



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Université Amar Thelidji- Laghouat

FACULTE : SCIENCES

DEPARTEMENT : BIOLOGIE

MEMOIRE DE MASTER

Présenté par : M^{elle}. Bekhaoua Abir

M^{elle}. Ben Sayah Noussiba

DOMAINE : Science de la nature et de la vie

FILIERE : BIOLOGIE

OPTION : Biochimie des produits naturels

Thème

**EVALUATION DE L'ACTIVITE ANTIOXYDANTE ET
ETUDE DE L'EFFET INHIBITEUR SUR
L' α - GLUCOSIDASE DE QUELQUES PLANTES
ANTIDIABETIQUES**

Jury de soutenance :

Nom et Prénom	Grade	Qualité
M. Berramdane Tayeb	MAA	Président
M ^{me} Kraza Lamia	MAA	Examinatrice
M ^{me} Khacheba Ihcen	M C B	Rapporteur
M ^{elle} Boussoussa Hadjer	M A A	Co-rapporteur

Promotion : Juin-2015

Dédicace

*Avec L'aide De Dieu, J'ai Pu Réaliser Ce Modeste Travail Que
Je*

Dédie À:

*Mes Chers Parents Que Dieu Les Protège Pour Leur Patience,
Leur*

Amour, Leur Soutien Et Leur Encouragements.

Ma Chère Sœur.

Mes Chers Frères.

Mes Amies Et Mes Camarades.

A Tous Ceux Que J'aime Et Qui M'aiment : Qu'ils Trouvent Ici

*L'expression De Mes Sentiment Les Plus Dévoués Et Mes Vœux
Les*

Plus Sincères.

Abir

Dédicace

À Mes Très Chers Parents,

Pour Leur Amour Et Leurs Sacrifices. Je Prie Dieu Pour Qu'il

Vous Prête Longue Vie Et Bonne Santé.

À Mes Très Chères Sœurs.

À Tous Les Membres De Ma Grande Famille

À Mes Amies Sans Exception.

À Tous Mes Camarades De Promotion, Pour Les Moments Passés

Ensemble

Noussiba

Remerciement

Avant Tout, Nous Tenons A Remercié Allah, Pour Nous Avoir Donné La Force Et La Patience pour terminer ce travail.

Aux Premier Lieu, Nous Tenons A Remercier Vivement Et Exprimer Nos Profondes Gratitudes A Nos Encadreurs, Mme Ihcen Khacheba Et Melle Hadjer Boussoussa Pour Son Aide Qui Ont Eté Pour Nous Un Solide Repère Dans Tous Les Moments, Pour Les Encouragements, Pour La Confiance Qu'elles Nous Avons Toujours Témoignée, Leurs Constante Disponibilité Et La Gentillesse Dont Elles Ont Fait Preuve A Nos Egard.

Nous Remercions Aussi Les Membres De Jury Qui Nos Ont Fait L'honneur D'accepter De Juger Ce Travail.

Nous adressons encore nos remerciements A Mme. Benarous Khadidja, Enseignante Au Département De Biologie, Université De Laghouat, Pour Nous Avoir Orientées Et Conseillées.

Nos Remerciements Vont Aussi A Tous Nos Amis Et Nos Collègues Du Laboratoire, Spécialement Notre Amie Friha Ben Safedine, Avec elle Nous avons Travaillé Et Echanger Des Bons Moments Dans Le Laboratoire.

En Fin, vifs remerciement A Nos Très Chers Parents, A Nos Très Chers Sœurs Et Frères, Pour L'amour Qu'ils Nos Apportent Et Leur Soutien Durant Toute Nos Années D'étude: Nous Vous Aime Enormément.

Mes Sentiments De Reconnaissance Et Mes Remerciements Vont Egalelement A L'encontre De Toute Personne Qui A Participé De Prés Ou De Loin, Directement Ou Indirectement A La Réalisation De Ce Travail

Merci !

Résumé

Le but de cette étude, est d'évaluer l'effet inhibiteur sur l' α -glucosidase et l'activité antioxydante des extraits aqueux et organiques de quelques plantes médicinales. Les teneurs en composés phénoliques totaux des extraits des plantes ont été exprimées en équivalent d'acide gallique, alors que les concentrations en flavonoïdes ont été exprimées en équivalent de quercétine. La majorité des plantes ont montré des activités inhibitrices vis-à-vis l' α -glucosidase. Les valeurs d'IC₅₀ ont été déterminées pour les meilleures plantes inhibitrices communes entre les deux méthodes d'extraction (*Cistus villosus*, *Salvia officinalis* et *Zygophyllum album*), avec des valeurs allant de 0,38 à 28,95 mg / ml. L'évaluation de l'activité antioxydante de ces plantes en utilisant le test DPPH•, montre que l'extrait phénolique de la plante *Salvia officinalis* présente une bonne capacité antioxydante comparativement aux antioxydants pris comme référence (la vitamine C et la rutine).

Mots Clés : Extraits phénoliques, Effet inhibiteur ; α -glucosidase, Activité antioxydante.

ملخص

الهدف من هذه الدراسة هو تقييم آثار تثبيط إنزيم α جلوكوزيداز والنشاط المضاد للأكسدة لمستخلصات مائية وعضوية لبعض النباتات الطبية المعروفة ، قدرت كمية المركبات الفينولية للمستخلصات النباتية باستخدام كاشف Folin Ciocalteu مكافئ حمض Gllique وبالنسبة للفلافونيدات، باستخدام كلوريد الألومنيوم مكافئ الكرسيتين. أظهرت معظم النباتات القدرة على كبح النشاط الإنزيمي لل α - جلوكوزيداز و تم تحديد قيم IC₅₀ لأفضل النباتات المثبطة (*Cistus villosus* ، *Salvia officinalis* و *Zygophyllum album*) المشتركة في كلا طريقتي الاستخلاص من 0,38 إلى 28,95 ملغ / مل. تبين تجربة تقييم النشاط المضاد للأكسدة في النباتات باستخدام تجربة محاصرة الجذور الحرة DPPH• أن المستخلص الفينولي لنبات *Salvia officinalis* يحمل قدرة جيدة مضادة للأكسدة مقارنة بالعناصر المضادة للأكسدة التي اتخذت كمرجع (فيتامين C وروتين).

الكلمات المفتاحية : المستخلصات الفينولية، التثبيط، α غلوكوزيداز، النشاط المضاد للأكسدة.

Summary

The aim of this study is to evaluate the α -glucosidase inhibitory effect and the antioxidant activity of aqueous and organics extracts of some medicinal plants. The total phenolic compounds contents, of plants extracts using Folin-Ciocalteu reagent expressed as gallic acid equivalent. Whereas, the total flavonoïds contents, detected using aluminum chloride expressed as quercetin equivalent. The major plants were found to inhibit enzymatic activity of α -glucosidase. The values of the IC₅₀ constants have been determined for the best inhibitory plants common in both extraction methods (*Cistus villosus*, *Salvia officinalis* and *Zygophyllum album*), with values ranged from 0.38 to 28.95 mg/ml. The evaluation of antioxidant activity of this plants using DPPH• test, shows that the phenolic extract of *Salvia officinalis* exhibit good antioxidant capacity comparatively to the antioxidants taken as reference (vitamin C and rutin).

Key words: Phenolic extracts, Inhibition effect, α -glucosidase, antioxidant activity.

Liste des Abréviations

ADN	: Adénosine Dioxynucléaire
AlCl ₃	: Trichlorure d'aluminium
BHA	: Butylhydroxyanisol
BHT	: butylhydroxytoluène
DNS	: acide 3,5-Di-NitroSalicylique
EAG	: en Equivalent d'Acide Gallique
EC 3.2.1.20	: (3) hydrolase-(2) glycosylase-(1) glucosidase-(20) α -glucosidase
EC 50	: Concentration équivalente (μ g/ml) requise pour réduire 50% des radicaux libres DPPH, initialement présents en solution.
EQ	: en Equivalent de Quercétine
FeCl ₃	: tri chlorure de fer
FID	: Fidération Internationale du diabète
IC ₅₀	: La concentration nécessaire de l'inhibiteur (mg/ml) pour inhiber 50% de l'activité enzymatique.
MS	: Matière sèche
Na ₂ CO ₃	: carbonate de sodium
NAD(P) H oxydase	: Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate-oxidase
V/V	: Volume / Volume

Liste des Figures

Titre	Page
Produits de dégradation du saccharose par l' α – glucosidase	19
La réaction du réactif DNS avec un sucre réducteur	19

Liste des Tableaux

Titre	Page
Classement des antidiabétiques oraux	7
Noms et parties utilisées des plantes étudiées	11
Les résultats des tests phytochimiques des composés phénoliques sur les plantes.	24
Teneurs, aspects et couleurs des extraits organiques et aqueux	26
Teneur en Phénol totaux et en Flavonoïdes des différentes plantes étudiées	28
Taux d'inhibition des extraits phénoliques des plantes étudiées vis - à vis de l' α – glucosidase	32
Les Valeurs des IC ₅₀ (mg/ml) des extraits des trois plantes sélectionnées vis - à vis de l' α – glucosidase	33
Les valeurs d'EC ₅₀ (μ g /ml) des extraits des plantes sélectionnées et des antioxydants standards	34

Table de matières

INTRODUCTION GENERALE	1
GENERALITES	4
I. Le diabète	5
I.1. Définition	5
I.2. Classification	5
I.3. Epidémiologie	5
I.4. Traitement	6
I.5. Nouvelle alternative de traitement	7
I.6. Stress oxydant et diabète	7
I.7. Inhibition de l' α -glucosidase	9
PARTIE EXPERIMENTALE	10
II. 1. Matériel végétal	11
II. 2. Prétraitement des échantillons	13
II. 3. Tests phytochimiques des composés phénoliques	13
II. 3. 1. Tanins	14
II. 3.2. Saponines	14
II. 3. 3. Flavonoïdes	14
II.4. Préparation des extraits phénolique	14
II.4. 1. Extraction hydro –alcoolique	14
II.4. 2. Extraction aqueuse	16
II. 5. Dosage des composés phénoliques	17
II.5.1. Dosage des phénols totaux	17
II. 5.2. Dosages des flavonoïdes	18
II.6. Effet d'inhibition des plantes sur l' α – glucosidase	18
II.6. 1. Principe de la méthode de dosage par le DNS	19
II.6. 2. Test d'inhibition	20
II.6. 3. Étude du pouvoir anti-glucosidique	20
II.7. Evaluation de l'activité antioxydante	21
II.7. 1. Test DPPH'	21
RESULTATS ET DISCUSSION	23
III. 1. Tests phytochimiques des composés phénoliques	24
III. 2. Préparation des extraits phénoliques	25

Table de matières

III. 3. Dosage des phénols totaux et des flavonoïdes :	28
III. 4. Effet d'inhibition des trois plantes sur l' α – glucosidase :	31
III.4.1. Test d'inhibition :	31
III.4.2. Étude du pouvoir anti-glucosidique :	33
III.5. Evaluation de l'activité antioxydante :	34
III. 5.1. Test DPPH' :	34
CONCLUSION.....	36
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	39

*INTRODUCTION
GENERALE*

Introduction générale

Les remèdes traditionnels à base de plantes, ont longtemps été employés à travers le monde en raison de leurs efficacités, de leurs moindres effets secondaires et de leurs coûts relativement faible. Ces plantes sont utilisées sous forme de tisanes, extraits ou préparations complexes, sans savoir à quoi étaient dues leurs actions bénéfiques et quelles sont les molécules responsables de l'action, par conséquent; les recherches sur les plantes sont devenues de plus en plus importantes **(Prabhakar et Doble, 2011)**.

Les plantes synthétisent une vaste gamme de métabolites secondaires tels que les alcaloïdes et leur dérivés, les terpènes, les stéroïdes et les composés phénoliques (flavonoïdes) qui ont montré de multiples intérêts mis à profit dans l'industrie : en alimentation, en cosmétologie et en dermopharmacie comme ils se sont surtout illustrés en thérapeutique **(Jaganath et Crozier, 2010)**

Le présent travail, entre dans le cadre de la valorisation de quelques plantes médicinales locales, utilisées en thérapeutique traditionnelle dans la région de Laghouat, comme antidiabétique. L'intérêt de ces plantes, est lié aux différents principes actifs qu'elles renferment. On distingue parmi eux, les composés phénoliques dont plusieurs activités biologiques ont été confirmées par de nombreux travaux et résultats expérimentaux : Activité anti-inflammatoire **(Ait et al., 2011)**, activité antioxydante **(Wojdyło et al., 2007)** et activité anticancéreuse **(Huet, 2015)**.

Les composés phénoliques jouent un rôle très important comme antioxydants et inhibiteurs d'enzymes comme l' α - amylase, l' α - glucosidase, la pepsine, la trypsine et les lipases **(Chethan et al., 2008)**.

L' α - glucosidase, est une enzyme digestive intervenant en second lieu dans le processus digestif des hydrates de carbone. Catalysant la réaction hydrolytique des liaisons α 1 - 4 de disaccharides, libérant du glucose. Les inhibiteurs de cette enzyme, retardent et prolongent l'hydrolyse des hydrates de carbone, en évitant la montée du taux de glucose plasmatique par la réduction de son taux d'absorption **(Tundis et al., 2010)**.

Introduction générale

L'objectif de notre travail est la confirmation de l'activité antidiabétique de ces plantes par l'inhibition de l' α - glucosidase ainsi que l'évaluation de l'activité antioxydante.

La première partie de ce mémoire est consacrée à un aperçu bibliographique général sur le diabète, les composés phénoliques et relation inhibition activité antioxydante.

La deuxième partie est réservée à la description du protocole expérimental

L'interprétation et la discussion des résultats obtenus seront présentée dans la dernière partie.

GENERALITES

Généralités

I. Le diabète :

I.1. Définition :

Le diabète sucré, est un trouble métabolique caractérisé par la présence d'une hyperglycémie attribuable à un défaut de la sécrétion d'insuline ou à l'action de l'insuline, ou des deux. L'hyperglycémie chronique liée au diabète est associée à des complications microvasculaires à long terme assez spécifiques touchant les yeux, les reins et les nerfs, ainsi qu'à un risque accru de maladie cardiovasculaire. Il est diagnostiqué par des symptômes tels que la chaleur interne du corps qui se traduit par l'émission d'un volume élevé d'urine, la faiblesse du corps, perte de poids (**Goldenberg et al., 2013**).

I.2. Classification :

La nouvelle classification répartit le diabète selon l'étiologie on distingue :

- Le diabète de type 1 résulte surtout de la destruction des cellules bêta du pancréas et prédispose à l'acidocétose. Cette forme de diabète comprend les cas attribuables à un processus auto-immun et les cas dont la cause de la destruction des cellules bêta est inconnue.
- Le diabète de type 2 peut être surtout attribuable à une insulino-résistance accompagnée d'une carence insulinique relative ou à une anomalie de la sécrétion accompagnée d'une insulino-résistance.
- Le diabète gestationnel est une intolérance au glucose qui se manifeste ou qu'on dépiste pour la première fois pendant la grossesse.
- Les autres types particuliers comprennent une grande variété de troubles relativement peu courants, surtout des formes de diabète définies génétiquement ou associées à d'autres maladies ou à des médicaments (**Goldenberg et al., 2013**).

I.3. Epidémiologie :

Le diabète sucré est une maladie grave, dont les complications peuvent être dévastatrices et qui frappe à tout âge, partout dans le monde.

Généralités

En 1985, on estimait qu'un diagnostic de diabète avait été posé chez environ 30 millions de personnes dans le monde; en 2000, ce nombre était passé à plus de 150 millions. En 2012, la Fédération internationale du diabète (FID) a estimé que 371 millions de personnes étaient atteintes de diabète et on prévoit atteindre les 552 millions (soit un adulte sur 10) d'ici 2030, ce qui correspond à l'apparition de trois nouveaux cas par seconde (**Alice, 2013**).

I.4. Traitement :

Les médicaments antidiabétiques actuellement disponibles, contrôlent les niveaux de glucose sanguin sous la gamme normale et ceci en complétant l'insuline, en améliorant la sensibilité d'insuline, en augmentant la sécrétion d'insuline par le pancréas et en diminuant l'absorption du glucose au niveau intestinale (**Prabhakar et Doble, 2011**)

Le but de tout traitement antidiabétique est d'atteindre un taux de sucre dans le sang ne dépassant pas 1,6 à 1,8 g/l. Pour le diabète de type 1, le traitement est strictement par l'administration d'insuline. Tandis que le traitement essentiel du diabète de type 2 se résume à l'application stricte d'un régime alimentaire associé à l'exercice physique permettant principalement de retrouver un poids normal. S'ils ne sont pas suffisants pour rétablir l'équilibre glycémique, il existe des médicaments hypoglycémisants actifs par voie orale (**Cheng et Josse, 2004**).

I.4.1. Insulinothérapie :

L'insulinothérapie demeure la pierre angulaire de la maîtrise de la glycémie chez les personnes atteintes de diabète de type 1. Et les préparations d'insuline sont classées en fonction de leurs durées d'action, de leurs délais d'action et du moment de leurs activité maximale (**McGibbon et al., 2013**).

I.4.2. Hypoglycémisants oraux :

Les différentes classes d'antidiabétiques oraux avec leurs mécanismes d'action, leurs effets secondaires et leurs moments de prise sont présentées dans le tableau 1.

Généralités

Tableau 1 : Classement des antidiabétiques oraux (Delforges *et al.*, 2004)

Classe	Mécanisme d'action	Possible effet secondaire	Moment optimum de la prise
Sulfamides	Stimulent la sécrétion d'insuline	Hypoglycémie (éviter de sauter un repas)	Avant le repas (mais plus de 30 min avant)
Glinides	Stimulent la sécrétion d'insuline, mais d'une façon plus rapide et plus courte que les sulfamides	Hypoglycémie (ne pas prendre le comprimé si un repas est sauté)	Avant le repas (pas plus de 15 min avant)
Biguanides	Réduisent la production de glucose par le foie et favorisent l'action de l'insuline sur les tissus (muscle)	Trouble digestifs (diarrhée, gout métallique)	Au moment du repas Améliore la tolérance digestive)
Inhibiteurs des alpha-glucosidases	Retardent l'absorption des glucides ingérés	Trouble digestifs (ballonnements, flatulence)	Avant la première bouchée du repas

I.5. Nouvelle alternative de traitement :

Les hypoglycémisants de synthèse sont susceptibles de causer beaucoup d'effets secondaires, de ce fait la recherche d'une nouvelle classe des composés est essentielle pour surmonter ces effets secondaires. Traditionnellement, un certain nombre de plantes ont été employées dans la gestion du diabète et les effets hypoglycémisants de quelques-unes d'entre elles seulement ont été confirmés scientifiquement. Plus de 800 plantes ont été étudiées pour leurs potentiels antidiabétiques parmi les milliers de plantes utilisées dans diverses régions du monde (Okokon *et al.*, 2012).

I.6. Stress oxydant et diabète :

I.6.1. Stress oxydant et radicaux libres :

La formation de radicaux libres (superoxyde et hydroxyle par exemple) est une conséquence normale du métabolisme aérobie chez l'Homme. Toutefois, un déséquilibre entre la production de radicaux libres et les mécanismes de défense

Généralités

antioxydante conduit à un stress oxydatif pouvant entraîner des altérations moléculaires et cellulaires. Les lipides et l'ADN sont particulièrement sensibles à l'action des radicaux libres.

Il est possible de mesurer la production de radicaux libres, la capacité antioxydante et les effets biologiques du stress oxydatif. Toutefois, en pratique clinique, l'évaluation du stress oxydatif est faite par la mesure des produits de dégradation des lipides et par la mesure des capacités de protection (**Goudable et favier, 1997**).

1.6.2. Les antioxydants naturels et de synthèse :

La plupart des antioxydants utilisés commercialement par exemple, butylhydroxytoluène (BHT) et butylhydroxyanisole (BHA)] sont synthétiques et certains d'entre eux ont été soupçonné de causer ou de favoriser des effets négatifs sur la santé tel les cancers (**Shahin, 2008**) et, par conséquent, certaines restrictions sont placées sur leurs applications et il y a une tendance à les remplacer par des antioxydants naturels. Ces dernières années, la recherche d'antioxydants naturels en particulier à partir de plantes a augmenté et certaines plantes médicinales ont été largement étudiées pour des activités anti-oxydantes.

Les antioxydants naturels proviennent principalement de plantes sous forme de composés phénoliques (flavonoïdes, acides phénoliques, stilbènes, tocophérols, et tocotriénols), l'acide ascorbique et les caroténoïdes. La quête d'antioxydants naturels pour l'alimentation, les utilisations cosmétiques et pharmaceutiques sont devenues un enjeu industriel majeur de la recherche scientifique au cours des deux dernières décennies. Les efforts visant à acquérir des connaissances approfondies sur le pouvoir d'antioxydants à partir de plantes et d'exploiter leurs potentiels sont donc en augmentation (**Shahin, 2008**).

1.6.3. Radicaux libres et diabète :

L'état d'hyperglycémie chronique du diabète sucré conduit à un stress oxydant, c'est-à-dire un déséquilibre entre pro-oxydants et anti-oxydants au profit des premiers. Plusieurs mécanismes semblent être impliquer dans la genèse de ce stress oxydant : auto-oxydation du glucose, glycation des protéines, voie des polyols, surproduction de radicaux superoxyde au niveau de la mitochondrie et à la NAD(P)H oxydase.

Généralités

L'équilibre glycémique joue un rôle très important dans la balance pro-oxydants/anti-oxydants. Les macromolécules telles que les molécules de la matrice extra-cellulaire, les lipoprotéines et l'acide désoxyribonucléique sont aussi les cibles des radicaux libres dans le diabète sucré. Ce stress oxydant est impliqué dans la physiopathologie des complications du diabète. L'état d'hyperglycémie chronique favorise également les réactions de glycation (fixation irréversible du glucose sur les fonctions amines des protéines), en donnant les produits de glycation avancée (AGE). Ces derniers, grâce à leurs reconnaissances par des récepteurs cellulaires, participent au développement d'un stress oxydant et d'un état pro-inflammatoire. L'implication du stress oxydant et des AGE dans les complications du diabète est à l'origine du développement de thérapies complémentaires par des molécules anti-oxydantes et/ou anti-AGE (Favier, 2006).

I.7. Inhibition de l' α -glucosidase :

L' α - glucosidase (EC 3.2.1.20) est l'une des enzymes de digestion des glucides, elle est liée à la membrane de l'épithélium de l'intestin grêle. Cette enzyme catalyse la réaction d'hydrolyse des disaccharides pour libérer du glucose de l'extrémité non réductrice du substrat (Tundis *et al.*, 2010).

Une approche thérapeutique pour réduire l'hyperglycémie est de retarder et réduire la digestion et l'absorption des hydrates de carbone ingérés par l'inhibition de l' α -amylase et l' α -glucosidase dans les organes digestifs. L'inhibition des enzymes impliquées dans la digestion des glucides peut diminuer de manière significative l'augmentation postprandiale du glucose dans le sang en retardant le processus d'hydrolyse et d'absorption des glucides (Khacheba *et al.*, 2014)[2].

PARTIE EXPERIMENTALE

Partie expérimentale

II. 1. Matériel végétal :

Diverses plantes sont utilisées pour leurs propriétés hypoglycémiantes par des populations diabétiques à travers le monde, suivant en cela des considérations historiques, culturelles et économiques (**Chabane et al., 2013**).

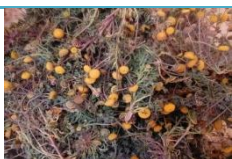
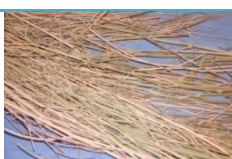
Notre étude, a été réalisée sur 18 plantes connus pour leurs pouvoirs hypoglycémiant par la population diabétique locale de la ville de Laghouat. 12 d'entre elles, ont été achetées chez des herboristes locaux et qui sont récoltées dans les environs du chef-lieu. Les six autres ont été récoltées, trois d'entre eux à savoir *Haloxylon scoparium*, *Helianthem lippi* et *Matricaria pubescens* ont été récoltées à oued Messaad (à environ 19.4Km du chef-lieu), deux autres à Taghith (à environ 95.2km du chef-lieu de la wilaya de Béchar) qui sont *Pituranthos chloranthus* et *Rhanterium adpressum* pendant le mois de Février 2015. La dernière *Genista corsica* a été récoltée à Zelfana (à environ 68 Km du chef-lieu de la wilaya de Ghardaïa) pendant le mois de Mai 2015. Les noms des plantes ainsi que les parties utilisées de chacune d'elles sont résumées dans le Tableau (2).

Ces plantes ont déjà fait l'objet d'études sur leurs activités antioxydantes et inhibitrices d'enzyme dans le laboratoire des sciences fondamentales de l'université de Laghouat.

Tableau 2 : Noms et parties utilisées des plantes étudiées.

Nom de la plante		Partie utilisée
Espèce (Famille)	Vernaculaire	
<i>Ajuga iva</i> (Lamiacées)	Chendgoura - الشندقورة	 Feuilles et tiges
<i>Anthemis arvensis</i> (Astéracées)	Noug - النقد	
<i>Berberis vulgaris</i> (Berbéracées)	Oud griss - عود غريس	 Ecorce

Partie expérimentale

<i>Cistus villosus</i> (Cistacées)	El kassa - القاصة		Feuilles, tiges et fleurs
<i>Equisetum arvense</i> (Equisétacées)	Denb el kail - ذنب الخيل		Partie aérienne
<i>Erythraea centaurium</i> (Gentianacées)	Moraret el hanech - مرارة الحنش		Partie aérienne
<i>Genista corsica</i> (Fabacées)	Zhaida - الزهيدة		Partie aérienne
<i>Haloxylon scoparium</i> (Amarantacées)	Remth - الرمث		Feuilles
<i>Helianthem lippi</i> (Cistacées)	Reguig - الرقيق		Feuilles et fleurs
<i>Marrubium vulgaire</i> (Lamiacées)	Timerioute - تيمريوت		Partie aérienne
<i>Matricaria pubescens</i> (Composites)	Gartoufa - القرطوفة		Feuilles, fleurs et tiges
<i>Ocimum basilicum</i> (Lamiacées)	Hbek - الحبق		Feuilles
<i>Pituranthos chloranthus</i> (Ombellifères)	Gouzeh - القزيج		Partie aérienne

Partie expérimentale

<i>Rhamnus alaternus</i> (Rhamnaceae)	Tassalhine - تصلحين		Feuilles
<i>Rhanterium adpressum</i> (Asteraceae)	Arfage - عرفج		Feuilles
<i>Salvia officinalis</i> (Lamiaceae)	Swak el nabie - سواك النبي		Feuilles et tiges
<i>Teucrium polium</i> (Labiées)	Jiaida - جعيدة		Feuilles et tiges
<i>Zygophyllum album</i> (Zygophyllacées)	Agga - العقة		Partie aérienne

II. 2. Prétraitement des échantillons :

Après la récolte, les échantillons ont été séchés à température ambiante, à l'abri de la lumière et dans un endroit sec et bien aéré. Une fois séché, ils ont été broyés et tamisés en vue d'obtenir la même granulométrie, et conservés dans des flacons en verre hermétiquement fermés jusqu'à extraction. Les autres plantes achetées directement chez les herboristes ont subi le même traitement.

II. 3. Tests phytochimiques des composés phénoliques :

Afin d'avoir une idée sur quelques principes actifs présents dans les espèces choisies pour cette étude, la partie aérienne choisie pour l'extraction, a subi des tests phytochimiques afin de confirmer l'existence des quelques composés phénoliques.

Partie expérimentale

II. 3. 1. Tanins :

Une masse arbitraire de la poudre de chaque plante, est macéré dans un volume d'éthanol pendant 24 h à l'obscurité. Après filtration, quelques gouttes de FeCl_3 sont ajoutées au filtrat. L'apparition d'une couleur verte foncé indique la présence des tanins (Salehi *et al.*, 1992).

II. 3.2. Saponines :

Une masse arbitraire de la poudre de chaque plante a été chauffée dans de l'eau distillée jusqu'à ébullition, après refroidissement, le mélange a été filtré et vigoureusement agité, l'apparition d'une mousse stables de hauteur supérieur à 1 cm après 15 min indique la présence des saponines (Mojab *et al.*, 2003).

II. 3. 3. Flavonoïdes :

Une masse arbitraire de la poudre de chaque plante a été macérée dans le méthanol pendant 24H, un volume d' AlCl_3 a été ajouté à un certain volume du filtrat. L'apparition d'une couleur jaune foncé indique la présence des flavonoïdes (Quettier, 2000).

II.4. Préparation des extraits phénolique :

II.4. 1. Extraction hydro –alcoolique :

Les Composés biologiquement actifs se produisent généralement en faible concentration dans les plantes. Une meilleure technique d'extraction est celle qui est capable d'obtenir des extraits avec un rendement élevé et avec des changements minimes aux propriétés fonctionnelles des extraits (Dhanani, 2013). En plus Le choix du solvant influe sur le rendement, l'efficacité de l'extraction et les propriétés de l'extrait. En fait, chaque système matériel-solvant la plante présente un comportement particulier (Ammar *et al.*, 2014).

Dans la présente étude, l'extraction a été réalisée selon le protocole adapté par Khacheba *et al.*, 2014[2], selon trois étapes : macération, dépigmentation et purification.

Partie expérimentale

II.4. 1.1. Macération :

Une quantité de 5g de chaque poudre est macérée dans mélange hydro - alcoolique (méthanol-eau) (80 : 20 V/V) pendant 24 heures à température ambiante et à l'obscurité. L'extrait est filtré puis le résidu est repris pour une deuxième macération avec un autre volume du même mélange hydroalcoolique dans les mêmes conditions. Ce qui nous a donc permis d'obtenir l'extrait hydroalcoolique brut.

II.4. 1.2. Dépigmentation :

L'extrait brut est évaporé sous pression réduite à 45°C, puis la phase aqueuse restante est lavée une ou plusieurs fois avec un même volume d'hexane, jusqu'à l'épuisement des pigments et des lipides.

II.4. 1.3. Purification :

La phase aqueuse ainsi obtenue est ensuite lavée une ou plusieurs fois avec un même volume d'acétate d'éthyle. Ce qui nous a permis d'avoir des fractions à priori contiennent les composés phénoliques polaires.

Les extraits organiques ainsi obtenus sont séchés avec du sulfate sodium anhydre puis évaporés à sec à pression réduite à 45°C. Les extraits phénoliques ainsi obtenus présentent généralement un aspect visqueux, de couleur verte, jaune et marron. Les résidus sec sont repris dans 10 ml de méthanol pur donnant la fraction phénolique correctement purifiée et conservée au réfrigérateur jusqu' à leur analyse.

Partie expérimentale

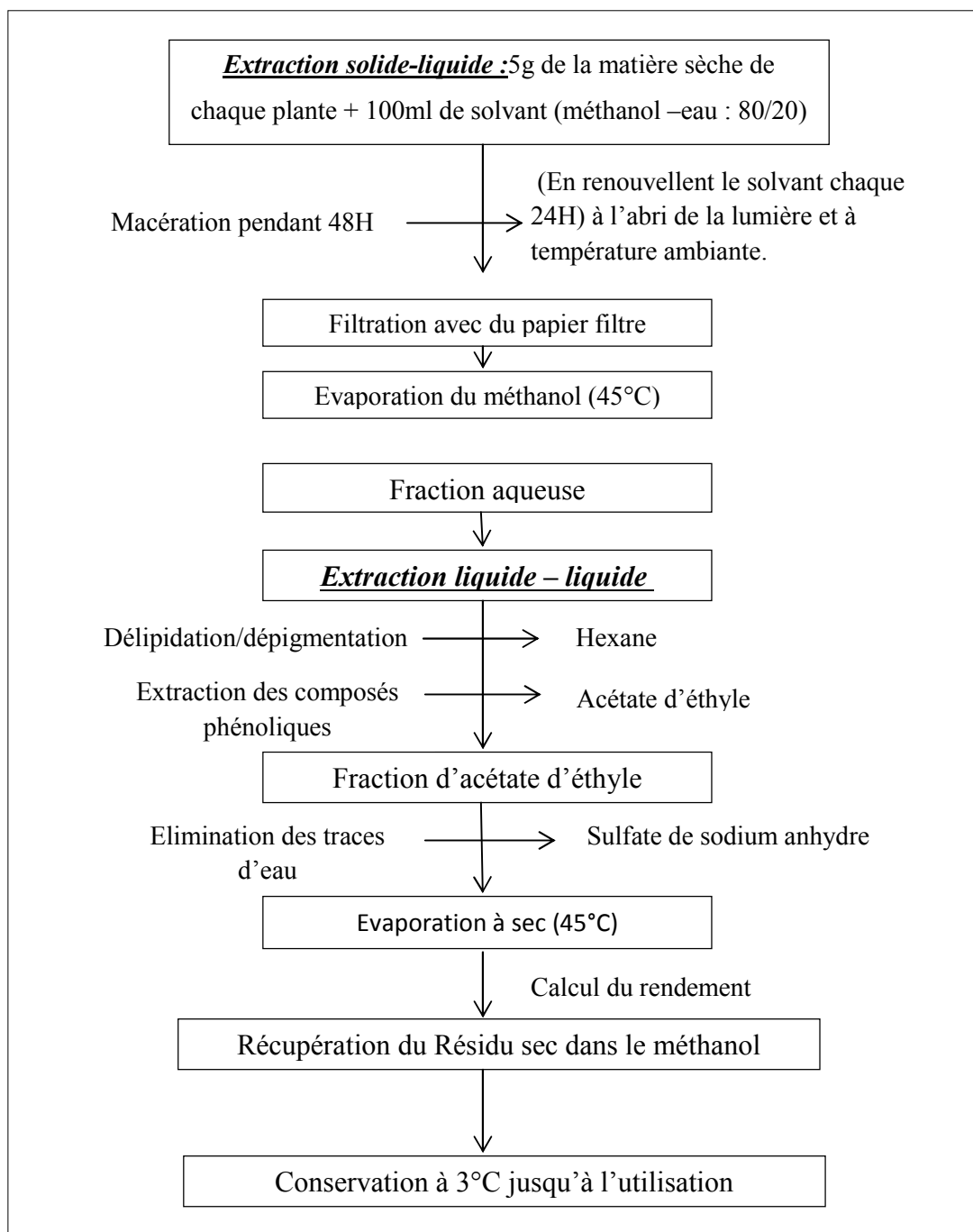


Schéma : Protocole d'extraction (macération Hydroalcooliques).

II.4. 2. Extraction aqueuse :

L'extraction ici a été réalisée selon le protocole adapté par Khacheba *et al.*, Aout 2014, avec de l'eau distillée. Les parties utilisées ont été broyées manuellement, tamisées pour éliminer les grosses graines. Une masse arbitraire de chaque poudre ainsi obtenue est macéré dans l'eau distillée à 75°C pendant 20 min.

Partie expérimentale

Après filtration et évaporation de l'eau à pression réduite, les résidus sont pesés, solubilisés dans de l'eau distillée puis conservés sous une température de 4°C jusqu'à leur analyse.

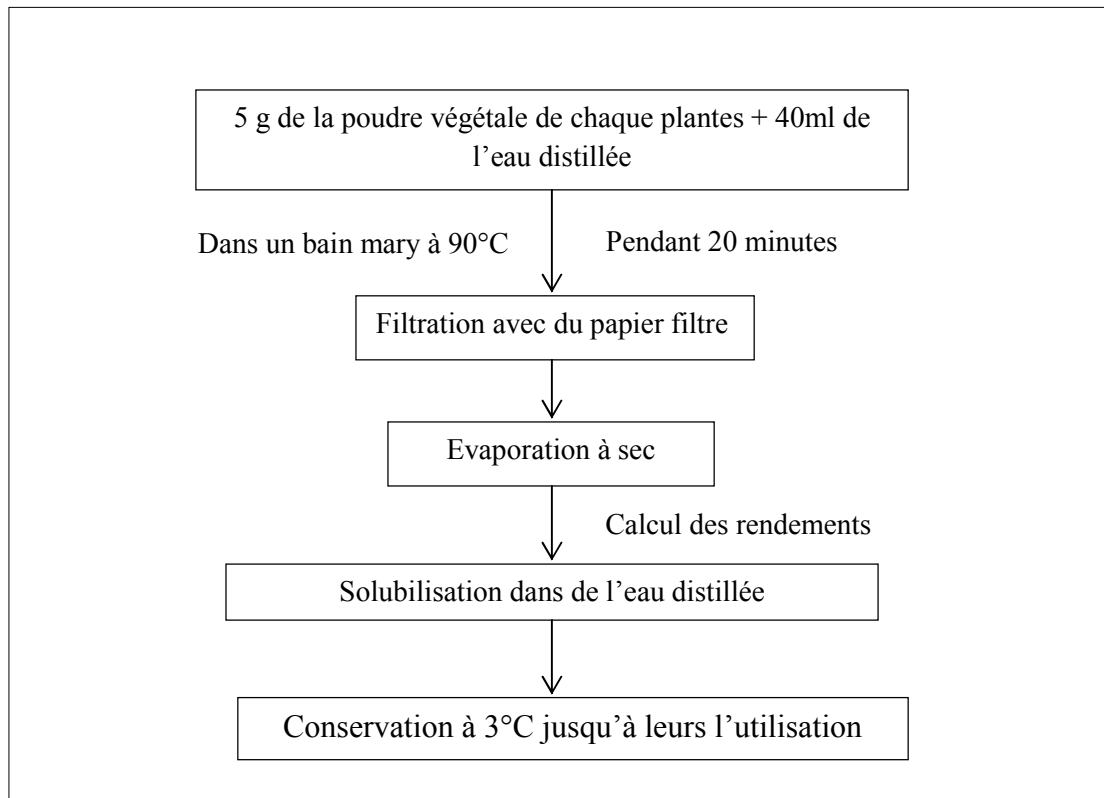


Schéma : Protocole d'extraction par décoction aqueuse.

II. 5. Dosage des composés phénoliques :

II.5.1. Dosage des phénols totaux :

Le dosage des phénols totaux a été effectué par la méthode adaptée de **Singleton et Ross (1965)** avec le réactif de Folin-Ciocalteu commercial. Le réactif est formé d'acide phosphotungestique $H_3PW_{12}O_{40}$ et d'acide phosphomolybdique $H_3PM_{12}O_{40}$, qui sont réduits lors de l'oxydation des phénols en oxydes bleu de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène(Mo_8O_{23}) (**Giner-Chavez, 1996**).

Pour réaliser le dosage, 100 μ l de chaque extrait dilué à différentes concentrations sont mélangés à 500 μ l du réactif de folin-Ciocalteu.

Partie expérimentale

Après deux minutes d'incubation, 2 ml de carbonate de sodium Na_2CO_3 sont ajoutés. Les tubes sont ensuite agités et placés à l'obscurité pendant 30 minutes à température ambiante.

La lecture de l'absorbance de chaque solution préparée est 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 valeurs de l'absorbance sont proportionnelles à la quantité de polyphénols présente dans nos extraits. Et les résultats sont présentés en mg équivalent d'acide gallique/g de matière sèche.

II. 5.2. Dosages des flavonoïdes :

Les teneurs en flavonoïdes ont été mesurées par une méthode adaptée de Lamaison et Carnat (1991) en utilisant le trichlorure d'aluminium (AlCl_3) comme réactif (Bahorun, 1997).

Pour réaliser le dosage, 1 ml de chaque solution diluée a été mélangée à 1 ml d' AlCl_3 puis incubé à la température ambiante pendant 20 minutes. La lecture de l'absorbance de chaque solution préparée a été mesurée dans le même spectrophotomètre à une longueur d'onde de 409 nm contre un blanc. Les valeurs de l'absorbance ainsi obtenues sont proportionnelles à la quantité de flavonoïdes présente dans nos extraits. Et les résultats sont présentés en mg équivalent quercétine /g de matière sèche.

II.6. Effet d'inhibition des plantes sur l' α – glucosidase :

Dans la présente étude, on s'intéresse à l'évaluation de l'effet des composés phénoliques des extraits (des plantes investiguées) sur l'activité enzymatique de l' α - glucosidase d'une levure.

Dans le cas de cette enzyme la mesure de l'activité enzymatique revient à un dosage spectrophotométrique indirect du produit libéré par unité de temps lors de l'hydrolyse du substrat, dans des conditions de température et de pH favorables.

Partie expérimentale

II.6. 1. Principe de la méthode de dosage par le DNS :

L'activité enzymatique de l' α – glucosidase est dosée sur son substrat le saccharose (un sucre double (diholoside) formé par la condensation de 2 oses : une molécule de glucose et une molécule de fructose). Elle catalyse l'hydrolyse de ce substrat qui libère le glucose (aldohexose) et le fructose (cétose). Le glucose libéré est dosé spectrophotométriquement (**figure 1**).

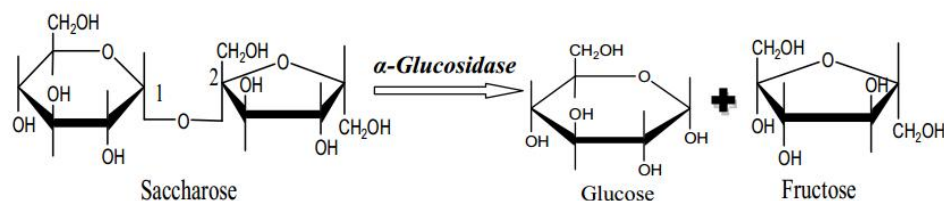


Figure 1: Produits de dégradation du saccharose par l' α – glucosidase

La méthode est basée sur la capacité des sucres réducteurs à réduire l'acide 3-5-dinitrosalicylique (DNS) en acide 3- amino– 5-nitrosalicylique en milieu alcalin où le groupement **aldéhyde** est oxydé en **acide aldonique** (**figure 2**).

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 mesurée après dilution à 540 nm est proportionnelle à la quantité en glucose (**Vagner *et al.*, 2012**).

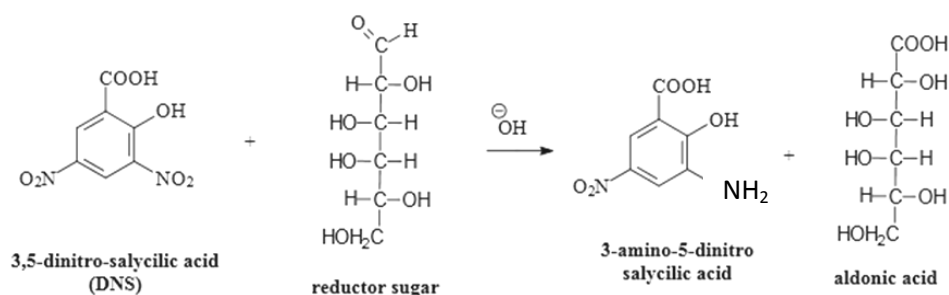


Figure 2 La réaction du réactif DNS avec un sucre réducteur.

Partie expérimentale

II.6. 2. Test d'inhibition :

Avant de procéder à l'étude de l'activité inhibitrice de nos extraits phénoliques vis-à-vis de l' α - glucosidase, nous les avons soumis des tests d'inhibition question de juger leur potentiel inhibiteur envers l' α - glucosidase, c'est-à-dire l'étude de leur comportement sur l'activité enzymatique (augmentation ou diminution) et quel pourcentage d'inhibition ils pouvaient atteindre.

Dans des tubes à essais les milieux réactionnels contenaient 1 ml de saccharose et 100 μ l de chaque extrait phénolique dilué dans un tampon phosphate à la même concentration pour des raisons de comparaison. Les tubes sont ensuite placés pendant 10 minutes à 37 °C, il s'en suit l'ajout de 100 μ l de l'enzyme suivie d'une incubation pendant une durée de 30 min. La réaction enzymatique est stoppée par l'ajout du DNS, le milieu réactionnel est ensuite porté à ébullition à 100 °C pendant 5 min, après refroidissement le milieu réactionnel est dilué avec de l'eau distillée. Les absorbances sont ensuite mesurées à 540 nm avec le même spectrophotomètre. Un contrôle a été préparé de la même façon sans inhibiteur.

Les pourcentages d'inhibition sont calculés selon la relation suivante :

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

A_{control} : Absorbance du contrôle sans inhibiteur.

$A_{\text{échantillon du test}}$: Absorbance de l'échantillon du test.

II.6. 3. Étude du pouvoir anti-glucosidique :

L'activité inhibitrice confirmée par le test précédant, nous a encouragés de procéder à l'étude de l'activité anti - glucosidique pour les trois plantes (*Cistus SP*, *Salvia officinalis* et *Zygophyllum album*) qui ont montrée une bonne inhibition pour leurs deux extraits organique et aqueux, en vue de déterminer pour chaque extrait le paramètre IC_{50} .

Partie expérimentale

Pour cela, nous avons varié la concentration en extraits phénoliques. L'activité inhibitrice des extraits est mesurée comme décrit précédemment en introduisant 100 μ l des différentes concentrations variables d'extraits phénoliques.

La représentation graphique de la variation des pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations en extraits phénoliques, permet de déterminer les valeurs d'IC₅₀ pour chaque extrait.

II.7. Evaluation de l'activité antioxydante :

L'activité antioxydant d'un composé correspond à sa capacité à résister à l'oxydation. Les antioxydants les plus connus sont le β -carotène (provitamine A), l'acide ascorbique (vitamine C), le tocophérol (vitamine E) ainsi que les composés phénoliques

Plusieurs méthodes sont utilisées pour évaluer, *in vitro* et *in vivo*, l'activité antioxydante par piégeage des radicaux différents (**Popovici *et al.*, 2009**).

Dans un but de trouver une relation entre activité inhibitrice et activité antioxydante et suite aux résultats d'inhibition sur l' α – glucosidase, l'activité antioxydante a été évalué sur les extraits des plantes : *Cistus villosus*, *Salvia officinalis* et *Zygophyllum album* vue qu'ils ont montré les pourcentages d'inhibition les plus élevés. La mise en évidence du pouvoir antioxydant de ces extraits, a été réalisée un test chimique *in vitro* : **le test du DPPH $\cdot$** .

II.7. 1. Test DPPH $\cdot$:

II.7.1. 1. Principe de la méthode :

Pour le test antiradicalaire, nous avons utilisés du 1-1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl (DPPH). Le DPPH, radical libre de couleur violette est réduit en un composé de couleur jaune en présence de composés anti-radicalaires. L'intensité de la coloration, mesurée au spectrophotomètre à 517nm, est inversement proportionnelle à l'activité anti - radicalaire des composés dont on souhaite déterminer leurs activités (**Arab *et al.*, 2013**).

Partie expérimentale

II.7. 1. 2. Procédure expérimentale :

Pour réaliser le test DPPH[•], dans un tube à essai 500 µl de chaque extrait phénolique à différentes concentrations croissantes a été additionné à 500 µl d'une solution de DPPH[•]. Le mélange réactionnel a été secoué immédiatement, puis maintenu à l'obscurité pendant une durée de 30 minutes à température ambiante.

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

L'efficacité antioxydant 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 libre.

RESULTATS ET DISCUSSION

Résultats et discussions

III. 1. Tests phytochimiques des composés phénoliques :

Avant d'entreprendre toute tentative d'extraction et d'étude, nous avons établis des tests phytochimiques sur 18 plantes connues localement pour leurs effets hypoglycémisants pour repérer l'existence de composés phénoliques.

Les résultats des trois tests phytochimiques réalisés sur les différentes poudres de toute la partie aérienne de chaque plante étudiée, ont montré qu'elles contiennent des flavonoïdes, des tanins et des saponines et donc, elles peuvent être considérées comme source de composés phénoliques et de saponines. Les résultats sont consignés dans le tableau 3.

Tableau 3 : Les résultats des tests phytochimiques des composés phénoliques sur les plantes.

Plante	Tanins	Flavonoïdes	Saponines
<i>Ajuga iva</i>	+	+	-
<i>Anthemis arvensis</i>	+	+	Trace
<i>Berberis vulgaris</i>	+	+	-
<i>Cistus SP</i>	+++	+	+
<i>Equisetum arvense</i>	+	+	Trace
<i>Erythraea centaurium</i>	+	+	+
<i>Genista corsica</i>	+	+	+
<i>Haloxylon scoparium</i>	+	+	+++
<i>Helianthem lippi</i>	++	+	Trace
<i>Marrubium vulgaire</i>	+	+	+
<i>Matricaria pubescens</i>	+	+	+
<i>Ocimum basilicum</i>	++	+	-
<i>Pituranthos chloranthus</i>	+	+	-
<i>Rhamnus alaternus</i>	+	+	+
<i>Rhanterium adpressum</i>	+	+	-
<i>Salvia officinalis</i>	+	+	+
<i>Teucrium polium</i>	+	+	+++
<i>Zygophyllum album</i>	+	+	++

Sachant que : Le symbole « + » est en fonction de l'intensité de la coloration et/ou des mousses stables. (-) : absence de métabolite, (+) : présence de métabolite en faible quantité, (++) : Présence de métabolite en quantité moyenne, (+++) : Présence métabolite en quantité importante.

Résultats et discussions

Suite aux tests phytochimiques, nous avons constaté que les plantes étudiées contiennent des tanins, des saponines et des flavonoïdes en quantité différentes. On peut dire que ces plantes sont une source prometteuse de métabolites secondaires.

Au regard du tableau précédent, nous remarquons qu'il ya pratiquement la même présence en flavonoïdes chez toute les plantes mais en faible quantité, par contre une différence est remarquée pour le contenu en saponines et en tanins.

Les tanins sont présents en forte quantité chez la plante *Cistus villosus*, moyennement chez les plantes *l'Helianthem lippi* et *l'Ocimum basilicum* et en faible quantité chez le reste des plantes. Concernant les plantes *Haloxylon scoparium* et *Teucrium polium*, sont montré les plus riche en saponines, ces différences peut être due au facteurs abiotiques tels que l'intensité de lumière, la température, la disponibilité de l'eau, le type et la composition chimique du sol, le dioxyde de carbone et les niveaux d'oxygène et la présence de polluants, qui sont pas stables dans les écosystèmes et les conséquences de leur variation influence en augmentant la synthèse des métabolites secondaires (Szakiel *et al.*, 2011).

III. 2. Préparation des extraits phénoliques :

La solubilité des composés phénoliques, dépend de leur nature chimique qui varie de composés simples au fortement polymérisés. Les matières végétales peuvent contenir des quantités variables d'acides phénoliques, phénylpropanoïdes, anthocyanines, et tanins. Cette diversité structurale est responsable de la grande variabilité des propriétés physico-chimiques influençant l'extraction des polyphénols. Entre autre, la solubilité des composés phénoliques est affectée par la polarité du solvant utilisé (Mahmoudi *et al.*, 2013).

L'extraction des composés phénoliques des plantes étudiées, a été effectuée par deux méthodes hydroalcoolique et aqueuse. Les teneurs, les aspects et les couleurs de chaque extrait bruts sont consigné dans le (Tableau 4).

Résultats et discussions

Tableau 4 : Teneurs, aspects et couleurs des extraits organiques et aqueux

Plante	Aspect	Couleur		Teneur (%)	
		Extraction hydroalcoolique	Extraction aqueuse	Extraction hydroalcoolique	Extraction aqueuse
<i>Ajuga iva</i>	Visqueux	Vert militaire	Marron foncé	2,24	7,90
<i>Anthemis arvensis</i>	Visqueux	Vert foncé	Marron	5,72	17,41
<i>Berberis vulgaris</i>	Visqueux	Marron-Jaune	Marron	2,58	7,90
<i>Cistus SP</i>	Visqueux	Vert- foncé	Marron foncé	5,08	11,49
<i>Equisetum arvense</i>	Visqueux	Vert militaire	Orange	1,04	8,216
<i>Erythraea centaurium</i>	Visqueux	Vert militaire	Orange	4,08	20,83
<i>Genista corsica</i>	Visqueux	Vert militaire	Marron claire	2,91	5,87
<i>Haloxylon scoparium</i>	Visqueux	Vert foncé	Marron foncé	1,03	16,18
<i>Helianthem lippi</i>	Visqueux	Vert militaire	Non déterminer	2,53	Non déterminé
<i>Marrubium vulgaire</i>	Visqueux	Vert foncé	Marron foncé	1,76	11,70
<i>Matricaria pubescens</i>	Visqueux	Vert-jaune	Marron foncé	2,10	17,11
<i>Ocimum basilicum</i>	Visqueux	Orange foncé	Orange foncé	1,33	17,81
<i>Pituranthos chloranthus</i>	Visqueux	Vert militaire	Marron	2,57	6,47
<i>Rhamnus alaternus</i>	Visqueux	Vert foncé	Marron foncé	3,22	9,60
<i>Rhanterium adpressum</i>	Visqueux	Vert foncé	Marron	5,12	12,14
<i>Salvia officinalis</i>	Visqueux	Vert foncé	Marron foncé	1,10	6,35
<i>Teucrium polium</i>	Visqueux	Vert militaire	Marron foncé	3,68	8,14
<i>Zygophyllum album</i>	Visqueux	Vert-jaune	Jaune	1,57	23,74

Au regard du tableau précédent, on remarque que tout les extrait ont montré des aspects visqueux de différentes couleurs variant du jaune claire, jaune foncé au de marron pour les extrait aqueux, tandis que les extraits organiques les couleurs en variée du vert, de l'orange, du marron au Jaune.

Les teneurs de l'extraction hydroalcooliques, ont varié entre 1,03 % pour la plante *Haloxylon scoparium* et 5.72 % pour la plante *Anthemis arvensis*, quant aux teneurs des extrait aqueux elles ont variée entre 5,87 % pour la plante *Genista corsica* et 23,74% pour la plante *Zygophyllum album* ; cette différence de teneur entre les différentes plantes pour une même extraction peut être expliquée par le changement des

Résultats et discussions

caractéristiques et la composition des plantes et même de la granulométries et des interaction solide-liquide (solvant) (**Tiwari et al. , 2011**).

Si on compare les teneurs d'extraction entre les deux méthodes d'extraction utilisées dans cette étude, on remarque pour chaque plante que les teneurs enregistrées pour l'extraction aqueuse et supérieure à celle enregistrée pour l'extraction hydroalcoolique. Ceci est peut être attribuée à la forte capacité de dissolution de l'eau. En fait, l'eau présente un indice de polarité, une constante diélectrique et une énergie de cohésion très élevée par rapport à d'autres solvants, ce qui fournit une liaison forte entre les molécules d'eau et des composés polaires du soluté, provoquant leur dissolution (**Dhanani et al., 2013**).

Une étude réalisée par **Khachba et al., 2014 [1]**, sur les même plantes avec la même procédure d'extraction aqueuse, a montré une différence de teneurs. En prend l'exemple de la plante *Matricaria pubescens* qui a enregistré une teneur de 17,11% (en 2015) et 7.62% dans l'étude de **Khachba[1]**.

Et dans une autre étude réalise aussi par **Khachba et al, 2014**, l'extract alcoolique de la plante *Genista corsica* a enregistré une teneur de 3,4 % supérieure à celle enregistrée dans notre étude 2,91%. Ces déférences peuvent être liée à la saison de récolte où les contraintes abiotique sont différente(la sécheresse, la chaleur, les rayons ultraviolet, la pollution de l'air et les attaques d'agents pathogènes.....) ou à des facteurs liés aux procédures d'extraction employées en tenant compte la durée d'extraction, le type du contact matière-solvant, la taille des particules de l'échantillon, l'agitation et la température (**Biesiada et Tomaczak ; 2012**).

Nous avons constaté, que les teneurs obtenues pour les plantes récoltée des régions d'Oued Messaad (wilaya de Laghouat), de Zelfana (wilaya de Ghardaïa)

et de Taghith (wilaya de Bechar) sont différentes. Les meilleurs teneurs d'extraction chez les extrait aqueux, ont été enregistré pour les deux plantes "*Matricaria pubescens*" et "*Haloxylon scoparium*" avec des valeurs de 17,11% et 16,18% respectivement. Quant à l'extraction hydroalcoolique ; les meilleurs teneurs ont été obtenus chez plantes *Rhanterium adpressum* (5,12%), *Pituranthos chloranthus* (2,57%) et *Genista corsica* (2,91%).

Résultats et discussions

On peut dire que ces différences de teneurs entre les plantes récoltées sont liées à la quantité d'eau disponible et les conditions climatiques qui ont influencés la quantité des métabolites primaire et secondaire (Biesiada et Tomaczak, 2012).

III. 3. Dosage des phénols totaux et des flavonoïdes :

Avant toute tentative d'étude d'activité biologique, nous avons effectué un dosage des phénols totaux sur les différents extraits préparés à partir de 18 plantes hypoglycémiantes.

Le dosage des phénols totaux a été réalisé par le réactif Folin-Ciocalteu et les teneurs ont été exprimé par mg EAG/ g de matière sèche. Quant au dosage des flavonoïdes, nous avons utilisé le trichlorure d'aluminium comme réactif et les teneurs ont été exprimé par mg EQ/ g de matière sèche

Le tableau 5, résume les teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes pour les deux méthodes d'extraction à partir de chaque plante.

Tableau 5 : Teneur en Phénol totaux et en Flavonoïdes des différentes plantes étudiées.

Plante	Teneur en Phénols Totaux (mg/g) EAG		Teneur en Flavonoïdes (mg/g) EQ	
	Extraction hydro-alcoolique	Extraction aqueuse	Extraction hydro-alcoolique	Extraction aqueuse
<i>Ajuga iva</i>	0,57± 0,07	2,40± 0,10	0,22 ± 0,02	1,90 ± 0,21
<i>Anthemis arvensis</i>	6,39± 0,64	7,64± 0,20	5,11 ±0,30	0,69 ± 0,11
<i>Berberis vulgaris</i>	1,59±0,02	2,13±0,29	0,06 ±0,01	0,21 ± 0,03
<i>Cistus villosus</i>	14,39±0,83	16,60±0,79	9,34±0,85	2,62 ± 0,18
<i>Equisetum arvense</i>	1,45±0,19	2,20±0,23	0,22 ±0,07	1,05 ± 0,21
<i>Erythraea centaurium</i>	1,99±0,07	3,65±0,27	1,05 ±0,51	3,46 ± 0,29
<i>Genista corsica</i>	2,51± 0,35	0,82±0,158	2,33 ±0,34	0,41 ± 0 ,002
<i>Haloxylon scoparium</i>	0,90±0,04	11,42±0,47	0,38 ±0,01	0,60 ±0,04
<i>Helianthem lippi</i>	2,30± 0,12	Non Déterminer	1,10 ±0,14	Non Déterminer
<i>Marrubium vulgaire</i>	0,70± 0,19	1,47± 0,23	0,49 ±0,09	0,31 ± 0,03

Résultats et discussions

<i>Matricaria pubescens</i>	2,58± 0,50	2,53± 0,19	2,35 ±0,14	1,19 ± 0 ,01
<i>Ocimum basilicum</i>	3,30± 0,18	10,72± 0,48	2,30 ±0,55	1,24 ± 0,46
<i>Pituranthos chloranthus</i>	1,52± 0,20	1,96± 0,08	0,51 ±0,04	0,64 ± 0,05
<i>Rhamnus alaternus</i>	5,57± 0,36	4,39± 0,26	Non Déterminer	2,14 ± 0,24
<i>Rhanterium adpressum</i>	8,65± 0,61	5,37± 0,35	2,51 ±0,33	1,00 ± 0,01
<i>Salvia officinalis</i>	2,38± 0,12	9,01± 0,16	1,95 ±0,15	3,40 ± 0,14
<i>Teucrium polium</i>	4,94± 0,37	4,60± 0,04	2,83 ± 0,54	0,60 ± 0 ,08
<i>Zygophyllum album</i>	1,11± 0,04	1,42± 0,03	0,99 ± 0,13	0,93 ± 0,04

D'après la synthèse des résultats obtenus pour la quantification des composés phénoliques, on constate que les teneurs en phénols totaux ont varié entre 0,57 et 14,39 mg EAG/g MS pour l'extraction hydro – alcoolique et entre 0,82 et 16,60 mg EAG/ g MS pour l'extraction aqueuse. La plante *Cistus villosus* a enregistré les teneurs les plus élevée en phénols totaux dans les deux méthodes : 14,39 ± 0,83 mg GAE / g de MS par extraction hydroalcoolique et 16,60±0,79 mg GAE / g de MS par l'extraction aqueuse

Et pour le dosage des flavonoïdes, les teneurs ont varié entre de 0,06 et 9,34 mg EQ/g de MS pour les extraits hydroalcooliques et entre 0,21 et 3,46 mg EQ/g de MS pour les extraits aqueux.

Nous avons constaté que l'extrait de la plante *Berberis vulgaris* a enregistré des teneurs en flavonoïdes les plus faible (0,06 et 0,21 mg EQ/g de MS pour les extrait hydro alcoolique et aqueux respectivement, tandis que le *Cistus SP* a montrée la teneur la plus élevé 9,34±0,85 mg QE/ g de MS pour l'extrait hydro alcoolique mais en deuxième position pour la teneur en flavonoïde car elle dépassé par la plante *Erythraea centaureum* dont la teneur 3,46 mg / g de MS pour l'extrait aqueux.

Si on compare les teneurs en flavonoïdes à celles des teneurs en composés phénoliques pour les deux extraits hydroalcooliques et aqueux, on remarque qu'elles sont toutes inférieures à ces dernières, ce qui indique que les extraits contiennent d'autres composés phénoliques possédant autres structures chimiques que celles des flavonoïdes (Acide phénoliques, tanins, silènes...). Quelques plantes ont montré leur

Résultats et discussions

richesse en flavonoïdes à savoir: *Anthemis arvensis*, *Cistus villosus*, *Teucrium polium* et *Rhamnus alaternus*.

De plus nous remarquons que les teneurs en phénols et en flavonoïdes sont très proches ce qui peut être expliqué par le fait que presque tout les phénols extrait sont des flavonoïdes

Si on compare les valeurs de ces teneurs en composés phénoliques pour les extrait hydroalcoolique à celles des teneurs des extraits aqueux, on remarque qu'elles sont toutes inférieures à ces dernières, ce qui indique que les extraits bruts aqueux obtenus contiennent d'autres composés polaires à part les phénols tel que : les protéines, les sucre simple (glucose), les glycoprotéines.

Des études réalisées au laboratoire des sciences fondamentales, sur les mêmes espèces végétales de la région de Laghouat ayant utiliser la même procédure d'extraction aqueuse réalisée dans notre étude ont montré des teneurs en phénols largement plus importantes que celles observées chez nos plantes (**Khachba et al., 2014**)[1]. Par contre une autre étude (**Khachba et al., 2014**)[2] ayant utiliser la même procédure d'extraction hydroalcoolique pour l'espèce *Genista corsica* a montré des teneurs presque similaire,

Dans une étude réalisée par **Boussoussa et al., 2014** sur l'espèce *Rhanterium adpressum* a montrée une teneur en phénols totaux presque similaire à celle enregistrée pour l'espèce *Rhanterium adpressum* dans notre étude mais une teneur en flavonoïdes inférieure 2,51 mg / g MS contre 5.64 mg / g MS trouvé par **Boussoussa**, ce ci peut être dû à la partie utilisée de la plante pour notre échantillon nous avons utilisé les feuilles seulement qui ont montré une teneur en flavonoïdes inférieur aux fleurs ; cette différence d'inégale de répartition des flavonoïdes pourrait s'expliquer par le faite que les fleurs sont plus riche en flavonoïdes totaux, suivies des feuilles et des racines, puis des fruits et enfin de l'écorce ; car elle sont plus exposées à l'ensoleillement solaire que les autres organes de la plante. En effet, les flavonoïdes assurent la protection des tissus de la plante contre les effets nocifs du rayonnement solaire (**Dohou et al., 2013 ; Olivier N'Guessan et al., 2011**). De plus les fleurs sont riches en enzymes impliqué dans la synthèse des flavonoïdes (**Harborne, 2013**).

Résultats et discussions

III. 4. Effet d'inhibition des trois plantes sur l' α – glucosidase :

III.4.1. Test d'inhibition :

En vue de repérer les plantes ayant une capacité inhibitrice vis-à-vis l' α - glucosidase, des tests d'inhibitions *in vitro* ont été effectués à la même concentration d'extraits. Les différents taux d'inhibition calculés sont résumés dans le tableau 6.

Dans notre étude, l'activité enzymatique de l' α -glucosidase a été mesurée sur son substrat, le saccharose. Nous avons néanmoins choisi le saccharose comme substrat essentiellement parce qu'il est non réducteur, ce qui nous a permis d'utiliser le réactif DNS pour l'analyse en plus de sa disponibilité.

Après analyses des résultats obtenus, nous avons constaté que tous les extraits préparés présentent un potentiel d'inhibition vis-à-vis de l' α – glucosidase à différents taux d'inhibition.

Les valeurs calculées, montrent que tous les pourcentages d'inhibition des extraits aqueux sont inférieurs à 35 % excepté les plantes *Cistus villosus* et *Salvia officinalis* qui ont enregistré les meilleurs pourcentages 98,03 et 67,22% respectivement. Nous avons constaté que tous les extraits hydro- alcoolique présentent un pouvoir d'inhibition vis-à-vis l' α - glucosidase avec des pourcentages très élevés compris entre 53,36 et 100 %. Cela peut être due à la différence de structures des composés extraits qui n'auront pas le même mécanisme d'action ou à l'excitance dans les extraits aqueux des molécules gênantes (encombrement stérique) qui sont responsables à ces faibles pourcentages.

La synthèse des différents résultats, montre nettement que le pouvoir d'inhibition vis-à-vis de l' α -glucosidase est un caractère spécifique pour chaque extrait qui peut varier selon sa composition et la structure des molécules responsables à l'activité **(Michelle de Sales *et al.*, 2012).**

Résultats et discussions

Tableau 6 : Taux d'inhibition des extraits phénoliques des plantes étudiées vis - à vis de l' α – glucosidase

Plante	Le pourcentage d'inhibition (%)	
	Extraction hydro-alcoolique	Extraction aqueuse
<i>Ajuga iva</i>	68,08± 0,55	12,51± 0,82
<i>Anthemis arvensis</i>	68,16± 1,31	18,73± 2,01
<i>Berberis vulgaris</i>	67,62± 2,91	15,73± 2,14
<i>Cistus villous</i>	66,98± 0,85	98,03± 3,05
<i>Equisetum arvense</i>	100	24,18± 5,08
<i>Erythraeacentaurium</i>	74,76± 1,01	0
<i>Genista corsica</i>	53,36± 3,73	4,44± 0,9
<i>Haloxylon scoparium</i>	93,95± 2,05	21,86± 3,73
<i>Helianthem lippi</i>	93,48± 1,81	Non déterminer
<i>Matricaria pubescens</i>	86,62± 2,17	5,39± 1,64
<i>Marrubium vulgaire</i>	91,12± 2,64	1,8± 0,9
<i>Ocimum basilicum</i>	93,79± 1,16	24,29± 5
<i>Pituranthos chloranthus</i>	92± 1,4	1,02
<i>Rhamnus alaternus</i>	93,33± 2,71	20,17± 2,5
<i>Rhanterium adpressum</i>	68,04±1,17	27±5,5
<i>Salvia officinalis</i>	100	67,22± 2,63
<i>Teucrium polium</i>	85,96± 4,34	24,53±3,34
<i>Zygophyllum album</i>	96,23± 1,01	34,75± 2,75

Dans l'étude Khachba *et al.*, Aout 2014, la majorités des plantes, ont donné de bon taux d'inhibition vis-à-vis l' α – amylase excepté la plante *Zygophyllum album* dont le taux est 0 %. Par contre notre étude confirme l'effet hypoglycémiant de cette plante certifié par l'enquête ethnobotanique effectuée auprès des herboristes avec un pourcentage très élevé de l'ordre de 96,23 % pour l'extrait hydro - alcooliques et de 34,75 % pour l'extrait aqueux.

Résultats et discussions

III.4.2. Étude du pouvoir anti-glucosidique :

Après avoir confirmé l'existence d'activité inhibitrice pour chaque extrait par le test précédent, et on se basant sur les résultats, trois plantes ont été choisies pour procéder à l'étude de l'activité anti – glucosidique ; afin de déterminer pour chaque extrait et dans les mêmes conditions réactionnelles 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 et nous avons introduit 100 μ l des différentes concentrations.

Les représentations graphiques de la variation des pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations en extraits, nous ont permis de déterminer les valeurs d' IC_{50} pour chaque extrait que nous avons regroupés dans le tableau ci dessous

Tableau 7 : Valeurs des IC_{50} (mg/ml) des extraits des trois plantes sélectionnées vis - à vis de l' α – glucosidase

Plante	IC_{50} (mg/ml)	
	Extraction hydro- alcoolique	Extraction par décoction
<i>Cistus villosus</i>	0,38 $\pm$ 0,05	0,40 $\pm$ 0,01
<i>Salvia officinalis</i>	0,45 $\pm$ 0,05	4,34 $\pm$ 0,96
<i>Zygophyllum album</i>	0,78 $\pm$ 0,35	28,95 $\pm$ 0,27

Les valeurs d' IC_{50} , ont variée globalement entre 0,38 et 28,95 mg/ml. Les extraits hydro - alcooliques ont enregistré de meilleurs IC_{50} par rapport aux extraits aqueux ceci, peut être attribuée à la présence d'un groupes de molécules de dont la structure est différente leurs conférant une activité inhibitrice plus efficace. L'explication de la faible activité des extraits aqueux peut être attribuée à l'enzyme oxydase de polyphénols, qui a peut dégrader les polyphénols extraits dans de l'eau, tandis que dans le méthanol et l'éthanol elles sont inactives.

De plus, l'eau est un meilleur milieu pour l'apparition des micro-organismes (Khachba *et al.*, 2014)[1].

Résultats et discussions

Nous avons constaté un résultat très intéressant concernant la plante *Cistus villous*, cette dernière c'est montré un bon inhibiteur car elle a enregistré les plus faible valeurs d'IC₅₀ 0,378 mg/ml pour l'extraction hydro - alcoolique et 0,40 mg/ml pour l'extraction aqueuse ceci peut être expliqué par la richesse de cette plante en molécules spécifiques qui sont responsable de l'inhibition de l' α -glucosidase.

III.5. Evaluation de l'activité antioxydante :

III. 5.1. Test DPPH' :

L'activité antioxydant des différents extraits vis-à-vis du radical DPPH, a été évaluée par spectrophotométrie en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne d'un changement de couleur du violet au jaune mesurable à 517 nm. Les mesures de densités optiques de chaque solution d'extrait à différentes dilutions nous ont permis de calculer le pourcentage d'inhibition du DPPH.

La variation du pourcentage d'inhibition (%) en fonction de la concentration en antioxydant (phénols), nous ont permit de déterminer les valeurs d'EC₅₀ (qui représente la concentration d'inhibiteur nécessaire pour diminuer 50% du taux des radicaux libres). De même nous avons calculé les EC₅₀ d'antioxydants de référence à fin de comparer nos extraits. Les résultats sont consignés dans le tableau ci dessous.

Tableau 8 : Les valeurs d'EC₅₀ (µg /ml) des extraits des plantes sélectionnées et des antioxydants standards

EC 50 µg/ml		
Plante	Extraction hydro- alcoolique	Extraction par décoction
<i>Cistus villous</i>	12,79 ± 0,953	27,32 ± 0,91
<i>Salvia officinalis</i>	8,46 ± 0,018	33,28 ± 2,73
<i>Zygophyllum album</i>	406,53 ± 4,674	2243,16 ± 4,27
Acide ascorbique	9,90 ± 0,079	
La rutine	20,18	

On note au regard du tableau précédent que les extraits hydro - alcoolique des plantes *Salvia officinalis* et *Cistus villous* (8,46 et 12,79 µg /ml respectivement) possèdent une activité antioxydant plus importante que celle de la plante *Zygophyllum album* (406,53 µg /ml). Ces bons résultats peuvent s'expliquer par la nature de leurs

Résultats et discussions

composés phénoliques hydrosolubles (flavonoïdes) qui sont caractérisés par des groupements hydroxyles fortement impliqués dans l'activité antiradicalaire.

Nous avons noté que les extraits hydroalcooliques sont de meilleurs antioxydants que les extraits aqueux, on peut envisager que les extraits aqueux ont perdu quelques principes actifs suite à la chaleur qui aurons pu donner plus d'efficacité sur la neutralisation du radical DPPH• (**Lafka et al., 2007**).

Comparativement aux antioxydants de référence, nous avons constaté que l'extrait hydro-méthanolique de la plante *Salvia officinalis* a présenté une plus forte activité que celles de l'acide ascorbique et de la rutine, en termes de piégeage des radicaux libres DPPH•, ce qui le rend un puissant anti oxydant. L'extrait hydroalcoolique de la plante *Cistus SP* a présenté aussi un pouvoir anti oxydant remarquable car la valeur de son EC₅₀ est inférieure à celle de la rutine.

Une étude réalisée par **Martins et al., 2014**, la plante *Salvia officinalis* a enregistré une valeur d'EC₅₀ de 75.53 et 32.97 µg/ml pour l'extraction aqueuse et hydro alcoolique respectivement par contre dans notre étude les valeurs ont été meilleures 8,46 et 33,28 µg/ml l'extraction aqueuse et hydro alcoolique respectivement, cette différence peut être due à plusieurs facteurs (la durée de l'extraction, le lieu de récolte, les conditions climatiques, la granulométrie. (**Tiwari et al., 2011**).

CONCLUSION

Conclusion Générale

Les plantes, représentent une source inépuisable de substances et de composés naturels bioactifs, qui peuvent être valorisés dans le domaine pharmaceutique en tant que constituant essentiel du médicament. A cet effet, nous nous sommes intéressés à 18 plantes locales connues pour leurs effets hypoglycémifiants.

Dans un premier temps, nous avons réalisé une extraction aqueuse et hydro - alcoolique pour les 18 plantes médicinales choisies. Dans un second lieu, nous avons procédé à la quantification des composés phénoliques par des méthodes spectrophotométriques. Le dosage des phénols totaux a été réalisé par la méthode de folin – Ciocalteu. Tandis que l'évaluation des composés flavonoïdiques a été effectuée par dosage complexométrique avec le trichlorure d'aluminium.

Les teneurs en phénols totaux ont varié entre 0,57 et 14,39 mg/g et entre 0,82 à 16,60 mg/g équivalent en acide gallique pour les extraits hydro – alcoolique et aqueux respectivement. A partir des valeurs des quantités des flavonoïdes qui sont comprises entre 0,06 à 9,34 mg/g et entre 0,21 à 3,46 mg/g équivalent en quercétine pour les extraits hydro – alcoolique et aqueux respectivement, on peut conclure que ces plantes sont en possession d'un matériel riche en flavonoïdes.

Nous avons pu mettre en évidence *in vitro*, l'effet inhibiteur des extraits de ces plantes sur l' α - glucosidase. Les résultats obtenus à travers ce test montrent que la majorité de ces plantes présentent des effets inhibiteurs importants, avec des pourcentages d'inhibition supérieure à 50 % pour les extraits hydro – alcoolique.

L'évaluation du pouvoir antioxydant des extraits des trois plantes *Cistus SP*, *Salvia officinalis* et *Zygophyllum album* et des antioxydants commerciaux pris comme références (la vitamine C et rutine), par le test chimique *in vitro* DPPH a montré des valeurs d'EC₅₀ comprises entre 27,32 et 2243,16 µg/ml pour les extraits aqueux, et entre 8,46 et 406,53 µg/ml pour les extraits hydroalcooliques. Seul les extraits hydroalcoolique de *Salvia officinalis* et *Cistus SP* se sont montrés de bons inhibiteurs dont les valeurs d'EC₅₀ été inférieures à celles des antioxydants standards.

Ces résultats confirment que l'activité antioxydante dans nos plantes dépend de la structure et la capacité antioxydante des composés phénoliques dans chaque extrait.

Conclusion Générale

Il convient de placer ce travail dans un contexte plus prospectif, car sur de nombreux points, il ouvre plusieurs nouvelles voies de recherche. En effet, il est souhaitable de compléter et d'approfondir le travail par une étude phytochimique plus développée (techniques chromatographiques et spectroscopiques) afin d'isoler et d'identifier les différents composés chimiques responsables de ces activités.

Il serait aussi intéressant de faire des tests *in vivo* sur différents modèles biologiques, afin de trouver une application thérapeutique des molécules actives isolées et d'étudier l'effet synergique des extraits pour améliorer l'index thérapeutique.

Il est même possible, de développer la culture végétale de ces plantes en utilisant des techniques sophistiquées pour améliorer la quantité de ces molécules.

Il reste encore d'autres plantes locales utiles qui n'ont pas été analysées et qui mériteraient de déterminer leur potentialité dans le domaine étudié.

Ce travail a fourni un complément aux connaissances ethnopharmacologiques et phytochimiques des plantes médicinales locales et a permis de mettre en évidence encore une fois le rôle des polyphénols naturels dans la régulation du stress oxydatif et la normalisation des troubles glycémiques.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

1. **Ait El Cadi, M., Makram, S., Ansar, M., Khabbal , Y., Alaoui, A., Cherrah, Y., Taoufik, J., 2011.** Activité anti-inflammatoire des extraits aqueux et éthanolique de *Zygophyllum gaetulum*. Annales Pharmaceutiques Françaises, vol 70, p 113–116.
2. **Alice, Y.Y., Cheng, M.D., 2013.** Introduction (Comité d’experts des Lignes directrices de pratique clinique de l’Association canadienne du diabète). Canadian Journal of Diabetes , vol 37, p S361- S364.
3. **Ammar, I., Ennouri, M., Attia, H., 2014.** Phenolic content and antioxidant activity of cactus (*Opuntia ficus-indica L.*) flowers are modified according to the extraction method. Industrial Crops and Products, vol 64, p 97–104.
4. **Arab, K., Bouchenak, O., et Yahiaoui, K., 2013.** Évaluation de l’activité biologique des feuilles de l’olivier sauvage et cultivé Laboratoire de Valorisation et Conservation des Ressources Biologique. Afrique SCIENCE, vol 3, p 159-166.
5. **Bahorun, T., 1997.** Substances naturelles actives : La flore mauricienne, une source d’approvisionnement potentielle, Journal of Food and Agricultural Research, p 83 - 94.
6. **Biesiada, A., Tomczak, A., 2012.** Biotic and abiotic factors affecting the content of the chosen antioxidant compounds in vegetables. wrocław university of environmental and life sciences grunwaldzka wrocław, vol 76, p 55-78.
7. **Boussoussa, H., Hamia, C., Djéridande, A., Boudjeniba, M., Yousfi, M., 2014.** Effect of different Solvent Polarity on Extraction of Phenolic Compounds from Algerian *Rhanterium adpressum* Flowers and their Antimicrobial and Antioxidant Activities. Current Chemical Biology, vol 8.
8. **Bruneton, J., 2009.** Pharmaconosie, phytochimie, plantes médicinales. 4^{ème} Edition. Lavoisier. p: 276
9. **Chabane, D., Saidi, F., Rouibi, A., Azine, K., 2013.** Activité hypoglycémique de l’extrait aqueux d’*Ajuga iva* L. schreber chez les rats diabétiques induite par l’alloxane. Afrique SCIENCE.
10. **Cheng, Y. Y., Josse, R. G., 2004.** Les inhibiteurs de l’absorption intestinale dans la prévention et le traitement du diabète de type 2, Endocrinologie-Conférences Scientifiques, vol 4.

Références bibliographiques

11. Chethan, S., Sreerama, Y.N., Malleshi, N.G., 2008. Mode of inhibition of finger millet malt amylases by the millet phenolics. *Journal of Food Chemistry*, vol 111 p 187-191.
12. Cook, N.C., et Samman, S., 1996. Flavonoids---Chemistry, metabolism, cardioprotective effects, and dietary sources. *Biochem*, Volume 7 p 66-76.
13. Delforges, P., Harlay, A., Berdeu, D., 2004. Surveillance infirmière: médecine, chirurgie . 10^e édition de Lamarre, Paris, p 234.
14. Dhanani, T., Shah, S., Gajbhiye, N.A., Kumar, S., 2013. Effect of extraction methods on yield , phytochemical constituents and antioxidant activity of *Withania somnifera*. *Arabian Journal of Chemistry*, *in press*.
15. Dohou N., Yamni K., Tahrouch S., Idrissi Hassani L.M., Badoc A., Gmira, N., 2013. Screening Phytochimique D'une Endémique Ibéro Marocaine, *Thymelaea Lythroides* .Bull. Soc. Pharm. Bordeaux, vol 142, p 61-78.
16. Favier, A., 2006. Stress oxydant et pathologies humaines. *Annales Pharmaceutiques Françaises*, vol 64 p 390–396.
17. Fleurentin, J., 1991. Ethnopharmacologie : sources, méthodes, objectif : actes du 1^{er} Colloque d'ethnopharmacologie. Metz, Centre Internationale des Congrès, 23-25 mars 1990. IRD Edition, p245.
18. Giner-Chavez, B. I., 1996. Condensed tannins in tropical forages. Ithaca. USA: p 65.
19. Goldenberg, R., Punthakee, Z., 2013. Définition, classification et diagnostic du diabète, du prédiabète et du syndrome métabolique. *Canadian Journal of Diabetes* , vol 37, p S369 -S372.
20. Goudable, J., Favier, A., 1997. Radicaux libres oxygénés et antioxydants. *Nutr clin métabol*, vol 11, p 115 – 120.
21. Harborne, J.B., 2013. The Flavonoids: Advances in Research since 1980. Edition :Springer, p 526.
22. Huet, M., 2012. Les plantes médicinales chez les malades atteints de cancers : pratiques courantes et éléments de leur évaluation. *Bulletin du Cancer*, vol 100, p 485–495.
23. Jaganath, I. B., Crozier, A., 2010. Plant Phenolics and Human Health: Biochemistry, Nutrition, and Pharmacology, edition Cesar G. Fraga. p 1.

Références bibliographiques

24. **Khacheba, I., Djeridane, A., Yousfi, M., 2014.** Twenty Traditional Algerian Plants Used in Diabetes Therapy as Strong Inhibitors of α -Amylase Activity. International Journal of Carbohydrate Chemistry, Article ID 287281, p1-12. [1].
25. **Khacheba, I., Djeridane, A., Kameli, A., Yousfi, M., 2014.** The Inhibitory Effect of Some Algerian Plants Phenolics Extracts on the α - glucosidase and α - amylase Activities and their Antioxidant Activities. Current Enzyme Inhibition, Vol 10, p59-68. [2].
26. **Lafka, Tl., Sinanoglou, V., Lazos, E.S., 2007.** On the extraction and antioxidant activity of phenolic compounds from winery wastes. Food Chemistry, vol 104, p 1206–1214.
27. **Mahmoudi, S., Khali, M., Mahmoudi, N., 2013.** Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynarascolymus L.*). Revue Nature & Technologie, B- Sciences Agronomiques et Biologiques, n°9, P 35 - 40.
28. **Martins, N., Barros, L., Santos-Buelga, C., Henriques, M., Silva, S., Ferreira, I., 2014.** Evaluation of bioactive properties and phenolic compounds in different extracts prepared from *Salvia officinalis L.* Food Chemistry, vol 170 p 378 – 385.
29. **McGibbon, A., Richardson, C., Hernandez, C., Dornan, J., 2013.** Pharmacothérapie du diabète de type 1. Canadian Journal of Diabetes, volume 37 p S422 - S427.
30. **Michelle de Sales, P., Monteiro de Souza, P., Simeoni, L. A., Magalhães, P. O., Silveira, D., 2012.** α -Amylase Inhibitors: A Review of Raw Material and Isolated Compounds from Plant Source. J Pharm Pharmaceut Sci, vol 15, p141 – 183.
31. **Mojab, F., Kamalinejad, M., Ghaderi, N., Vahidipour, H. R., 2003.** Phytochemical Screening of some Species of Iranian Plants. Iranian journal of Pharmaceutica. Research p 77-82.
32. **Okokon, J., Antia, B., Udobang, J., 2012.** Antidiabetic activities of ethanolic extract and fraction of *Anthocleista djalonensis*. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine , p 461-464.
33. **Olivier N'Guessan, A.H., Dago Déliko, C.E., Mamyrbékova-Békro, J.A., Békro, Y.A., 2011.** Teneurs en composés phénoliques de 10 plantes médicinales

Références bibliographiques

- employées dans la tradithérapie de l'hypertension artérielle, une pathologie émergente en Côte d'Ivoire. *Revue de génie industriel*, vol 6, p 55-61.
34. **Popovici, C., Saykova, I., Tylkowski, B., 2009.** Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH, *Vol 13*, p 25-39.
35. **Prabhakar, P.K., Doble, M., 2011.** Mechanism of Action of Natural Products Used in the Treatment of Diabetes Mellitus. *The Chinese Journal of Integrated Traditional and Western Medicine Press and Springer-Verlag*, Vol 17, p 563-574.
36. **Quettier Delen, C., 2000.** Phenolic compounds and anti-oxidant activities of bruck Weathull and flour. *journal of Elhnopharmacology*, Vol 72, p 35-42.
37. **Szakiel, A., Paćzkowski, C., Henry, M., 2011.** Influence of environmental abiotic factors on the content of saponins in plants. *Revue Phytochem*, vol 10, p 471 – 491.
38. **Salehi, S., Aynehchi, G. H., Mahamdi, Z., 1992.** Survey of Iranian plants for saponins, alkaloides, flavonoids and tannins, *J Sch of Pharm. Tehran*, p 281-291.
39. **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*, vol 41, p 1 -15.
40. **Tiwari, P., Kumar, B., Kaur, M., Kaur, G., Kaur, H., 2011.** Phytochemical screening and Extraction. *Internationale Pharmaceutica Scientia*, vol 1, p 98-106.
41. **Tundis, R., Loizzo, M.R., Menichini, F., 2010.** Natural Products as α -Amylase and α -Glucosidase Inhibitors and their Hypoglycaemic Potential in the Treatment of Diabetes: An Update. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, vol 10, p 315 - 331.
42. **Vagner, A. T., Ruvolo-Takasusuki, M. C. C., José, A., Braz, O., Chambó, E., Lopes, S. M., 2012.** Spectrophotometry as a Tool for Dosage Sugars in Nectar of Crops Pollinated by Honeybees, *Macro To Nano Spectroscopy, InTech*. p 270-290.
43. **Wojdyło, A., Oszmian'ski, J., Czemerys, R., 2007.**Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. *Food Chemistry*, vol 105, p 940 – 949.

Références bibliographiques