



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

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

Département de Biologie

*Laboratoire : Antibiotiques, Antifongiques : Physico-chimie,
Synthèse et Activité biologique*

MÉMOIRE

Présenté par

Mlle **BENMESSAOUD Amina**

Pour l'obtention du

Diplôme de MASTER

En Biochimie appliquée

Thème

Recherche de l'effet inhibiteur des extraits des
feuilles d'*Olea europea* sur l'activité de
l'alpha amylase *in vitro*

Président	Mr LAHFA F. B.	Professeur	Université de Tlemcen
Promotrice	Mlle MEZOUAR D.	Maître-assistant B	Université de Tlemcen
Examineur	Mr CHAOUCHE M. T.	Maître de conférences A	Université de Tlemcen

Année universitaire : 2018 – 2019

Dédicaces

J'ai l'immense plaisir de dédier ce travail :

A mon père « Mohammed » qui n'a épargné aucun effort, en subtilisant son temps pour répondre à mes obligations vis-à-vis de ce travail.

A toi ma chère mère « Fatiha », en qui je vois la maman combattante, toujours prête à se sacrifier pour le bien-être de ses enfants, et qui m'a toujours soutenu le long de ce parcours. Merci pour tout.

A mon petit frère « Mohammed Adnan », qu'Allah, le tout puissant, le protège et le garde. Je te souhaite une vie pleine de bonheur et de succès

A mon grand-père « Miloud », qui m'a accompagné avec ses prières, sa douceur, puisse Allah lui prêter longue vie et beaucoup de santé et de bonheur.

A mes chères amies, et à tous les membres de ma famille, petits et grands.

Remerciements

En tout premier lieu, je remercie Allah, tout miséricordieux de m'avoir illuminé le chemin vers le savoir et la science et de m'avoir donné la force et le courage pour réaliser ce modeste travail.

Je voudrais tout d'abord adresser toute ma gratitude à mon encadreur, Melle **MEZOUAR Dounia**, Maitre-assistant B au département de biologie, faculté des sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre et de l'univers, université Abou Bekr Belkaid Tlemcen, pour sa patience, sa disponibilité et surtout ses conseils judicieux qui ont contribué à alimenter ma réflexion.

Je tiens à remercier Monsieur **LAHFA Farid Boucif**, Professeur au département de biologie, faculté des sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre et de l'univers, université Abou Bekr Belkaid Tlemcen, de m'avoir fait l'honneur de présider ce jury, et aussi pour la richesse et la qualité de son enseignement au cours de notre cursus universitaire, et pour ses précieux conseils et ses encouragements.

Je désire aussi remercier Monsieur **CHAUCHE Mohammed Tarik**, Maitre de conférences A au département de biologie, faculté des sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre et de l'univers, université Abou Bekr Belkaid Tlemcen, d'avoir accepté d'examiner ce mémoire.

J'exprime également mes sincères remerciements à Monsieur **RAHMOUN Mohammed Nadjib**, Maitre de conférences A au département de biologie, faculté des sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre et de l'univers, université Abou Bekr Belkaid Tlemcen, et directeur du laboratoire Antibiotique Antifongique : Physico-chimique, synthèse et activité biologique, de m'avoir accueilli au sein du laboratoire.

Enfin, mes remerciements s'adressent à tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué directement ou indirectement à la réalisation de ce travail.

الملخص

داء السكري هو مرض استقلابي تزداد فيه مستويات السكر لفترة طويلة، مما ينتج عنه العديد من الأعراض، كثرة التبول، زيادة العطش، الجوع، الحمض الكيتوني والغيبوبة.

أحد الأساليب العلاجية لمرض السكري هو تقليل الامتصاص المعوي للجلوكوز والذي يضمه تثبيط الإنزيمات الهاضمة (ألفا أميلاز وألفا غلوكوزيداز).

الهدف من هذا العمل هو البحث عن التأثير المثبط للألفا أميلاز بواسطة مستخلصات أوراق الزيتون الهيدرميثانية والهيدروأستونية.

تبدأ دراستنا بفحص كيميائي نباتي لهذه المستخلصات وتحليل كمي يهدف الى تحديد مستويات البوليفينول الكلي والفلافونويد.

كشف الفحص الكيميائي النباتي عن وجود العفص، السابونوزيدات، تربينويدات، ستيروليينات وثلاثيات التربين في كلا النوعين من المستخلصات الهيدروميثانية والهيدروأستونية.

تم تسجيل اعلى مستويات البوليفينول في مستخلص الهيدروأستون المغلى (27.19 ميكروغرام مكافئ ح غ / ملغ) بينما يوجد اعلى مستوى من الفلافونويد في مستخلص الهيدروأستون المحضر بواسطة النقاة 32.4 ميكروغرام مكافئ ك /مل

تكشف التحاليل المخبرية التي اجريت على اوراق شجرة الزيتون عن تأثير مثبط لنشاط الالفا اميلاز بواسطة مستخلص الهيدروأستون المغلى ب 06.0 مغ/مل بدرجة أكبر مقارنة مع الاكربوز 5.0 مغ/مل .

في ضوء النتائج التي تم الحصول عليها من دراستنا يمكننا ان نستنتج ان اوراق شجرة الزيتون لها تأثير على نشاط الالفا اميلاز مما يؤدي الى تقليل امتصاص الجلوكوز وبالتالي تنظيم ارتفاع السكر في الدم .

الكلمات المفتاحية : مستخلص هيدروأستون ,شجرة الزيتون, مستخلص هيدروميثانول, ألفا أميلاز, نشاط مثبط.

Résumé

Le diabète sucré est une maladie métabolique dans laquelle les niveaux de sucre dans le corps augmentent pendant une période prolongée, ce qui produit de nombreux symptômes : polyurie, polydipsie, polyphagie, acidocétose diabétique et coma. Une des approches thérapeutiques dans le traitement du diabète est la diminution de l'absorption intestinale du glucose qui est assurée par l'inhibition des enzymes digestives α -amylase et α -glucosidases.

L'objectif de ce travail repose sur la recherche de l'effet inhibiteur de l' α -amylase par les extraits hydrométhanolique et hydroacétonique des feuilles d'*Olea europea* L.

Notre étude commence par un screening phytochimique de ces extraits et une analyse quantitative visant à l'identification des taux de polyphénols totaux et de flavonoïdes.

Le screening phytochimique a révélé la présence des tanins, des saponosides, des terpénoïdes, des stérols et des triterpènes dans les différents types d'extraits hydrométhanoliques et hydroacétoniques.

Les taux en polyphénols les plus élevés sont enregistrés dans l'extrait hydroacétonique préparé par décoction (19, 27 mg GAE/g). Alors que le taux le plus élevé en flavonoïdes est constaté dans l'extrait hydroacétonique préparé par macération (4,32 mg CEQ/g).

Les tests réalisés *in vitro* sur l'activité de l' α -amylase révèle un effet inhibiteur de l'olivier, cet effet est plus marqué avec l'extrait hydroacétonique préparé par décoction avec une CI_{50} de 0.06 mg/ml et qui est supérieure par rapport à celle de l'acarbose (CI_{50} à 0.5 mg/ml).

A la lumière des résultats obtenus dans notre étude, nous pouvons conclure qu'*Olea europaea* L peut exercer un effet sur la régulation de l'hyperglycémie en effectuant une inhibition de l'activité de l' α -amylase, et par la suite, une réduction de l'absorption du glucose.

Mots clés : *Olea europea* L, extrait hydroacétonique, extrait hydrométhanolique, α -amylase, activité inhibitrice.

Abstract

Diabetes mellitus is a metabolic disease in which the levels of sugar in the body increase for a prolonged period, which produces many symptoms : polyuria, polydipsia, polyphagia, diabetic ketoacidosis and coma. One of the therapeutic approaches in the treatment of diabetes is the reduction of intestinal absorption of glucose which is ensured by the inhibition of the digestive enzymes α -amylase and α -glucosidases.

The objective of this work is carried out on the research of the inhibitory effect of α -amylase by hydromethanolic and hydroacetic crudes extracts of leaves of *Olea europaea* L.

Our study begins with a phytochemical screening of these extracts and a quantitative analysis aimed to identify the rate of total polyphenols and flavonoids.

Phytochemical screening revealed the presence of tannins, saponins, terpenoids, sterols and triterpenes in the different types of extracts.

The highest polyphenol levels are recorded in the hydroacetic extract prepared by decoction (19.27 mg GAE / g). While the highest level of flavonoids is found in the hydroacetic extract prepared by maceration (4.32 mg CE / g).

The tests carried out in vitro on the activity of α -amylase shows an inhibitory effect of the olive tree, this effect is more marked with the hydroacetic extract prepared by decoction with an IC_{50} of 0.06 mg / ml and which is higher compared with acarbose (IC_{50} at 0.5 mg / ml).

Key words : *Olea europaea* L, hydroacetic extract, hydromethanolic extract, α -amylase, inhibitory activity.

Table des matières

Dédicaces.....	2
Remerciements.....	3
المخلص	4
Résumé	5
Abstract.....	6
Table des matières.....	7
Liste des figures	10
Liste des tableaux.....	11
Liste des abréviations	12
Chapitre 1 : Généralités sur le diabète sucré	16
1. Définition du diabète sucré.....	16
2. Classification du diabète sucré.....	16
2.1. Diabète de type 1.....	16
2.2. Diabète de type 2.....	16
2.3. Diabète gestationnel	16
2.4. Autres types du diabète	16
3. Epidémiologie	17
4. Diagnostic	17
5. Facteurs des risques.....	17
6. Physiopathologie	18
7. Complications du diabète	18
8. Traitement du diabète sucré.....	19
8.1. Mesures hygiéno-diététiques (Société francophone du diabète, 2014) :.....	19
8.2. Antidiabétiques oraux utilisés pour le traitement du diabète de type 2 :	20
8.3. Insulinothérapie.....	21
8.4. Critères de choix thérapeutiques sont en fonction du type de diabète :	21
9. Utilisation des plantes antidiabétiques dans le traitement du diabète sucré	21
10. Inhibition de l'activité de l'alpha amylase.....	22
10.1. Définition de l'alpha amylase	22
10.2. Structure de l'alpha amylase.....	22
10.3. Rôle de l'alpha amylase dans le métabolisme glucidique	23
10.4. Implication des inhibiteurs de l'alpha amylase dans le traitement du diabète sucré	24
10.5. Inhibiteurs naturels de l'alpha amylase	24

Chapitre 2 : Plante étudiée, <i>Olea europaea</i> L.....	25
1. Systématique d' <i>Olea europaea</i> L.....	25
2. Origine de l'olivier et distribution géographique.....	26
3. Caractéristiques et descriptions de la plante <i>Olea europeae</i>	26
4. Systématique	26
5. Composés actifs d' <i>Olea europaea</i> L.....	27
6. Effets thérapeutiques d' <i>Olea europaea</i> L.....	28
Matériels et méthodes.....	30
1. Matériel végétal.....	30
1.1. Préparation du matériel végétal	30
1.2. Extraction du matériel végétal	30
1.2.1. Extraction sous reflux	30
1.2.2. Extraction par macération	30
1.2.3. Calcul du rendement	31
1.3. Tests phytochimiques	31
1.3.1. Tanins	31
1.3.2. Flavonoïdes	31
1.3.3. Coumarines	31
1.3.4. Alcaloïdes	32
1.3.5. Terpénoïdes.....	32
1.3.6. Stérols et triterpènes	32
1.3.7. Saponosides.....	32
1.3.8. Composés réducteurs.....	32
1.4. Dosage des composés phénoliques	32
1.4.1. Dosage des polyphénols.....	32
1.4.2. Dosage des flavonoïdes	33
2. Evaluation de l'effet inhibiteur des extraits des feuilles d'olivier sur l'alpha amylase	34
2.1. Réactifs utilisés :	34
2.1.1. Solution de l'alpha amylase	34
2.1.2. Solution de substrat	34
2.1.3. Solution d'extrait.....	34
2.1.4. Solution d'acarbose	34
2.1.5. Réactif du chromogène 3,5-dinitrosalicylique DNSA.....	34
2.2. Evaluation de l'effet inhibiteur des extraits sur l' α - amylase.....	35

2.2.1. Principe de la technique	35
2.2.2. Mode opératoire	35
2.2.3. Expression des résultats	36
Résultats et interprétation	38
1. Extraction.....	38
2. Tests phytochimiques	39
3. Dosage des composés phénoliques	40
4. Effet des extraits d' <i>Olea europaea</i> L sur l'activité de l'alpha amylase <i>in vitro</i>	41
Discussion.....	46
Conclusion générale	50
Références bibliographiques.....	53

Liste des figures

Figure 1 : Structure de l'alpha amylase.....	23
Figure 2 : <i>Olea europaea</i> L.....	27
Figure 3 : Structures des principaux métabolites secondaires de l'olivier.....	28
Figure 4 : plante et feuilles d' <i>Olea europaea</i> L.....	31
Figure 5 : Rendements des extraits d' <i>Olea europaea</i> L.....	40
Figure 6 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux.....	42
Figure 7 : Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des flavonoïdes.....	42
Figure 8 : Courbe de régression logarithmique d'inhibition en fonction des différentes concentrations de l'extrait hydrométhanolique préparé par décoction.....	43
Figure 9 : Courbe de régression logarithmique d'inhibition en fonction des différentes concentrations de l'extrait hydroacétonique préparé par décoction.....	44
Figure 10 : Courbe de régression logarithmique d'inhibition en fonction des différentes concentrations de l'acarbose.....	44

Liste des tableaux

Tableau 1 : Classes des antidiabétiques oraux utilisés dans le traitement du diabète sucré.....	20
Tableau 02 : Quelques plantes qui exercent un effet inhibiteur contre l' α -amylase.....	25
Tableau 03 : Caractéristiques des extraits bruts hydrométhanoliques des feuilles d' <i>Olea europaea</i> L.....	39
Tableau 04 : Caractéristiques des extraits bruts hydroacétoniques des feuilles d' <i>Olea europaea</i> L.....	39
Tableau 05 : Résultats des tests phytochimiques des extraits bruts hydrométhanoliques et hydroacétoniques des feuilles d' <i>Olea europaea</i> L.....	40
Tableau 06 : Teneurs en polyphénols, flavonoïdes des extraits hydrométhanoliques et hydroacétonique des feuilles d' <i>Olea europaea</i> L.....	42
Tableau 07 : Valeurs des CI ₅₀ des extraits décocté d' <i>Olea europaea</i> L.....	45

Liste des abréviations

AeOH : Acétone

CI₅₀ : Concentration inhibitrice de 50 % de l'activité enzymatique

DT1 : diabète de type 1

DT2 : diabète de type 2

FID : Fédération internationale du diabète

MeOH : Méthanol

OMS : Organisation mondiale de la santé

Mg EAG / g : Milligramme équivalent acide gallique par gramme

Mg EC / g : Milligramme équivalent catéchine par gramme

Introduction générale

Introduction générale

Le diabète sucré a atteint 422 millions de personnes dans le monde et est responsable de 5 millions de morts/an, dont 90 % sont des diabétiques de type 2 (DT2) (**Émile, 2019**).

Le diabète est défini par une hyperglycémie chronique survenant lorsque la quantité d'insuline plasmatique n'est plus suffisamment produite et assez active par rapport aux besoins de l'organisme ou par une élévation de la glycémie à jeun au-delà de 7 mmol/L (1,26 g/L) (**Tenenbaum et al, 2018**).

L'hyperglycémie chronique, via la glycation des protéines, favorise ou induit la survenue des complications dégénératives du diabète atteignant le système vasculaire macro- et microangiopathiques, principalement cardiovasculaires (60 à 70 % des diabétiques décèdent suite à un événement cardiovasculaire), rénales (1 personne dialysée/3 est diabétique) et le système nerveux (neuropathies). Il s'agit, en outre, de la première cause d'amputation hors accidents (5 à 10 % des diabétiques sont ou seront amputés d'un orteil, d'un pied ou d'une jambe) et de la première cause de cécité après 65 ans (2 % des diabétiques sont aveugles) (**Émile, 2019**).

La thérapeutique du diabète de type 1 repose sur l'insulinothérapie, seul moyen de combler la carence insulinaire. Dans le cadre du diabète de type 2, des antidiabétiques oraux (biguanides, sulfamides hypoglycémisants, glinides, inhibiteurs de la DPP-4 et inhibiteurs des α -glucosidases) et injectables (analogues du GLP-1 et insuline) sont utilisés. L'insulinothérapie peut également être nécessaire après plusieurs années d'évolution vers l'insulinodépendance (**Sautou-Miranda et al, 2018**).

Plusieurs plantes médicinales ont été utilisées pour le traitement du diabète, notamment, dans le traitement du diabète de type 2, avec un impact positif sur le métabolisme du glucose et des lipides, améliorant l'état général des patients (**De Souza et al, 2018**). L'Algérie est distinguée par une flore riche en plantes médicinales et aromatiques, cela est dû à la diversité de son climat (**Azzi et al, 2012**).

L'objectif de notre étude est d'effectuer des tests phytochimiques, des dosages des composés phénoliques et de rechercher l'effet inhibiteur des extraits bruts hydrométhanoliques et hydroacétoniques des feuilles d'*Olea europea* L sur l'activité de l' α -amylase.

Partie bibliographique

Chapitre 1 : Généralités sur le diabète sucré

1. Définition du diabète sucré

Le diabète sucré, est une maladie chronique qui se développe lorsque le taux de glucose dans le sang augmente parce que l'organisme ne parvient pas à produire suffisamment de l'insuline ou à l'utiliser de manière efficace (**De Fronzo et al, 2015**).

Le déficit en insuline ou l'incapacité des cellules β -pancréatiques à y répondre se traduit par des niveaux élevés de glucose dans le sang (hyperglycémie), ce qui caractérise le diabète sucré (**FID, 2017**).

2. Classification du diabète sucré

2.1. Diabète de type 1

Le diabète de type 1 DT1, appelé précédemment diabète insulino-dépendant ou juvénile, est caractérisé par une production insuffisante de l'insuline (**Bourne et al, 2013**).

Le diabète de type 1 est provoqué par une réaction auto-immune au cours de laquelle le système immunitaire de l'organisme attaque les cellules β des îlots du pancréas qui produisent l'insuline (**FID, 2017**).

2.2. Diabète de type 2

Le diabète de type 2 DT2 ou diabète non insulino-dépendant, est dû à une hyperglycémie qui est liée, soit à une résistance à l'insuline, soit à une insuffisance de sécrétion de l'insuline (insulinopénie relative). L'insulinopénie peut se développer avec l'âge provoquant un diabète insulino-Dépendant (**Michels et al, 2003**).

2.3. Diabète gestationnel

Le diabète gestationnel DG est un type de diabète qui affecte généralement les femmes enceintes pendant les deuxièmes et troisièmes trimestres, même s'il peut survenir à tout moment pendant la grossesse (**Miot et al, 2012 ; FID, 2017**).

2.4. Autres types du diabète

Il existe également quelques types moins courants de diabète, dont le diabète monogénique qui est responsable d'environ 1 à 5 % de tous les cas de diabète (**Slingerland et al, 2006 ; Fendler et al, 2012**), et le diabète secondaire qui est une complication d'autres maladies, comme les troubles hormonaux (maladie de Cushing ou acromégalie, par exemple) ou les maladies du

pancréas (pancréatite, par exemple). Il peut également apparaître suite à la prise de médicaments, tels que des corticostéroïdes (**FID, 2017**).

3. Epidémiologie

L'organisation mondiale de la santé OMS indique que le nombre de diabétiques dans le monde est de 422 millions de personnes diabétiques en 2014. Ce nombre pourrait atteindre les 622 millions en 2040 (**OMS, 2016**).

L'épidémie mondiale de diabète représente un des défis majeurs de santé de développement du 21^{ème} siècle, il cause plus de 5 millions de décès par an avec plus de 13000 morts par jour et 1 mort toutes les 7 secondes (**FID, 2017**).

En Afrique, plus de 16 millions de personnes sont diabétiques et elles seront 40 millions en 2040 (**FID, 2018**).

Une étude menée par le ministère de la santé, en coordination avec l'OMS, entre 2016 et 2017 a révélé que 14,4% des Algériens âgés de 18 à 69 ans sont atteints de diabète sucré.

La direction de la sécurité sociale avec la collaboration de l'association Brahimi Mahmoud pour l'aide des diabétiques de la wilaya de Tlemcen ont mené une enquête sur les diabétiques à Tlemcen en 2018 qui a révélé les données suivantes : 47856 de personnes sont diabétiques dont 29682 personnes sont atteintes du diabète de type 1 et 18174 personnes sont atteintes du diabète de type 2.

4. Diagnostic

Un diabète doit être diagnostiqué si un ou plusieurs des critères suivants sont satisfaits (**Dall et al, 2014**) :

- ✓ Glycémie à jeun $\geq 7,0$ mmol/L (126 mg/dL) ;
- ✓ Glycémie à deux heures après une ingestion de 75 g de glucose orale (test oral de tolérance au glucose HGPO) $\geq 11,1$ mmol/L (200 mg/dL) ;
- ✓ Glycémie aléatoire $> 11,1$ mmol/L (200 mg/dL) ou hémoglobine glyquée HbA1c ≥ 48 mmol/L (équivalent à 6,5 %).

5. Facteurs des risques

Les causes déclenchant le diabète de type 2 sont encore inconnues, mais il existe plusieurs facteurs de risque importants, entre autres dont (**FID, 2013**) :

- L'obésité ;
- Une alimentation peu équilibrée ;
- L'inactivité physique ;
- Un âge avancé ;
- Des antécédents familiaux de diabète ;
- L'ethnie ;
- Une glycémie élevée pendant la grossesse qui affecte l'enfant à naître (**FID, 2013**).

6. Physiopathologie

La maladie du DT2 surviendrait suite à une production insuffisante en insuline face à une demande accrue de l'organisme causée, et, par une augmentation de la résistance des tissus cibles à l'insuline tels que le foie, les muscles et le tissu adipeux. Cette insulino-pénie est d'abord la conséquence d'une incapacité des cellules β -pancréatiques à sécréter de l'insuline en réponse au glucose. Dans l'histoire de la maladie, la perte relative ou absolue de la sensibilité de l'insuline précède le dysfonctionnement des cellules β pancréatiques (**Tenenbaum et al, 2018**).

Ce défaut fonctionnel serait ensuite accompagné par une réduction de la masse totale des cellules β , ce qui participerait au développement de la maladie (**Butler et al, 2003**).

L'excès d'apport lipidique et l'insulino-résistance systémique, associés à l'obésité, joueraient un rôle clé dans le déclin de la masse et de la fonction des cellules β (**Hernández et al, 2017**).

7. Complications du diabète

Les complications résultent généralement d'une atteinte de la paroi des vaisseaux sanguins et sont classées en deux catégories en fonction de la taille des vaisseaux atteints : on parle de microangiopathie pour les petits vaisseaux sanguins et de macroangiopathie pour les autres cas.

- Pour la microangiopathie, on trouve les complications au niveau des yeux (La rétinopathie), au niveau des reins (néphropathie) et au niveau des nerfs (neuropathie).
- pour la macroangiopathie, on cite Les complications au niveau des artères du cœur et au niveau des artères du cerveau (**King, 2008**).

Une rétinopathie diabétique RD a été détectée chez 1 032 (12,4 %) des patients diabétiques. Elle est un peu plus fréquente chez les personnes atteintes de DT1 (14,0 %) que chez les personnes atteintes du DT2 (12,3 %). La prévalence de la RD non proliférante touche 8,3 %

des diabétiques atteints de DT1 et 9,0 % des personnes atteints de DT2, tandis que celle de la RD proliférante n'est que de 5,7 % dans le DT1 et de 3,3 % dans le DT2. Il existe une relation linéaire entre la RD proliférante et le niveau d'HbA1 (**Belhadj et al, 2016**).

Dans l'ensemble, une personne diabétique sur cinq (20,0 %) est atteinte d'une ou plusieurs complications macrovasculaires (DT1 : 18,1 % ; DT2 : 20,1 %). Des lésions du pied ont été retrouvées chez près d'un patient sur dix atteint de DT2 (8,2 %), alors que les complications cardiovasculaires affectent environ 13 % des patients, indépendamment du type de diabète (**Belhadj et al, 2016**).

8. Traitement du diabète sucré

8.1. Mesures hygiéno-diététiques (Société francophone du diabète, 2014) :

- Faire au moins trois repas par jour ;
- Arrêter tout grignotage entre les repas ;
- Manger peu de graisses ;
- Manger suffisamment de glucides ;
- Répartir les glucides entre les différents repas ;
- Favoriser les glucides à index glycémique bas ;
- Pouvoir consommer des produits sucrés, sans excès ;
- Eviter les boissons sucrées, sauf en cas d'hypoglycémie ;
- Consommer les édulcorants, comme l'aspartame et la saccharine, si le patient le désire ;
- Manger des aliments riches en fibres (légumes et fruits à chaque repas).

La nutrition (diététique), et son corollaire, l'activité physique, sont les deux thérapeutiques de première ligne du DT2. Elles agissent de conserve, mais n'agissent que tant qu'elles sont poursuivies (**Schlienger, 2016**).

8.2. Antidiabétiques oraux utilisés pour le traitement du diabète de type 2 :

Tableau 1 : Classes des antidiabétiques oraux utilisés dans le traitement du diabète sucré

Classe de médicament	Mécanismes d'action	Références bibliographiques
Biguanides (metformine)	la diminution de néoglucogenèse, dans le foie, absorption intestinale du glucose retardée.	(Pernicova, Korbonit, 2014 ; Defronzo et al, 1991)
Sulfamides hypoglycémiants (gliclazide, glimépiride...)	Le principal mécanisme d'action des sulfonylurées est l'inhibition des canaux potassiques sensibles à l'adénosine triphosphate (ATP) dans les cellules bêta pancréatiques entraînant la libération d'insuline.	(Seino et al,2012 ; Aguilar-Bryan et al, 1995)
Thiazolidinediones	Les thiazolidinediones régulent l'expression génique médiée par le récepteur activé par les proliférateurs des peroxyosomes (PPAR-gamma) et augmentent la sensibilité à l'insuline et l'utilisation du glucose, ainsi que la production de glucose.	(Yki-Järvine et al, 2004)
Meglitinides	Les méglitinides agissent sur les canaux potassiques sensibles à l'ATP sur les cellules bêta pan-créatiques, augmentant la sécrétion d'insuline. Leur mécanisme d'action et leur efficacité glycémique sont similaires à ceux des sulfonylurées.	(Fuhlendorf et al, 1998)
Inhibiteurs des alphaglucosidases (acarbose)	Ces médicaments agissent en inhibant l'alpha glucosidase, une enzyme digestive présente sur les cellules de la bordure en brosse de l'intestin grêle, empêchant ainsi la dégradation des glucides complexes en monosaccharides.	(Hollande et al, 1997)
Analogues des GLP-1 (exénatide, liraglutide...)	Hormone endogène qui potentialise de façon glucose-dépendante la sécrétion d'insuline.	(Trujillo et al, 2015)

Inhibiteurs des DPP-4 (4Dipeptidylpeptidase)	Les inhibiteurs de la DPP-4 sont des médicaments antidiabétiques oraux qui empêchent l'inactivation périphérique	(Koska et al, 2015)
(sitagliptine, vildagliptine...)	d'incrétines par la DPP-4, entraînant une demi-vie accrue, ainsi que des réactions insulinothropes et autres prolongées du GLP-1 chez les patients atteints de DT2.	
Inhibiteurs cotransporteurs-2 du sodium glucose(SGLT-2)	es inhibiteurs du saccharose glucosecotransporter-2 (SGLT-2) sont une nouvelle classe de médicaments qui améliorent le contrôle glycémique grâce à la réabsorption réduite du glucose dans le tubule proximale rénale, résultant de la glycosurie.	(Inzucch et al, 2015)

8.3. Insulinothérapie

Dans le cas d'un échec du traitement antidiabétique oral chez le diabétique de type 2, il paraît nécessaire d'instaurer une insulinothérapie précocement pour préserver le capital insulinosécrétoire résiduel **(Bosquet et Hartemann-Heurtier, 2004)**.

8.4. Critères de choix thérapeutiques sont en fonction du type de diabète :

Chez les diabétiques de type 2, la diététique est le premier geste thérapeutique à prescrire avec l'instauration d'un régime normocalorique associé à une activité physique régulière. Dans le cas d'inefficacité du régime seul et en l'absence de contre-indications, la metformine en monothérapie est le traitement de choix en 1^{ère} intention. Des associations médicamenteuses (bithérapie voire trithérapie) sont réalisées dans le cas d'un échec de la monothérapie. Un recours à l'insulinothérapie est envisagé dans le cas d'un échec des autres médicaments antidiabétiques **(Sautou-Miranda et al, 2018)**.

9. Utilisation des plantes antidiabétiques dans le traitement du diabète sucré

La médecine traditionnelle est basée sur l'utilisation des plantes médicinales pour le traitement de nombreuses maladies, dont le diabète sucré **(Farnsworth et al, 1985 ; OMS, 2002)**.

Selon les informations ethnobotaniques mondiales, il existe plus de 1123 espèces végétales, soit plus de 725 genres appartenant à 183 familles, sont utilisées pour leurs propriétés hypoglycémiantes et antihyperglycémiantes (**Bailey et Day, 1989 ; Marles et Farnsworth, 1995 ; Eddouks et al, 2007**).

En Algérie, l'utilisation des plantes médicinales est très répandue, comme dans tous les pays du Maghreb et les pays en voie de développement. Pour soigner le diabète sucré plusieurs remèdes à partir des plantes sont recommandés soit individuellement ou en combinaison (**Azzi et al, 2012**).

Le recensement de 60 espèces végétales utilisées pour le traitement du diabète sucré a été révélé par de nombreuses enquêtes ethnopharmacologiques (**Hammiche et Maiza, 2006 ; Allali et al, 2008 ; Azzi et al, 2012 ; Sari et al, 2012 ; Bouzabata et al, 2013 ; Benderradji et al, 2014**).

Dans la région de Tlemcen, les plantes les plus utilisées comme antidiabétiques sont : *Trigonella foenum graecum* (Leguminosae), *Citrullus colocynthis* (Cucurbitaceae), *Saccocalyx satureioïdes* (Labiatae), *Berberis vulgaris* (Berberidaceae), *Aloe vera* (Liliaceae) et *Globularia alypum* (Globulariaceae) (**Allali et al, 2008**).

L'activité antidiabétique des plantes peut dépendre de plusieurs mécanismes tel que l'inhibition de β -galactosidase, l' α -glucosidase et l' α -amylase (**Jarald et al, 2008 ; Kashikar et Kotkar, 2011 ; Singh et al, 2012**).

10. Inhibition de l'activité de l'alpha amylase

10.1. Définition de l'alpha amylase

L'alpha-amylase (EC 3.2.1.1), est une enzyme qui catalyse l'hydrolyse des liaisons α (1 \rightarrow 4) glycosidiques dans l'amidon et les co-hydrates de carbone apparentés pour produire des substances à faible degré de polymérisation telles que le glucose, la maltodextrine et les oligosaccharides. Elle est largement utilisée dans l'alimentation, dans l'industrie pharmaceutique, dans les détergents et dans les industries de textiles (**De Souza et Magalhães, 2010 ; Maarel et al, 2002**).

10.2. Structure de l'alpha amylase

Les α -amylases sont regroupées dans la famille 13 des glycosyl hydrolases. Elles ont des structures et des sites catalytiques similaires et leur mécanisme catalytique ne varie pas. Une α amylase typique a une structure tridimensionnelle 3 D ressemblant à une forme de cylindre

avec trois domaines caractéristiques A, B et C (Maarel et al, 2002 ; De Souza et Magalhães, 2010).

Dans les boucles situées aux extrémités C-terminales de l'enzyme, des brins β du domaine A, se trouvent des résidus hautement conservés d'acides aminés qui participent à la catalyse et à la liaison des substrats (Maarel et al, 2002). Le domaine B est impliqué dans la liaison de Ca^{2+} et participe également à la liaison du substrat. Le rôle du domaine C, une seconde saillie devant ou derrière le domaine A (Holm et al, 1990).

La figure 1 montre un diagramme en ruban de la structure globale de l' α -amylase humaine, qui est pliée en trois domaines (A-C). Les positions du chlorure lié (un activateur catalytique) et du calcium (un stabilisant structural) sont également indiquées avec des sphères larges (Maurus, 2005).

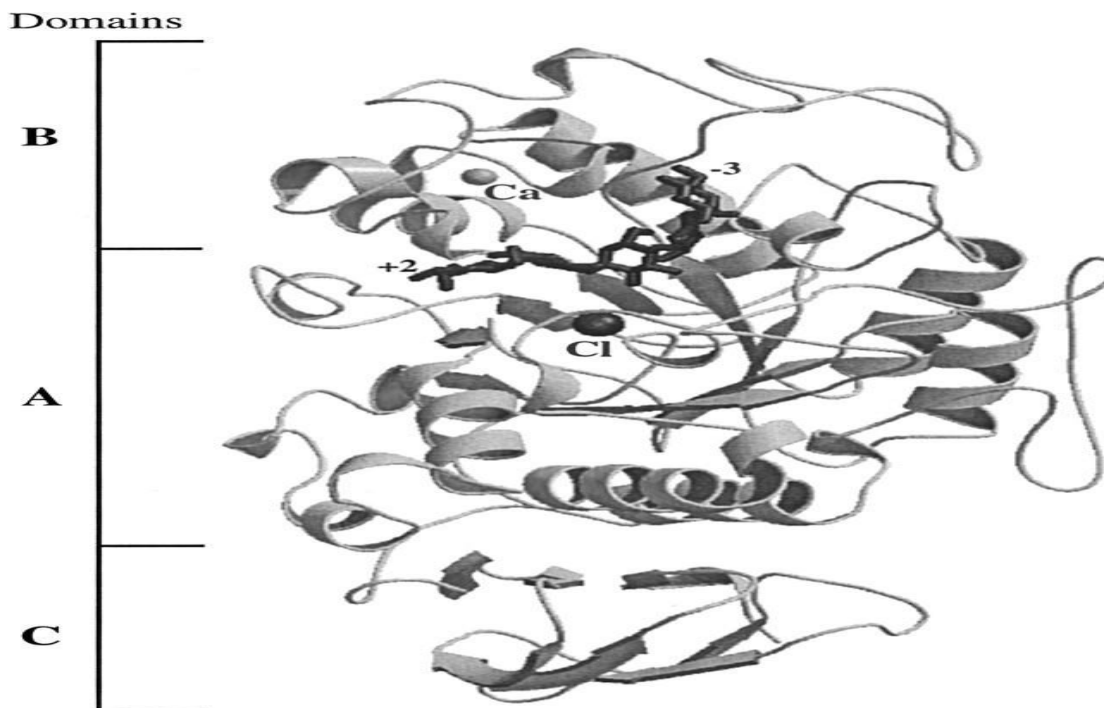


Figure 1 : Structure de l'alpha amylase (Maurus, 2005)

10.3. Rôle de l'alpha amylase dans le métabolisme glucidique

La digestion des glucides est relativement simple, à l'exception de l'amidon qui nécessite une première étape de digestion intraluminale. Les produits de cette digestion intraluminale sont ensuite traités comme les disaccharides naturels (lactose, saccharose) au niveau de la bordure en brosse des entérocytes, où ils sont clivés en monosaccharides, puis, absorbés (Lecleire, 2008).

La digestion de l'amidon commence dès la mastication sous l'influence de l' α -amylase salivaire. L'importance de cette enzyme n'est pas bien connue, car son activité est très vite inhibée par l'acidité du suc gastrique après la déglutition. La digestion de l'amidon est donc essentiellement effectuée par l' α -amylase pancréatique, enzyme majeure du suc pancréatique, qui clive l'amidon au niveau des liaisons α (1-4) glucosidiques pour donner des oligosaccharides et des disaccharides (**Lecleire, 2008**).

L' α -amylase catalyse l'hydrolyse des liaisons α -1,4-glucosidiques dans l'amidon et les polysaccharides apparentés. L' α -glucosidase sécrétée par l'épithélium intestinal est responsable de la dégradation des oligosaccharides, des trisaccharides et des disaccharides en monosaccharides. L'inhibition des enzymes amylase et glucosidase retarderait la digestion des glucides et l'absorption du glucose et réduirait ainsi, l'hyperglycémie postprandiale (**Fernando et al, 2019**).

10.4. Implication des inhibiteurs de l'alpha amylase dans le traitement du diabète sucré

L'inhibition de l' α -amylase, enzyme jouant un rôle dans la digestion de l'amidon et du glycogène, est considérée comme une stratégie de traitement des troubles de l'absorption des glucides, tels que le diabète et l'obésité (**De Sales et al, 2012**).

Des inhibiteurs thérapeutiques de l' α -glucosidase et de l' α -amylase tels que l'acarbose, le miglitol, le voglibose, la nojirimycine et la 1-désoxynojirimycine ont été mis au point pour la gestion de l'hyperglycémie et du DT2 (**Oboh et al, 2014**).

L'acarbose est un oligosaccharide complexe connu pour réduire et ralentir l'absorption intestinale du glucose, ce qui réduit ensuite, l'augmentation postprandiale de la glycémie chez les patients atteints de DT2 (**Li, 2012**). Par contre, l'acarbose n'est pas sans effets secondaire, il peut entraîner la diarrhée et les flatulences à la suite d'une inhibition prolongée de l'hydrolyse de l'amidon (**Kim et al, 2014**). En outre, une inhibition excessive de l' α -amylase pancréatique à la suite d'une utilisation prolongée de l'acarbose, peut entraîner l'accumulation d'hydrates de carbone non digérés dans le côlon et servir de substrat au transfert de bactéries (**Kim et al, 2014 ; Lee et al, 2014**).

10.5. Inhibiteurs naturels de l'alpha amylase

Les plantes constituent une source importante de constituants chimiques susceptibles d'inhiber l' α -amylase et peuvent être utilisées en tant qu'aliments thérapeutiques ou fonctionnels (tableau 2) (**De Sales et al, 2012**).

Tableau 02 : Quelques plantes qui exercent un effet inhibiteur vis-à-vis de l' α -amylase.

Famille de la plante	Nom scientifique de la plante	Parties utilisées	CI ₅₀ (mg/ml)	Références
Amaranthaceae	<i>Amaranthus caudatus</i>	Graines	0.05	(Conforti et al, 2005)
Polygonaceae	<i>Rheum palmatum L</i>	Rhizome	0.3	(Kobayashi et al, 2000)
Dioscoreaceae	<i>Dioscorea bulbifera</i>	Bulbe	10	(Ghosh et al, 2012)
Ericacea	<i>Vaccinium corymbosum</i>	Feuilles	0.5	(Johnson et al, 2011)
Ericacea	<i>Arbutus andrachne L</i>	Feuilles	100	(Hamdan et Afifi, 2008)
Fabaceae	<i>Acacia mearnsii</i>	Écorce	0.25	(Kusano et al, 2011)

Plusieurs études *in vitro* ont confirmé le potentiel inhibiteur des plantes traditionnelles et, dans certains cas, les composés bioactifs tels que les flavonoïdes, les acides phénoliques, les alcaloïdes, les terpènes et autres molécules qui sont responsables de ce mécanisme d'action ont été identifiés (Etxeberria et al, 2012).

Chapitre 2 : Plante étudiée, *Olea europaea L.*

1. Systématique d'*Olea europaea L.*

Olea europaea L., appartenant à la famille des oléacées, est l'un des plus vieux arbres cultivés au monde et représente une culture typique de la région méditerranéenne (Scognamiglio et al, 2012).

Communément appelé olivier, *O. europaea*, est cultivé depuis des siècles pour ses fruits et son huile. De nos jours, les cultures d'*O. europaea* se retrouvent dans différentes régions du monde et existent dans différents cultivars, certains sont spécifiques à certaines régions (Di Donna et al, 2010).

De nombreuses preuves scientifiques mettent en évidence le rôle joué par *O. europaea* dans la prévention et la gestion de plusieurs maladies, notamment les maladies cardiovasculaires **(Cheurfa et al, 2018)**.

2. Origine de l'olivier et distribution géographique

L'olivier ou *Olea europea*, arrive d'Asie en passant par la Grèce antique et le Moyen-Orient (Syrie, Ougarit, Palestine). Il est massivement cultivé sur tout le pourtour méditerranéen ainsi qu'en Amérique du Nord (Californie) **(Gigon et Le Jeune, 2010)**.

3. Caractéristiques et descriptions de la plante *Olea europaea*

L'olive est une drupe à peau lisse et à enveloppe charnue renfermant un noyau très dur, osseux, qui contient une graine, quelques fois deux. Sa forme ovoïde est typique. Sa couleur, d'abord verte, vire au bleu violacé et au noir à maturité complète, vers Octobre-Novembre dans l'hémisphère nord. C'est un aliment et représente la source d'une huile alimentaire issue de son enveloppe charnue riche en graisses. L'huile est obtenue lors d'une trituration des fruits (du péricarpe et non de la graine) dans un moulin à huile spécifique **(Gigon et Le Jeune, 2010)**.

4. Systématique

Règne : Plantae

Embranchement : Magnoliophyta

Sous-embranchement : Magnoliophytina

Classe : Magnoliopsida

Sous-classe : Dialypétales

Ordre : Lamiales

Famille : Oleaceae

Genre : *Olea*

Espèce : *Olea europaea* L. **(Ghedira, 2008)**



Figure 2 : *Olea europaea* L. (Köster ,2006)

5. Composés actifs d'*Olea europaea* L

L'utilisation la plus connue de l'olivier est sans nul doute, la production de l'huile d'olive utilisée à des fins alimentaires, cosmétiques et thérapeutiques. Par ailleurs, les propriétés médicinales de l'olivier sont également attribuées à ses feuilles qui font aujourd'hui l'objet de nombreuses recherches scientifiques. En effet, l'utilisation des feuilles d'olivier en phytothérapie remonte à très loin dans l'histoire. L'olivier est considéré donc comme étant une plante aromatique et médicinale, réservoir de composés naturels aux effets bénéfiques (Djenane et al, 2012).

Certains composés identifiés dans les extraits de feuilles, tels que les composés phénoliques sont doués d'activités biologiques extrêmement importantes (Bisignano et al, 1999).

La teneur en phénols totaux est influencée par le degré de maturité des feuilles d'olivier comme cela a été signalé par Fabbri et ses collaborateurs (Fabbri et al, 2008).

La feuille de l'olivier contient les principes actifs oleuropéine (un glycoside polyphénolique d'iridène) (Panizzi et al, 1960), oléacéine (Somova et al, 2003) et l'acide oléanolique (Hansen et al, 1996), normalisé à l'oleuropine qui ont été étudiés pour leur effets antihypertensives (Khayyal et al, 2002).

Au cours de cette dernière décennie, différents travaux de caractérisation et de valorisation des composés phénoliques sont réalisés sur les olives et leurs dérivés (pâte d'olive, huile d'olive, margine, margion, grignon) (Blekas et al, 2002 ; Briante et al, 2002 ; Romero et al, 2004 ; Winkelhausen et al, 2005 ; Malik et Bradford, 2006 ; De Marco et al, 2007), mais aussi sur les feuilles de l'olivier (Skerget et al, 2005 ; Japon-Lujan et al, 2006 ; Fabbri et al, 2008).

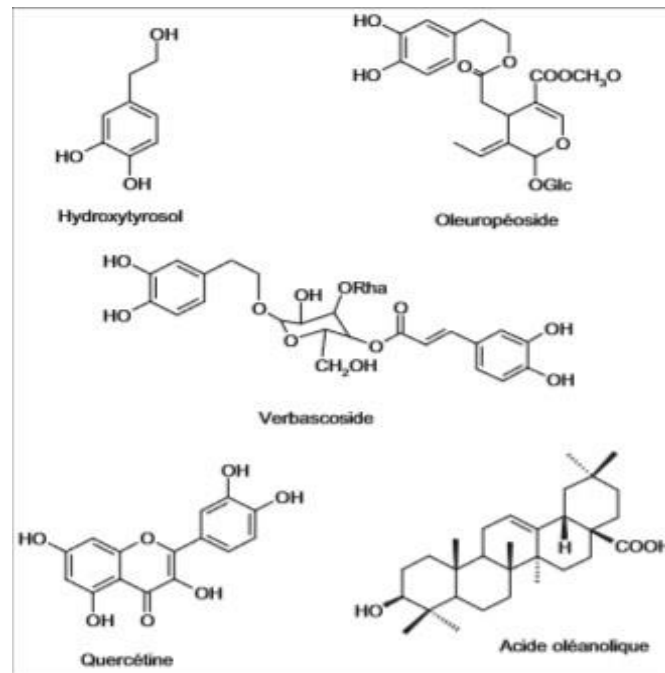


Figure 3 : Structures des principaux métabolites secondaires de l'olivier (Le Tutor et Guedon, 1992 ; Bruneton, 1999 ; Ryan et al, 2002 ; Kergeta et al, 2005 ; Khan et al, 2007)

6. Effets thérapeutiques d'*Olea europaea* L.

Les feuilles d'*Olea europaea* L. sont utilisées depuis l'antiquité pour lutter contre l'hypertension artérielle, l'athérosclérose, le diabète sucré et à d'autres fins médicinales (Jänicke et al, 2003).

Les feuilles de l'olivier, *Olea europaea*, sont riches en biophénols, tels que l'oleuropéine, le verbascoside, le ligstroside, le tyrosol ou l'hydroxytyrosol. Ces composés ont montré plusieurs activités biologiques comme antioxydant (Visioli et al, 1998 ; Benavente-García et al, 2000) antithrombotique et même photoprotecteur cutané (Saija et Uccella, 2001). En outre, certains de ces composés ont démontré une activité antimicrobienne en inhibant la croissance d'une grande variété de bactéries, de champignons et de virus (Renis, 1969 ; Hirschman, 1972).

L'oleuropéoside exerce une activité hypoglycémiant à la dose de 16 mg/kg ainsi qu'une activité antidiabétique chez l'animal rendu diabétique par action de l'alloxane. L'effet hypoglycémiant pourrait s'expliquer par une potentialisation de la libération de l'insuline par le glucose ou bien par une augmentation d'une captation du glucose au niveau périphérique (Gonzalez et al, 1992 ; Fehri et al, 1994; Sato et al, 2007).

Matériel et méthodes

Matériels et méthodes

Ce travail a été réalisé au sein du laboratoire de recherche antibiotiques, antifongiques : physico-chimie, synthèse et activité biologique LAPSAB.

1. Matériel végétal

1.1. Préparation du matériel végétal

La récolte du matériel végétal des feuilles d'*Olea europaea* L a été faite au mois de Février 2019 dans la région de Chetouane (Wilaya de Tlemcen). Les feuilles ont été séchées à température ambiante, ensuite broyées le jour même de l'extraction afin d'obtenir une poudre pour effectuer des analyses ultérieures.



Figure 4 : Feuilles d'*Olea europaea* L.

1.2. Extraction du matériel végétal

Dans notre étude, les extraits ont été préparés en milieux hydrométhanolique et hydroacétonique selon la méthode de décoction (sous reflux) et la méthode de macération.

1.2.1. Extraction sous reflux

La poudre végétale 20 g a été mélangée avec 200 ml d'un de ces solvants : eau/ méthanol (30 : 70) (v/v) et eau/acétone (30 : 70) (v/v). Le mélange est porté sous reflux et sous agitation pendant 3 heures à 60°C. Après avoir refroidi le mélange, les filtrats hydrométhanolique et hydroacétonique ont été soumis séparément à une évaporation à sec à l'aide d'un rotavapeur. Les résidus obtenus sont conservés à + 4°C pour de prochaines utilisations.

1.2.2. Extraction par macération

La poudre végétale 20 g a été mélangée avec 200 ml d'un de ces solvants : eau/ méthanol (30 : 70) (v/v) et eau/acétone (30 : 70) (v/v). Ensuite, le mélange est laissé macérer pendant 24 heures

à l'abri de la lumière et à température ambiante. Après filtration, les filtrats hydrométhanolique et hydroacétonique ont été soumis séparément à une évaporation à sec à l'aide d'un rotavapeur. Les résidus obtenus sont conservés à + 4°C pour de prochaines utilisations.

1.2.3. Calcul du rendement

Le rendement en extrait sec est déterminé en calculant le rapport suivant :

$$R(\%) = (M / M_0) \times 100$$

Où,

R(%) : Rendement exprimé en %.

M: Masse en gramme de l'extrait sec obtenu.

M₀ : Masse en gramme du matériel végétal à extraire

1.3. Tests phytochimiques

La réalisation des tests phytochimiques sur les extraits bruts est une analyse qualitative qui se base sur les réactions de coloration et/ou de précipitation et des examens en lumière UV, dans le but de connaître les différentes classes phytochimiques que contiennent la plante à étudier.

1.3.1. Tanins

A 1 ml de chaque extrait, nous avons ajouté 200 µl de FeCl₃ à 1%. La présence des tanins est indiquée par une coloration verdâtre (tanins catéchiques) ou bleu-noirâtre (tanins galliques).

1.3.2. Flavonoïdes

A 1 ml de chaque à extrait, nous avons ajouté 100 µl de HCl concentré et quelques copeaux de magnésium. La présence des flavonoïdes est confirmée par l'apparition de la couleur rouge ou orange.

1.3.3. Coumarines

Le résidu de chaque extrait est dissout dans 2 ml d'eau distillée chaude. Le mélange est divisé dans deux tubes. Nous avons ajouté à un des tubes 500 µl de NH₄OH à 25%, puis, nous avons prélevé une goutte de chaque tube et nous l'avons déposé sur un papier filtre qui sera observé sous U.V. à 366 nm. Une fluorescence intense est observée pour le tube contenant le NH₄OH.

1.3.4. Alcaloïdes

Nous avons ajouté 1,5 ml d'acide chlorhydrique à 2% au résidu d'extraits. Après agitation, les solutions sont placées au bain marie à chaud. Après refroidissement et filtration, nous avons divisé le filtrat en 2 volumes égaux pour chaque extrait, dont le premier tube est traité par le réactif de Mayer et le deuxième tube est traité par le réactif de Wagner. La formation des précipités blanc et marron, respectivement, indique la présence des alcaloïdes.

1.3.5. Terpénoïdes

A chaque résidu d'extrait, nous avons ajouté 2 ml de chloroforme et 3 ml d'acide sulfurique concentré. La formation d'un anneau marron-rouge à l'interphase indique la présence des terpénoïdes.

1.3.6. Stérols et triterpènes

Nous avons dissous le résidu de chaque extrait dans 1 ml d'anhydride acétique et 500 µl d'acide sulfurique concentré. L'apparition à l'interphase d'un anneau pourpre ou violet, virant au bleu ou au vert indique leurs présences.

1.3.7. Saponosides

Chaque résidu d'extrait est solubilisé dans 10 ml d'eau distillée, puis, agité pendant 15 secondes et laissé au repos pendant 15 min. Une hauteur de mousse persistante, supérieure à 1 cm indique la présence de saponosides.

1.3.8. Composés réducteurs

Chaque extrait à un volume d'un ml est chauffé dans un bain marie, puis, nous lui avons ajouté 200 µl de réactif de Fehling. Un test positif est obtenu par la présence d'un précipité rouge brique.

1.4. Dosage des composés phénoliques

La solubilisation des extraits étudiés se fait dans de l'eau distillée à une concentration de 1 mg/ml pour le dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes.

1.4.1. Dosage des polyphénols

Le dosage des polyphénols est réalisé selon la méthode décrite par **Vermerris et Nicholson en 2006**.

La quantification des composés phénoliques totaux se fait de la manière suivante : 100 µl de chaque extrait sont mélangés avec 2ml d'une solution de carbonate de sodium à 2 % fraîchement préparée, le tout est agité par un vortex. Après 5 minutes d'incubation, 100 µL du réactif de Folin-ciocalteu dilués à 1N sont ajoutés au mélange. Après agitation, les différents tubes sont incubés pendant 30 minutes à la température ambiante et à l'abri de la lumière.

La lecture est effectuée contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre à 700 nm.

Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant l'acide gallique comme étalon à un intervalle de concentrations de 0,05 à 1 mg/ml.

Les différents essais de dosage pour les extraits et pour l'acide gallique ont été réalisés en triplicata.

Les résultats sont exprimés en mg équivalentacide gallique par gramme de la matière végétale.

1.4.2. Dosage des flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes de nos extraits est réalisé par la méthode colorimétrique décrite par **Zhishen et al, 1999**.

Chaque extrait 500 µl est mélangée avec 2 ml d'eau distillée et 150 µl d'une solution de nitrite de sodium NaNO_2 à 15%. Après 6 minutes d'incubation, 150 µl de chlorure d'aluminium $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ à 10% sont ajoutés au mélange, le tout est laissé incuber pendant 6 minutes. Ensuite, 2 ml d'hydroxyde de sodium à 4% sont ajoutés aux tubes et le volume final est complété à 5 ml.

Après 15 minutes d'incubation, la lecture est faite à 510 nm contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre.

Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant la catéchine comme étalon à un intervalle de concentration de 0,05 à 0.9 mg/ml.

Les différents essais de dosage pour les extraits et pour la catéchine ont été réalisés en triplicata.

Les résultats obtenus sont exprimés en mg équivalent catéchine par gramme de la matière végétale sèche.

2. Evaluation de l'effet inhibiteur des extraits des feuilles d'olivier sur l'alpha amylase

2.1. Réactifs utilisés :

2.1.1. Solution de l'alpha amylase

L' α -amylase utilisée dans notre étude est issue d'*Aspergillus oryzae* (E.C.3.2.1.1) sous forme lyophilisée. Elle a un poids moléculaire de 51000 da avec une activité spécifique de 26UI/mg.

L'optimum de l'activité α -amylasique est obtenu à un pH 6,9 pour une température de 25°C.

La solution de l' α -amylase est conservée à une température de +4 °C.

La solution de l' α -amylase est fraîchement préparée le jour de l'expérimentation dans le tampon phosphate 0.02 M à pH 6.9 et à la température de 25 ° C. L'activité enzymatique finale de l'enzyme dans le milieu réactionnel est de 1,3 UI/ml.

2.1.2. Solution de substrat

Le substrat utilisé est l'amidon soluble de pomme de terre. Nous avons dissous l'amidon à 15 mg / ml dans la solution de tampon phosphate 0,02 M et à pH 6,9. La solution est portée sur une plaque chauffante agitatrice pendant 15 minutes en mélangeant à une température de 50 à 70°C. Après solubilisation, la solution est refroidie à une température ambiante.

2.1.3. Solution d'extrait

Les différents extraits d'*Olea europaea* sont solubilisés dans le tampon phosphate 0.02 M à pH 6,9 et à un intervalle croissant de concentration allant de 0,125 à 2 mg/ml.

2.1.4. Solution d'acarbose

L'acarbose, contrôle positif utilisé dans notre étude est une molécule commercialisée sous le nom de LARIMEL®50. La solution d'acarbose a été préparée à différentes concentrations dans la solution tampon phosphate 0.02 M et pH 6.9.

2.1.5. Réactif du chromogène 3,5-dinitrosalicylique DNSA

Dans un bécher, 12 ml d'eau ultra pure tiède (50 – 70 ° C) est ajoutée. Ensuite, en mélangeant nous avons ajouté lentement 8 ml de la solution de tartrate de potassium et de sodium à 5,3 M et 20 ml d'une solution chaude d'acide 3,5-dinitrosalicylique à 96 mM. La solution obtenue du DNSA est conservée dans un flacon opaque de taille appropriée, et sera stable pendant 6 mois à l'abri de la lumière.

2.2. Evaluation de l'effet inhibiteur des extraits sur l' α -amylase

2.2.1. Principe de la technique

Les plantes constituent une source importante de constituants chimiques susceptibles d'inhiber l' α -amylase et peuvent être utilisées en tant qu'aliments thérapeutiques ou fonctionnels (**De Sales et al, 2012**). Il existe une technique décrite par **Heidari** et ses collaborateurs en **2005** et **Thalapaneni** et ses collaborateurs en **2008**, qui consiste à évaluer le caractère réducteur des groupements aldéhydes et cétones libres des sucres, grâce à leurs oxydations qui entraîne la réduction de l'acide 3,5-dinitrosalicylique DNSA de couleur jaune orange en acide 3-amino 5nitrosalicylique de couleur rouge orange et qui absorbe à 540 nm.

L'intensité de la coloration est proportionnelle à la quantité de sucres réducteurs présents dans le milieu réactionnel.

2.2.2. Mode opératoire

Pour chaque concentration donnée, nous avons testé l'effet des extraits bruts hydrométhanoliques et hydroacétoniques sous reflux de la plante étudiée sur l'activité de l' α amylase.

Nous avons utilisé le protocole suivant, et le test est réalisé en triplicata pour chaque extrait :

Les deux extraits bruts, l'acarbose, la solution de l'amidon et la solution de l'alpha amylase sont incubés pendant 30 minutes à une température de 25°C. A un volume de 200 μ l de chaque extrait et de l'acarbose à différentes concentrations, sont ajoutés 200 μ l de l' α -amylase. Après une pré-incubation pendant 10 minutes à 25°C, 200 μ l de la solution de l'amidon sont ajoutés dans chaque tube. Après agitation et incubation pendant 10 minutes à 25°C, 200 μ l du réactif de DNSA sont ajoutés pour stopper la réaction.

Ensuite, les tubes sont portés pour une incubation au bain marie bouillant pendant 10 minutes pour arrêter complètement l'effet de l'enzyme sur le substrat. Puis, les tubes sont placés dans un bain glaçant ce qui va provoquer un choc thermique dans le but d'arrêter la réaction entre le maltose et le DNSA. Après ajout d'un volume de 1 ml d'eau ultra pure dans les différents tubes, les absorbances sont lues contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre à 540 nm.

Pour chaque concentration des extraits et de l'acarbose, un tube blanc est préparé par un mélange de 200 μ l de la solution de tampon phosphate, 200 μ l de l'extrait/acarbose à tester et 200 μ l de la solution de l'amidon.

Un tube contrôle est préparé dans les mêmes conditions par un mélange de 200 µl de la solution de tampon phosphate, 200 µl de l'α-amylase et 200 µl de la solution de l'amidon. Le blanc du tube contrôle est préparé avec 400 µl de la solution de tampon phosphate et 200 µl de la solution de l'amidon.

2.2.3. Expression des résultats

L'équation suivante est utilisée pour calculer le pourcentage d'inhibition I % :

$$I \% = (A_C - A_E / A_C) \times 100$$

Où,

A_C : Absorbance de contrôle négatif,

A_E : Absorbance de l'échantillon.

Le calcul des CI_{50} (concentration inhibitrice de 50%) pour chaque extrait est réalisé à partir des courbes d'inhibition de régressions logarithmiques.

Résultats et interprétation

Résultats et interprétation

1. Extraction

Les extraits préparés à partir des feuilles d'*Olea europaea*L par différentes méthodes présentent des aspects, des couleurs et des rendements variables. Les tableaux 3 et 4 résument les caractéristiques de chacun de ces extraits.

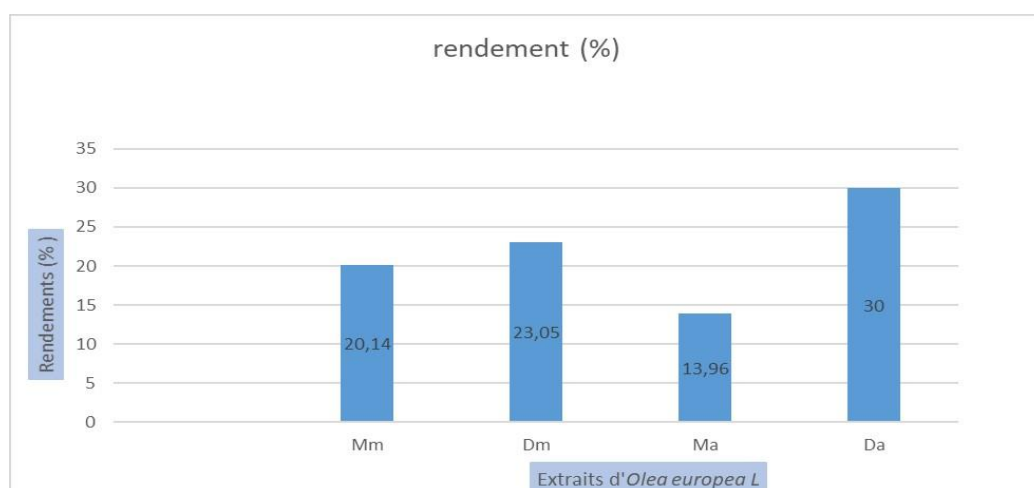
Tableau 03 : Caractéristiques des extraits bruts hydrométhanoliques des feuilles d'*Olea europaea*L.

Mode d'extraction	Aspect	Couleur	Solubilité
Macération	Cristallisé	Jaune	Eau distillée
Décoction	Cristallisé	Jaune	Eau distillée

Tableau 04 : Caractéristiques des extraits bruts hydroacétoniques des feuilles d'*Olea europaea*L.

Mode d'extraction	Aspect	Couleur	Solubilité
Macération	Cristallisé	Vert	Eau distillée
Décoction	Cristallisé	Vert	Eau distillée

Les résultats des tableaux ci-dessus, nous montre que les quatres extraits sont totalement solubles dans l'eau distillée et présentent un aspect cristallisé d'une couleur jaune pour les extraits hydrométhanoliques et vert pour les extraits hydroacétoniques.



Mm : Extrait hydrométhanolique macéré ; Dm : extrait hydrométhanolique décocté ; Ma : extrait hydroacétonique macéré ; Da : extrait hydroacétonique décocté.

Figure 05 : Rendements des différents extraits d'*Olea europaea* L

L'extrait hydroacétonique préparé par décoction révèle le meilleur rendement (29.96 %), suivi par l'extrait décocté hydrométhanolique (23.05 %), ensuite, les extraits hydrométhanoliques et hydroacétoniques macérés qui ont présenté un rendement de 23.05 % et 13.95 %, respectivement.

2. Tests phytochimiques

La réalisation des tests phytochimiques sur les échantillons préparés, nous a permis de détecter les différentes familles de composés chimiques présente dans les extraits.

Tableau 05 : Résultats des tests phytochimiques des extraits bruts hydrométhanoliques et hydroacétoniques des feuilles d'*Olea europaea* L

Famille chimique		Extraits macérés		Extraits sous reflux	
		Eau/MeOH	Eau/AcOH	Eau/MeOH	Eau/AcOH
Alcaloïdes	Mayer	-	-	-	-
	Wagner	-	+	-	+
Substances polyphénoliques	Flavonoïdes	-	+	-	+
	Tanins	++	++	+++	+++
	Coumarines	-	-	-	-
	Anthraquinones	-	-	-	-
	Stérols et triterpènes	+	+	++	++
	Terpénoïdes	++	+	++	+
	Saponosides	+++	+++	+++	+++
	Composés réducteurs	-	-	-	-

D'après les résultats obtenus (tableau 5), nous avons constaté la présence des tanins, des saponosides, des terpénoïdes, des stérols et des triterpènes dans les deux types d'extraits. Tandis que, les alcaloïdes (test de Wagner) et les flavonoïdes sont présentes seulement dans les extraits

macérés et sous reflux hydroacétoniques. De plus, nous avons observé l'absence complète des coumarines, des anthraquinones et des composés réducteurs dans les quatre extraits préparés par macération et décoction.

3. Dosage des composés phénoliques

Le dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes a été effectué par des méthodes colorimétriques, au réactif de Folin-Ciocalteu et au trichlorure d'aluminium et la soude, respectivement.

La quantité des flavonoïdes est exprimée en mg CEQ/g, et le taux des polyphénols totaux est exprimé en mg GAE/g.

Les courbes d'étalonnage de l'acide gallique et de la catéchine sont identifiées dans les figures 01 et 02, respectivement.

Les résultats des teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes des extraits hydrométhanolique et hydroacétonique de la plante étudiée, sont résumés dans le tableau 6.

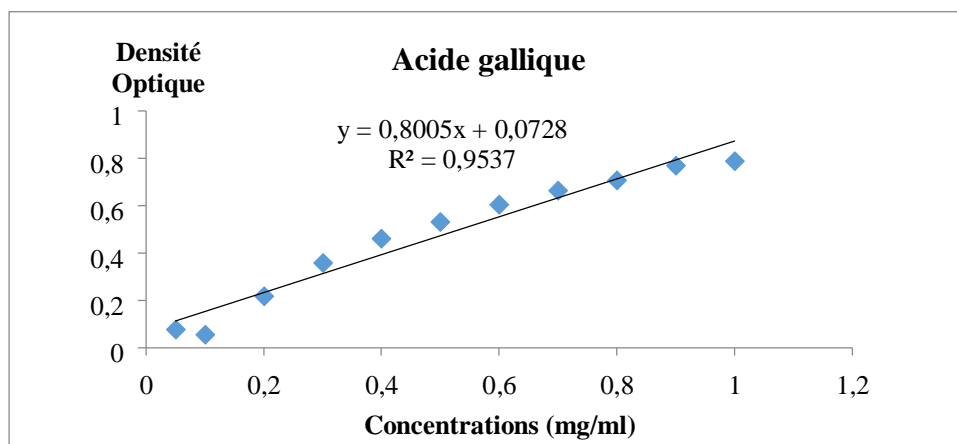


Figure 6 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

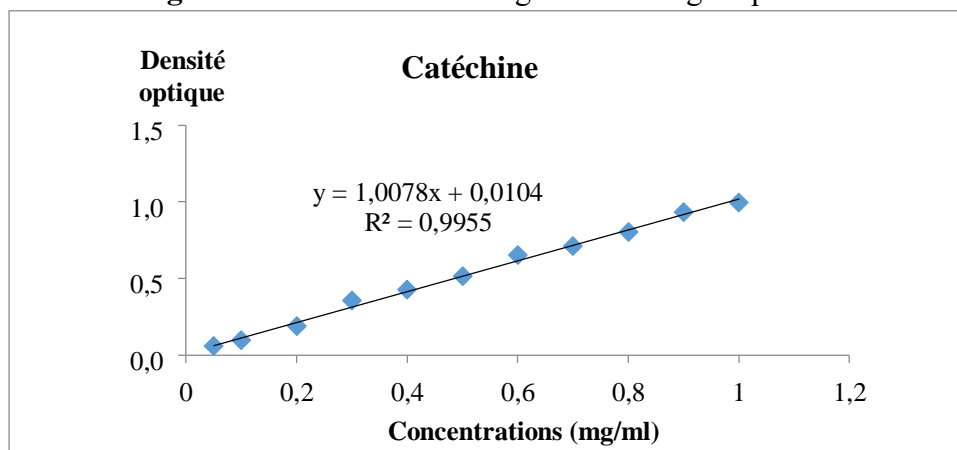


Figure 7 : Courbe d'étalonnage de la catéchine

Tableau 06 : Teneurs en polyphénols, flavonoïdes des extraits hydrométhanoliques et hydroacétonique des feuilles d'*Olea europea L*

	Polyphénols (mg GAE/g)		Flavonoïdes (mg CEQ/g)	
	Extrait hydrométhanolique	Extrait hydroacétonique	Extrait hydrométhanolique	Extrait hydroacétonique
Macération	17,90 ± 0,004	17,88 ± 0,004	2,78 ± 0,002	4,32 ± 0,001
Décoction	16,77 ± 0,003	19,27 ± 0,001	3,29 ± 0,001	3,59 ± 0,002

Les résultats de dosage des polyphénols totaux indiquent des valeurs variables pour les deux extraits hydrométhanoliques et hydroacétoniques. La valeur la plus élevée est celle de l'extrait décocté hydroacétonique avec 19,27 mg GAE/g. L'extrait décocté hydrométhanolique a présenté un taux plus faible par rapport aux autres extraits avec une valeur de 16,77 mg GAE/g.

D'après les résultats de dosage des flavonoïdes, nous avons constaté des teneurs rapprochées pour les extraits hydrométhanoliques et hydroacétoniques décoctés. L'extrait macérée hydroacétonique est le plus riche en flavonoïdes avec une concentration de 4,32 mg CEQ/g, et la quantité la plus faible en flavonoïdes est celle de l'extrait macérée hydrométhanolique avec une concentration de 2,78 mg CEQ/g.

4. Effet des extraits d'*Olea europaea*L sur l'activité de l'alpha amylase *in vitro*

Pour évaluer l'effet inhibiteur des extraits sous reflux hydrométhanolique et hydroacétonique des feuilles d'*Olea europaea L* sur l'activité de l' α -amylase *in vitro*, nous avons testé l'effet de différentes concentrations de chaque extrait sur l'activité de l'enzyme avec une concentration finale de substrat (amidon) à 0.5 % et l'acarbose est utilisé comme contrôle positif.

Les résultats des tests réalisés sont exprimés en pourcentage d'inhibition de l'enzyme α amylase en fonction de différentes concentrations des extraits hydrométhanolique, hydroacétonique et de l'acarbose et sont présentés dans les figures 7, 8 et 9, respectivement.

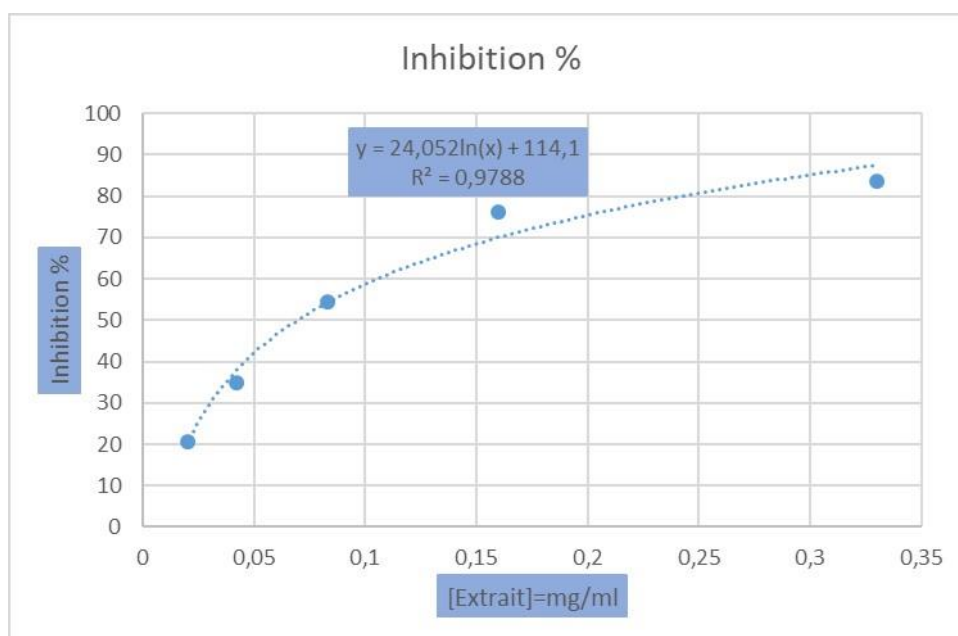


Figure 08 : Courbe de régression logarithmique d'inhibition de l'α-amylase en fonction des différentes concentrations de l'extrait hydrométhanolique préparé par décoction

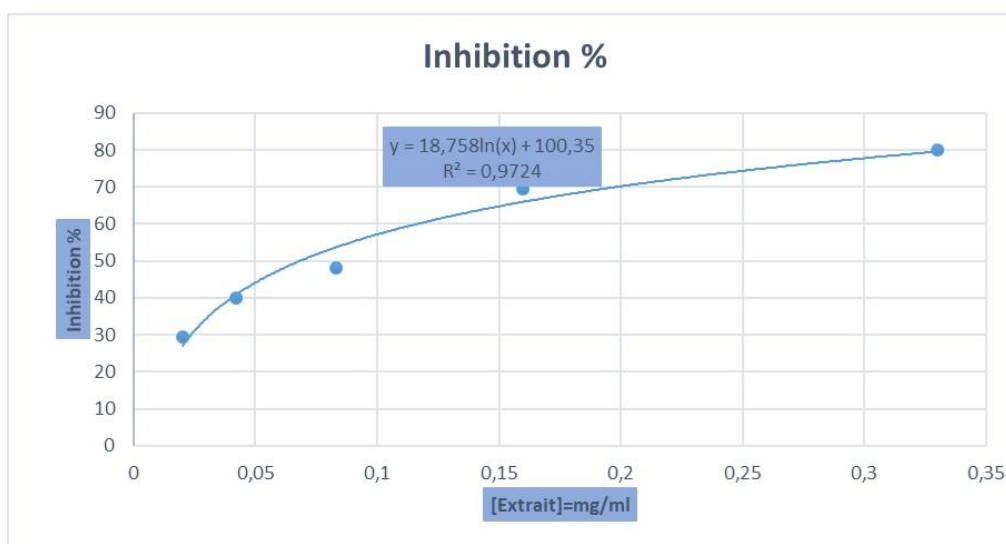


Figure 09 : Courbe de régression logarithmique d'inhibition de l'α-amylase en fonction des différentes concentrations de l'extrait hydroacétonique préparé par décoction

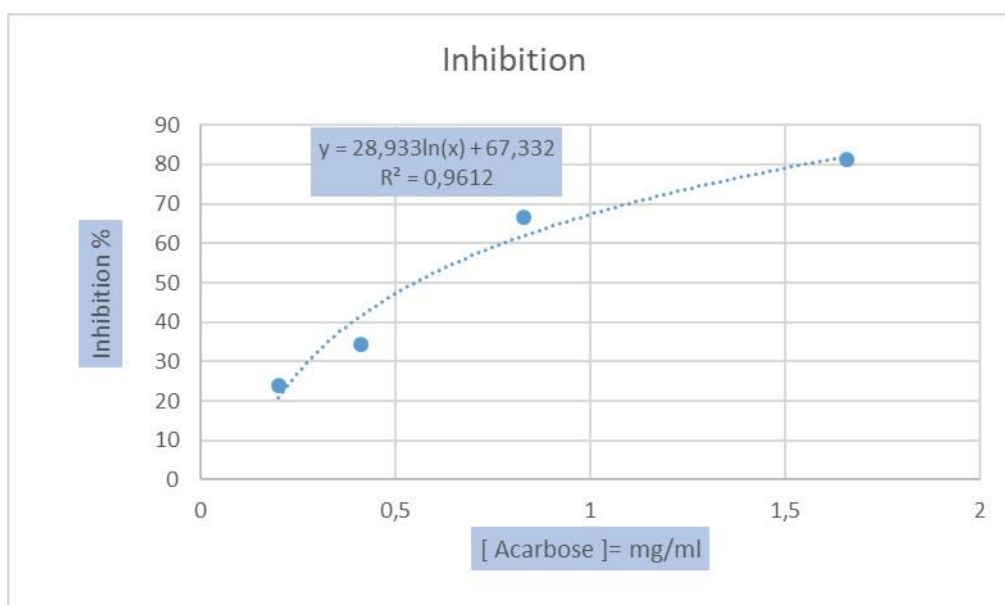


Figure 10 : Courbe de régression logarithmique d'inhibition de l'α-amylase en fonction des différentes concentrations de l'acarbose

A la concentration de 0,3 mg/ml, l'extrait hydroacétonique a montré une inhibition peu significative ($p < 0,05$) de 69,41 % de l'activité de l'α-amylase par rapport à l'extrait hydrométhanolique, à la même concentration.

Les résultats des concentrations inhibitrices CI_{50} sont présentés dans le tableau 7 et l'expression des résultats est indiquée comme suit :

- ✓ Pourcentage d'inhibition % ;
- ✓ CI_{50} : la quantité d'échantillon nécessaire pour diminuer l'activité enzymatique de 50%.

Tableau 07 : Valeurs des CI_{50} des extraits décoctés d'*Olea europaea* L

	Extrait hydrométhanolique	Extrait Hydroacétonique	Acarbose
CI_{50} exprimée en mg/ml	0.07	0.06	0.54

D'après les valeurs des CI_{50} obtenues, les extraits des feuilles d'*Olea europaea* L présentent un effet inhibiteur de l'α-amylase.

Résultats et interprétation

La variation des pourcentages d'inhibition est en fonction de la concentration donnée, le pourcentage d'inhibition augmente proportionnellement avec l'augmentation de la concentration des extraits.

L'extrait hydroacétonique préparé par décoction a présenté l'inhibition la plus élevée avec une valeur de CI_{50} de 0.06 mg/ml, suivi par l'extrait décocté hydrométhanolique de CI_{50} de 0.07 mg/ml.

Selon les résultats de la CI_{50} de l'acarbose obtenus (0,5 mg/ml), les extraits des feuilles d'*Olea europea* L ont révélé des valeurs de CI_{50} plus faibles, et donc, une meilleure activité par rapport à l'acarbose utilisé comme contrôle positif.

Discussion

Discussion

L'olivier est l'un des plus anciens arbres cultivés sur la planète terre, typiquement méditerranéen (**Liphschitz et al, 1991 ; Ghedira, 2008**). *Olea europaea* est largement utilisé en médecine traditionnelle pour une large gamme d'affection dans divers pays. Son écorce, ses fruits, ses feuilles, son bois, ses graines et son huile sont utilisés sous différentes formes, seuls ou parfois en combinaison avec d'autres herbes (**Hashmi et al, 2015**). La feuille d'olivier est riche en triterpènes, en flavonoïdes, en sécoiridoïdes (phénols complexes) dont l'oleuropéoside et en acides phénols. L'olivier exhibe des activités antioxydantes, hypotensives, spasmolytiques, hypoglycémiantes, hypocholestérolémiantes et antiseptiques, outre les propriétés diurétiques pour lesquelles l'olivier est utilisé sous forme de spécialité phytothérapeutique (**Ghedira, 2008**).

Dans notre étude, nous nous sommes intéressés à évaluer l'effet inhibiteur des extraits des feuilles d'*Olea europaea* L sur l'activité de l' α -amylase *in vitro*, pour étudier sa propriété antidiabétique.

L'extraction des feuilles de la plante a été réalisée en utilisant deux solvants de polarité différentes qui sont : eau/méthanol aux proportions (30/70) (v/v) et eau/acétone aux proportions (30/70) (v/v). Ensuite, nous avons réalisé un screening phytochimique qualitatif des différents extraits qui a révélé la présence des tanins, des saponosides, des terpénoïdes, des stérols et des triterpènes dans les quatre extraits. Tandis que, les alcaloïdes (test de Wagner) et les flavonoïdes sont présentes seulement dans les extraits macérés et sous reflux hydroacétoniques. De plus, nous avons observé l'absence complète des coumarines, des anthraquinones et des composés réducteurs dans les différents extraits préparés par macération et décoction.

Certains auteurs ont réalisé un examen phytochimique qualitatif sur les feuilles de l'olivier, et ils ont observé la présence de flavonoïdes, de tanins, de stérols, de triterpènes en quantité importante. Ils ont en outre révélé des quantités plus faibles de coumarines, de glycosides, de saponosides et de quinones et l'absence de terpénoïdes et d'alcaloïdes dans les extraits hydrométhanolique et hydroacétonique (**Himouret al, 2016**).

La présence de flavonoïdes, de tanins, de stérols, de triterpènes, de coumarines, de quinones libres, de saponosides et de composés réducteurs est confirmée par les résultats de plusieurs auteurs (**Kaskoos, 2013**) et (**Nahal Boudierba et al, 2012**), mais ces auteurs ont mentionné l'absence de tanins.

Selon Dekdouk et ces collaborateurs en 2015, les tanins et les saponosides étaient présents en quantité plus importante dans les extraits de fruit de la plante d'*Olea europaea* L. (**Dekdouk et al, 2015**).

L'étude phytochimique qualitative est suivie par des dosages quantitatifs des polyphénols totaux et des flavonoïdes pour les différents extraits. L'extrait macéré hydrométhanolique a montré la teneur la plus élevée en polyphénols totaux 17,9 mg GAE/g, tandis que, l'extrait décocté hydrométhanolique contient la plus faible teneur avec 16,77 mg GAE/g. Ensuite, nous avons obtenu la quantité la plus importante en flavonoïdes de 4,32 mg CEQ/g pour l'extrait hydroacétonique macéré et la quantité la plus faible de l'ordre de 2,78 mg CEQ/g pour l'extrait macéré hydrométhanolique

Certains auteurs ont quantifié les polyphénols totaux de l'olivier montrant que les feuilles d'olivier sont plus riches en composés phénoliques bioactifs en comparaison à l'huile d'olive et aux fruits (**Caponio et al, 2001 ; Lalas et al, 2011**).

Brahmi et ses collaborateurs en 2013, ont réalisé des dosages quantitatifs de l'extrait méthanolique des feuilles de l'olivier de deux variétés Chetoui et Chemchali en Tunisie. Les auteurs ont montré que la teneur en polyphénols totaux des feuilles de l'olivier de Chemchali est plus élevée que la variété de Chetoui (**Brahmi et al, 2013b**). Ces mêmes auteurs ont réalisé des dosages des polyphénols totaux et des flavonoïdes des extraits méthanoliques d'*Olea europaea* récoltés à deux périodes différentes (Octobre et Janvier) dans deux stations Chemlali en Algérie et Neb jmel en Tunisie. Ces auteurs ont obtenu des valeurs élevées pour l'olivier de la station Chemlali. De plus, Ils ont remarqué que les teneurs diffèrent selon la période de la récolte, les teneurs au mois de Janvier sont plus importantes que celle obtenues pour la période d'Octobre (**Brahmi et al, 2013a**).

En comparant, nos résultats à ceux des auteurs cités dans notre travail, les différences reviennent peut-être à la période de la récolte, la zone de la récolte, l'effet de la température et la nature du solvant et donc sa polarité. Cette différence pourrait influencer la composition chimique et plus spécifiquement les quantités des différentes classes chimiques de l'olivier, et par conséquent, influencer sur ses activités biologiques, dont l'inhibition de l'alpha amylase.

L'utilisation ethnomédicale d'*O. europaea* dans le traitement du diabète a été validée dans plusieurs études expérimentales (**Hashmi et al, 2015**).

En 1981, Grohmann a démontré que les effets antidiabétiques d'*O. europaea* sont uniquement dus au principal glycoside sécoiridoïde, l'oleuropéine, présent dans ses différentes parties **(Grohmann, 1981)**.

Au cours des dernières années, il a été confirmé que l'acide oléanolique a été responsable des effets antidiabétiques des feuilles d'olivier **(Schumacher et al, 2002 ; Sato et al, 2007)**.

C'est pour cela que nous nous sommes intéressés à étudier l'activité antidiabétique des feuilles de l'olivier. Nous avons remarqué un effet inhibiteur des extraits des feuilles préparées à partir de l'olivier sur l'activité de l' α -amylase. En comparant les résultats, l'extrait hydroacétonique préparé par décoction présente l'inhibition la plus élevée avec une valeur de CI_{50} de 0,06 mg/ml, et l'extrait décocté hydrométhanolique a présenté une valeur de CI_{50} de 0,07 mg/ml. Par contre, l'acarbose, un médicament antidiabétique utilisé comme contrôle positif a montré une CI_{50} plus élevée par rapport à nos extraits qui est de 0,5 mg/ml, ceci nous laisse à suggérer que nos extraits agissent par un mécanisme d'action antidiabétique inhibiteur de l'alpha amylase, bien qu'il faut penser que l'effet antidiabétique ne dépend pas seulement de l'inhibition de l'activité enzymatique.

Ces résultats sont supérieurs à ceux obtenus par Komaki et ces collaborateurs, ils ont testé l'inhibition de deux composés de l'olivier qui sont le lutéoline-7-O – glucoside et le lutéoline-4-O-glucoside sur l'activité de l' α -amylase pancréatique humaine et ils ont obtenu des valeurs de CI_{50} de 0,5 et 0,3 mg / ml, respectivement. Cependant, ces résultats sont inférieurs à ceux obtenus par l'action inhibitrice de l'extrait éthanolique de feuilles d'olivier sur l'activité de l' α amylase du pancréas humain avec une valeur de CI_{50} de 0,02 mg / ml **(Komaki et al, 2002)**.

Certains chercheurs ont effectué quelques recherches sur les extraits de la tige d'*Olea europaea* L et ils ont trouvé un nouveau composé qui est un isomère de l'acide oléanolique et était connu sous le nom de l'acide oléanolique déméthyle. Ce composé présente d'excellentes activités inhibitrices *in vitro* vis-à-vis de l'enzyme α -amylase **(Schumacher et al, 2002 ; Campeol et al, 2004 ; Khlif et al, 2012)**.

Conclusion générale

Conclusion générale

Le traitement à base de plantes permet de remédier aux problèmes du quotidien d'une manière naturelle, et aussi pour améliorer l'activité des médicaments conventionnels destinés que ce soit pour le traitement du diabète sucré ou pour d'autres maladies.

A partir des résultats obtenus durant notre étude, nous pouvons conclure que :

- Les extraits des feuilles d'*Olea europaea* L récoltées dans la région de ChetouaneTlemcen sont riches en métabolites secondaires : tanins, saponosides, terpénoïdes, stérols et triterpènes dans les extraits hydrométhanoliques et hydroacétoniques macérés et sous reflux.
- L'extrait hydroacétonique préparé par décoction contient le taux le plus élevé en polyphénols totaux de l'ordre de 19,27 mg GAE/g.
- L'extrait hydroacétonique préparé par macération est le plus riche en flavonoïdes avec une concentration de 4,32 mg CEQ/g.
- L'activité de l' α -amylase peut être inhibée par les extraits des feuilles d'*Olea europaea* L, particulièrement par l'extrait hydroacétonique.
- Nos résultats montrent que les deux extraits de notre plante utilisée au cours de notre étude peuvent avoir une activité inhibitrice vis à vis de l' α -amylase.

D'autres études plus approfondies seraient nécessaires et se résument dans les points suivants :

- L'isolement et l'identification des composés actifs présents dans les extraits d'*Olea europaea* L responsables de l'activité antidiabétique ;
- La présence fréquente des tanins dans les feuilles de nos extraits met en évidence l'utilité de les isoler et de les tester ;
- La mise en évidence de l'activité antidiabétique *in vitro* sur des cultures cellulaires de cellules isolées de l'organisme étudié pourrait confirmer les résultats obtenus ;
- La détermination des paramètres cinétiques (V_{max} et K_m) pourrait faire l'objet d'une recherche du type d'inhibition de l' α -amylase par ces extraits ;

- L'évaluation d'autres mécanismes d'actions antidiabétiques des extraits préparés de cette plante (captation du glucose, insulinosécrétion, ...).

*Références
bibliographiques*

Références bibliographiques

- Ademiluyi AO, Oboh G. 2013.** Aqueous extracts of roselle (*Hibiscus sabdariffa* Linn) varieties inhibits α -amylase and α -glucosidase activities *in vitro*. *J Med food*, 16 : 88e93.
- Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé AFSSPS. 1999.** Traitement Médicamenteux du Diabète de Type 2.
- Aguilar-Bryan L, Nichols CG, Wechsler SW, et al. 1995.** Cloning of the β -cell high-affinity sulfonylurea receptor : a regulator of insulin secretion. *Science*, 268 (5209) : 423–426.
- Allali H, Benmehdi H, Dib MA, Tabti B, Ghalem S, Benabadji N. 2008.** Phytotherapy of Diabetes in West Algeria. *Asian journal of chemistry*, 20 (04) : 2701-2710.
- Arab K, Bouchenak O, Yahiaoui K. 2013.** Évaluation de l'activité biologique des feuilles de l'olivier sauvage et cultivé. *Afrique Science*, 9 : 159-166.
- Azzi R, Djaziri R, Lahfa F, Sekkal FZ, Benmehdi H, Belkacem N. 2012.**
- Bailey CJ, Day C. 1989.** Traditional plant medicines as treatment for diabetes. *Diabetes Care*, 12 : 553-564.
- Balfour JA, McTavish D. 1993.** Acarbose. *Drugs*, 46 : 1025e54.
- Belhadj M, Abrouk S, Nadir-Azirou D, Gari S, Nicolucci A. 2016.** Une clinique mobile pour évaluer le risque cardio-métabolique et détecter les complications du diabète en Algérie. *Médecine Des Maladies Métaboliques*, 10 (2), 175–181.
- Benavente-García O, Castillo J, Lorente J, Ortúño A, Del Río JA. 2000.** Antioxidant activity of phenolics extracted from *Olea europaea* L. leaves. *Food Chem*, 68 : 457–462.
- Bennani-Kabchi N, Fdhil H, Cherrah Y, El Bouayadi F, Kehel L, Marquie G. 2000.** Therapeutic effect of *Olea europaea* var. *oleaster* leaves on carbohydrate and lipid metabolism in obese and prediabetic sand rats (*Psammomys obesus*). *Ann. Pharm. Fr*, 58 : 271–277.
- Bisignano G, Tomaino A, Lo Cascio R, Crisafi G, Uccella N, Saija A. 1999.** On the *in vitro* antimicrobial activity of oleuropein and hydroxytyrosol. *J Pharm Pharmacol*, 51 : 971-4.
- Blekas G, Psomiadou E, Tsimidou M, Boskou D. 2002.** On the importance of total polar phenols to monitor the stability of Greek virgin olive oil. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 104 (6) : 340-346.

- Bosquet F, Hartemann-Heurtier A. 2004.** Insulinothérapie dans le diabète de type 2. *EMC Endocrinologie*, 1 : 55–65.
- Bouderba N., Kadi H., Mohgtet S., Meddah B., Moussaoui A.(2012).** Antibacterial Activity and Phutochemical Screening of *Olea Europaea* Leaves from Algeria. The open conference procedngs journal ,3,(suppl 1- M 11). Pp 66-69.
- Bourne RR, Stevens GA, White RA, Smith JL, Flaxman SR, Price H et al, for the Vision Loss Expert Group. 2013.** Causes of vision loss worldwide, 1990–2010 : a systematic analysis. *Lancet Glob Health*, 1: e339-e349
- Brahimi M. 2018.** L’association et la direction de la sécurité sociale pour l’aide des diabétiques de la wilaya de Tlemcen.
- Brahmi F, Mechri B, Dhibi M, Hammami M. 2013.** Variations in phenolic compounds and antiradical scavenging activity of *Olea europaea* leaves and fruits extracts collected in two different seasons. *Industrial Crops and Products*, 49 : 256-264.
- Briante R, Patumi M, Limongelli S, Febbraio F, Vaccaro C, Di Salle A, La Cara F, Nucci Bruneton J. 1999.** Pharmacognosie - Phytochimie - Plantes médicinales. 3ème édition. Ed. Technique & Documentation, Paris.
- Butler AE, Janson J, Bonner-Weir S, et al. 2003.** Beta-cell deficit and increased beta-cell apoptosis in humans with type 2 diabetes. *Diabetes*, 52 (1) :102-10.
- Campeol E, Flamini G, Cioni PL, Morelli I, D’Andrea F, Cremonini R. 2004.** 1,5Anhydroxylitol from leaves of *Olea europaea*. *Carbohydrate Research*, 339 (16) : 2731–2732.
- Caponio F, Gomes T, Pasqualone A. 2001.** Phenolic compounds in virgin olive oils : influence of the degree of olive ripeness on organoleptic characteristics and shelft-life.
- Cherif S, Rahal N, Haouala M, Hizaoui B, Dargouth F, Gueddiche M, Kallel Z, Balansard, G, Boukef K. 1996.** A clinical trial of a titrated *Olea* extract in the treatment of essential arterial hypertension. *J. Pharm. Belg*, 51 : 69–71.
- Cheurfa M, Abdallah HH, Allem R, Noui A, Picot-Allain CMN, Mahomoodally F. 2018.** Hypocholesterolaemic and antioxidant properties of *Olea europaea* L. leaves from Chlef province, Algeria using *in vitro*, *in vivo* and *in silico* approaches. *Food and Chemical Toxicology*, j.fct.2018.10.002.

Cleland SJ. 2012. Cardiovascular risk in double diabetes mellitus--when two worlds collide. *Nat Rev Endocrinol*, 8 : 476-85.

Compounds Extracted From Dried Olive Pomace. *Bulletin of the Chemists and*

Conforti F, Statti G, Loizzo MR, et al. 2005. *In vitro* antioxidant effect and inhibition of alpha-amylase of two varieties of *Amaranthus caudatus* seeds. *Biol Pharm Bull*, 28 : 1098-102.

Dall TM, Yang W, Halder P, et al. 2015. The economic burden of elevated blood glucose levels in 2012 : diagnosed and undiagnosed diabetes, gestational diabetes mellitus, and prediabetes. *Diabetes Care*.

De Fronzo RA, Barzilai N, Simonson DC. 1991. Mechanism of metformin action in obese and lean noninsulin-dependent diabetic subjects. *J Clin Endocrinol Metab*, 73 (6) :1294–1301.

De Fronzo RA, Ferrannini E, Zimmet P, et al. 2015. *International Textbook of Diabetes Mellitus*, 2 Volume Set, 4th Edition. Wiley-Blackwell.

De Marco E, Savarese M, Paduano A, Sacchi R. 2007. Characterization and fractionation of phenolic compounds extracted from olive oil mill wastewaters. *Food Chem*, 104 : 858-867.

De Pasquale R, Monforte MT, Trozzi A, Raccuia A, Tommasini S, Ragusa S. 1991. Effects of leaves and shoots of *Olea europaea* L. and oleuropein on experimental hypercholesterolemia in rat. *Plantes Med. Phytother*, 25 : 134–140.

De Sales P.M , D e Souza P.M , Simeoni L.A, Magalhães P.D , Silveira D (2012). Department of Pharmaceutical Sciences, School of Health Sciences, Campus Darcy Ribeiro, University of Brasília, Brasília, Brazil. *J Pharm PharmaceutSci* (www.cspsCanada.org) 15(1) 141 – 183.

De Souza BVC, Moreira Araújo RSDR, Silva OA, Faustino LC, Gonçalves MFB, Dos Santos ML, Souza GR, Rocha LM, Cardoso MLS, Nunes LCC. 2018. *Bauhinia forficata* in the treatment of diabetes mellitus: a patent review. *Expert Opin Ther Pat*, 28 (2) :129-138.

De Souza P.M, Magalhães P.O .(2010). Application of microbial α -amylase in industry – a review

Dekdouk N , Malafronte N ,Russo D, Faraone I , De Tommasi N, Ameddah S ,Severino L ,and Hindawi L.M .(2015). Publishing Corporation Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, Article ID 684925, 9 pages.

Di Donna L, Mazzotti, F, Naccarato A, Salerno R, Tagarelli A, Taverna, D, Sindona G. 2010. Secondary metabolites of *Olea europaea* leaves as markers for the discrimination of cultivars and cultivation zones by multivariate analysis. Food Chemistry, 121 (2) : 492-496.

DJENANE D, YANGÜELA J, DERRICHE F, BOUARAB L, RONCALES P. 2012.

Eddouks M, Ouahidi ML, Farid O, Moufid A, Khalidi A, Lemhadri A. 2007. L'utilisation des plantes médicinales dans le traitement du diabète au Maroc. Phytothérapie, n 5 : 194-203.

Eguchi K, Nagai R. 2017. Islet inflammation in type 2 diabetes and physiology. J Clin Invest, 127 : 14-23.

El SN, Karakaya S. 2009. Olive tree (*Olea europaea*) leaves : potential beneficial effects on human health. Nutrition Review, 67 : 632-638.

Émile C. 2019. Dépistage des complications du diabète. Option Bio, 29 (597-598) : 29-30.

Ethnopharmacological survey of medicinal plants used in the traditional treatment of diabetes mellitus in the North Western and South Western Algeria. Journal of Medicinal Plants Research, 6 (10) : 2041-2050.

Etxeberria U , De la Garza A.L , Campión J, Martínez A & Milagro F.I. (2012). Antidiabetic effects of natural plant extracts via inhibition of carbohydrate hydrolysis enzymes with emphasis on pancreatic alpha amylase, Expert Opinion on Therapeutic Targets, 16:3, 269-297.

European Food Research and Technology. 212 : 329-333.

Fabbri A, Galaverna G, Ganino T. 2008. Polyphenol composition of olive leaves with regard to cultivar, time of collection and shoot type. In proceedings of the 1st International Symposium on Olive Growing. ISHS Acta Horticulturae, 791.

Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques. Département de Biochimie et de Microbiologie. Université Mouloud Mammeri. BP 17, 15000-Tizi-Ouzou, Algérie.

Farnsworth NR, Akerele O, Bingel AS, et al. 1985. Medicinal plants in therapy. Bull World Health Organization, 63 : 965-81.

Fédération Internationale du Diabète FID. 2013. Diabetes Atlas, 6^{ème} édition.

Fédération Internationale du Diabète FID. 2017. Diabetes Atlas, 8^{ème} édition.

- Fehri B, Aiache JM, Memmi A, et al. 1994.** Hypotension, hypoglycémie et hypouricémie enregistrés à la suite d'administration réitérée d'un extrait aqueux de feuilles d'*Olea europaea* L. *J Pharm Bel*, 49(2) : 101-8.
- Fendler W, Borowiec M, Baranowska-Jazwiecka A, et al. 2012.** Prevalence of monogenic diabetes amongst Polish children after a nationwide genetic screening campaign. *Diabetologia*, 55: 2631–35.
- Fernando, I. T., Perera, K. I., Athauda, S. B. P., Sivakanesan, R., Kumar, N. S., & Jayasinghe, L. (2019).** Heat stability of the in vitro inhibitory effect of spices on lipase, amylase, and glucosidase enzymes. *Food Science & Nutrition*.
- Fuhlendorff J, Rorsman P, Kofod H, et al.(1998).** Stimulation of insulin release by repaglinide and glibenclamide involves both common and distinct processes. *Diabetes*.;47(3):345–351.
- Ghedira K. 2008.** L'olivier. *Phytothérapie*, 6 (2) : 83-89.
- Ghosh S, Ahire M, Patil S, et al. (2011)** .Antidiabetic activity of *Gnidiaglauca* and *Dioscorea bulbifera*: potent amylase and glucosidase inhibitors. *Evid Based Complement Alternat Med* 2012;929051.
- Gonzalez M, Zarzuelo A, Jomez M, et al. (1992).** Hypoglycemic activity of olive leaf. *Planta Med* 58: 513-5.
- Grohmann F. 1981.** Oleaceae. *Flora of Pakistan*, 59 : 9.
- Gupta R, Gigras P, Mohapatra H, Goswami VK, Chauhan B.(2003).** Microbial alpha-amylases: a biotechnological perspective. *Process Biochem*. 2003;38:1599–616.
- Hamdan II, Affif U.(2008).** Screening of Jordanian flora for alpha-amylase inhibitory activity. *Pharm Biol*;46:746-50.
- Hammiche V., Maiza K., (2006).** Traditional medicine in Central Sahara: Pharmacopoeia of Tassili N'ajjer . *J. Ethnopharmacol.*; 105: 358-367.
- Haute Autorité de santé (HAS).(2013).** Stratégie médicamenteuse du contrôle glycémique du diabète de type 2. Janvier 2013/ .
- Hernández EÁ, Kahl S, Seelig A, et al. (2017).** Acute dietary fat intake initiates alterations in energy metabolism and insulin resistance, *J Clin Invest*;127:695-708.

- HIMOUR S , YAHIA A, BELATTAR H & BELLEBCIR L (2016),**
Hirschman, S.Z., (1972). Inactivation of DNA polymerases of murineleukaemia viruses by calcium elenolate. *Nat. New Biol.* 238, 277–279.
- Hollander P, Pi-Sunyer X, Coniff RF.(1997).** Acarbose in the treatment of type I diabetes. *Diabetes Care.*;20(3):248–253.
- Holm L, Koivula A.K , Lehtovaara P.M , Hemminki A, Knowles J.K.C .(1990).**Random mutagenesis used to probe the structure and function of *Bacillus stearothermophilus* alphaamylaseProtein Engr., 3, pp. 181-191.
- Inzucchi SE, Zinman B, Wanner C, et al.(2015).**SGLT-2 inhibitors and cardiovascular risk: proposed pathways and review of ongoing outcome trials. *DiabVasc Dis Res.*;12:90–110.
- Inzucchi, S. E. (2002).** Oral antihyperglycemic therapy for type 2 diabetes: scientific review. ISSN 2490-4392, *Journal of Bioresources Valorization*, Vol. 1 (1), pp 34-38.
- Jama*, 287(3), 360-372.
- Jänicke, C., Grünwald, J., Brendler, T., (2003).** *Handbuch Phytotherapie.* Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, Stuttgart.
- Japon-Lujan R, Luque de Castro M.D. (2006).**Superheated liquid extraction of oleuropein and related biophenols from olive leaves. *J of Chromatography A*, 1136: 185-191.
- Jarald E., Joshi S.B., Jain D.C., (2008).** Diabetes and herbal medicine. *Iranian Journal of Pharmacology and therapeutics*; 7: 97-106.
- Johnson MH, Lucius A, Meyer T, Gonzalez de Mejia E.(2011).**Cultivar evaluation and effect of fermentation on antioxidant capacity and in vitro inhibition of alphaamylase and alpha-glucosidase by highbush blueberry (*Vaccinium corombosum*). *J Agric Food Chem*;59:8923-30.
- Kashikar V.S., Kotkar T., (2011).** Indigenous remedies for diabetes mellitus. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*; 3 (3): 22-29.
- Kaskoos R.A. (2013).** Pharmacognostic Specifications of leaves of *Olea europea* Collected from Iraq. *American journal of phytomedicine and clinical Therapeutics.* 2: 153-160.
- Kergeta M, Kotnika P, Hadolinb M, et al. (2005)** Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities. *Food Chem* 89(2): 191-8.

- Khan MY, Panchal S, Vyas N, et al. (2007)** *Olea europaea*. *PhytoPharmacol Review* 1(1): 114-124.
- Khayyal, M.T., El-Ghazaly, M.A., Abdallah, D.M., Nassar, N.N., Okpanyi, S.N., Kreuter, M.H., (2002)**. Blood pressure lowering effect of an olive leaf extract (*Olea europaea*) in L-NAME induced hypertension in rats. *Arzneim. Forsch./Drug Res.* 52, 797–802.
- Khlif I , Hamden K , Damak M , and Allouche N . (2012)**. “A new triterpene from *Olea europaea* stem with antidiabetic activity,” *Chemistry of Natural Compounds*, vol. 48, no. 5, pp. 799–802, 2012.
- Kim JG, Jo SH, Ha KS, Kim SC, Kim YC, Apostolidis E, Kwon YI. (2014)**. Effect of long-term supplementation of low molecular weight chitosan oligosaccharide (GO2KA1) on fasting blood glucose and HbA1c in db/db mice model and elucidation of mechanism of action. *BMC Complement Altern Med*;14:272.
- King, G. L. (2008)**. The role of inflammatory cytokines in diabetes and its complications. *Journal of periodontology* , 79 (8S) , 1527-1534.
- Kobayashi K, Saito Y, Nakazawa I, Yoshizaki F. (2000)**. Screening of crude drugs for influence on amylase activity and postprandial blood glucose in mouse plasma. *Biol Pharm Bull* ;23:1250-3.
- KOMAKI E, YAMAGUCHI S, MARU I, KINOSHITA M, KAKEHI K, OHTA Y, TSUKADA Y. 2003**. Identification of anti α -amylase components from olive leaf extracts. *Food Sci. Technol. Res.*, 9 (1) : 35–39.
- Koska J, Sands M, Burciu C, et al. (2015)**. Cardiovascular effects of dipeptidyl peptidase-4 inhibitors in patients with type 2 diabetes. *DiabVasc Dis Res.*;12:154–163.
- Köster I, von Ferber L, Ihle P, et al. (2006)**. The cost burden of diabetes mellitus: the evidence from Germany—the CoDiM Study. *Diabetologia*.
- Kusano R, Ogawa S, Matsuo Y, et al. (2011)**. Alpha-amylase and lipase inhibitory activity and structural characterization of acacia bark proanthocyanidins. *J Nat Prod* ;74(2):119-28.
- Lalas S., Athanasiadis V., Gortzi O., Bounitsi M., Giovanoudis I. (2011)**. Enrichment of table olives with polyphenols extracter from olive leaves. *Food Chemistry*. 127: 1521-1525.
- Le Tutor B, Guedon D (1992)**. Antioxidative activities of *Olea europaea* L. leaves and related phenolic compounds. *Phytochemistry* 31: 1173-8.

- Leclaire, S. (2008).** Digestion et absorption des nutriments. Cahiers de Nutrition et de Diététique, 43(1), 45–50.
- Lee KH, Ha KS, Jo SH, Lee CM, Kim YC, Chung KH, Kwon YI.(2014).**Effect of long-term dietary arginyl-fructose (AF) on hyperglycemia and HbA1c in diabetic db/db mice. Int J MolSci;15:8352e9.
- Li S.(2012).** Pharmacodynamic bioequivalence testing. J Clin PharmTher ;37:497e8.
- Lipshitz N , Gophna R, Hartman M, and Biger G ,(1991).** “The beginning of olive (Olea europaea) cultivation in the old world:a reassessment,” Journal of Archaeological Science, vol. 18, no. 4,
- Lönnrot M, Korpela K, Knip M et al.(2000).** Enterovirus infection as a risk factor for beta cell autoimmunity in a prospectively observed birth cohort: the Finnish Diabetes Prediction and Prevention Study.
- Maarel M.J.E.C , Veen B, Uitdehaag J.C.M , Leemhuis H, Dijkhuizen L . (2002).**
- Maarel MJEC, Veen B, Uitdehaag JCM, Leemhuis H, Dijkhuizen L. 2002.** Properties and applications of starch-converting enzymes of the alpha-amylase family. J Biotechnol, 94 (2) : 137-55.
- Malik N.S.A., Bradford J.M. (2006).** Changes in oleuropein levels during differentiation and development of floral buds in "Arbequina" olives. Scientia Horticulturae, 110(3): 274-278.
- Marles R.J., Farnsworth N.R., (1995).** Antidiabetic plants and their active constituents. Phytomedicine 2: 13-189.
- Maurus, R. (2005).** Structural and mechanistic studies of chloride induced activation of human pancreatic -amylase. Protein Science, 14(3), 743–755.
- Michels, K. B., Solomon, C. G., Hu, F. B., Rosner, B. A., Hankinson, S. E., Colditz, G. A., & Manson, J. E. (2003).**Type 2 diabetes and subsequent incidence of breast cancer in the Nurses' Health Study. Diabetes care, 26(6), 1752-1758.
- Miot A, Ragot S, Hammi W, et al.(2012) .** Prognostic value of resting heart rate on cardiovascular and renal outcomes in type 2 diabetic patients: a competing risk analysis in a prospective cohort. Diabetes Care 2012; 35: 2069–75.

Muller E 2002. “Lignans isolated from Valerian : identification and characterization of a new olivil derivative with partial agonistic activity at A1 adenosine receptors. *Journal of Natural Products*, 65 (10) : 1479–1485.

Oboh G, Olabiyi AA, Akinyemi AJ, Ademiluyi AO.(2014). Inhibition of key enzymes linked to type 2 diabetes and sodium nitroprusside-induced lipid peroxidation in rat pancreas by water extractable phytochemicals from unripe pawpaw fruit (*Carica papaya*). *J Basic Clin Physiol Pharmacol*;25:21e34.

Oboh G1, Ogunsuyi OB2, Ogunbadejo MD3, Adefegha SA2. J Food Drug Anal.

Oloyede O.I. 2005. Chemical profile of Unripe Pulp of *Carica papaya*. *Pakistan Journal of Nutrition*. 4: 379-381.

OMS (Organisation mondiale de la Santé), (2002). Stratégie de l’OMS pour la médecine traditionnelle pour 2002–2005. Genève, WHO/EDM/TRM/2002.1: 1-63.

Pernicova I, Korbonits M.(2014). Metformin—mode of action and clinical implications for diabetes and cancer. *Nat Rev Endocrinol.*;10(3):143–156.13. pp. 441–453.

R. 2002. Changes in phenolic and enzymatic activities content during fruit ripening in two Italian cultivars of *Olea europaea* L. *Plant Science*, 162 : 791-798.

Renis, H.E., (1969). In vitro antiviral activity of calcium elenolate. *Antimicrob. Agents Chemother.* 9, 167–172.

Romero C., Brenes M., Yousfi K., Garciaa P. Garciaa A, Garrido A (2004). Effect of Cultivar and Processing Method on the Contents of Polyphenols in Table Olives. *J Agric Food Chem*, 52: 479-484.

Ryan D, Antolovich M, Prenzler P, et al. (2002). Biotransformation of phenolic compounds in *Olea europaea* L. *Sci Hort* 92: 147-76.

Saija, A., Uccella, N., (2001). Olive biophenols: functional effects on human wellbeing.

Sato H , Genet C , Strehle A et al.(2007)., “Anti-hyperglycemic activity of a TGR5 agonist isolated from *Olea europaea*,” *Biochemical and Biophysical Research Communications*, vol. 362, no. 4, pp.793–798, 2007.

Sato H, Genet C, Strehle A, et al. (2007) Anti-hyperglycemic activity of a TGR5 agonist isolated from *Olea europaea*. *Biochem Biophys Res Comm* 362(3, 4): 793-8.

Sautou-Miranda V , Chopineau J et Girard-Tournilhac I. (2018). livre de Traitement du diabète sucré par Lise Bernard, Marie Batisse, Igor Tauveron, Valérie Sautou1 . CHAPITRE 22 , page 333 .

Schlienger, J.-L. (2016). La prise en charge hygiéno-diététique du diabète de type 2 : première étape de l'itinéraire. *Médecine Des Maladies Métaboliques*, 10(2), 101–106.

Schumacher B ,Scholle S, Holzl J , Khudeir N, Hess S , and Muller C.E . 2002. “Lignans isolated from “ Valerian: identification and characterization of a new olivil derivative with partial agonistic activity at A1 adenosine receptors,” *Journal of Natural Products*, vol. 65, no. 10, pp. 1479–1485.

Scognamiglio, M, D'Abrosca B, Pacifico S, Fiumano, V, De Lucab, P.F, Monaco M, Fiorentino A, (2012). Polyphenol characterization and antioxidant evaluation of Oleaeuropaeavarieties cultivated in Cilento National Park (Italy). *Food Research International* 46 (1), 294-303.

Seino S, Takahashi H, Takahashi T, et al.(2012). Treating diabetes today: amatter of selectivity of sulphonylureas. *Diabetes, Obes Metab.*;14:9–13.35.

Singh U, Singh S, Kochhar A,(2012). Therapeutic potential of antidiabetic nutraceuticals. *Phytopharmacology*; 2(1) 144-169.

Skerget M, Kotnik P, Hadolin M, Hras AR, Simonie M, Knez Z. (2005). Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities. *Food Chem*, 89: 191198.

Société francophone du diabète. 2014. Référentiel de bonnes pratiques : Nutrition & Diététique. Diabète de type 2 de l'adulte : Nutrition – Alimentation – Comportement alimentaire – Éducation thérapeutique – Évaluation des pratiques. *Médecine des maladies Métaboliques*, 8 :1-75.

Sudhir R & Mohan V. (2002). Postprandial hyperglycemia in patients with Type 2 diabetes mellitus. *Treat Endocrinology*, 1(2), 105–116.

Tenenbaum M, Bonnefond A, Froguel P & Abderrahmani A. (2018). Physiopathologie du diabète. *Revue Francophone Des Laboratoires*, 2018(502), 26–32.

Trujillo JM, Nuffer W, Ellis SL.(2015). GLP-1 receptor agonists: a review ofhead-to-head clinical studies. *Ther Adv Endocrinol Metabolism.*;6:19–28.

Références bibliographiques

Visioli F, Bellomo G, Galli C, (1998). Free radical-scavenging properties of olive oil polyphenols. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 247,60–64.

Winkelhausen E , Pospiech R, Laufenberg G. (2005). Antifungal Activity of Phenolic

Yki-Järvinen H. Thiazolidinediones N , Engl J . Med.(2004);351(11):1106–1118.