie des plantes utiles, Flore d'Algérie et du Maghreb. Edition Librairie Moderne Rouiba (Alger), 2000, 368p.

Bahorun T. 1997. Substances naturelles actives : la flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle. Food and Agricultural Research Council Réduit Mauritius, Bahorun, T., 1997. Substances naturelles actives : La flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle, Journal of Food and Agricultural Research, p 83 - 94.

Baron, A., Bertheau, y., Brillquet, J. M., Cassagne, C., Coleno, A., Gripon, J. C., Hoebler, C., Kotoujansky, A., Mercier, C., Odier, E., Rouau, X., Thibault, J. F., Valin, C., et Verger, R., 1985. Hydrolases et dépolymérase enzymes d'intérêt industriel. édition Bordas, p 113, 114, 116.

Bhandari, M. R., Jong-Anurakkun, N., Hong, G., Kawabata, J., 2008. α – glucosidase and α - amylase inhibitory activities of Nepalese medicinal herb Pakhanbhed (*Bergenia ciliata*, Haw.). Journal of Food Chemistry, volume 106 , p 247 - 252

Bhooshan Pandey K and Ibrahim Rizvi S. 2009. Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease, Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 270-278.

BOUKRI N H., 2014 - Contribution à l'étude phytochimique des extraits bruts des épices contenus dans le mélange Ras-el-hanout. Thème Master Academique. Université Kasdi Merbah Ouargla. 99 p.

BOURGOU 2016 Effet du solvant et de la méthode d'extraction sur la teneur en composés phénoliques et les potentialités antioxydantes d'Euphorbia helioscopia

Bouriche, H., Miles, E.A., Selloum L., Calder, P.C., 2005. Effect of Cleome arabica leaf extract, rutin and quercetin on soybean lipoxygenase activity and on generation of inflammatory eicosanoids by human neutrophils. Prostaglandins, Leukotrienes & Essential Fatty Acids 72,195-201.

Bouriche, H., Selloum, L., Tigrine, C., Boudoukha, C., 2003. Effect of Cleome Arabica Leaf Extract on Rat Paw Oedema and Human Neutrophil Migration. Pharmaceutical Biology 41, 10-15.

Boussoussa, H., Khacheba, I., Djeridane, A., Mellah, N., Yousfi, M., 2016. Antibacterial activity from Rhanterium adpressum flowers extracts, depending on seasonal variations. Industrial Crops and Products., 83 (2016) 44 – 47.

Burkill, H.M., The useful plants of west tropical Africa, (Families A-D), 2nd ed, Kew, UK: Royal Botanic Gardens, 1985, 980p.

Burkill, H.M., The useful plants of west tropical Africa, (Families A-D), 2nd ed, Kew, UK: Royal Botanic Gardens, 1985, 980p.

Cannac, M., Pasqualini, V., Greff, S., Fernandez, C., et Ferrat, L., 2007. Characterization of phenolic compounds in *pinus laricio* needles and their responses to prescribed burnings. Molecules , volume 12, p 1614-1622.

Changer, S. M ., et Kuttan, R., April 2009. Antidiabetic end antioxydant activity of *Terminalia belerica*. Indian journal of experrimental biology, Volume 47, p 270 – 275.

Changer, S. M ., et Kuttan, R.,2004. Antidiabetic activity of *Aegle marmelos* and its relationship with its antioxidant properties . Indian J Physiol Pharmacol, volume 48 (1), p 81–88.

Chethan, S., Sreerama, Y.N., Malleshi, N.G., March 2008. Mode of inhibition of finger millet malt amylases by the millet phenolics. Journal of Food Chemistry, volume 111 p 187-191.

Chhetri, H. P., Yogol, N. S., Sherchan, J., Anupa, K. C., Mansoor, S., Thapa, P., 2008. Phytochemical and antimicrobial evaluations of some medicinal plants of Nepal. Journal of science enginnering and technology, I(V) : 49 - 54.

Derradji.,2015 effet de la nature du sol sur la teneur en antioxydants de quelques variétés de raisin de la région el taref.

Deutschländer, M.S., van de Venter, M., Roux, S., Louw, J., et Lall, N., May 2009. Hypoglycaemic activity of four plant extracts traditionally used in South Africa for diabetes. *Journal of Ethnopharmacology*, volume 124, p 619-624.

Djeridane A, Yousfi M, Brunel JM and Stocker P. 2010. Isolation and characterization of a new steroid derivative as a powerful antioxidant from *Cleome arabica* in screening the in vitro antioxidant capacity of 18 Algerian medicinal plants, *Food and Chemical Toxicology* 48: 2599–2606.

Djeridane A. 2008. Effet des Polyphénols Naturels sur l’Inhibition de la Carboxylestérase et l’Acydase et évaluation de leur Pouvoir Antioxydant, Thèse de doctorat ; ENS-Kouba ; p 180.

Djeridane, A., Yousfi, M., Brunel, J.M., Vidal, N., Ajandouz, E.H., et Stocker, P., Marsh 2008. Inhibition of porcine liver carboxylesterase by a new flavone glucoside isolated from *Deverra scoparia*. *Journal of Chemico-Biological Interactions.*, volume 172 (1), p.22-26.

Djeridane et al, 2013. The in vitro evaluation of antioxidative activity, α -glucosidase and α -amylase enzyme inhibitory of natural phenolic extracts

Giner- Chavez, B.I., 1996. Condensed tannins in tropical forages. these Ph. D, Cornell University, Ithaca, USA.

Guy, D., Organisation et classification des plantes vasculaires: Systématique, Edition Sedes (Paris), 1979, 540p.

Heo, S - J, Hwang, J – Y., Choi, J –I., Han, J – S., Kim, H – J., et Jeon, Y – J., May 2009. Diphenylhydroxycarmalol isolated from *Ishige okamurae*, a brown algae, a potent α -glucosidase and α -amylase inhibitor, alleviates postprandial hyperglycemia in diabetic mice. *European Journal of Pharmacology*, volume 615, p 252-256

Hosein S and Rogers T. 2005. Guide pratique des plantes médicinales, Ed révisée : CATIE, 56 pp.

Ismail, I.S., Ito, H., Selloum, L., Bouriche, H., Yoshida, T., 2005. Constituents of *Cleome arabica* leaves and twigs. *Natural Medicine* 59, 53.

Jaganath, I.B., Crozier, A. 2010. Dietary flavonoids and phenolic compounds. In Fraga, C.G. (Ed.), *Plant Phenolics and Human Health: Biochemistry, Nutrition, and Pharmacology*. John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, U.S., pp. 1–49.

Javanovic SV, Steenken S, Tosic M, Marjanovic B & Simic MJ. 1994. Flavonoïds as antioxidants, *Journal of the American Chemical Society*; 116: 4846-4851.

Jin Dai and Russell J. Mumper, 2010. *Plant Phenolics: Extraction, Analysis and Their Antioxidant and Anticancer Properties*, Molecules.

Khacheba, I., 2014^b. Evaluation de l'activité antioxydante et étude du pouvoir d'inhibition sur l' α - amylase et l' α – glucosidase des extraits naturels de la plante *Genista*. Thèse de doctorat de L'École Normale Supérieure De Kouba-Alger. Pp 255.

Khacheba, I., Boussoussa, H., Djeridanea, A., Bekhaouab, A., Bensayah, N., Yousfi, M., 2017. Glucosidase Inhibitory Effect and Antioxidant Activity of the Extracts of Eighteen Plant Traditionally Used in Algeria for Diabetes, *Current Enzyme Inhibition*, 13, 1 - 12.

Khacheba, I., Djeridane, A., Kameli, A., Yousfi, M., 2014^a. The inhibitory effect of some algerian plants phenolics extracts on the α - glucosidase and α - amylase activities and their antioxidant activity. *Current enzyme inhibition*, 10, p 59 - 68.

Koç, E., Dslek, C., et Ustun, A. S., 2010. Effect of cold on protein, proline, phenolic compounds and chlorophyll content of two pepper (*Capsicum annuum* L.) Varieties. *Journal of Science*, volume 23(1), p 1-6.

Laitinen ML, Julkunen-Tiitto R & Rousi M. 2000. *Variation in phenolic compounds within a birch (Betula pendula) population*. *Journal of Chemical Ecology* ; 26 (7): 1609-1622.

Lévêque, E., Haye, B., et Belarbi, A., 2000. L'amidon et ces dérivés applications industrielles. éditions scientifiques et médicales Elsevier SAS, p 17, 18, 19, 20, 21, 35.

Louis Léger C. 2006. Anti-oxydants d'origine alimentaire : diversité, modes d'action antioxydante, interactions, *OCL*, 59-69.

Ma, C. M., Sato, N., Li, X. Y., Nakamura, N., et Hattori, M., April 2009. Flavan-3-ol contents, anti-oxidative and α - glucosidase inhibitory activities of *Cynomorium songaricum*. *Food Chemistry*

Macheix J J, Fleuriet A et Allemand C J. 2005. Les composés phénoliques des végétaux « un exemple de métabolites secondaires d'importance économique ». Ed ; Presse polytechniques et universitaires romandes, 192.

- Macheix et coll., 2006. Les polyphénols en agroalimentaire, Lavoisier, Paris, p 1-28.
- Macheix, J – J., Fleuriet, A., et Jay – Allemand, C., 2005. Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires. Presses polytechnique et universitaires romandes, p 121
- Madi, A., Zaghed, N., Halmi, S., Belkhiri, A. 2017 Antioxidant Activity And Phenolic Compounds Contents Of Spider Flower (Cleome Arabica Ssp.Arabica), A Well Acclimated Species In The Algerian Desert Areas. European scientific journal. 13 (12), 102 – 118.
- Makris, D.P., Kallithraka, S. & Kefalas, P. (2006).** Flavonols in grapes, grape products and wines : burden, profile and influential parameters. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19, 396-404.
- Médart , J., 2009. Manuel pratique de nutrition : L'alimentation préventive et curative. édition De Boeck s. a., p 46 – 49 – 50 – 51 – 52.
- Mojab, F., Kamalinejab, M., Ghaderi, N., Vahidipour, H. R., 2003. Phytochemical Screening of Some Species of Iranian Plants. Iranian Journal of Pharmaceutical Research, p 77 - 82.
- Molyneux, P., 2004. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant Activity. *Journal of Science. Technologie*, volume, 26(2), p 211-219
- Montonen J, Knekt P, Järvinen R, Reunanen A. 2004. Dietary antioxidant intake and risk of type 2 diabetes. *Diabetes Care*, volume 27(2), p 362 - 6.
- Naczki, M., & Shahidi, F. (2006). Phenolics in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 41, 1523–1542.
- Naczki, M., et Shahidi, F., 2004. Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of Chromatography A*, volume 1054, p 95 -111.
- Nickavar, B., et Mosazadeh, G., February 2009. Influence of three *Morus* species extracts on α -amylase activity. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, volume 8 (2), p 115-119.
- Nickavar, B., et Nasibeh, Y., 2009. Inhibitory effects of six *Allium* species on α -Amylase enzyme activity. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, volume 8 (1), p 53-57.
- Ozenda P. 1958. « Flore de Sahara, Septentrional et Centrale », p 486.
- Ozenda, P., Flore et végétation du Sahara. Edition CNRS (Paris), 1991, 662p

Pournaras, C., 2008, Pathologies vasculaires oculaires, Elsevier Masson, p 181, 183.

Prabhakar, P.K., Doble, M., 2011. Interaction of phytochemicals with hypoglycemic drugs on glucose uptake in L6 myotubes. *Phytomedicine*, 18(4), 285 – 291.

Quettier Deleu, C., 2000. Phenolic compounds and antioxidant activities of buckweat hulls and flour, *Journal of Ethnopharmacology*, volume 72, p 35 - 42.

Quezl P et Santa S. 1963. Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, Ed : centre national de la recherche scientifique, 1170.

Rajalakshmi, M., Eliza, J., Cecilia, E.P., Nirmala, A., et Daisy, P., May 2009. Anti-diabetic properties of *Tinospora cordifolia* stem extracts on streptozotocin- induced diabetic rats. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, Volume 3(5),p 171-180.

Ramakrishna, A., et Ravishankar, G. A., November 2011. Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. *Plant Signal Behav.* Volume 6(11), p 1720 -1731.

Ramawat K G and MérillonS J M. 2008. Bioactive Molecules and Medicinal Plants, Library of Congress; 391.

Ranga, R. R., Tiwari, AK., Reddy, P. P., Babu, S. K., Madhusudana, A. K., et Madhusudana, R. J., May 2009. New furanoflavanoids, intestinal α -glucosidase inhibitory and free-radical (DPPH) scavenging, activity from antihyperglycemic root extract of *Derris indica* (Lam.). *Journal of Bioorganic & Medicinal Chemistry*, volume 17, p 5170 - 5175.

Ranga, R. R., Tiwari, AK., Reddy, P. P., Babu, S. K., Madhusudana, A. K., Madhusudana, R. J., May 2009. New furanoflavanoids, intestinal α - glucosidase inhibitory and free-radical (DPPH) scavenging, activity from antihyperglycemic root extract of *Derris indica* (Lam.). *Journal of Bioorganic & Medicinal Chemistry*, volume 17, p 5170–5175.

Raquibul, S. M., H., Mokarram, Md. H., Raushanara, A., Mariam, J., Ehsanul, Md. H. M., et Shafiqur, Rahman., November, 2009. DPPH free radical scavenging activity of some Bangladeshi medicinal plants. *Journal of Medicinal Plants Research*, volume 3(11), p. 875-879

Rates S.M.K. 2001. Plants as source of drug, *Toxicon*, 603–613.

Rice-Evans C. 1995. Plant polyphenols: Free radical scavengers or chain breaking antioxidants, *Biochem Soc symp*; 61: 103-116.

Rivero, R. M., Ruiz, J. M., Garca, P. C., Lopez-Lefebvre, L. R., Sanchez, E., et Romero, L., 2001. Resistance to cold and heat stress : accumulation of phenolic compounds in tomato and watermelon plants. *Journal of Plant Science*, volume 160, p 315–321.

Rolland Y. 2004. Antioxydants naturels végétaux, *OCL*, 419- 425

Salehi, P., Asghari, B., Esmaeili, M. A., Dehghan, H., Ghazi, I., 2013. α -Glucosidase and α -amylase inhibitory effect and antioxidant activity of ten plant extracts traditionally used in Iran for diabetes. *Journal of Medicinal Plants Research*, volume. 7(6), p 257-266.

Sampaio, B. L., Bara, M. T. F., Ferri, P. H., Santos, S. d C., de Paula, J. R., 2011. Influence of environmental factors on the concentration of phenolic compounds in leaves of *Lafoensia pacari*. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, volume 21, No 6.

Sanchez-Moreno C, A Larrauri J & Saura-Calixto F. 1998. A Procedure to Measure the Antiradical Efficiency of Polyphenols, *Journal of Science food and Agriculture*; 270-276.

Shahin, S. A., Naresh, K., Abhinav, L., Angad, S., Hallihosur S., Abhishek, S., Utpal, Bora., 2008. Indian medicinal herbs as sources of antioxidants. *Journal of Food Research International*, volume 41 , p 1 -15

Sharaf, M., Mansour, R.M.A., Saleh, N.A.M., 1992. Exudate flavonoids from aerial parts of four *Cleome* species. *Biochemical Systematics & Ecology* 20, 443-448.

Shobana, S., Sreerama, Y.N., et Malleshi, N.G., January 2009. Composition and enzyme inhibitory properties of finger millet (*Eleusine coracana* L.) seed coat phenolics : Mode of

inhibition of α - glucosidase and pancreatic amylase. *Journal of Food Chemistry*, volume 115, p 1268-1273.

Shwu Fun Kua, 2015. Optimisation of phenolic extraction and quantification of phenolics in palm kernel cake. species. *Biochemical Systematics & Ecology* 20, 443-448. species. *FreeRadical BioMed*.905.

Small E, Catling PM. 2000. Les cultures médicinales Canadiennes, Ed ; Les Presses scientifiques du CNRC, 281.

Sulaiman, R., Salman, AK. H., Cheok, C.Y., 2014. Extraction and quantification of saponins : A review. *Food research International* 59, p 16 – 40.

Surmaghi S. M. H., Aynehchi, Y., Amin, G. H., Mahmoodi, Z., 1992. Survey of Iranian plants for saponins, alkaloids, flavonoids and tannins, J. Sch. Of Pharm. Tehran Unive, volume 2, p 281 - 291.

Szakiel, A., Paczkowski, C., Henry, M., 2011. Influence of environmental abiotic factors on the content of saponins in plants . Phytochem Rev. Volume 10, p 471 – 491.

Tigrine, C ., 2014. Effets anticancéreux et chimioprotecteur de l'extrait polyphénolique, riche en flavonoïdes, des feuilles de *Cléome arabica*. Thèse de doctorat de l'université Ferhat Abbas Sétif 1, p 37 - 41.

Tiwari, P., Kumar, B., Kaur, M., Kaur, G., Kaur, H., 2011. Phytochemical screening and Extraction: A Review. Internationale Pharmaceutica Scientia. Volume 1, p 98 - 106.

Tiwari, P., Kumar, B., Kaur, M., Kaur, G., Kaur, H., 2011. Phytochemical screening and Extraction: A Review. Internationale Pharmaceutica Scientia. Volume 1, p 98 - 106.

Touil, A., Rhouati, S., 1998. Flavonol glycosides from *Cleome arabica*. Journal de la Société Algérienne de Chimie 8, 117-120. Société Algérienne de Chimie 8, 117-120.

Velickovic D.T., Milenovic D. M., Ristic M. S. et Veljkovic V. B., 2006. Kinetics of ultrasonic extraction of extractive substances from garden (*Salvia officinalis* L.) and glutinous (*Salvia glutinosa* L.) sage. Journal of ultrasonic Sonochemistry, volume 13, 150 – 156.

Weil, J - H, 2001. Biochimie générale. 9ème édition Dunod, p 216.

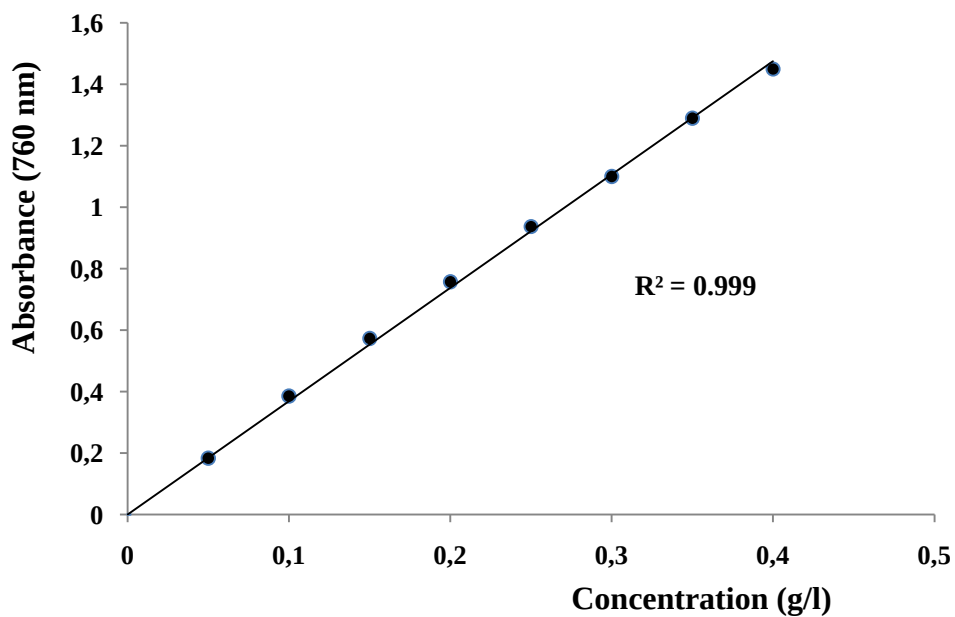
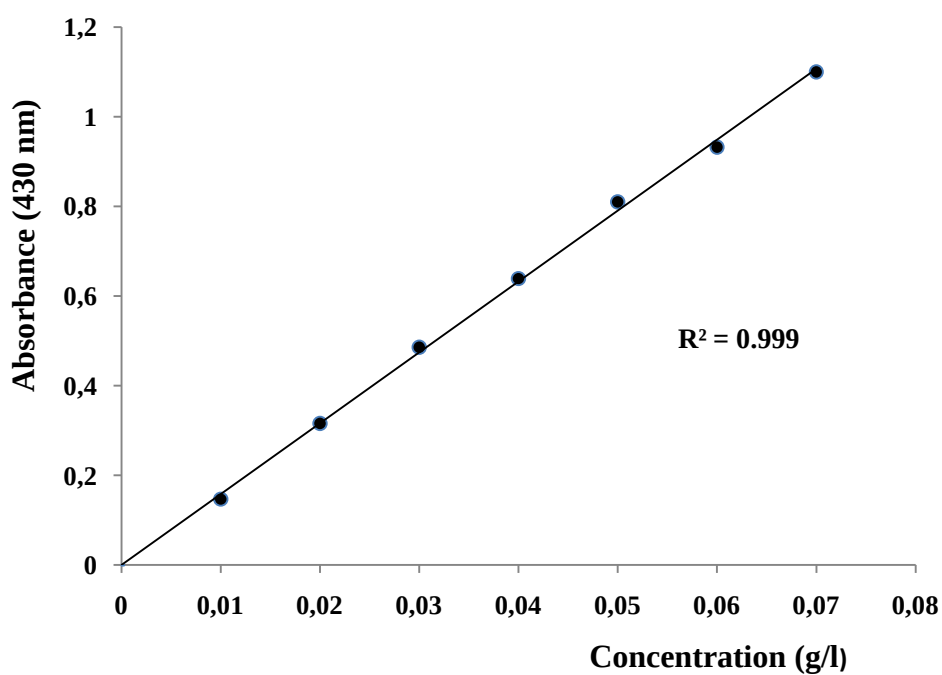
Wollenweber, E., Dorr, M., 1992. Flavonoïd aglycones of *Cleome spinosa* (Cleomaceae). Phytochemical Bulletin 24, 2-4.

Hertia cheirifolia بن سلامة, 2012. النشاط المضاد للأوكسدة والمثبطة لإنزيم المؤكسد للكراتين لمستخلصات نبات *Hertia cheirifolia* L. جامعة فرحات عباس

Annexes

Annexe I

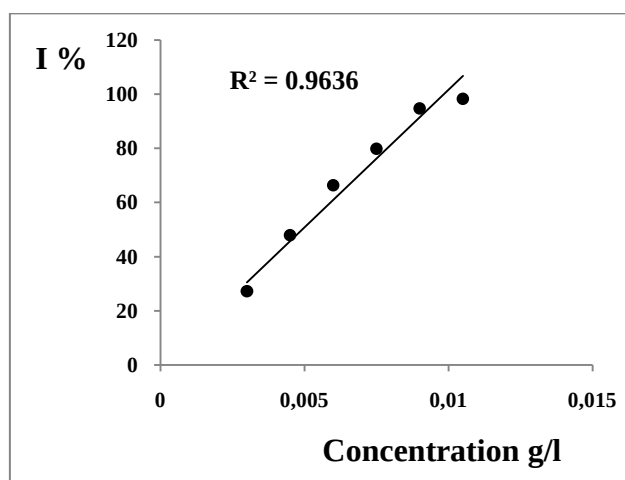
Courbes d'étalonnages

Acide gallique**Quercétine**

Annexe II

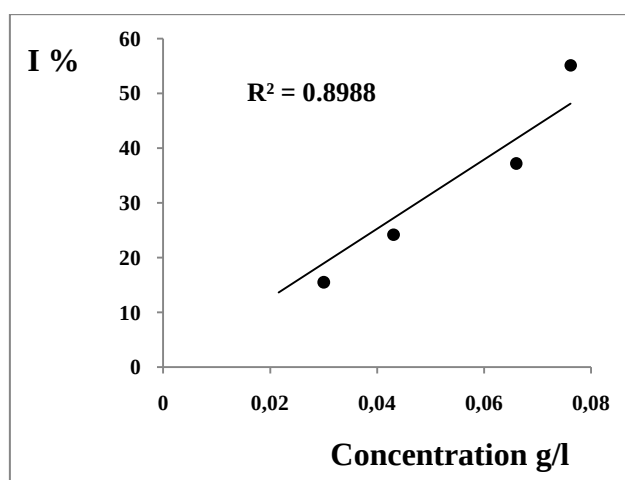
Variation du pourcentage d'inhibition du test DPPH

Variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration en Vitamine C.

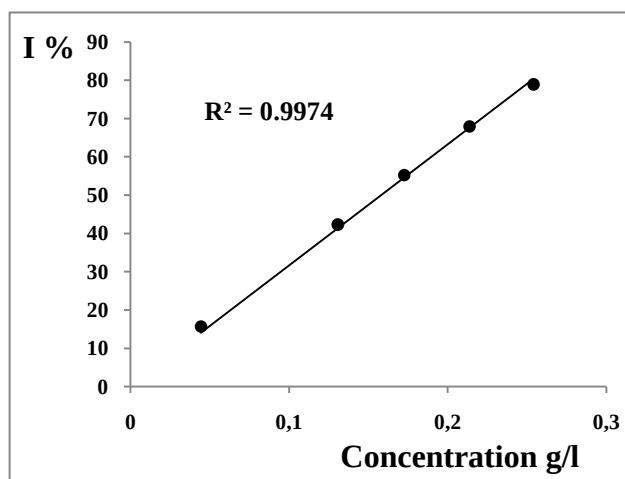


MACERACITON ACETONE/ EAU

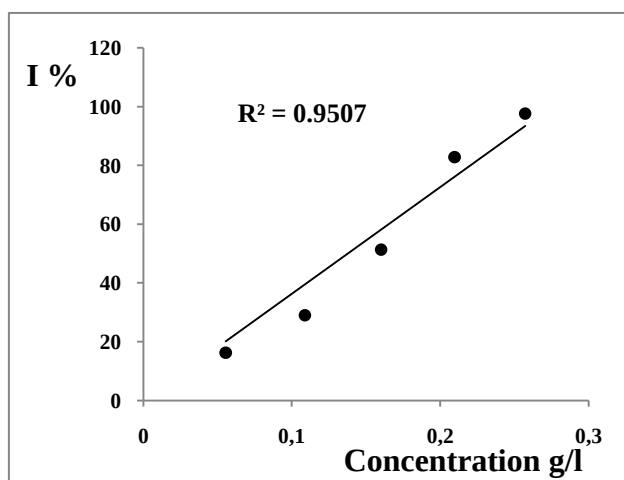
Variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration en extraits chloroformiques de l'échantillon des Feuilles.



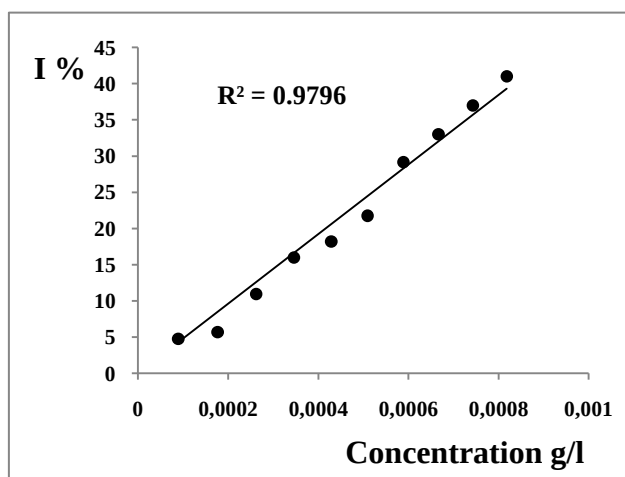
**Variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration en extraits
acétate d'éthyle de l'échantillon des Feuilles.**



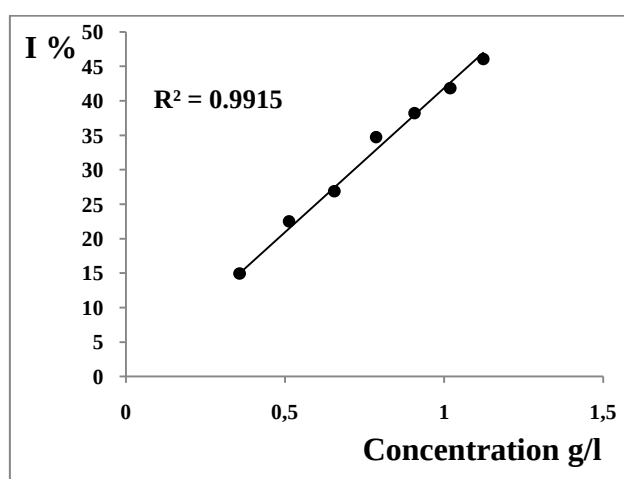
**Variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration en extraits
chloroformiques de l'échantillon des Gousses .**



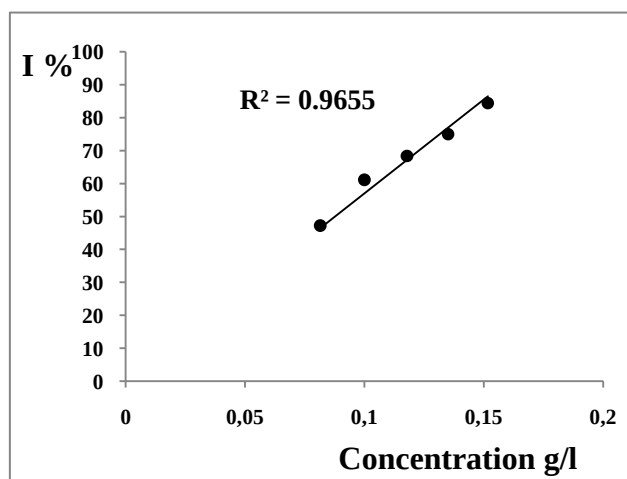
Variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration en extraits acétate d'éthyle de l'échantillon des Gousses .



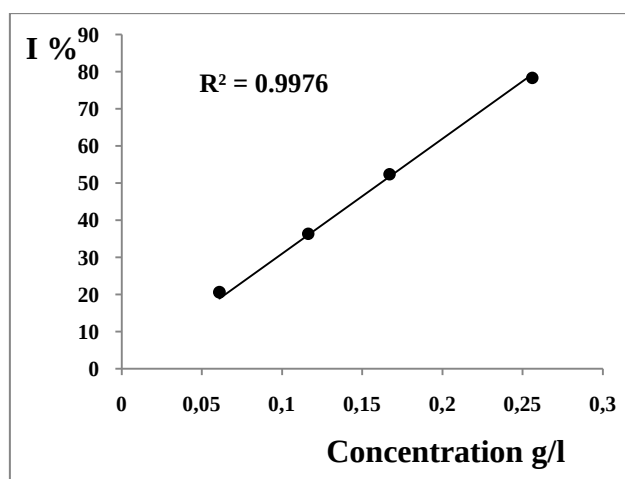
Variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration en extraits chloroformiques de l'échantillon des Graines .



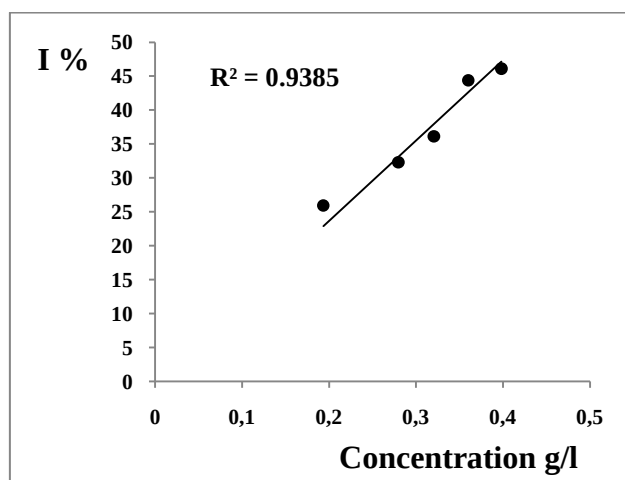
**Variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration en extraits
acétate d'éthyle de l'échantillondes Graines .**



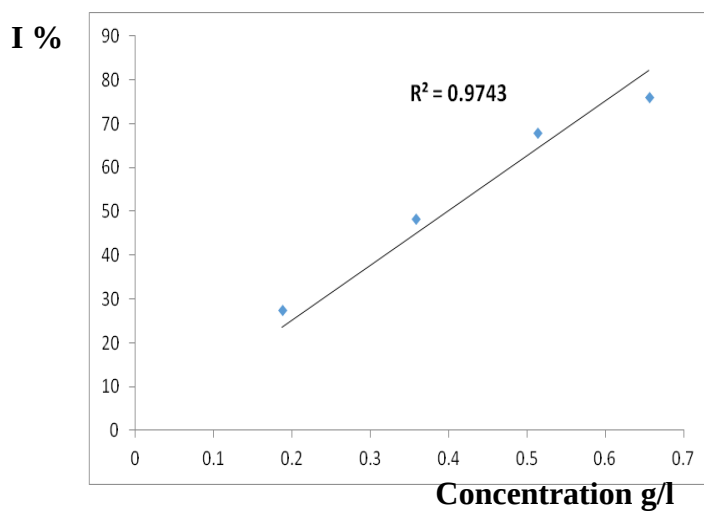
**Variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration en extraits
chloroformiques de l'échantillondes Tiges .**



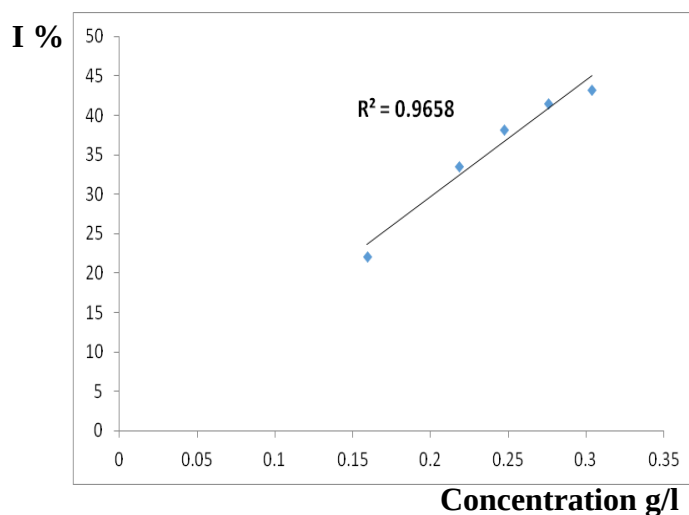
Variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration en extraits acétate d'éthyle de l'échantillon des Tiges .



Variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration en extraits chloroformiques de l'échantillon des Racines .

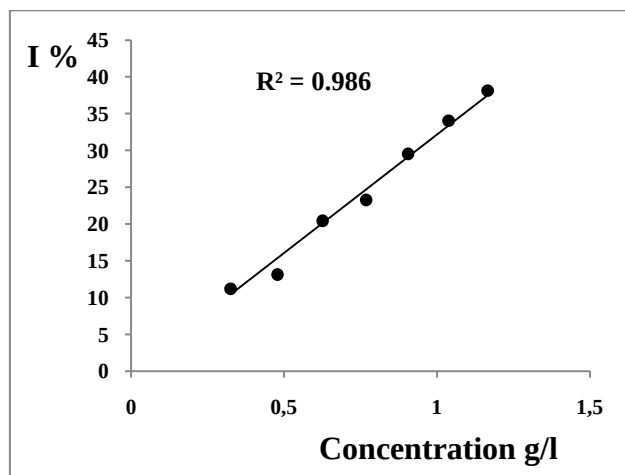


**Variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration en extraits
acétate d'éthyle de l'échantillon des Racines .**

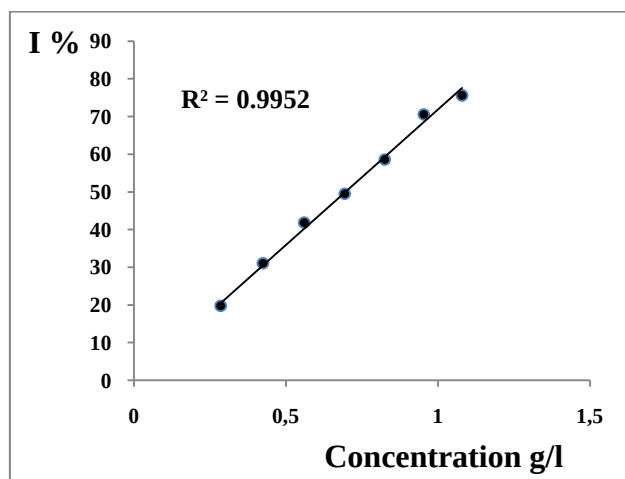


MACERACITON METHANOL/ EAU

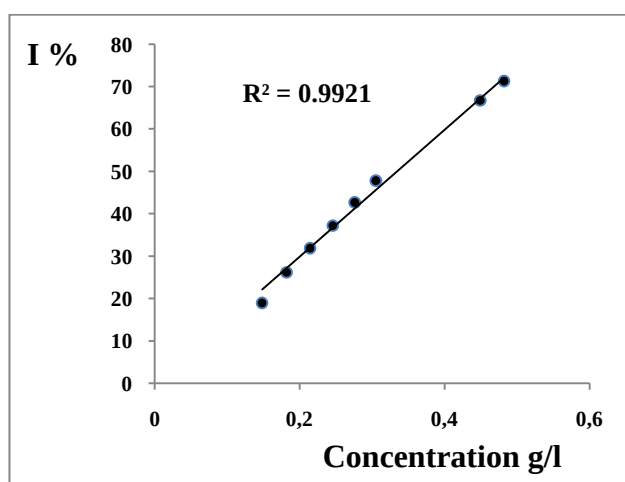
**Variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration en extraits
chloroformiques de l'échantillon des Feuilles.**



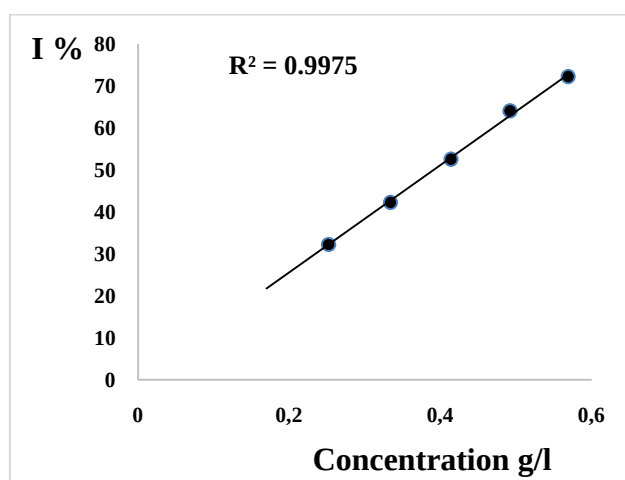
**Variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration en extraits
acétate d'éthyle de l'échantillon des Feuilles.**



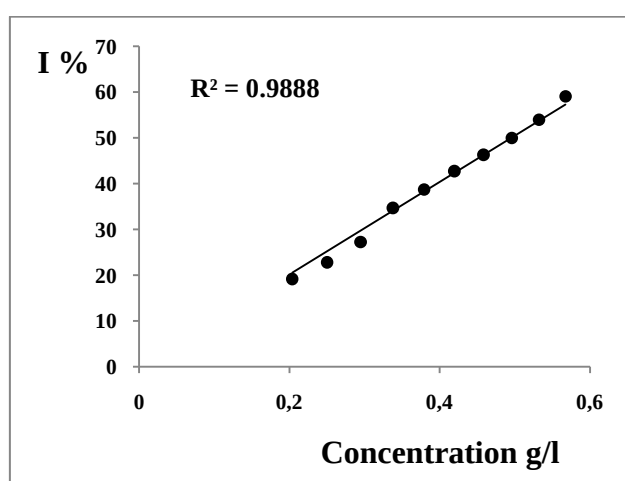
**Variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration en extraits
chloroformiques de l'échantillon des Gousses .**



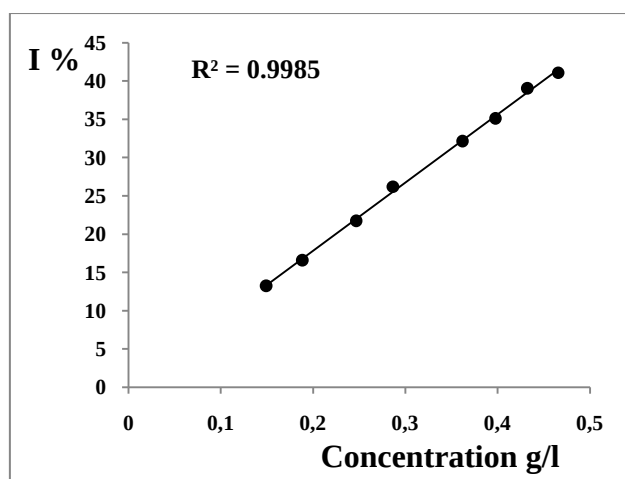
Variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration en extraits acétate d'éthyle de l'échantillon des Gousses .



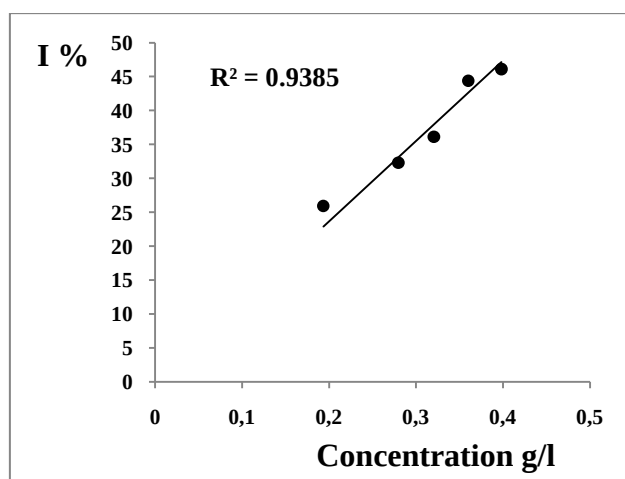
Variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration en extraits chloroformiques de l'échantillon des Graines .



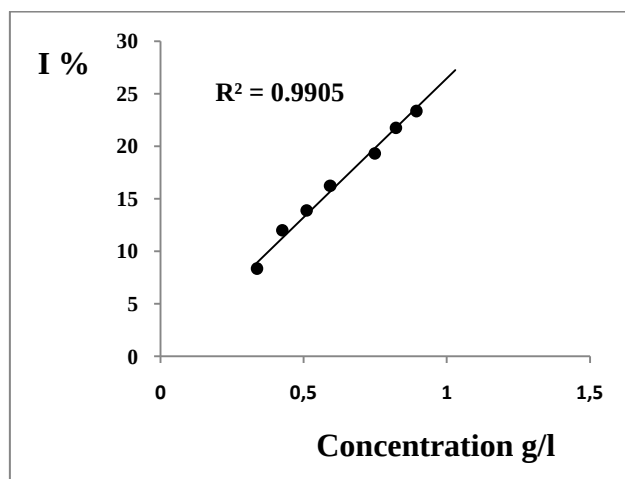
Variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration en extraits acétate d'éthyle de l'échantillon des Graines .



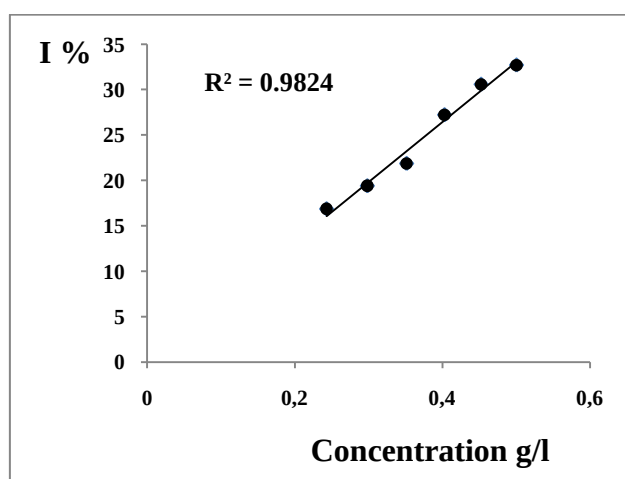
Variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration en extraits chloroformiques de l'échantillon des Tiges .



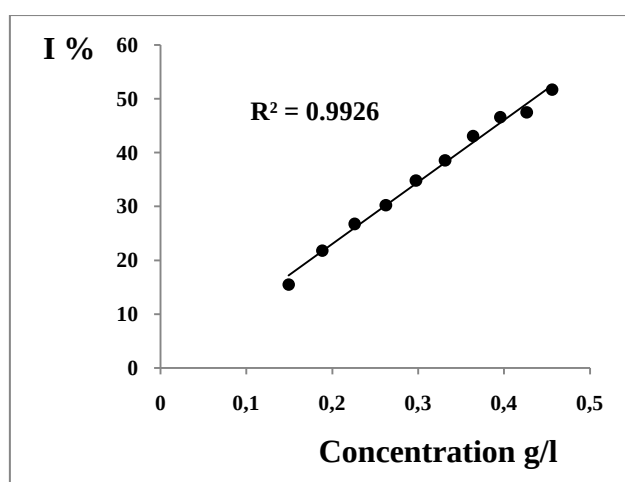
**Variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration en extraits
acétate d'éthyle de l'échantillon des Tiges .**



**Variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration en extraits
chloroformiques de l'échantillon des Racines .**



**Variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration en extraits
acétate d'éthyle de l'échantillon des Racines .**

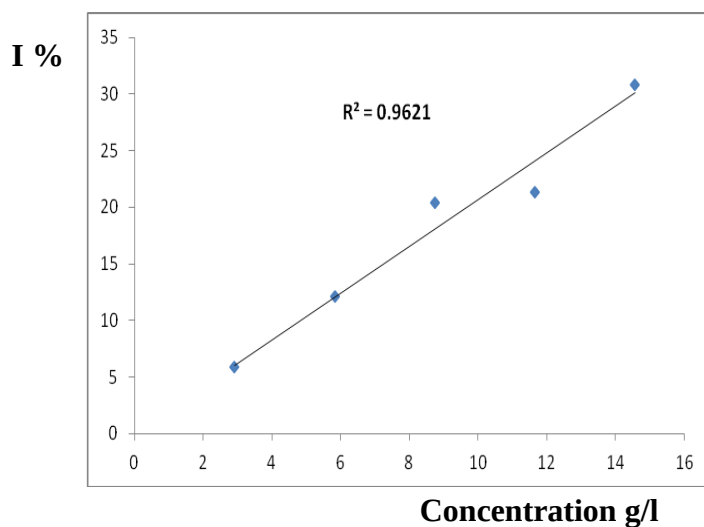


Annexe III

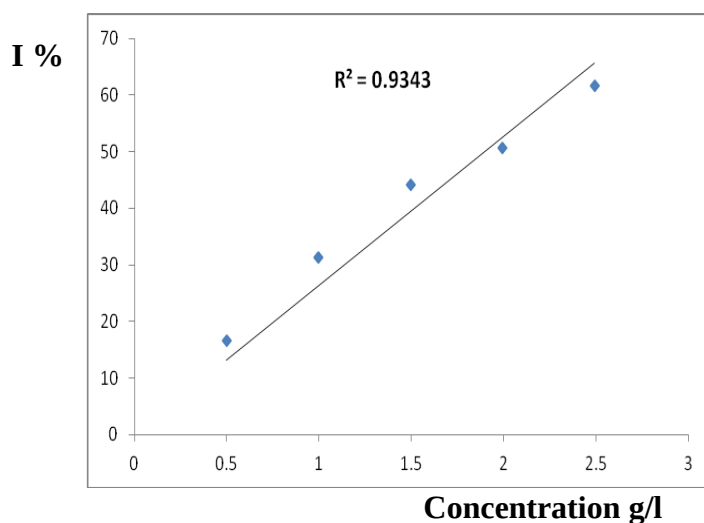
Variation du pourcentage d'inhibition de l' α - amylase

MACERACITON METHANOL/ EAU

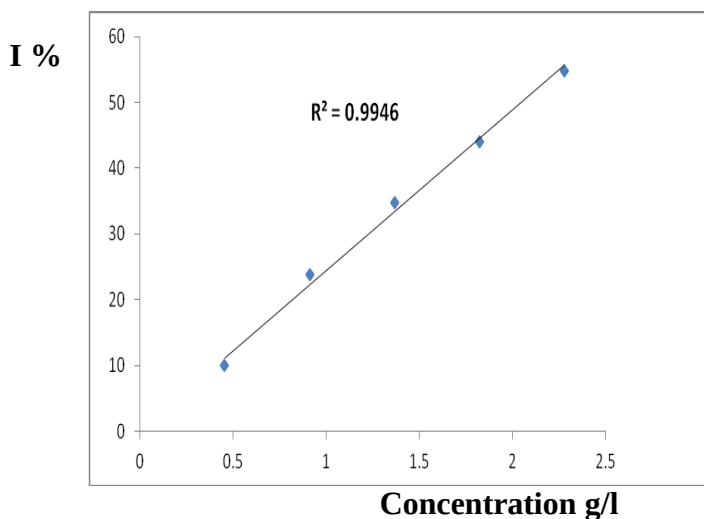
Variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration en extraits acétate d'éthyle de l'échantillon des Feuilles.



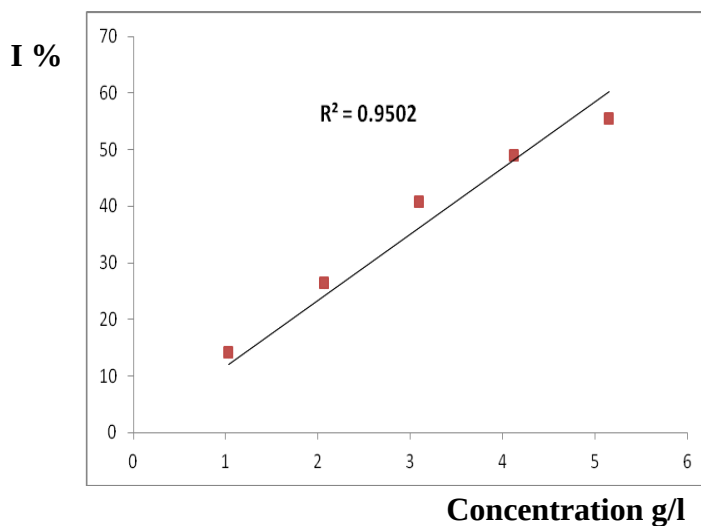
Variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration en extraits acétate d'éthyle de l'échantillon des Graines .



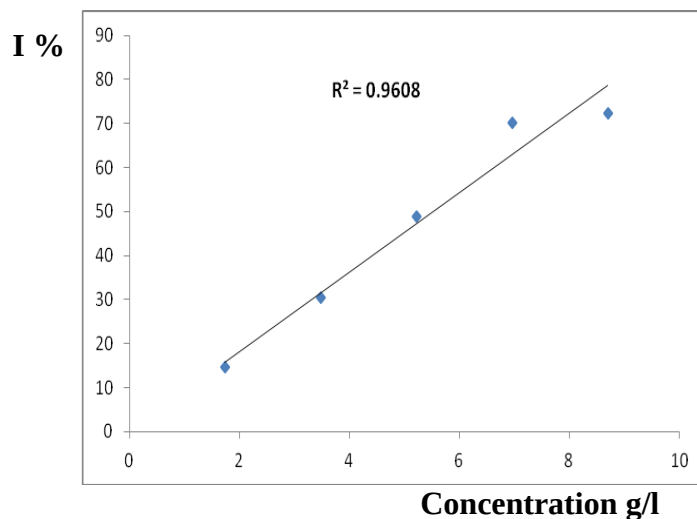
**Variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration en extraits
acétate d'éthyle de l'échantillonnesdes Rac .**



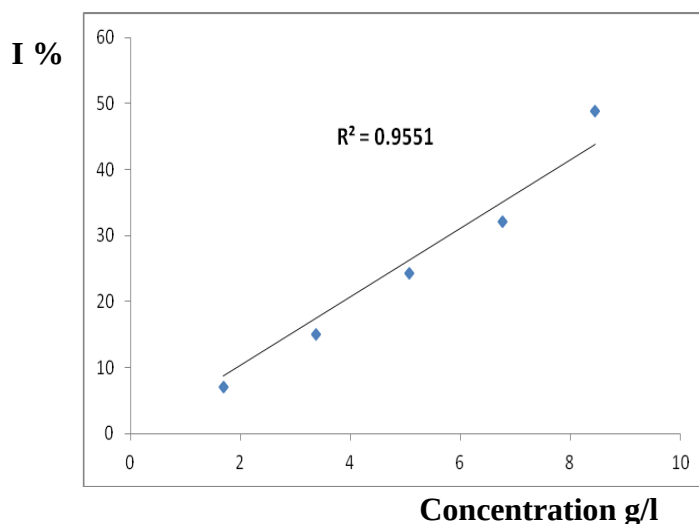
**Variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration en extraits
acétate d'éthyle de l'échantillondes Tiges .**



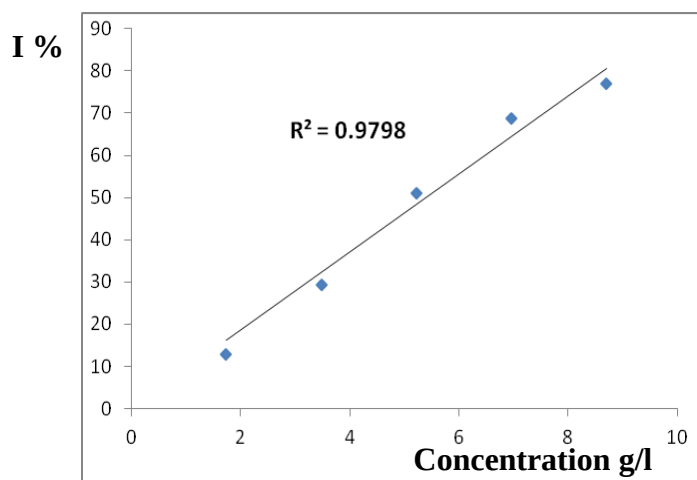
**Variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration en extraits
acétate d'éthyle de l'échantillon des Gousses .**



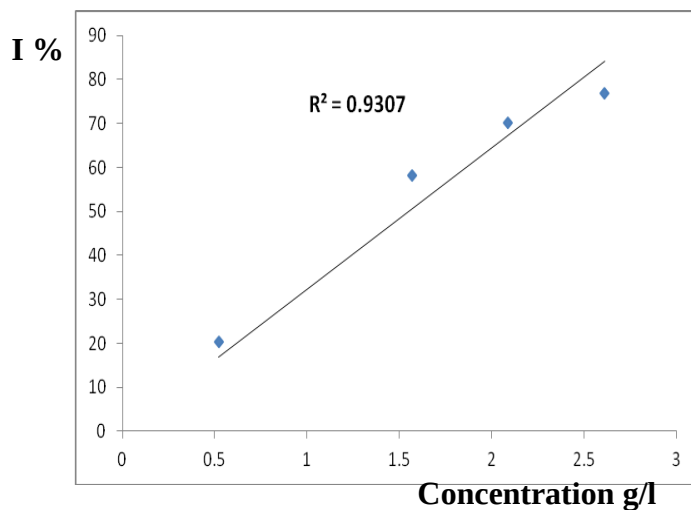
**Variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration en extraits
chloroformiques de l'échantillon des Feuilles.**



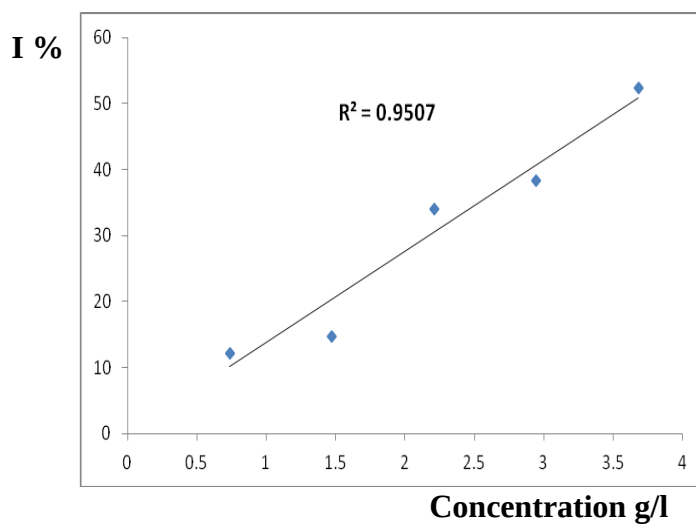
Variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration en extraits chloroformiques de l'échantillon des Gousses .



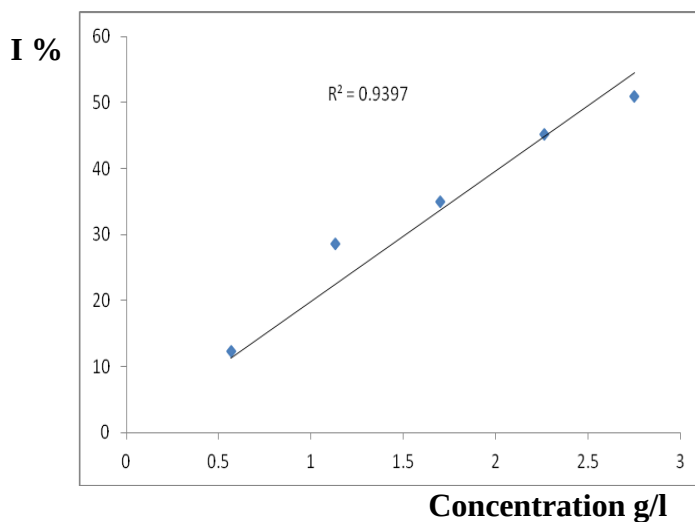
Variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration en extraits chloroformiques de l'échantillon des Tiges .



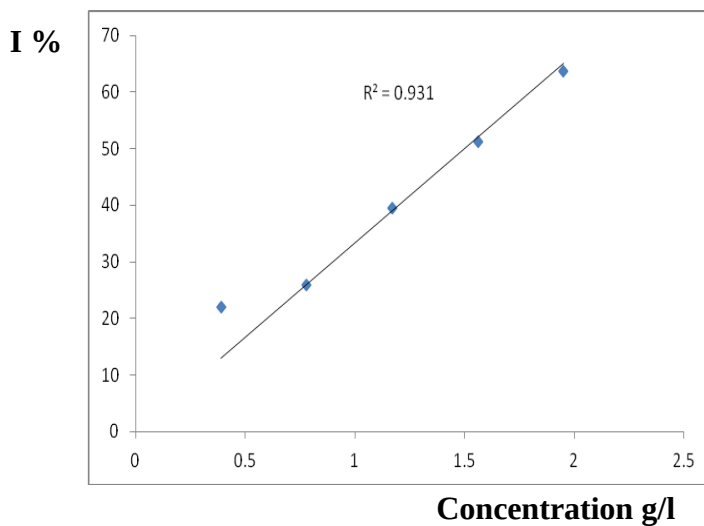
Variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration en extraits chloroformiques de l'échantillon des Racines .



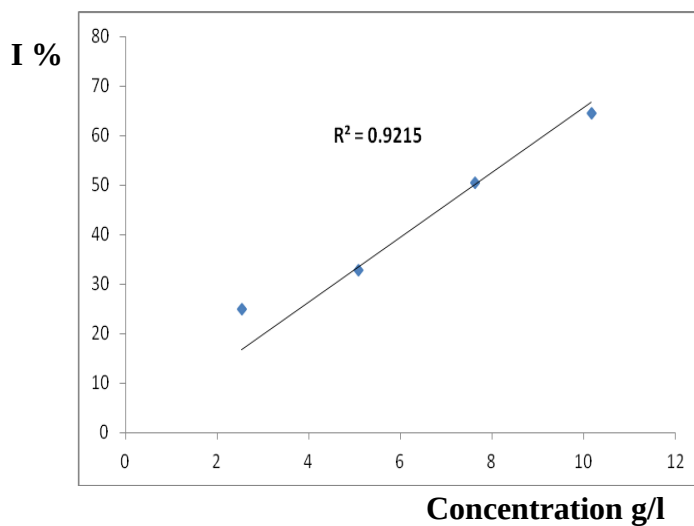
Variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration en extraits chloroformiques de l'échantillon Graines des .



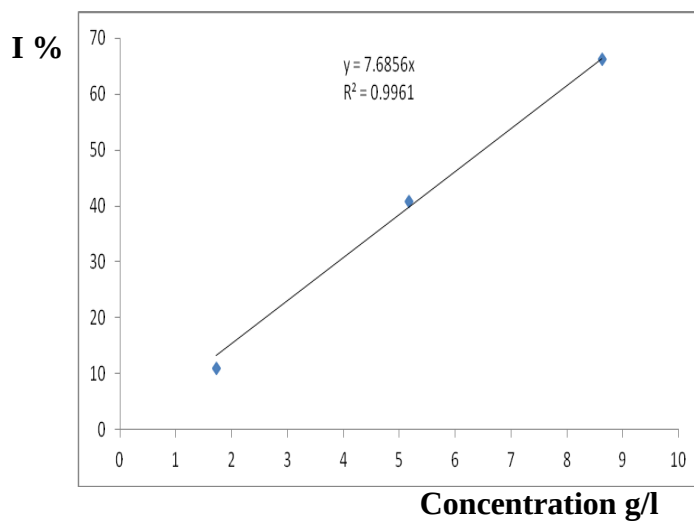
Variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration en extraits hexanique de l'échantillon des Feuilles



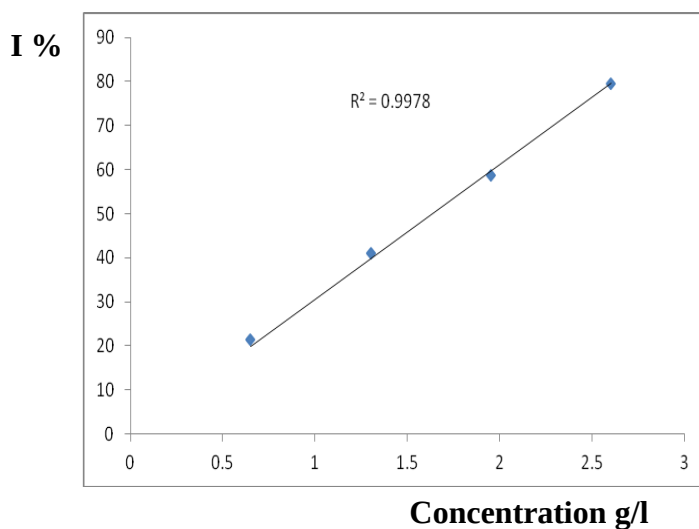
Variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration en extraits hexanique de l'échantillon des Gousses .



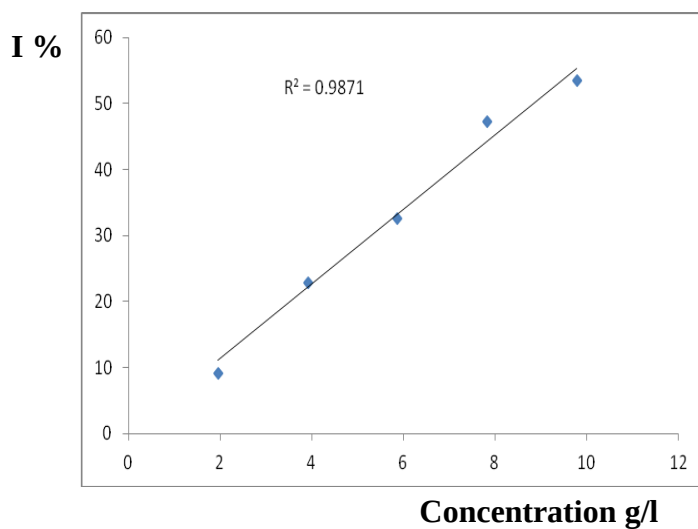
Variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration en extraits hexanique de l'échantillon des Tiges .



Variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration en extraits hexanique de l'échantillon des Racines .

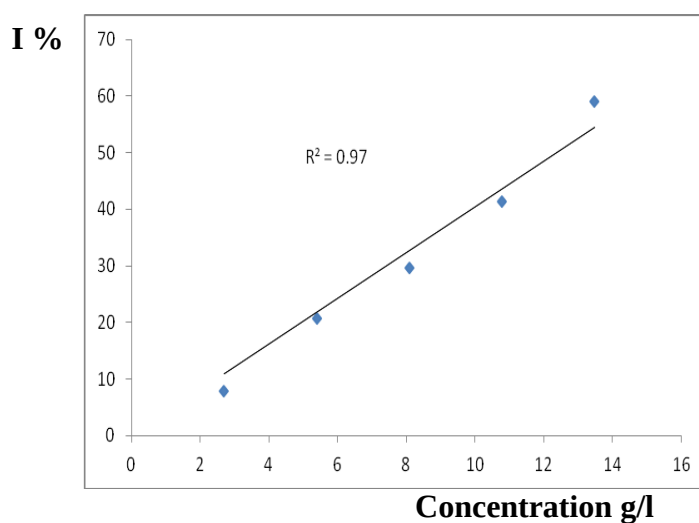


Variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration en extraits hexanique de l'échantillon des Graines .

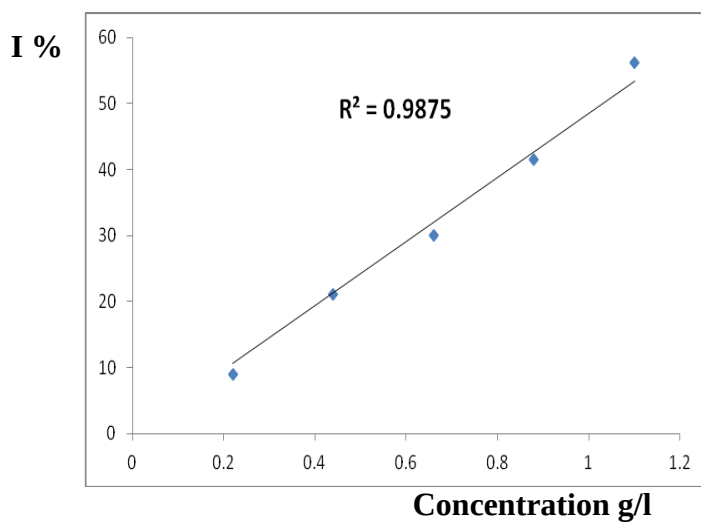


MACERACITON ACETONE/ EAU

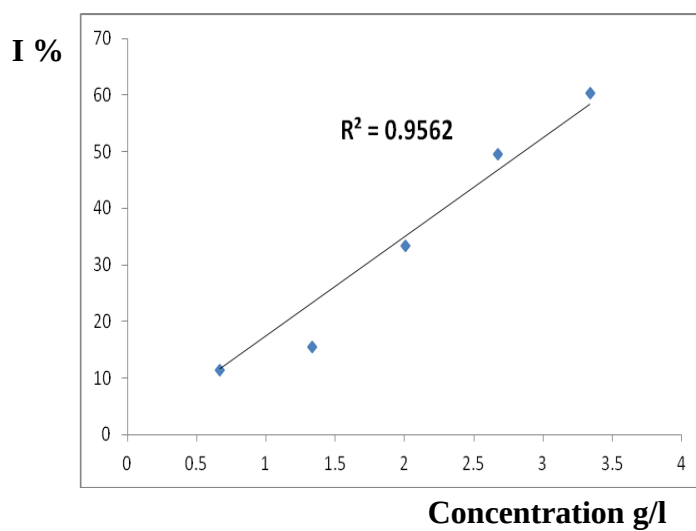
Variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration en extraits acétate d'éthyle de l'échantillon des Feuilles.



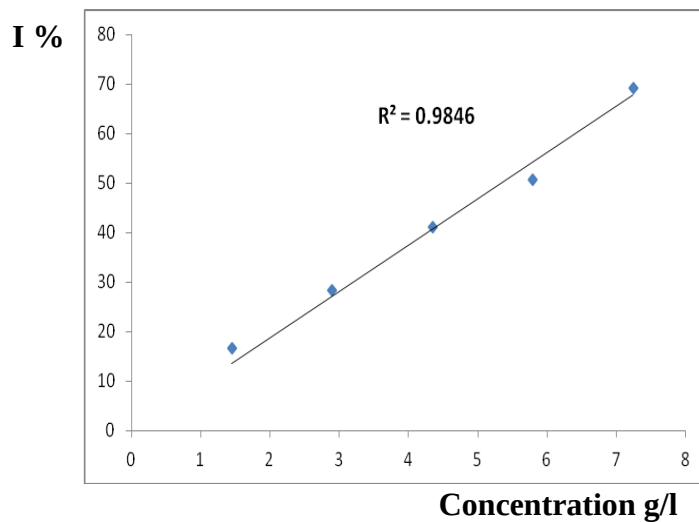
Variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration en acétate d'éthyle de l'échantillondes Graines .



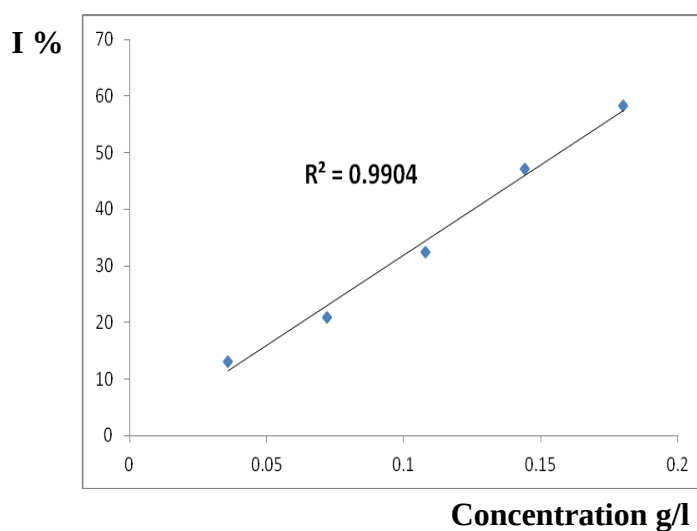
Variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration en extraits acétate d'éthyle de l'échantillondes Racines



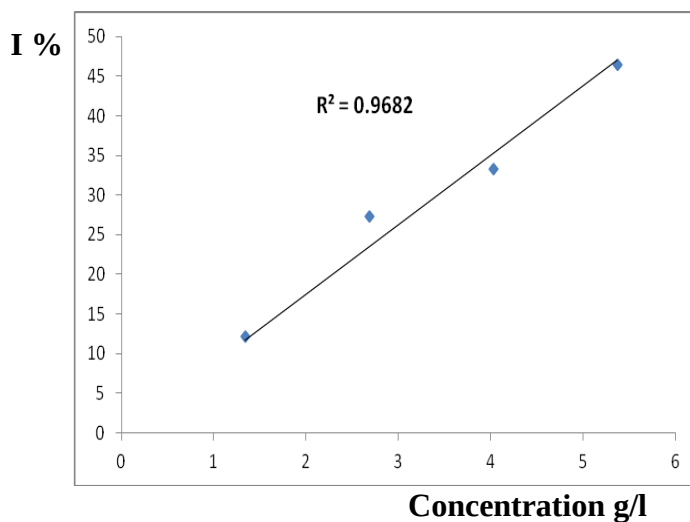
**Variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration en extraits
acétate d'éthyle de l'échantillon des Tiges .**



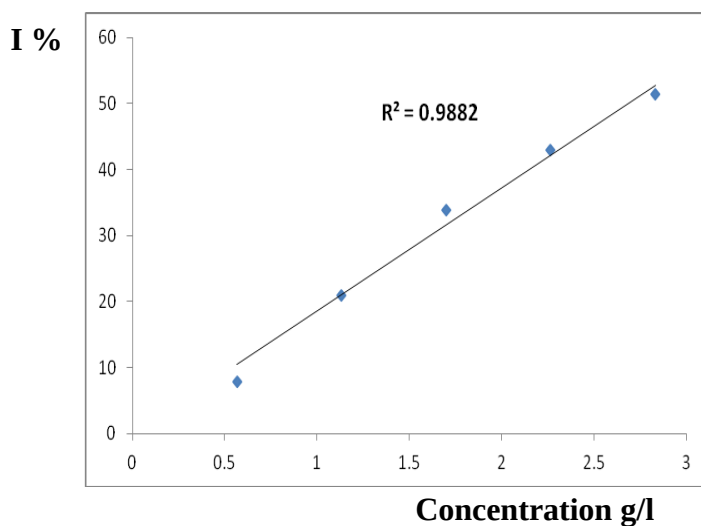
**Variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration en extraits
acétate d'éthyle de l'échantillon ssesdes Gou .**



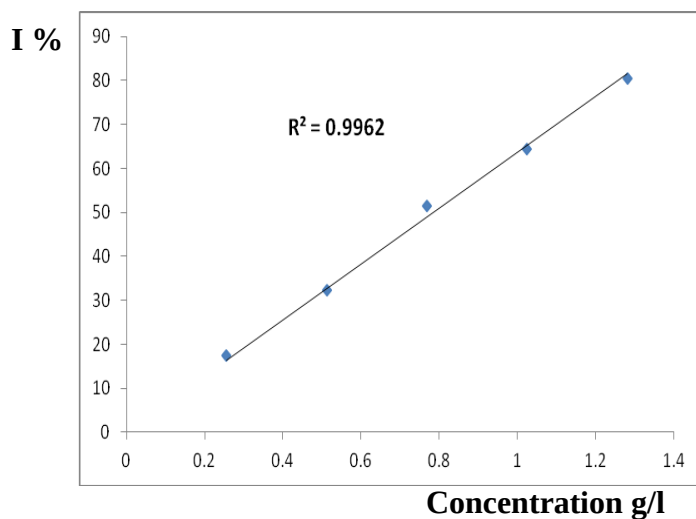
Variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration en extraits chloroformiques de l'échantillon des Feuilles.



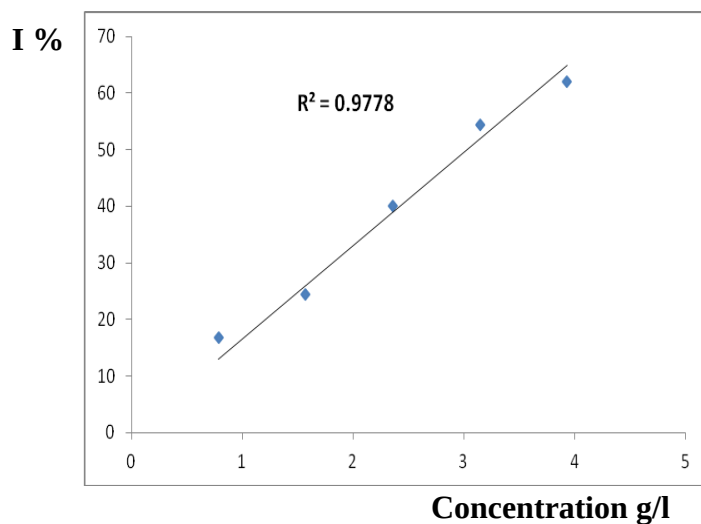
Variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration en extraits chloroformiques de l'échantillon des Gousses .



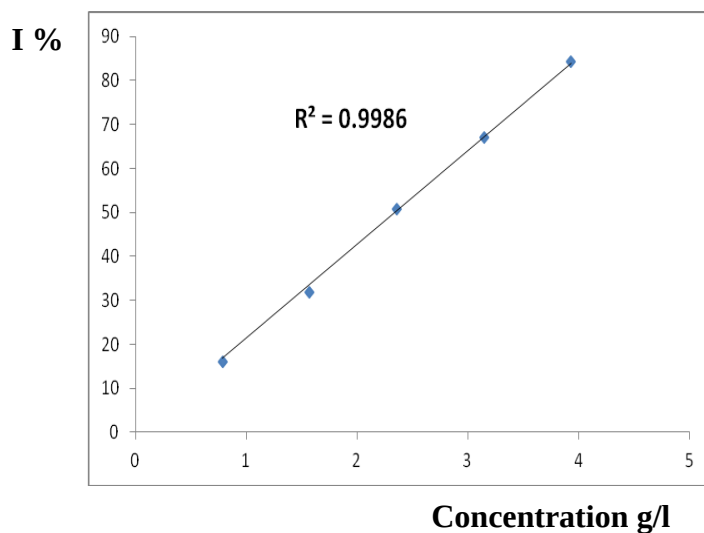
Variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration en extraits chloroformiques de l'échantillon des Tiges .



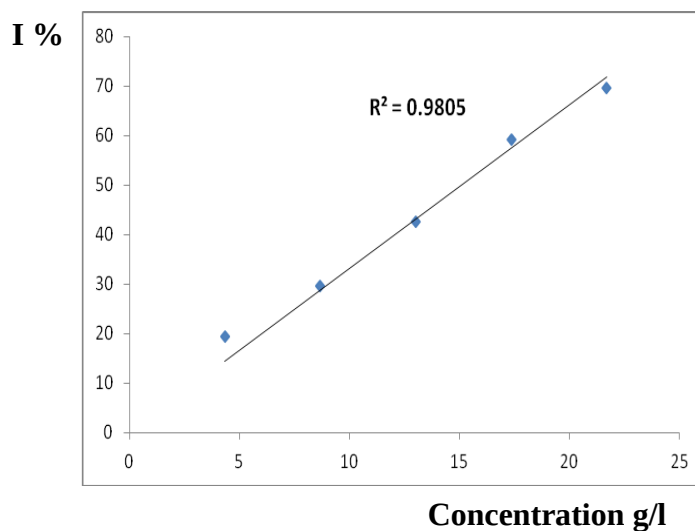
Variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration en extraits chloroformiques de l'échantillon des Racines .



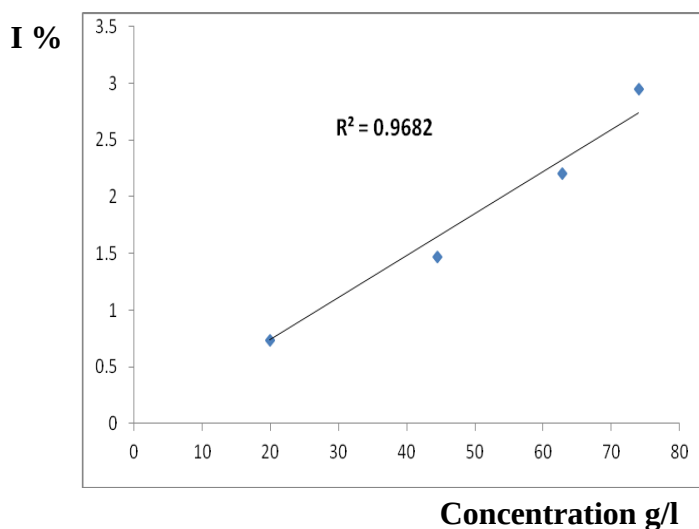
Variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration en extraits chloroformiques de l'échantillon des Graines .



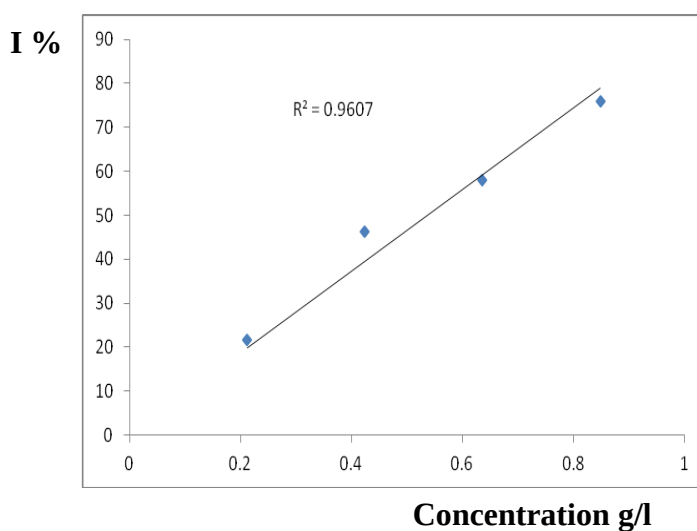
Variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration en extraits hexanique de l'échantillon des Feuilles



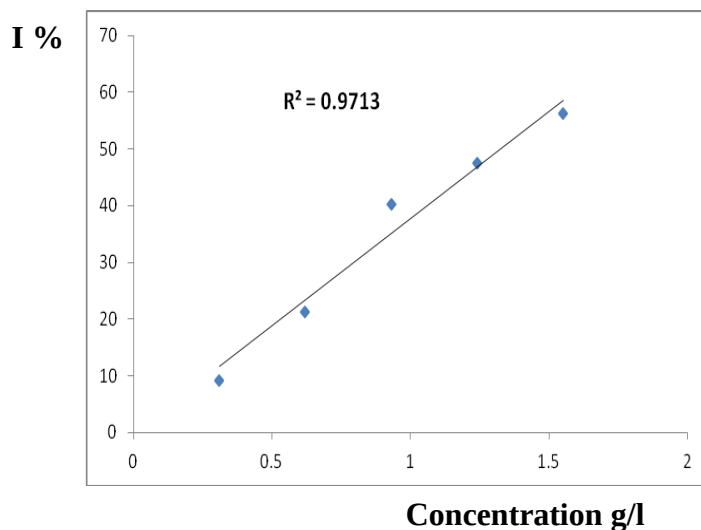
Variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration en extraits hexanique de l'échantillon des Gousses .



Variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration en extraits hexanique de l'échantillon des Tiges



Variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration en extraits hexanique de l'échantillon des Racines .



Variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration en extraits hexanique de l'échantillon des Graines .

