



République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Abou Bekr Belkaid –Tlemcen-



Faculté des sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre et
de l'univers

Département de Biologie

Laboratoire

Antibiotiques Antifongiques : Physico-chimie, Synthèse et Activité
Biologique

Thèse

En vue de l'obtention du diplôme de

DOCTORAT 3^{ème} cycle

En science biologique

Option

Biochimie Appliquée

Présentée par :

Mr Terki mohammed

Thème

**Contribution à l'étude phytochimique et à l'étude *in vitro* de l'activité
antioxydante, antidiabétique, et antimicrobienne des extraits de
Citrullus colocynthis et *Bryonia dioïca* de la région de Nâama**

Soutenue le : 09/12/2023

Devant le jury :

Présidente :	Pr. Boucherit-Otmani Zahia	Université Abou Bekr Belkaïd-Tlemcen
Examineurs :	Pr. Azzi Rachid	Université Abou Bekr Belkaïd-Tlemcen
	Pr. Seddiki Sidi Mohammed Lahbib	Centre Universitaire Salhi Ahmed- Naâma
	Dr. Ghellai Lotfi	Université Dr Moulay Tahar- Saïda
Directrice de thèse :	Dr. Benariba Nabila	Université Abou Bekr Belkaïd-Tlemcen

Année universitaire : 2023-2024

A ma famille

A mes chers parents

A mon frère et mes sœurs

Remerciements

Avant tout, je remercie Dieu le tout puissant, Le miséricordieux, pour m'avoir donné la force, la patience et la volonté pour achever ce travail.

Mes remerciements les plus sincères s'adressent à ma directrice de thèse, Mme. Benariba N., maître de conférences A au département de Biologie, faculté SNV/STU, Université Abou bekr Belkaïde- Tlemcen, qui m'a honoré de sa confiance en acceptant la direction de cette thèse. Je la remercie vivement pour sa disponibilité, sa patience, sa compréhension, ses encouragements, ses précieux conseils, sa confiance, ses qualités pédagogiques et scientifiques. Qu'elle trouve dans cette thèse le témoignage de ma sincère reconnaissance et de mon profond respect.

Mes chaleureux remerciements s'adressent à Mme Boucherit-Otmani Z., professeur au département de Biologie, faculté SNV/STU, Université Abou bekr Belkaïde-Tlemcen, ancienne directrice du laboratoire « Antibiotiques, Antifongiques : Physico-chimie, Synthèse et Activité Biologique » et responsable de la formation doctorale « Biochimie Appliquée » pour me faire l'honneur de présider ce jury, de participer à l'évaluation de ce travail et de l'enrichir de sa haute compétence scientifique. Je la remercie pour son aide, sa disponibilité, ses encouragements et l'intérêt qu'elle a toujours porté à cette recherche. Qu'elle trouve dans cette thèse l'expression de mon profond respect.

Je remercie vivement Mr Azzi R., professeur au département de Biologie, et vice-doyen chargé de la post graduation, la recherche scientifique et les relations extérieures de la faculté SNV/STU, Université Abou bekr Belkaïde-Tlemcen d'avoir accepté d'examiner ce travail. Je le remercie pour son esprit ouvert qui donne l'exemple, sa générosité, sa disponibilité et ses précieux conseils et orientations. Qu'il trouve dans cette thèse l'expression de mon profond respect.

Je tiens à exprimer ma profonde reconnaissance à Mr Seddiki S.M.L., professeur au Centre Universitaire de Naâma, d'avoir accepté d'examiner ce travail et de l'enrichir de sa haute compétence scientifique. Qu'il trouve dans cette thèse l'expression de mon profond respect.

J'exprime mes sincères remerciements à Mr. Ghellai L., maître de conférences à l'Université Dr Moulay Tahar- Saïda d'avoir accepté d'examiner ce travail et de l'enrichir de sa haute compétence

scientifique. Qu'il trouve dans cette thèse l'expression de mon profond respect.

Je remercie énormément Mr El-Haci Abdelhamid Imad Maitre de recherche A au Centre de Recherche scientifique et technique en Analyses Physico-Chimiques (CRAPC) à Bou-Ismaïl, pour son aide, ses précieux conseils ainsi que son soutien moral.

Je tiens également à remercier chaleureusement les membres du laboratoire antibiotiques, antifongiques, physico-chimie synthèse et activité biologique « LAPSAB » où j'ai réalisé ce travail pour leur aide, leur soutiente et pour leur disponibilité.

Mes vifs remerciements s'adressent à mes amis Barek said, Baladgham zakaria et Aissaoui mohammed, à mes collègues du laboratoire antibiotiques, antifongiques, physico-chimie synthèse et activité biologique « LAPSAB », aux ingénieurs et à toute personne ayant participées de près ou de loin dans l'élaboration de ce travail.

ملخص

عنب الدبيب و الحنضل نوعان نباتيان من عائلة القرعيات لهما خصائص علاجية مختلفة ويستخدمان على نطاق واسع كأعشاب مضادة لمرض السكري في الطب التقليدي. الهدف من هذه الدراسة مخصص للتحليل الكيميائي النباتي والتقييم في المختبر لنشاط مضادات الأكسدة ومضادات السكري ومضادات الميكروبات للمستخلص المائي والهيدروميثانول و مستخلصات كلوروفورم وأسيتات الإيثيل و ن-بوتانول المعزولة من ثمار *B. dioica* و *C. colocynthis*.

أظهرت نتائج تقدير المركبات الفينولية مستوى من البوليفينول والفلافونويد الذي يتراوح بين (9,300 إلى 27,54 ميكروغرام مكافئ حمض الغاليك لكل ملغ مستخلص جاف) ومن (6,55 إلى 3,126 ميكروغرام مكافئ كاتشين لكل ملغ مستخلص جاف) في مستخلصات *B. dioica* على التوالي. يتراوح هذا المعدل بين (27,117 و 61,260 ميكروغرام مكافئ حمض الغاليك لكل ملغ مستخلص جاف) و (4,42 إلى 261 ميكروغرام مكافئ كاتشين لكل ملغ مستخلص جاف) في مستخلصات *C. colocynthis*. أظهرت مستخلصات أسيتات الإيثيل ون-بوتانول أعلى المستويات.

أظهر الفصل الكروماتوغرافي عالي الاستبانة (HPLC) للمركبات الفينولية وجود الأحماض الفينولية في *B. dioica*: حمض سينرجيك ، وحمض الفيروليك ، وحمض الكوماريك ، والفلافونول: الروتين ، والكيرسيتين ، ومكونات أخرى غير معروفة. تم اكتشاف حمض الفيروليك والروتين والعديد من المركبات غير المحددة في أسيتات الإيثيل و مستخلص ن-بوتانول من *C. colocynthis*.

أظهرت مستخلصات *B. dioica* نشاطاً مضاداً للأكسدة واعدًا مقارنة بمستخلصات *C. colocynthis* وأظهرت قيم IC₅₀ منخفضة باستخدام DPPH ($IC_{50}>3,27$ 4 ميكروغرام / مل) ، FRAP ($A_{0,5}>24,92$ $154,95$ ميكروغرام / مل) ، ABTS ($IC_{50}>13,3$ $45,5$ ميكروغرام / مل) ، و CUPRAC ($EC_{50}>38,7$ $87,8$ ميكروغرام / مل).

قيم IC₅₀ المحددة لمستخلصات *C. colocynthis* واعدة أيضاً ($IC_{50}>09,65$ DPPH $29,89$ ميكروغرام / مل) ، ($FRAP>99,7$ $A_{0,5}>119,37$ ميكروغرام / مل) ، ($CUPRAC>19,41$ $IC_{50}>26,63$ ميكروغرام / مل) ، ($ABTS>86,87$ $IC_{50}>43,77$ ميكروغرام / مل).

فيما يتعلق بالتأثير المضاد لانحلال الدم، أظهرت مستخلصات *B. dioica* مقارنة بمستخلصات *C. colocynthis* تأثير وقائي لخلايا الدم الحمراء ضد انحلال الدم الناجم عن الجذور AAPH. قيم IC₅₀ المحددة هي كما يلي $IC_{50}>82,15$ و $IC_{50}>77,159$ ميكروغرام / مل، $IC_{50}>11,19$ و $IC_{50}>18,298$ ميكروغرام / مل، على التوالي.

تم تقييم النشاط المضاد لمرض السكري في المختبر عن طريق اختبار نشاط α -amylase و α -glucosidase. مكنت النتائج التي تم الحصول عليها من التمييز بين التأثير المثبط لمستخلصات *B. dioica* مقارنة بتأثير مستخلصات *C. colocynthis* ، ولا سيما تأثير أسيتات الإيثيل و ن-بوتانول التي أظهرت قيم IC₅₀ قدرها 81,0 و 73,0 مغ/مل على التوالي. بالنسبة ل- α -amylase ، مقابل قيم IC₅₀ البالغة 76,1 و 65,1 مغ / مل، المحددة في مستخلصات *C. colocynthis*.

أظهر مستخلص ن-بوتانول من *B. dioica* تأثيراً مثبطاً واعدًا جداً ل- α -glucosidase ($IC_{50} = 61,91$ ميكروغرام / مل) مقارنة بتأثير مستخلص أسيتات الإيثيل ($IC_{50} = 105,52$ ميكروغرام / مل) و مستخلصات *C. colocynthis* ($IC_{50} = 69,612$ و $IC_{50} = 513$ ميكروغرام / مل) على التوالي.

لوحظ أيضاً وجود تأثير مضاد للجراثيم معنوي لمستخلصات أسيتات الإيثيل و ن-بوتانول من *B. dioica* ضد *S. aureus* ATCC 6538 (14-16 مم ، $MIC = 0,156-0,078$ مغ / مل) ، *B. subtilis* ، و *M. luteus* (13-14 مم ، $MIC = 0,312-0,156$ مغ / مل) ، بالإضافة إلى ذلك ، كانت *S. aureus* ATCC 6538 (11-15 مم ؛ $MIC = 0,312$ مغ / مل) و *M. luteus* ATCC9341 (10-13 مم ؛ $MIC = 0,6$ مغ / مل) حساسة للغاية لمستخلص الأسيتات الإيثيل و ن-بوتانول من *C. colocynthis*.

أظهرت مستخلصات نباتين بتركيز 500 ميكروغرام / مل نشاطاً مثبطاً للاهتمام مضاداً للاتصاق (32% -58%) ضد *S. aureus* ATCC 6538 ، *L. monocytogenes* ATCC 15313 ، و *E. coli* ATCC 8739 ، مما يشير إلى تأثيرها المحتمل كمضاد حيوي.

أتاحت النتائج التي تم الحصول عليها تسليط الضوء على إمكانات مضادات الأكسدة ومضادات السكر ومضادات الميكروبات والمضادات الحيوية لاثنتين من القرعيات *B. dioica* و *C. colocynthis* ، والتي يمكن استخدامها في الوقاية من الإجهاد التأكسدي والأمراض المرتبطة بالإجهاد التأكسدي مثل داء السكري والأمراض المعدية.

الكلمات المفتاحية: *Bryonia dioica* ، *Citrullus colocynthis* ، RP-HPLC-PDA ، نشاط مضاد للأكسدة، نشاط مضاد لمرض السكري، نشاط مضاد للميكروبات.

Abstract

Bryonia dioica Jacq. and *Citrullus colocynthis* (L.) Schrad are two species belonging to the Cucurbitaceae family with several therapeutic virtues and widely used as anti-diabetic plants in traditional medicine. The aim of this study is devoted to the phytochemical analysis and the evaluation of the antioxidant, anti-diabetic and antimicrobial activities *in-vitro* of the aqueous, hydromethanolic extracts and its fractions chloroform, ethyl acetate and n-butanol, isolated from the fruit of *C. colocynthis* and the roots of *B. dioica*.

The phenolic compound assays showed that the polyphenol and flavonoid rates were ranging from 300,9 to 540,27 $\mu\text{g GA eq/mg E}$, and from 55,6 to 126,3 $\mu\text{g Cat eq/mg E}$ in *B. dioica* extracts respectively. This ranged from 117,27 to 260,61 $\mu\text{g GA eq/mg E}$ and 42,4 to 261 $\mu\text{g Cat eq/mg E}$ in *C. colocynthis* extracts. The ethyl acetate and n-butanol fractions showed the highest contents.

The RP-HPLC-PDA chromatographic analysis of phenolic compounds revealed the presence of phenolic acids as syringic acid, ferulic acid, p-coumaric acid, flavonol: rutin, quercetin and other unidentified components in *B. dioica*. Ferulic acid, rutin and numerous unidentified compounds were detected in the ethyl acetate and n-butanol fractions of *C. colocynthis*.

The *B. dioica* extract has shown a promising antioxidant activity compared to colocynth extracts, they displayed a low IC_{50} values using the DPPH ($3,27 < \text{IC}_{50} > 4 \mu\text{g/mL}$), FRAP ($24,92 \mu\text{g/mL} < \text{A}_{0,5} > 154,95 \mu\text{g/mL}$), ABTS ($3,13 < \text{IC}_{50} > 5,45 \mu\text{g/mL}$), and CUPRAC assay ($7,38 < \text{EC}_{50} > 8,87 \mu\text{g/mL}$).

Regarding the anti-hemolytic effect, *B. dioica* extracts showed a protective effect on red blood cells against AAPH radical-induced hemolysis compared with *C. colocynthis*, the IC_{50} values determined are as follows $15,82 < \text{IC}_{50} > 159,77 \mu\text{g/mL}$ and $19,11 < \text{IC}_{50} > 298,18 \mu\text{g/mL}$, respectively.

The anti-diabetic activity was assessed *in-vitro* by testing α -amylase and α -glucosidase activity. The obtained results permit to distinguish the inhibitory effect of bryony extracts from that of colocynth extracts, precisely the effect of ethyl acetate and n-butanol fractions, which displayed IC_{50} values of 0,81 and 0,73 mg/mL , respectively for α -amylase, against the colocynth fractions with IC_{50} values of 1,76 and 1,65 mg/mL . The n-butanol fraction of bryony showed a very promising α -glucosidase inhibitory effect ($\text{IC}_{50} = 61,91 \mu\text{g/mL}$) compared with the effect of the ethyl acetate fraction ($\text{IC}_{50} = 105,52 \mu\text{g/mL}$) and the *C. colocynthis* fractions 612,69 and 513 $\mu\text{g/mL}$, respectively.

The antibacterial activity showed a significant effect for the ethyl acetate and n-butanol fractions of *B. dioica* against *S. aureus* ATCC 6538 (14-16 mm, MIC 0,156-0,078 mg/mL); *B. subtilis* and *M. luteus* (13-14 mm, MIC 312-156 mg/mL) and a potent antifungal activity against *Candida albicans* (11-15 mm, MIC 0,312-0,156 $\mu\text{g/mL}$). In addition, *S. aureus* ATCC 6538 (11-15 mm; MIC = 0.312 mg/mL) and *M. luteus* ATCC9341 (10-13 mm; MIC = 0.6 mg/mL) were highly sensitive to the ethyl acetate and n-butanol fractions of *C. colocynthis*. Extracts of two plants showed an interesting bacterial anti-adhesion activity (32% -58%) against *S. aureus* ATCC 6538, *L. monocytogenes* ATCC 15313, and *E. coli* ATCC 8739 ATCC 6538 at the concentration of 500 $\mu\text{g/mL}$ indicating their probable anti-biofilm effect.

The obtained results highlighted the antioxidant, anti-diabetic, antimicrobial and anti-biofilm potential of two cucurbits, *B. dioica* and *C. colocynthis*, which can be used to prevent oxidative stress and diseases associated with oxidative stress, such as diabetes mellitus and infectious diseases.

Keywords: *Bryonia dioica*, *Citrullus colocynthis*, RP-HPLC-PDA, antioxidant activity, antidiabetic activity, antimicrobial activity.

Résumé

Bryonia dioïca Jacq. et *Citrullus colocynthis* (L.) Schrad sont deux espèces végétales de la famille des cucurbitacées munies de divers vertus thérapeutiques et largement utilisées comme plantes antidiabétiques dans la médecine traditionnelle. L'objectif de la présente étude est consacré à l'analyse phytochimique et l'évaluation *in-vitro* de l'activité antioxydante, antidiabétique, et antimicrobienne de l'extrait aqueux, hydrométhanol et ses fractions chloroforme, acétate d'éthyle et n-butanol, isolés du fruit de *C. colocynthis* et les racine de *B. dioïca*.

Le dosage des composés phénoliques a montré un taux de polyphénols et de flavonoïdes qui varie entre 300,9 à 540,27 µg eq AG/mg E, et de 55,6 à 126,3 µg eq Cat/mg E dans les extraits de *B. dioïca*, respectivement. Ce taux varie entre 117,27 et 260,61 µg eq AG/mg E, et 42,4 à 261 µg eq Cat/mg E dans les extraits de *C. colocynthis*. Les fractions acétate d'éthyle et n-butanol ont affiché les teneurs les plus élevées.

L'analyse chromatographique RP-HPLC-PDA des composés phénoliques a révélé la présence dans *B. dioïca* des acides phénoliques : acide syringique, acide férulique, p-coumarique, de flavonol : rutine, quercétine, et d'autres composants non identifiés. L'acide férulique, la rutine et de nombreux composés non identifiés ont été détectés dans les fractions acétate d'éthyle et n-butanol de *C. colocynthis*.

Les extraits de *B. dioïca* ont montré une forte activité antioxydante par rapport aux extraits de la coloquinte, ils ont affiché de faibles valeurs de IC₅₀ en utilisant le test du DPPH (3,27 < IC₅₀ > 4 µg/mL), du FRAP (24,92 µg/mL < A_{0,5} > 154,95 µg/mL), de l'ABTS (3,13 < IC₅₀ > 5,45 µg/mL), et du CUPRAC (7,38 < EC₅₀ > 8,87 µg/mL). Les valeurs de IC₅₀ déterminées pour les extraits de la coloquinte sont également prometteuses (65,09 < IC₅₀ DPPH > 89,29 µg/mL), (99,7 < A_{0,5} FRAP > 119,37 µg/mL), (19,41 < IC₅₀ CUPRAC > 26,63 µg/mL), (77,43 < IC₅₀ ABTS > 86,87 µg/mL). En ce qui concerne l'effet anti-hémolytique, les extraits de *B. dioïca* par rapport aux extraits de *C. colocynthis* ont montré un effet protecteur des globules rouges contre l'hémolyse induite par le radical AAPH ; les valeurs d' IC₅₀ déterminées sont comme suit 15,82 < IC₅₀ > 159,77 µg/mL, 19,11 < IC₅₀ > 298,18 µg/mL, respectivement.

L'activité antidiabétique a été évaluée *in vitro* par le test de l'activité α-amylase et α-glucosidase. Les résultats obtenus ont permis de distinguer l'effet inhibiteur des extraits de la bryone par rapport à l'effet des extraits de la coloquinte, en particulier l'effet des fractions acétate d'éthyle et n-butanol qui ont affichés des valeurs de IC₅₀ de 0,81 et 0,73 mg/mL, respectivement pour l'α-amylase, contre les IC₅₀ de 1,76 et 1,65 mg/mL, déterminées dans les fractions de la coloquinte. La fraction n-butanol de la bryone a révélé un effet inhibiteur l'α-glucosidase très prometteur (IC₅₀= 61,91 µg/mL) par rapport à l'effet de la fraction acétate d'éthyle (IC₅₀= 105,52 µg/mL) et les fractions de *C. colocynthis* 612,69 et 513 µg/mL, respectivement.

Un effet antibactérien significatif a été observé pour les fractions acétate d'éthyle et n-butanol de *B. dioïca* contre *S. aureus* ATCC 6538 (14-16 mm, MIC 0,156-0,078 mg/mL), *B. subtilis*, et *M. luteus* (13-14 mm, MIC 0,312-0,156 mg/mL), En outre, *S. aureus* ATCC 6538 (11-15 mm ; CMI = 0,312 mg/mL) et *M. luteus* ATCC9341 (10-13 mm ; CMI = 0,6 mg/mL) ont été sensible aux fractions acétate d'éthyle et n-butanol de *C. colocynthis*. Les extraits de deux plantes à 500µg/mL ont montré une activité anti-adhésion bactérienne intéressante (32% -58%) contre *S. aureus* ATCC 6538, *L. monocytogenes* ATCC 15313, et *E. coli* ATCC 8739 ATCC 6538, ce qui indique leur effet antibiofilm probable.

Les résultats obtenus ont permis de mettre en évidence le potentiel antioxydant, antidiabétique, antimicrobien et antibiofilm des deux cucurbitacées *B. dioïca* et *C. colocynthis*, qui peuvent être utilisées dans la prévention du stress oxydatif et les maladies associées au stress oxydatif comme le diabète sucré et les maladies infectieuses.

Mots clés : *Bryonia dioïca*, *Citrullus colocynthis*, RP-HPLC-PDA, activité antioxydante, activité antidiabétique, activité antimicrobienne.

Listes des tableaux

Tableau 01 : Thérapies anti-hyperglycémiques orales courantes et leurs modes d'action.....	10
Tableau 02 : Mécanisme d'action antidiabétiques de certains composants phytochimiques.....	13
Tableau 03 : Le mécanisme d'action antimicrobien et antifongique de certains composés phytochimiques.....	17
Tableau 04 : Composition phytochimique de différentes parties de <i>Bryonia dioïca</i>	19
Tableau 05 : Composition phytochimique des différentes parties de <i>Citrullus colocynthis</i> ..	24
Tableau 06 : Les souches bactériennes et levures utilisées pour l'évaluation de l'activité antimicrobienne.....	49
Tableau 07 : Caractéristiques des extraits des racines de <i>Bryonia dioïca</i> et des fruits de <i>Citrullus colocynthis</i>	54
Tableau 08 : Screening phytochimique des extraits des racines de <i>Bryonia dioïca</i> et des fruits de <i>Citrullus colocynthis</i>	56
Tableau 09 : Teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes totaux des extraits de <i>Bryonia dioïca</i> et de <i>Citrullus colocynthis</i>	58
Tableau 10 : Effet antiradicalaire des molécules antioxydantes de références et des extraits de <i>B. dioïca</i> et de <i>C. colocynthis</i> sur la réduction du DPPH exprimé en valeurs de IC50 (µg/mL).....	63
Tableau 11 : Effet antiradicalaire des molécules antioxydantes de références et des extraits de <i>B. dioïca</i> et de <i>C. colocynthis</i> sur la réduction de l'ABTS exprimé en valeurs de IC50 (µg/mL)	66
Tableau 12 : Pouvoir réducteur du fer des molécules antioxydantes de références et des extraits de <i>B. dioïca</i> et de <i>Citrullus colocynthis</i> exprimé en valeurs de EC50 (µg/mL).....	68
Tableau 13 : Pouvoir réducteur du cuivre des molécules antioxydantes de références et des extraits de <i>B. dioïca</i> et de <i>Citrullus colocynthis</i> exprimé en valeurs de EC50 (µg/mL).....	71
Tableau 14 : Pouvoir réducteur du complexe Fe ²⁺ /phénantroline des molécules antioxydantes de références et des extraits de <i>B. dioïca</i> et de <i>Citrullus colocynthis</i> exprimé en valeurs de EC50 (µg/mL).....	73
Tableau 15 : Capacité antioxydante totale des extraits de <i>Citrullus colocynthis</i> et <i>Bryonia dioïca</i>	75

Tableau 16 : Effet cytoprotecteur des extraits de <i>B. dioïca</i> et <i>C. colocynthis</i> sur les globules rouges soumis à une agression radicalaire par le AAPH exprimé en pourcentage d'inhibition de l'hémolyse.....	76
Tableau 17 : Effet inhibiteur de l'activité de l' α -amylase par les extraits de <i>B. dioïca</i> et <i>C. colocynthis</i> exprimés en valeurs de IC ₅₀ (μ g/mL)	79
Tableau 18 : Effet inhibiteur de l'activité de l' α -glucosidase par les extraits de <i>B. dioïca</i> et <i>C. colocynthis</i> exprimés en valeurs de IC ₅₀ (μ g/mL).....	81
Tableau 19 : Effet antibactérien et antifongique des extraits des racines <i>Bryonia dioïca</i> déterminé par la méthode des disques et la méthode de microdilution en milieu liquide.....	84
Tableau 20 : Effet antibactérien et antifongique des extraits des fruits de <i>C. colocynthis</i> déterminé par la méthode des disques et la méthode de microdilution en milieu liquide.....	85
Tableaux 21 : Effet anti-adhésion bactérienne des extraits des racines de <i>Bryonia dioïca</i>	87
Tableaux 22 : Effet anti-adhésion bactérienne des extraits des fruits de <i>Citrullus colocynthis</i>	88
Tableaux 23 : Effet anti-adhésion bactérienne des molécules phytochimiques	89

Liste des figures

Figure 1 : Estimations et projections de la Fédération Internationale du Diabète des diabétiques dans le monde depuis 2000 à 2045 (FID, 2019).....	08
Figure 02 : Structure chimique de la Guanidine, Galépine et Metformine	12
Figure 03 : Différentes parties de <i>Bryonia dioïca</i> (a) racine, (b) tige et feuille, (c) fleur, (d) fruit et (e) graine	19
Figure 04 : Structure chimique de certains composés identifiés dans différentes parties de <i>Bryonia dioïca</i>	21
Figure 05 : Différentes parties de <i>Citrullus colocynthis</i> (a) racine, (b) tige et feuille, (c) fleur, (d) fruit et (e) graine.....	23
Figure 06 : Structure chimique de certains composés identifiés dans les différentes parties de <i>Citrullus colocynthis</i>	25
Figure 07 : Matériel végétal : racines broyées de <i>Bryonia dioïca</i> (A) et fruits concassés de <i>Citrullus colocynthis</i> (B).....	30
Figure 08 : Schéma explicatif de la préparation des extraits à partir des racines de <i>Bryonia dioïca</i> et des fruits de <i>Citrullus colocynthis</i>	31
Figure 09 : Réaction de réduction du DPPH par un antioxydant.....	37
Figure 10 : Formation et piégeage du radical ABTS•+ par un antioxydant donneur de H.....	39
Figure 11 : Mécanisme réactionnel intervenant lors du test FRAP au ferricyanure de potassium $K_3Fe(CN)_6$	40
Figure 12 : Réduction du complexe chromogène de Cu^{+} Néocuproïne.....	41
Figure 13 : La formation du complexe chromogène Fe^{+2} -phénantroline.....	42
Figure 14 : décomposition thermique d'AAPH.....	44
Figure 14 : Courbe étalon de la catéchine.....	57
Figure 15 : Courbe étalon de l'acide gallique.....	57
Figure 16 : Chromatogramme de la RP-HPLC-PDA de la fraction acétate d'éthyle de <i>B. dioïca</i>	59
Figure 17 : Chromatogramme de la RP-HPLC-PDA de la fraction n-butanol de <i>B. dioïca</i>	59
Figure 18 : Chromatogramme de la RP-HPLC-PDA de la fraction acétate d'éthyle de <i>C. colocynthis</i>	60
Figure 19 : Chromatogramme de la RP-HPLC-PDA de la fraction n-butanol de <i>C.colocynthis</i>	60
Figure 20 : Effet antiradicalaire sur le DPPH exprimé en pourcentages de réduction en	

fonction des concentrations des molécules antioxydantes de références (A) et les extraits de <i>Bryonia dioïca</i> (B) et de <i>Citrullus colocynthis</i> (C).....	62
Figure 21 : Effet antiradicalaire sur la réduction de l'ABTS exprimé en pourcentages de réduction en fonction des concentrations des molécules antioxydantes de références (A) et les extraits de <i>Bryonia dioïca</i> (B) et <i>Citrullus colocynthis</i> (C).....	65
Figure 22 : Pouvoir réducteur du fer des molécules antioxydantes de références (A) et des extraits des racines de <i>Bryonia dioïca</i> (B) et de <i>Citrullus colocynthis</i> (C).....	68
Figure 23 : Pouvoir réducteur du cuivre des molécules antioxydantes de références (A) et des extraits des racines de <i>Bryonia dioïca</i> (B) et de <i>Citrullus colocynthis</i> (C)	70
Figure 24 : Pouvoir réducteur du complexe Fe+2/phénantroline des molécules antioxydantes de références (A) et des extraits de <i>Bryonia dioïca</i> (B) et de <i>Citrullus colocynthis</i> (C)	73
Figure 25 : Courbe étalon de l'acide gallique.....	74
Figure 26 : Effet inhibiteur de l'activité de l' α -amylase par l'acarbose (A) et les extraits de <i>B. dioïca</i> (B) et <i>C. colocynthis</i> (C).....	78
Figure 27 : Effet inhibiteur de l'activité de l' α -glucosidase par l'acarbose (A) et les extraits de <i>B. dioïca</i> (B) et <i>C. colocynthis</i> (C).....	81

Liste des abréviations

µg eq AG/mg E : Microgrammes équivalent d'acide Gallique par milligramme d'extrait
µg eq Cat /mg E : Microgrammes équivalent de catéchine par milligramme d'extrait
AAPH : (2,2'-azobis (2-aminodipropane) dihydrochloride).
ABTS : 2,2'-azino-bis 3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique
ADA : Association Américaine du diabète.
AGE : Produit final de glycation avancée
AmB : Amphotéricine B
ATCC : American Type Culture Collection
BDR_{aq} : extrait aqueux des racines de *B. dioica*
BDR_{AT} : fraction acétate d'éthyle des racines de *B. dioica*
BDR_{CL} : fraction chloroforme des racines de *B. dioica*
BDR_{EM} : extrait eau-méthanol des racines de *B. dioica*
BDR_{n.but} : fraction n. butanol des racines de *B. dioica*
BHA : Hydroxyanisole Butylé
BHT : Hydroxytoluène Butylé
CAT : Capacité antioxydante totale
CCF_{aq} : extrait aqueux des fruits de *C. colocynthis*
CCF_{AT} : fraction acétate d'éthyle des fruits de *C. colocynthis*
CCF_{CL} : fraction chloroforme des fruits de *C. colocynthis*
CCF_{EM} : extrait eau-méthanol des fruits de *C. colocynthis*
CCF_{n.but} : fraction n. butanol des fruits de *C. colocynthis*
CI₅₀ : Concentration à 50%
CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute
CMI: Concentration Minimal Inhibitrice
CUPRAC: Cupric Reducing Antioxydant Capacity
DPPH : 2,2diphényl-picrylhydrazyl
ERN : Espèces réactives de l'azote
ERO : Espèces réactives de l'oxygène
ES : Erreur standard
FRAP: Ferric Reducing Antioxydant Power
Gent: Gentamicine
OMS : Organisation Mondiale de la Santé
PBS: Phosphate Buffered Saline
RP-HPLC-PDA: Reverse Phase- High Performance Liquid Chromatography Photo DiodeArray
UFC : Unité Formant Colonie
V/V : volume/volume

Tables des matières

Introduction générale	01
Synthèse Bibliographique.....	05
Matériel et Méthodes	
I. Etude phytochimique des racines de la bryone et des fruits de la coloquinte.....	29
1. Matériel végétal.....	29
2. Préparation des extraits.....	30
2.1. Préparation de l'extrait aqueux.....	30
2.2 Préparation de l'extrait eau-méthanol et ses fractions chloroforme, acétate d'éthyle et n-butanol.....	30
3. Calcul du rendement d'extraction.....	32
4. Screening phytochimique.....	32
5. Dosage de polyphénols et flavonoïdes totaux.....	34
5.1. Dosage de polyphénols.....	34
5.2. Dosage des flavonoïdes totaux.....	35
6. L'analyse des composés phénolique par RP-HPLC-PDA.....	35
II. Etude des activités biologiques.....	36
1. Activité antioxydante	36
1.1 Evaluation de l'activité antiradicalaire par la méthode de piégeage du radical libre DPPH.....	36
1.2. Piégeage de l'ABTS (2,2'-azinobis-[3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid]).....	38
1.3. Test de pouvoir réducteur du fer.....	39
1.4. Test de la capacité antioxydante par réduction du cuivre (CUPRAC)Principe.....	40
1.5 Activité antioxydante basée sur la réduction du complexe Fe ⁺² -Phenanthroline.....	41
1.6. Capacité antioxydante totale CAT	42
1.7. Etude du l'effet cytoprotecteur des extraits de <i>Citrullus colocynthis</i> et <i>Bryonia dioïca</i> sur les globules rouges soumis à une agression radicalaire par le AAPH.....	43
1.7.1 Préparation de la suspension érythrocytaire.....	43
1.7.2 Mesure du taux de l'hémolyse.....	44
2. Evaluation de l'activité antidiabétique des extraits de <i>Citrullus colocynthis</i> et <i>Bryonia dioïca</i>	44

2.1. Evaluation de l'effet des extraits sur l' α - amylase.....	45
2.1.1. Réactifs utilisés.....	45
2.2. Evaluation de l'effet des extraits sur l' α -glucosidase	46
2.2.1 Réactifs utilisés	47
3. Evaluation de l'activité antimicrobienne des extraits de <i>Citrullus colocynthis</i> et <i>Bryonia dioïca</i>	48
3.1. Méthode de diffusion sur gélose : Méthode des disques.....	49
3.2. Méthode des dilutions sur milieu liquide	50
3.3. Evaluation de l'activité antifongique.....	50
3.4. Evaluation de l'activité antibiofilm : Test anti-adhésion des bactéries	51
4. Analyses statistiques.....	52

Résultats et interprétation

I. Etude phytochimique.....	54
1. Caractéristiques des extraits des racines de la bryone et des fruits de la coloquinte.....	54
2. Screening phytochimique.....	55
3. Teneur en polyphénols et en flavonoïdes totaux.....	57
4. Identification des composés phénoliques par RP-HPLC-PDA.....	58
II. Les activités biologiques des extraits de <i>B. dioïca</i> et de <i>C. colocynthis</i>	61
1. Activité antioxydante.....	61
1.1. Effet antiradicalaire des extraits de <i>B. dioïca</i> et <i>C. colocynthis</i> sur le DPPH	61
1.2. Effet antiradicalaire des extraits de <i>B. dioïca</i> et <i>C. colocynthis</i> sur l'ABTS.....	64
1.3.Effet des extraits de <i>B. dioïca</i> et <i>C. colocynthis</i> sur la réduction du fer	66
1.4. Effet des extraits de <i>B. dioïca</i> et <i>C. colocynthis</i> sur la réduction du cuivre	69
1.5 Effet des extraits de <i>B. dioïca</i> et <i>C. colocynthis</i> sur la réduction la réduction du complexe Fe^{+2} -Phenanthroline	71
1.6. Capacité antioxydante totale CAT.....	74
1.7. Effet cytoprotecteur des extraits de <i>B. dioïca</i> et <i>C. colocynthis</i> sur les globules rouges soumis à une agression radicalaire par le AAPH	75
2. Activité antidiabétique.....	77
2.1. Effet des extraits de <i>B. dioïca</i> et <i>C. colocynthis</i> sur l'inhibition de l'activité de l' α -amylase.....	77

2.2. Effet des extraits de <i>B. dioïca</i> et <i>C. colocynthis</i> sur l'inhibition de l'activité de l' α -glucosidase.....	79
3. Activité antimicrobienne.....	82
3.1. Effet antibactérien et antifongique des extraits de <i>B. dioïca</i> et <i>C. colocynthis</i>	82
3.2. Effet anti-adhésion bactérienne (test antibiofilm) des extraits de <i>B. dioïca</i> et <i>C. colocynthis</i>	86
Discussion	91
Conclusion et perspectives	100
Références bibliographiques	103

Introduction

Introduction

Depuis quelques années, le monde des sciences biologiques et médicales est envahi par un nouveau concept, celui du « stress oxydatif », qui résulte d'un déséquilibre entre le mécanisme de défense antioxydant naturel chez l'homme et les radicaux libres et engendre des lésions à diverses structures cellulaires (**Vanielie et al., 2019**).

Actuellement, il est bien admis que même si un stress oxydant n'est pas une maladie en soi, il est potentiellement impliqué dans le développement de diverses maladies comme facteur déclenchant notamment le diabète sucré, les maladies cardiovasculaires, l'athérosclérose, le cancer, la polyarthrite rhumatoïde, les troubles neurologiques et le vieillissement (**Duletić-Laušević et al., 2019**).

Le diabète sucré est parmi les maladies métaboliques chroniques qui constituent un problème majeur de santé publique à l'échelle mondiale sa prévalence est en progression alarmante près de 463 millions de personnes sont diabétiques dans le monde, ce chiffre est estimé d'atteindre 700 millions en l'an 2045 (**FID, 2019**).

De nombreuses études admettent que le diabète sucré s'accompagne d'un stress oxydatif favorisant la progression des complications liées à cette maladie (**Ramdane et al., 2019**). En effet, le stress oxydatif via la formation des radicaux libres oxygénés constitue la cause principale de l'installation et le développement des troubles diabétiques comme l'insulinorésistance et les complications macro- et microangiopathiques. Il est admis que l'augmentation du glucose dans le milieu intra- ou extracellulaire contribue à la diminution des mécanismes de défense antioxydants (**Sow et al., 2019**).

La gravité du diabète sucré est liée essentiellement à la sévérité de ses complications qui conduisent à un taux de mortalité élevé. Près de quatre millions de décès annuels dans le monde sont enregistrés chez les diabétiques, dont la cause de mortalité est l'accident cérébrovasculaire et les complications rénales. De ce fait, une prise en charge médicale demeure indispensable aux diabétiques. Le traitement initial est basé sur des règles hygiéno-diététiques et sur l'activité physique, si les objectifs glycémiques ne sont pas atteints le traitement médicamenteux est nécessaire et il repose sur les antidiabétiques oraux et l'insuline. Ces traitements présentent des effets secondaires importants et inévitables, et sont coûteux pour la population des diabétiques (**Bahare et al., 2019**).

Introduction

Une autre menace perpétuelle qui frappe la santé publique mondiale est les maladies infectieuses, qui sont les principales causes de mortalité mondiale, elle représente environ 50% de tous les décès dans les pays tropicaux (**OMS, 2003**). Les infections bactériennes liées à l'émergence de la résistance aux antibiotiques constituent un réel problème de santé publique (**Spellberg et al., 2008**). L'adhésion de bactéries pathogènes ou opportunistes à une surface de manière réversible et/ou irréversible conduit à la formation de biofilms et favorise de plus la contamination microbienne et la résistance aux antibiotiques (**Elfazazi et al., 2018**). Devant ce problème de la résistance aux antibiotiques, la découverte de nouvelles molécules anti-infectieuses est primordiale. Pour cela, les recherches scientifiques actuelles se sont basées sur l'exploitation et la valorisation des plantes médicinales pour le développement de nouvelles molécules d'origine végétale.

L'intérêt porté aux nouvelles sources des molécules bioactives et thérapeutiques à été renouvelé grâce à la croissance rapide de la population humaine combinée aux perpétuels bouleversements économiques ainsi qu'au danger que peuvent avoir les produits chimiques sur la santé humaine. Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) environ 80% de la population mondiale dépend des plantes médicinales pour traiter des maladies, principalement en Afrique et dans d'autres pays en développement (**Okoye et al., 2014 ; Chentir et Nasri, 2020**).

Au cours de ces dernières décennies, une attention particulière a été accordée à la médecine traditionnelle afin de recenser les plantes médicinales de la pharmacopée traditionnelle et le développement de nouveaux médicaments d'origine végétale. Afin de promouvoir leurs utilisations optimales dans les systèmes de prestation des soins de santé comme complémentaire ou alternative à l'utilisation des médicaments de synthèse (**Gbekley et al., 2017**).

Le développement de nouveaux médicaments s'appuie largement sur la chimie de synthèse, et sur l'inventaire des plantes médicinales. Plusieurs enquêtes ethnobotaniques ont été réalisées en Algérie afin de recenser les plantes les plus utilisées en médecine traditionnelle, en particulier les plantes utilisées dans le traitement du diabète sucré, l'hypertension artérielle, le rhumatisme, la fièvre, l'influenza, les infections respiratoires et le cancer (**Azzi et al., 2012 ; Bouafia et al., 2021**). Parmi ces plantes nous nous sommes intéressés à deux espèces végétales de la famille des cucurbitacées, *Bryonia dioïca* Jacq (la bryone) et *Citrullus colocynthis* (L.) Schrad (la coloquinte). Cette dernière espèce, est souvent citée dans de

Introduction

nombreuses enquêtes ethnopharmacologiques car elle est très utilisée pour le traitement traditionnel du diabète sucré dans de nombreux pays comme l'Algérie, le Maroc, la Jordanie, l'Iran, et l'Inde (Azzi et al., 2012 ; Tahraoui et al., 2007 ; Al-Aboudi et Afifi, 2011 ; Nowbandegani et al., 2015 ; Grover et al., 2002).

L'objectif du présent travail repose sur l'étude phytochimique et l'évaluation *in vitro* de l'activité antioxydante, antidiabétique, et antimicrobienne des extraits aqueux et organiques des racines de *Bryonia dioïca* et du fruit de *Citrullus colocynthis*.

L'approche expérimentale de cette étude regroupe deux grandes parties. La première est l'étude phytochimique des espèces étudiées, elle consiste à la préparation des extraits bruts aqueux et organiques et leurs fractions à partir des racines de *Bryonia dioïca* et du fruit de *Citrullus colocynthis*. Ces extraits font l'objet d'un screening phytochimique, un dosage de polyphénols et de flavonoïdes totaux, et une analyse chromatographique RP-HPLC-PDA. La deuxième partie porte sur l'évaluation *in vitro* de l'activité antioxydante en utilisant le test de piégeage du radical libre DPPH, et du radical ABTS, le test du pouvoir réducteur du fer (FRAP) et du cuivre (CUPRAC), le pouvoir antioxydant basé sur la réduction de phénantroline, le test de la capacité antioxydante totale, ainsi que et l'évaluation de l'effet anti-hémolytique des extraits. L'activité antidiabétique de *C. colocynthis* et *B. dioïca* a été évaluée par mesure de l'effet des extraits sur l'activité des enzymes digestives α -glucosidase et α -amylase. Nous avons également évalué l'effet antibactérien, antifongique des extraits obtenus en utilisant la méthode de diffusion en milieu solide et la méthode de microdilution en milieu liquide. L'activité antibiofilm a été évaluée par le test anti-adhésion des bactéries à la surface des microplaques.

Le présent manuscrit est structuré comme suit ; une introduction générale qui présente la problématique et l'objectif du travail ; suivie par une synthèse bibliographique sur le stress oxydatif et les maladies associées au stress oxydatif, le diabète sucré et les maladies infectieuses, ensuite une présentation des plantes étudiées *C. colocynthis* et *B. dicoïca*. Dans la partie matériel et méthodes, les techniques et les méthodes utilisées sont bien détaillés, on procède par la suite à la présentation et l'interprétation des résultats obtenus, une discussion générale et des perspectives.

Synthèse Bibliographique

Synthèse Bibliographique

Le stress oxydatif est un état pathologique qui survient lorsque la production des radicaux libres dépasse la capacité du système antioxydant à les éliminer, ce qui engendre un déséquilibre néfaste dans l'organisme (**Zhang et al., 2023**). En raison d'un manque de capacité antioxydante ou d'un excès de radicaux libres, cela peut entraîner une surformation ou une sous-suppression des radicaux libres (**Persson et al., 2014 ; Pisoschi et Pop, 2015**).

Les radicaux libres sont des entités chimiques de courte durée de vie contenant un ou plusieurs électrons non appariés sur leur dernière couche électronique. Par conséquent, ils peuvent réagir rapidement avec d'autres substances pour obtenir leur stabilité et provoquant leur oxydation, ils sont appelés des oxydants (**Asmat et al., 2016 ; Radi et al., 2018**).

Ils sont hautement réactifs et classés comme espèces réactives de l'oxygène (ERO), qui comprennent des dérivés de radicaux libres tels que l'anion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$) ou le radical hydroxyle (OH^{\cdot}), et certains radicaux moléculaires (forme non radicalaire) où la toxicité est importante dérivent de l'oxygène tels que le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) ; les espèces réactives de l'azote (RNS) dérivent de l'oxyde nitrique ou le monoxyde d'azote (NO) (**Sosa et al., 2013 ; Pisoschi et Pop, 2015 ; Weidinger et Kozlov, 2015**).

L'origine de ces radicaux libres est variée, elle peut être exogène, comme l'exposition prolongée au soleil, les rayonnements (UV, ionisants), le tabagisme, la consommation excessive d'alcool et de drogues, l'exposition à des substances cancérigènes, la pollution, les agents chimiques, les solvants industriels. L'origine endogène issue des phénomènes inflammatoires chroniques ou aiguës et la chaîne de transport d'électrons dans les mitochondries (**Franco et al., 2009 ; Pickering et al., 2013**).

Les radicaux libres jouent un rôle physiologique dans de nombreuses voies moléculaires comme celles de la signalisation cellulaire, la plasticité synaptique, la défense contre les agents pathogènes, l'interaction cellule-cellule, la croissance cellulaire, l'autophagie, processus apoptotique et vieillissement (**Bokkon, 2012 ; Angelova et Abramov, 2018**). Par ailleurs à des concentrations élevées toutes les espèces réactives de l'oxygène sont extrêmement destructeurs pour les organismes et qui peuvent provoquer la peroxydation des lipides, l'oxydation des protéines, des altérations aux acides nucléiques, l'inhibition enzymatique, l'activation de l'apoptose et finalement la mort des cellules (**Madkour, 2020**).

Les effets toxiques des peroxydes lipidiques se manifestent par deux mécanismes principaux.

Synthèse Bibliographique

Initialement, la peroxydation lipidique modifie considérablement l'assemblage, la composition, la structure et la dynamique des membranes lipidiques, qui sont essentielles au maintien de l'intégrité de la membrane. Deuxièmement, en tant que composés extrêmement réactifs, les peroxydes lipidiques sont capables de multiplier la génération d'espèces réactives supplémentaires de l'oxygène et peuvent être décomposés en composés réactifs ayant le potentiel de se lier à l'ADN et aux protéines (**Gaschler et Stockwell, 2017**).

La modification oxydative des protéines par les pro-oxydants peut être de divers types ; l'oxydation des chaînes latérales des acides aminés, les résidus aliphatiques (lysine, arginine), aromatiques (tyrosine) et soufrés (méthionine, cystéine) sont particulièrement sensibles à l'action des radicaux hydroxyles ; ou bien clivage des liaisons peptidiques, oxydation de certains acides aminés ou interactions de la chaîne latérale avec les produits de peroxydation lipidique pour former des protéines carbonyles. Ces modifications sont irréparables et peuvent entraîner des changements de structure secondaire et tertiaire, l'agrégation de protéines ou la protéolyse, affectant ainsi la fonction de ces macromolécules (**Therond, 2006 ; Dichi et al., 2014 ; Mputu Kanyinda et al., 2014**).

L'oxydation peut également endommager l'ADN nucléaire et mitochondrial par oxydation des bases puriques et pyrimidines (les bases guanines sont des sites préférentiels pour les réactions de transfert d'électrons), en provoquant ainsi des ruptures de brins et même des ruptures de liaisons entre les bases et le squelette désoxyribose (**Favier, 2003 ; Valko et al., 2006**). Ces modifications permanentes sont à l'origine d'un arrêt d'induction de la transcription, à des erreurs de réplication et à une instabilité génomique impliquée dans le déclenchement du cancer et le vieillissement cellulaire (**Favier, 2003 ; Valko et al., 2006 ; Zhang et al., 2013**).

Les endommagements oxydatifs causés par les radicaux libres contribuent à la pathogenèse et à la physiopathologie de diverses maladies, notamment les maladies neurodégénératives (Alzheimer et Parkinson), les maladies cardiovasculaires, le cancer et le diabète (**Toda, 2011 ; Maulik et al., 2013 ; Rabiei et al., 2019**).

Les maladies non transmissibles ou maladies chroniques, sont des pathogènes qui ne se transmettent pas d'une personne à une autre. C'est des maladies qui peuvent être très graves et qui peuvent engendrer une mortalité élevée. D'après l'organisation mondiale de la santé (OMS), Elles sont responsables de 41 millions de décès chaque année et représentent environ

Synthèse Bibliographique

71% de tous les décès dans le monde (**OMS, 2019**). Le diabète sucré est l'une des maladies non transmissibles les plus répandues dans le monde. Il a atteint des proportions alarmantes : près d'un demi-milliard de personnes dans le monde vivent avec le diabète (**FID, 2019**).

Le diabète sucré est une affection métabolique dont la caractéristique principale est une hyperglycémie chronique, causée par une insuffisance relative en insuline, ou d'anomalie de l'action de l'insuline sur les tissus cibles ou une combinaison de ces deux anomalies (**Lankatillake et al., 2019**). Les personnes atteintes de cette maladie présentent différents symptômes dont les plus communs sont : polyurie, polydipsie, amaigrissement, polyphagie, fatigue, infections vaginales pour les femmes, troubles visuels, engourdissement des mains/pieds. Selon l'association Américaine du diabète **ADA (2020)**, il y a quatre types de tests adoptés pour considérer une personne comme diabétique : le dosage de la glycémie à jeun, le diagnostic est posé lorsque la glycémie à jeun est supérieure à 7 mmol/l, soit 1,26 g/l à deux reprises, le test de tolérance au glucose par voie orale, une glycémie supérieure à 2 g/l (11,1 mmol/l) 2 heures après une charge de 75 g de glucose, qui nous orientent vers un diabète. Le test de la glycémie aléatoire, une glycémie supérieure ou égale à 2g/l à tout moment de la journée indique le survenu d'un diabète. Le test de l'hémoglobine glyquée ($HbA1C \geq 6,5\%$) c'est l'indice le plus précis à la recherche et surtout à la surveillance du diabète et l'efficacité du traitement.

Le diabète sucré pose un problème majeur de santé publique qui apparaît comme un énorme fardeau sanitaire et socio-économique (**Basit et al., 2018**). Le nombre de personnes atteintes de diabète a augmenté dans tous les pays en progression continue est surtout les pays en voie de développement. D'après les estimations et les statistiques de la fédération internationale du diabète (**2019**), 194 millions de personnes sont atteints en 2003. Ce nombre a augmenté à 366 millions en 2011, 425 millions en 2017 et à 463 millions en 2019. Les projections de **FID (2019)** ont dénombré que le chiffre des diabétiques pourra atteindre 700 millions dans le monde en 2045 (**figure 1**)

Dans la région du Moyen-Orient et de l'Afrique du nord en 2019, 54,8 millions d'adultes âgés de 20 à 79 sont diabétiques, les pays qui comptent le plus grand nombre d'adultes âgés de 20 à 79 ans vivant avec le diabète sont le Pakistan (19,4 millions), l'Égypte (8,9 millions) et l'Iran (République Islamique) (5,4 millions). En Algérie, le nombre des diabétiques

Synthèse Bibliographique

présentent une augmentation de 80% entre 2003 et 2017 avec une prévalence de 8,9% de diabétiques soit de plus de 4,5 millions des cas (FID, 2019).

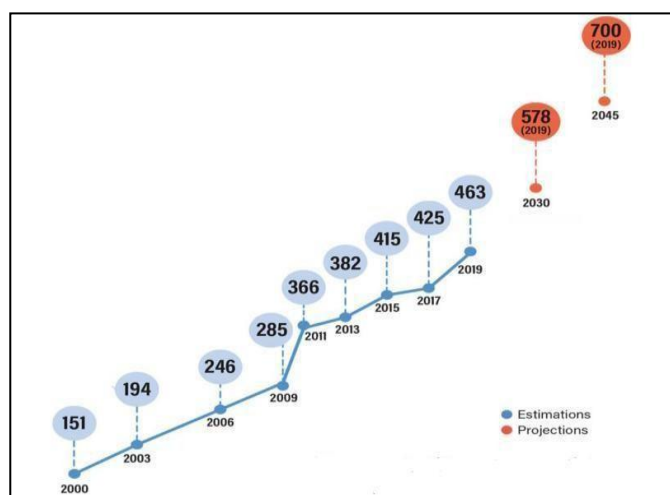


Figure 1 : Estimations et projections de la Fédération Internationale du Diabète des diabétiques dans le monde depuis 2000 à 2045 (FID, 2019).

L'étiologie du diabète sucré définit différents types, dont deux types sont majoritaires c'est le type 1 et le type 2 plutôt que diabète insulino-dépendant "DID" et diabète non insulino-dépendant "DNID". Il existe d'autres formes comme le diabète gestationnel et autres types spécifiques de diabète (ADA, 2014).

Le diabète de type 1 est une maladie auto-immune qui résulte de la destruction des cellules β des îlots de Langerhans pancréatiques. Cette destruction est provoquée par les lymphocytes T (CD^{4+} et CD^{8+}) conduisant à une dépendance à l'insuline exogène (OMS, 2016 ; FID, 2019). Il représente environ 10% de l'ensemble des diabétiques en particulier les enfants et les jeunes adultes (Ozturk et al., 2018). Il se caractérise principalement par la destruction progressive des cellules β du pancréas attribuable à un processus à médiation immunitaire, lorsqu'il ne reste que 10 à 20% des cellules β fonctionnelles cela va entraîner une insuffisance à maintenir les valeurs normales de la glycémie (Ekoé et al. 2013 ; ADA. 2012). D'autres facteurs peuvent conduire à des lésions pancréatiques qui peuvent être génétique (Marchand et Thivolet, 2016), ou les infections virales (rotavirus, myxovirus paroditis, rubivirus) (Coppieters et al., 2012). Le diabète de type 2 est caractérisé par une insulino-résistance (anomalies des effets de l'insuline sur ses tissus cibles) et/ou une insulino-pénie (carence de l'insuline). C'est la forme la plus fréquente, elle survient le plus souvent chez l'adulte et touche plus de 85% des diabétiques (Infante-Garcia et Garcia-Alloza, 2019). Ce type du diabète résulte de la combinaison de

Synthèse Bibliographique

plusieurs gènes de susceptibilité dont l'expression dépend des facteurs environnementaux tels que l'obésité, la graisse androïde, une alimentation déséquilibrée et la sédentarité (**FID, 2019**).

Le diabète gestationnel ou gravidique qui est défini comme une résistance à l'insuline conduisant à une hyperglycémie diagnostiquée pendant la grossesse et qui disparaît après l'accouchement, son traitement repose sur l'administration de l'insuline à la femme enceinte. Cependant les femmes qui ont souffert du diabète gestationnel sont à risque d'avoir un diabète de type 2 après l'accouchement (**FID, 2019**).

Il existe d'autres types de diabète, ce sont des diabètes secondaires résultant à des conditions spécifiques ou génétique : pancréatopathie (pancréatite chronique ou aiguë, tumeur, l'hémochromatose), endocrinopathies (phéochromocytomes, acromégalie, syndrome de Cushing, hyperthyroïdie, tumeurs endocrines pancréatiques et digestives), ou des dysfonctionnements d'origine génétique des cellules β (diabète MODY: Maturity Onset Diabetes of the Young) et diabète mitochondrial (**Maugendre et al., 2007 ; FID, 2019**).

Le diabète s'il est mal contrôlé, peut conduire à de nombreuses complications. Ils sont de deux formes aiguës et chronique. Les complications métaboliques aiguës les plus souvent sont l'acidocétose et le coma hyperosmolaire associés à une hyperglycémie (**Marsaudon, 2011 ; Monnier, 2014**). L'hypoglycémie est le plus souvent, la conséquence d'erreurs thérapeutiques ou d'un défaut de surveillance (**Grimaldi et al., 2009**). Les complications chronique sont microangiopathiques et/ou macroangiopathiques (**Lugrin et al., 2014**). Les complications microangiopathiques touchent des petits vaisseaux sanguins, notamment au niveau de l'oeil (rétinopathie), des reins (néphropathies) et du cerveau (neuropathie) (**OMS, 2016**). Ces complications peuvent être également macro-angiopathies conduisent à des accidents cardiaques et cérébraux et d'amputation des membres inférieurs (artérite, ischémie et troubles trophiques du pied), contribuant à la morbidité et à la mortalité des patients par accumulation des corps cétoniques (**ADA, 2020**).

L'objectif prioritaire du traitement du diabète sucré consiste à maintenir la glycémie autour de sa valeur normale et de prévenir ainsi les complications métaboliques aiguës et chroniques. Selon l'organisation mondiale de la santé (**OMS, 2016**) le traitement et la gestion du diabète s'associe habituellement à des recommandations d'hygiène diététiques dont l'importance d'une alimentation saine, une activité physique adéquate et du traitement approprié. Chez les

Synthèse Bibliographique

patients présentant un diabète du type 1, la thérapeutique repose sur l'insulinothérapie, qui reste le moyen le plus efficace et le plus disponible afin de pallier le manque de production de cette hormone et réguler le taux de la glycémie dans le sang (ADA, 2016). Dans le cas du diabète de type 2, son traitement repose en premier lieu sur des mesures hygiéno-diététiques nécessitant un régime alimentaire équilibré hypocalorique, riche en fibres alimentaires et en graisses insaturées associées à une activité physique régulière. En cas d'inefficacité des mesures hygiéno-diététiques, plusieurs thérapies pharmaceutiques sont actuellement disponibles pour traiter le diabète avec différents modes d'action (tableau 1)

Tableau 01 : Thérapies anti-hyperglycémiques orales courantes et leurs modes d'action

	Mode d'action	Effets indésirables	Contre indications	Références
Sulfonylurés : Tolbutamide	Augmentent la sécrétion de l'insuline pancréatique	Hypoglycémie, prise de poids, risque accru de maladies cardiovasculaires	Maladie rénale et hépatique, prédisposition à l'hypoglycémie, grossesse, Chirurgie majeure, allergies aux sulfamides	(ADA, 2009)
Inhibiteurs α - glucosidase : Acarbose	Réduisent l'absorption des glucides alimentaires	Perturbations gastro-intestinales : flatulence, diarrhée	Maladie rénale et hépatique, syndrome du côlon irritable, grossesse, allaitement, enfants <12ans	(Tremblay et al.,2010)
Biguanides: Metformine	Augmentent la sensibilité à l'insuline et réduisent la production de glucose hépatique	Problèmes gastro-intestinaux, goût métallique, altération possible de l'absorption des vitamines B12 et B9, acidose lactique, risque d'hypoglycémie	Maladie rénale et hépatique, insuffisance cardiaque ou respiratoire, antécédents d'acidose lactique, infection grave, grossesse.	(ADA, 2009 ; Samuel et Shulman, 2012 ; Pataky et al.,2019)
Inhibiteurs de DPP-4 : Sitagliptine	Inhibent la sécrétion de glucagon et favorisent la production d'insuline	Risque accru d'infection, maux de tête	Antécédents d'hypersensibilité à la sitagliptine	(Diamant et Heine, 2003 ; Nanjan et al.,2018)
Inhibiteurs de SGLT-2 : Dapaglifozine	Réduisent la réabsorption du glucose dans les reins	Risque accru d'infections des voies urinaires, risque d'acidocétose	Maladie rénale	(Hsia et al., 2018; Wanner et Marx,2018)

Diverses classes de médicaments antidiabétiques visent à contrôler la glycémie chez les diabétiques du type 2, hors l'insuline seule. Ces classes d'antidiabétiques oraux se distinguent par leurs modes d'action ;

Synthèse Bibliographique

- Les insulinosécréteurs sont les sulfonylurés (Tolbutamide, Glipizide, Glyburide, Glimépiride) et les méglitinides (Repaglinide, Nateglinide). Appelés *insulinosécrétagogues*, Stimule la production endogène d'insuline par les cellules β pancréatiques (ADA, 2009).
- Les insulinosensibilisateurs sont des insulinomimétiques qui comprennent les biguanides (Metformine) et les thiazolidinediones (Pioglitazone, Rosiglitazone), ils favorisent la captation et l'utilisation périphérique du glucose (Diamant et Heine, 2003 ; ADA, 2009 ; Nanjan et al., 2018).
- Les inhibiteurs enzymatiques inhibent spécifiquement l' α -amylase et les α -glucosidases localisées dans l'épithélium de l'intestin qui décompose les disaccharides et les hydrates de carbone plus complexes. Ils retardent l'absorption des sucres au niveau tube digestif, limitant ainsi l'augmentation de la glycémie plasmatique Postprandiale. Ils sont représentés par l'acarbose, le miglitol et le voglibose (Zhang et al., 2011).
- Les incrétinomimétiques (Sitagliptine, Vildagliptine et Saxagliptine) sont connus par les inhibiteurs de la DPP-4 (Dipeptidyl peptidase-4) et des analogues du GLP-1 (Glucagon-like peptide-1). Ils agissent sur l'appétit en ralentit la vidange gastrique et induit la satiété, ils inhibent la sécrétion de glucagon et favorisent la production de l'insuline (Davidson et al., 2008 ; Campbell et White, 2008).
- Les inhibiteurs du co-transporteur de glucose de sodium (SGLT) sont une nouvelle classe des antidiabétiques oraux, elle comprend Dapaglifozin, Empaglifozin, et Ertuglifozin. Ils inhibent les protéines SGLT-2 dans les tubules proximaux rénaux responsables de la réabsorption du glucose (Hsia et al., 2018). Ce type de médicament facilite l'élimination du glucose dans les urines en inhibant sa réabsorption par le rein (Hsia et al., 2018 ; Wanner et Marx, 2018).

En raison de l'échec des traitements médicamenteux conventionnels du diabète, de l'incidence élevée des effets indésirables qui y sont associés (troubles digestifs, hypoglycémie) et du coût élevé pour les systèmes de santé des pays à faible revenu (17 % du budget total dans le Moyen-Orient et l'Afrique du Nord); certaines recherches scientifiques se sont orientées vers l'utilisation et l'exploitation des plantes médicinales comme source inépuisable de principe actifs et le développement de nouveaux médicaments antidiabétiques d'origine végétale (Pillon et al., 2014; Karuranga et al., 2017).

Synthèse Bibliographique

La galégine est la première molécule antidiabétique d'origine végétale. Cet alcaloïde toxique, dérivé de guanidine aux propriétés antidiabétiques puissantes a été isolé de *Galega officinalis* en 1914. La metformine, un dérivé de la galégine, a été utilisée depuis 1957 comme antidiabétique non toxique (**Figure 02**), il est actuellement le seul biguanide hypoglycémiant oral de référence pour le traitement du diabète de type 2 (**Foretz et al., 2014 ; Holaly et al., 2017 ; Habtemariam, 2019**).

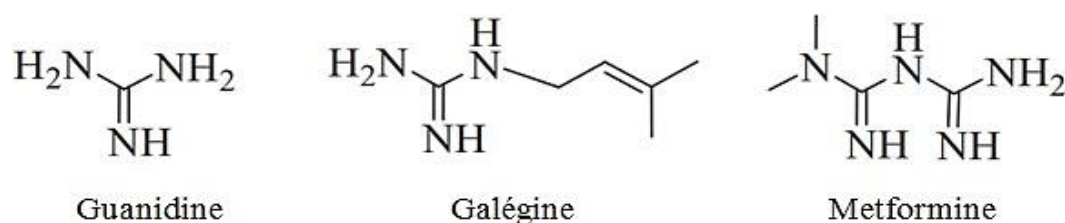


Figure 02 : Structure chimique de la Guanidine, Galégine et Metformine
(**Habtemariam, 2019**).

Plusieurs plantes médicinales ont montré leur capacité à traiter le diabète sucré en développant divers mécanismes d'actions. **Le tableau 02** résume le mécanisme d'action de quelques constituants phytochimiques antidiabétiques.

Synthèse Bibliographique

Tableau 02 : Mécanisme d'action antidiabétiques de certains composants phytochimiques (Ahangarpour et al., 2019 ; Adjdir S. 2022)

Composant phytochimique antidiabétique	Mécanisme d'action
Resvératrol	<ul style="list-style-type: none">▪ Stimule l'absorption du glucose en absence de l'insuline en augmentant l'expression des GLUT4.▪ Stimule la sécrétion de l'insuline▪ Diminue le taux de l'hémoglobine glyquée.
Curcumine	<ul style="list-style-type: none">▪ Stimulation directe de la sécrétion de l'insuline par les cellules β pancréatiques.▪ Inhibe la formation des AGE.▪ Empêche l'apparition de la cataracte.
Acide chlorogénique	<ul style="list-style-type: none">▪ Potentialise l'action de l'insuline sur les cellules cibles.▪ Diminue l'hyperglycémie postprandiale en inhibant l'α-glucosidase.▪ Inhibe la glucose-6-phosphatase.▪ Diminue (voir élimine) l'absorption intestinale du glucose par inhibition de la Glucose-6-phosphate translocase et la réduction du transport de glucose apical.▪ Stimule l'absorption du glucose dans les myotubes et les adipocytes par activation de la voie Kinase dépendante (AMPK).
Acide ellagique	<ul style="list-style-type: none">▪ Stimule la sécrétion de l'insuline.▪ Augmente la captation du glucose sanguin par les tissus périphériques.▪ Inhibe la formation de l'hémoglobine glyquée.

De nombreux travaux scientifiques ont montré l'implication du stress oxydatif dans la pathogénèse du diabète sucré et ses complications (Kahn et al., 2006 ; Kaneto et al., 2010 ; Tatsch et al., 2012 ; Oguntibeju, 2019). Le stress oxydant conduit à la destruction insulaire du pancréas, soit par nécrose ou apoptose des cellules β (Bonfont-Rousselot, 2002 ; Ramkumar et al., 2013). Les effets délétères de l'hyperglycémie chronique (glucotoxicité) trouvent leur impact au niveau mitochondrial (Brownlee, 2001) par la surproduction du radical superoxyde dans plusieurs tissus comprenant le pancréas, qui active l'accroissement ultérieur des ERO intracellulaires. Par conséquent, les ERO semblent être les agents responsables de la pathogénie du diabète par l'endommagement des cellules β ce qui est à l'origine d'une inhibition de la sécrétion de l'insuline (Giacco et Brownlee, 2010 ; Halliwell,

Synthèse Bibliographique

2012). D'après **Barquissau et al., (2011)** le stress oxydant inhibe à la fois la sécrétion de l'insuline et la transduction de son signal, et conduit à l'insulinorésistance. L'augmentation du stress oxydant implique l'apparition des complications du diabète sucré selon plusieurs mécanismes pathogéniques ;

- **La voie des polyols** : En situation d'hyperglycémie chronique, l'hexokinase qui permet la phosphorylation du glucose en glucose-6-phosphate dans les voies de la glycolyse et des pentoses phosphates est saturée. Sous l'action de l'aldose réductase, qui n'est active qu'à fortes concentrations de glucose et en présence du NADPH comme co-facteur et du sorbitol, le glucose est transformé en sorbitol puis en fructose, respectivement. Le rapport NADH/NAD^+ s'élève et entraîne une inhibition de la glycéraldéhyde-3-phosphate déshydrogénase et une accentuation de la formation des AGE. L'augmentation de la concentration en sorbitol et fructose conduit à un oedème osmotique au niveau oculaire, ce qui explique que la voie des polyols joue un rôle clé dans la cataracte induite par le diabète (**Haleng et al., 2007**).
- **La voie de la protéine kinase C** : L'hyperglycémie intracellulaire entraîne une activation de la protéine kinase C (PKC), qui augmente la production d'espèces réactives de l'oxygène par augmentation de l'activité NADPH-oxydase en contribuant à la phosphorylation des résidus sérine/thréonine des IRS, ce qui conduit à l'inactivation des récepteurs hormonaux en inhibant ainsi la transmission du signal insulinique (**Haleng et al., 2007 ; Lazo et Fernández, 2013 ; Shao, 2014**).
- **L'auto-oxydation du glucose** : En présence du fer, le glucose s'oxyde, entraînant la génération d'ERO très réactifs, il résulte une augmentation de la peroxydation lipidique. Ce mécanisme pourrait expliquer le fait que le diabète est souvent associé à des complications cardiovasculaires (**Devaraj et al., 2001**).
- **La voie des hexosamines** : En conditions d'hyperglycémie, la formation de l'uridine diphosphate N-acétylglucosamine qui est le substrat de l'enzyme O-GlcNAc transférase (OGT) catalyse la formation de protéines O-GlcNAc. L'accumulation des protéines modifiées par l'O-GlcNAc glycosylation joue un rôle dans les complications et l'apparition de maladies associées au diabète (**Du et al., 2000**).
- **La glycation des protéines** : En situation d'hyperglycémie, la liaison entre le groupement carbonyle d'un sucre réducteur (glucose, galactose, fructose) et le groupement amine libre d'un acide aminé d'une protéine peut former des produits relativement instables qui se dégradent en produits avancés de la glycation (AGE). Les AGE sont capables de produire des ERO par interaction avec des récepteurs cellulaires

Synthèse Bibliographique

spécifiques (RAGE) et induire un stress oxydant qui influence la physiopathologie et provoque des complications micro- ou macrovasculaires du diabète (**Bonnefont-Rousselot, 2004 ; Vazier, 2010 ; Teshima, 2014**).

Pour se protéger contre les effets des radicaux libres, les cellules ont un mécanisme de défense intrinsèque enzymatique et qui renferme la superoxyde dismutase, la catalase, la glutathion peroxydase ; et non enzymatique représentés par les protéines transporteuses du fer et du cuivre (transferrine, ferritine, céruléoplasmine, albumine), des molécules antioxydantes de petite taille (acide urique, caroténoïdes, bilirubine) et de système de réparation des dommages oxydatifs comme les endonucléases. L'alimentation constitue une source d'antioxydants exogènes, qui inclue majoritairement : la vitamine E, l'acide ascorbique, le β -carotène, les flavonoïdes, les composés phénoliques, ubiquinone, glutathion ou acide lipoïque... (**Kohen et al., 2002 ; Diallo, 2005 ; Haleng et al., 2007 ; Adanho, 2013**)

Les plantes médicinales sont largement connues pour leurs propriétés biologiques notamment leur potentiel antioxydant contre le stress oxydatif qui est à l'origine des différentes affections qui touchent la santé humaine comme le vieillissement, les cancers, le diabète et les maladies cardiovasculaires (**Bennamara, 2017 ; Salhi, 2017**).

De nouveaux remèdes d'antioxydants naturels peuvent piéger les radicaux libres et surmonter les complications du diabète sont recommandés. D'après **Forni et al., (2019)**, les interventions thérapeutiques à base des plantes contre le stress oxydatif fournissent une efficace stratégie pour traiter le diabète.

Outre le stress oxydatif et le diabète, le développement des propriétés thérapeutiques des plantes médicinales et aromatiques et la formulation innovante de médicaments utilisant leurs principes actifs ont également impacté à grande échelle les maladies infectieuses, première cause de décès prématuré dans le monde de près de 50 000 des gens meurent tous les jours (**Ahmad, 2001 ; OMS, 2020**).

Les maladies infectieuses ou l'infection microbienne résulte de l'agression de l'organisme par des microorganismes pathogènes, tel que les bactéries, les parasites, les virus, les champignons. Les maladies infectieuses apparaissent quand la virulence dépasse les moyens de défense, elles représentent la cause majeure de mortalité dans le monde, et touchent des millions de personnes (**Alwash et al., 2013**). Les principaux types d'infections responsables

Synthèse Bibliographique

de mortalités sont les infections respiratoires, sexuellement transmissibles, nosocomiales, l'hépatite virale, la tuberculose, les méningites, le paludisme et d'autres maladies à transmission vectorielle. Les maladies infectieuses présentent des défis importants pour les pays développés car elles constituent un fardeau inutile pour les systèmes sanitaires et socio-économique (OMS, 2016).

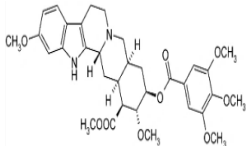
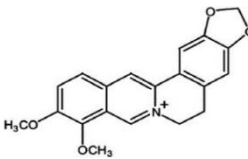
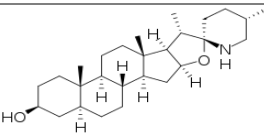
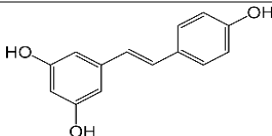
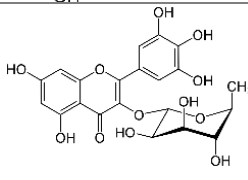
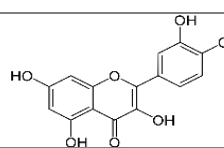
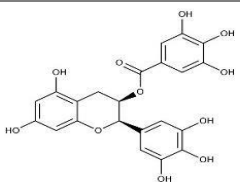
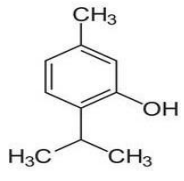
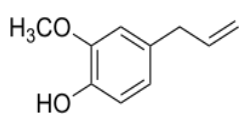
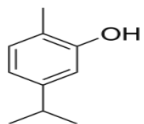
L'abus massif d'antibiotiques a conduit à l'émergence de souches résistantes et à l'établissement de la résistance aux antibiotiques, qui est devenue un problème de santé publique croissant, en particulier après l'émergence de la multirésistance (OMS, 2018 ; OMS, 2020). Plusieurs exemples illustrent la gravité de la menace de la résistance aux antibiotiques, *Staphylococcus aureus* résistant à la *méthicilline* est l'une des causes les plus fréquentes d'infections nosocomiales dans le monde, également les entérocoques sont fréquemment retrouvés chez les patients atteints d'infections urinaires. L'émergence de la résistance de *Candida sp.* aux antifongiques est à l'origine des échecs thérapeutiques, et constituent de graves problèmes de santé (FIP, 2008 ; Warnet, 2011; FAO, 2017; Dannaoui, 2013).

Face à la menace récurrente de la résistance aux antimicrobiens, de nouvelles stratégies thérapeutiques sont indispensables pour traiter les maladies infectieuses. De ce fait, la mise en valeur du pouvoir antimicrobien des plantes médicinales est devenue d'une extrême importance pour la découverte et le développement de nouveaux médicaments anti-infectieux, ou des moyens de lutte efficaces contre cette antibiorésistance (Yakhlef et al., 2011 ; Aouadhi et al., 2013 ; Chebaibi et al., 2016 ; Vernhet et al., 2016).

Des données épidémiologiques et expérimentales ont montré que les métabolites secondaires sont reconnus par leurs nombreuses activités biologiques notamment les activités antibactériennes, anticancéreuses, antifongiques, analgésiques, anti-inflammatoires, diurétiques, gastro-intestinales, et antioxydantes (Akroum, 2011 ; Kardong et al., 2013 ; Dower et al., 2015 ; Tanabe et al., 2017 ; Pan et al., 2018b). Le tableau 03 résume le mécanisme d'action antibactérien et antifongiques de certains composés phytochimiques.

Synthèse Bibliographique

Tableau 03 : Le mécanisme d'action antimicrobien et antifongique de certains composés phytochimiques (Khameneh et al., 2019 ; Adjdir S. 2022).

Composé phytochimique	Dose	Mécanisme d'action et souches
Alcaloïdes Réserpine 	10 mg/mL	<ul style="list-style-type: none"> Inhibiteur de la pompe à efflux chez <i>Staphylococcus sp</i>, <i>Streptococcus sp.</i>, <i>Micrococcus sp</i>
Berbérine 	4 mM	<ul style="list-style-type: none"> Inhibiteur de la division cellulaire, Inhibiteur de la synthèse des protéines et de l'ADN chez <i>Escherichia coli</i> et <i>Candida albicans</i>. Inhibiteur de la pompe à efflux chez <i>E. coli</i>.
Tomatidine 	5mg/mL	<ul style="list-style-type: none"> Inhibiteur de la pompe ATP synthase chez <i>Listeria Bacillus</i> et <i>Staphylococcus spp.</i>
Composés phénoliques Resvératrol 	0,064 à 0,313 mg/mL	
Kaempférol 3-O-rhamnoside (Afzélène) 	1,56 µg/mL	<ul style="list-style-type: none"> Inhibiteur de la pompe à efflux chez : <i>Mycobacterium smegmatis</i>, <i>Campylobacter jejuni</i>, <i>S.aureus</i>.
Quercétine 	75 µg/mL	
Epigallocatec hine-gallate 	64 µg/mL	<ul style="list-style-type: none"> Inhibition de la dihydrofolate reductase chez <i>Stenotrophomonas maltophilia</i>.
Terpénoïdes Thymol 	49,37 µg/mL	<ul style="list-style-type: none"> Chez <i>C. albicans</i> joue le rôle de : Inhibiteur de l'ATPase-H⁺ au niveau de la membrane cellulaire. Déstabilisateur de la membrane cellulaire. Inhibiteur de la pompe à efflux.
Eugénol 	350 à 500 µg/mL	<ul style="list-style-type: none"> Déstabilisateur de la membrane cellulaire chez <i>A. niger</i>, <i>A. fumigatus</i>, <i>A. flavus</i>, <i>A. ochraceus</i>, <i>Alternaria alternata</i>.
Carvacrol 	7 à 8 µg/mL	<ul style="list-style-type: none"> Déstabilisateur de la membrane cellulaire et Inhibiteur de la pompe à efflux chez <i>E. coli</i>, <i>E. aerogenes</i>, <i>S. aureus</i>.

Synthèse Bibliographique

L'Algérie, par sa biodiversité climatique et sa flore très diversifiée, constitue un véritable réservoir d'un grand nombre de plantes médicinales, qui présente un intérêt particulier dans différents domaines, notamment celui de la recherche scientifique, de la médecine, de l'agriculture, et du cosmétique. Plusieurs travaux scientifiques ont été réalisés dans le but de valoriser les propriétés thérapeutiques et cosmétiques des plantes médicinales et aromatiques spontanées ou endémiques de l'Algérie, et la détermination de leurs principes actifs. Dans ce contexte s'affiche l'objectif de la présente étude qui s'intéresse à l'étude phytochimique et l'évaluation des activités biologiques de deux espèces végétales de la famille des cucurbitacées *Bryonia dioïca* et *citrullus colocynthis*.

La famille des cucurbitacées qui regroupe plus de 825 espèces et 118 genres (**Schaefer et Renner, 2011**), est caractérisée par leurs propriétés thérapeutiques antioxydante, antimicrobienne, anti-inflammatoire, cytotoxique et antidiabétique. Cette dernière activité semble intensivement étudiée pour de nombreuses espèces dont les plus réputées sont *Momordica charantia*, *Cucurbita pepo*, *Cucumis sativus*, *Bryonia alba*, *Citrullus colocynthis*, *Momordica dioïca*, *Luffa tuberosa* et *Tricosanthes dioïca* (**Dhiman et al., 2012 ; Saboo et al., 2013**).

Bryonia dioïca. Jacq, appelée communément Berrestom, Aneb el dib, Dalia beida, Fachira ; ou Tayloulou, Tara bouchechen, Tiferdoudi, Zenzou en berbère ; ou Bryone, Couleuvrée, Navet du diable, Vigne blanche en français ; et Snake bryony, White wild vine en anglais (**Hammiche et al., 2013**). C'est une plante herbacée, vivace, à tiges très longues, grêles, grimpantes originaire des régions de l'Europe centrale et méridionale, Asie occidentale et l'Afrique septentrionale. Elle est très commune en France en Corse. Elle se rencontre dans les haies, les buissons et dans des parcelles non ou mal désherbées (**Caubet et al., 2012**). Cette dernière est caractérisée par une racine charnue, cylindrique, sur laquelle naissent des bourgeons se développant au printemps. Les feuilles sont en cœur à la base, pétiolées, simples, alternes, à 3 à 5 lobes aigus, sinués, dentés. Les fleurs sont de couleur jaune verdâtre ou blanc jaunâtre, veinées, groupées au sommet de rameaux florifères allongés. Le fruit est une petite baie de 7 à 8 mm d'épaisseur, globuleuse, lisse de couleur rouge à maturité contenant deux à six graines aplaties (**Hammiche et al., 2013**).

Synthèse Bibliographique

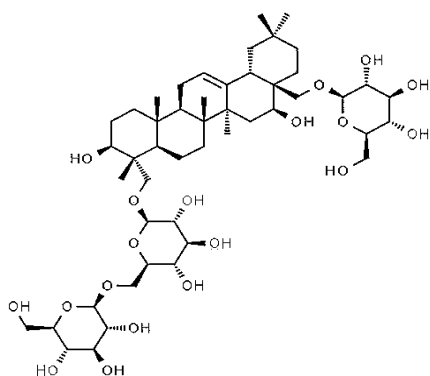


Figure 03 : Différentes parties de *Bryonia dioica* (a) racine, (b) tige et feuille, (c) fleur, (d) fruit et (e) graine (**Gadoum et Didier, 2008**).

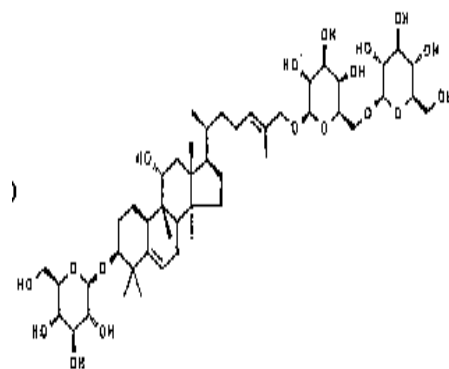
Les études phytochimiques réalisées sur de nombreux extraits des différentes parties de la bryone : racine, tige, feuille et fruit, ont permis l'isolement et la caractérisation de certains composants phytochimiques de cette plante. **Le tableau 04 et figure 04** résument la composition phytochimique de *B. dioica*.

Tableau 04 : Composition phytochimique de différentes parties de *Bryonia dioica*.

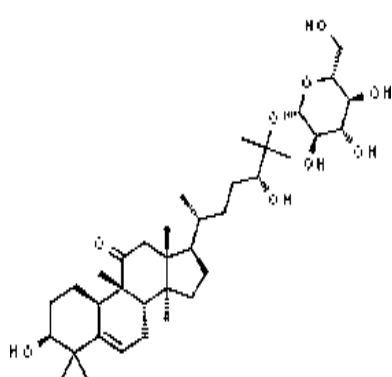
Partie de la plante	Métabolites secondaires	Références
Racine	-Saponine : bryonine	(Garnier et al., 1961)
	-Hétérosides triterpéniques: bryodulcoside, bryoside, cucurbitacine, bryonidine, bryonosides A à G, cabenoside D, le bryoamaride et l'acide bryonolique	(Sturm et Stuppner., 2000) (Ukiya et al., 2002) (Barker et al., 2010)
Tige et feuille	-Alcaloïde : bryonicine	(Garnier et al., 1961)
Fruit	-Flavonoïdes : 5 flavones et 9 flavonoles : Apigénine-C-hexoside-O-hexoside Apigénine-6-C-glucoside-8-C-glucoside Apigénine-6-C-glucoside-7-O-glucoside Apigénine-C-hexoside-O-hexoside Apigénine-6-C-glucoside Quercétine-O-hexoside Quercétine-O-rhamnosyl-pentoside Quercétine-O-rhamnosyl-rhamnoside Quercétine-3-O-neohesperidoside Kaempferole-O-pentosyl-rhamnoside Kaempferole-O-pentosyl-rhamnoside Kaempferole-O-rhamnosyl-hexoside-O-rhamnoside Kaempferole-3-O-neohesperidoside Kaempferole-3,4-di-O-rhamnoside	(Barreira et al., 2013) (Barros et al., 2011)



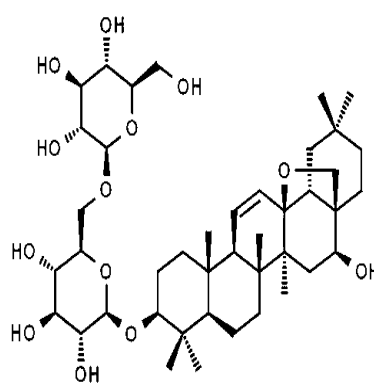
Bryonine



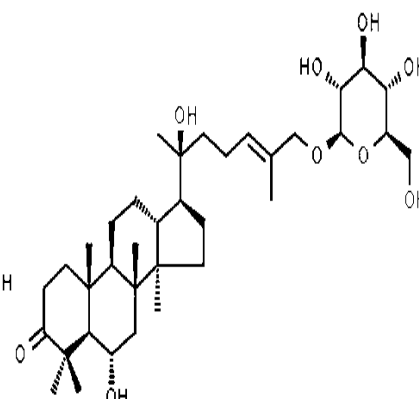
Bryoside



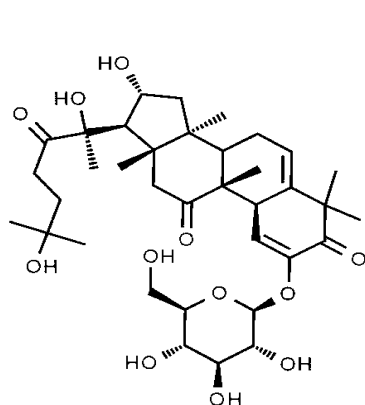
Bryonosides A



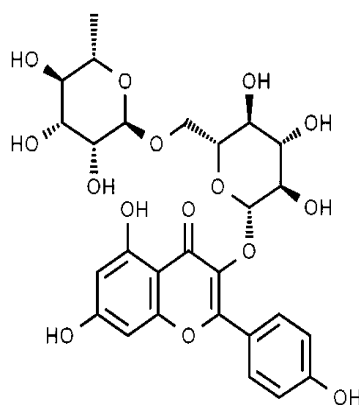
Bryonosides G



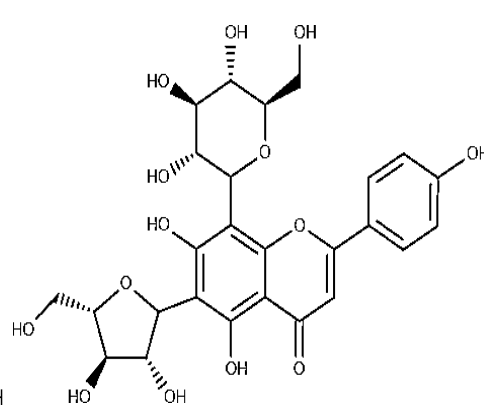
Cabenoside



Bryomaride

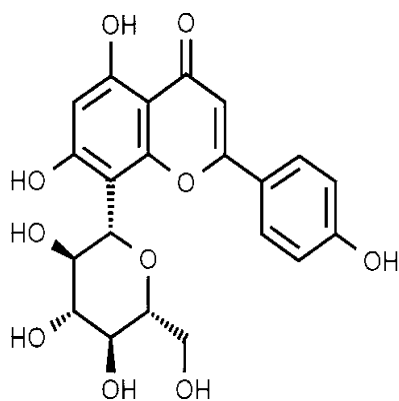


Apigenine-6-C-glucoside-8-C-glucoside

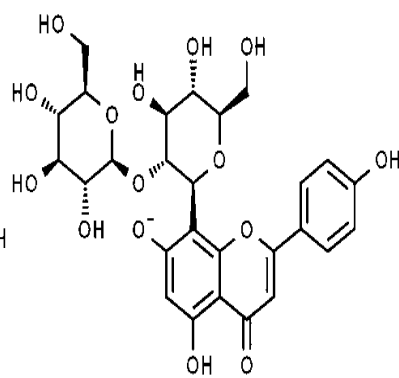


Apigenine-6-C-glucoside-7-O-glucoside

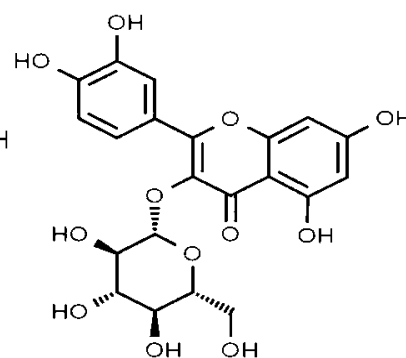
Synthèse Bibliographique



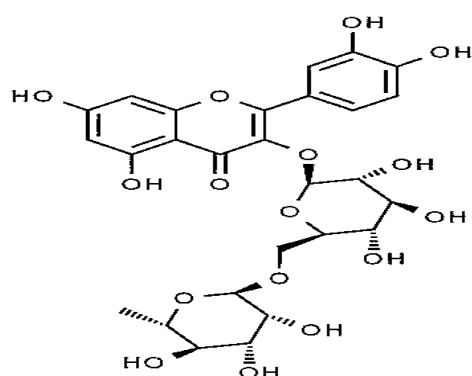
Apigenine-6-C-glucoside



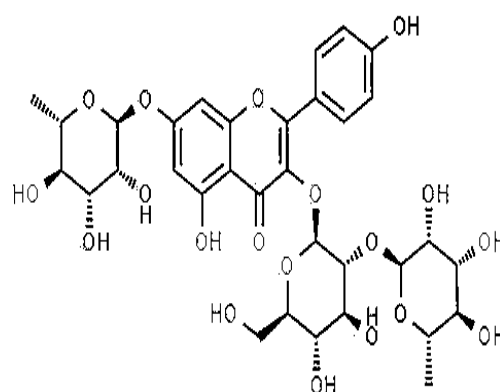
Quercetine-O-rhamnosyl-rhamnoside



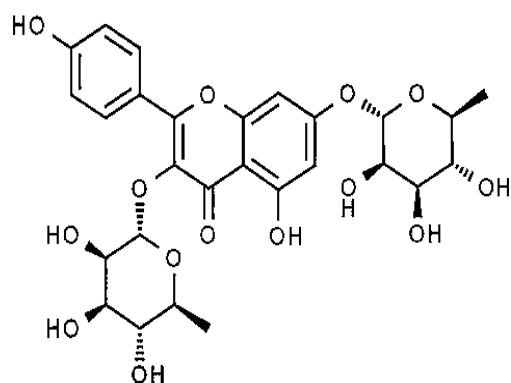
Quercetine-O-hexoside



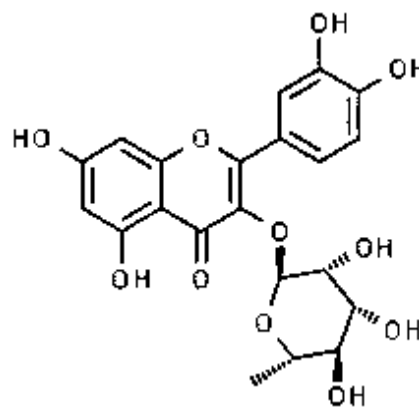
Quercetine-3-O-neohesperidoside



Kaempferole-O-rhamnosyl-hexoside-O-rhamnoside



Kaempferol 3,7-di-O-rhamnoside



Luteolin 6-C-glucoside

Figure 04 : Structure chimique de certains composés identifiés dans différentes parties de *Bryonia dioica*

Synthèse Bibliographique

En médecine traditionnelle la bryone est largement utilisée comme un remède des affections rhumatismales douloureuses et inflammatoires (l'asthme, les bronchites et les pleurésies), du diabète et de nombreux cancers (sein, colon, peau, glande à tous les stades de la cancérogenèse). Les petites baies rouges de la bryone sont utilisées comme purgatif et vermifuge tandis que le suc de la plante fraîche est utilisé, en usage externe, pour déterger les ulcères ainsi que dans le traitement de la gale. La bryone trouve également son utilisation comme un remède pour le traitement de la maladie de la goutte et de la mucosité bronchiques (**Bammi et al., 2002 ; Saboo et al., 2013 ; Hammiche et al., 2013**).

Les études antérieures menées sur les activités biologiques de *Bryonia dioica* ont montré que les propriétés thérapeutiques de cette espèce sont liées à sa richesse en composés phytochimiques possédant des propriétés pharmacologiques potentielles. Les travaux de **Ukiya et al., (2002)**, ont rapporté un effet anti-inflammatoire de l'extrait méthanolique des racines de la bryone riche en triterpènes glycosides : bryonioside B, C, E, G, cabenoside D, bryoamaride. **Benarba et al., (2012)** ont révélé un effet apoptotique de l'extrait aqueux des racines de la bryone, riche en flavonoïdes, stérols et en triterpènes, sur les lignées de lymphome de Burkitt BL41 (IC₅₀=15,63 µg/mL). De même, **Wachinger et al., (1993)** ont montré que la bryodine inhibe sélectivement la croissance des lymphocytes T infectés par le VIH (IC₅₀ =2-20 µg/mL). Certaines études ont montré un pouvoir antioxydant des extraits de *B. dioica*, l'extrait méthanolique des fruits matures préparé par macération a montré sa capacité à piéger le radical DPPH (IC₅₀=1,22 mg/mL) et le radical ABTS (IC₅₀=0,22 mg/ml), à réduire le fer (EC₅₀ = 0,4 mg/mL), et à inhiber la peroxydation lipidique en inhibant la décoloration du β-carotène (IC₅₀ = 0,58mg/mL) (**Rafael et al., 2011**). De plus, l'étude de **Chkroun et al., (2015)** a enregistré que l'extrait de n-butanol des racines de *Bryonia dioica* assure un piègeage du radical libre DPPH à une IC₅₀ de 2,25 µg/mL et un pouvoir réducteur du fer (22,68 µg/mL). D'autres études ont mis en valeur le pouvoir antibactérien de la bryone. L'étude de **Chenni et al., (2012)** a révélé la capacité de l'extrait méthanolique des racines à inhiber sélectivement la croissance des bactéries Gram-positives *Enterococcus faecalis* (14 mm), *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 (14 mm), *Bacillus subtilis* ATCC 6633 (12 mm) par rapport aux bactéries Gram négatives *Escherichia coli* ATCC25922 (12 mm), *Proteus mirabilis* ATCC 29906 (10 mm) et *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 14028 (10 mm). **Dhouioui et al., (2016)** ont obtenu une forte activité antibactérienne dans l'extrait lipidique des racines sur les bactéries gram positives plus que les bactéries gram négatives, principalement *E. faecium* (MIC =125 µg/mL ; MBC > 250µg/mL). Cependant, l'extrait

Synthèse Bibliographique

hydroéthanolique des feuilles est très actif contre *E.coli*, *K. pneumoniae*, et *P. vulgaris* avec un diamètre de la zone d'inhibition qui varie entre 22 et 60 mm (**Khamees et al., 2017**).

La deuxième espèce végétale choisie dans cette étude est *Citrullus colocynthis*, connue sous plusieurs noms vernaculaires ; Handal, Hadag, Handhal; Hantal, Hadja en arabe, Taberka, Tefersite, Tadjellet en berbère, coloquinte en français, et chicotin en anglais. Elle s'étend sur une région désertique très vaste, du Nord-Africain, la région méditerranéenne, Egypte, Arabie Saoudite jusqu'à l'Inde. C'est une plante rampante herbacée, annuelle ou vivace qui fleurit entre le mois d'Avril et le mois de Mai, elle est entièrement hérissée de poils raides, à racine charnue. Les tiges angulaires, migrantes et rudes de 0,5 à 1,5 m de longueur. Ses feuilles de 5 à 10 cm de longueur, ont un limbe découpé en 5 à 7 lobes. Les fleurs sont bisexuées, solitaires de couleur jaune pâle à 5 lobes. Les fruits sphériques de 8 à 10 cm de diamètre ressemblant à une petite pastèque, de couleur verte panachée de jaune clair, devient complètement jaune à maturité. A l'intérieur renferme une pulpe spongieuse dans laquelle se trouvent de nombreuses graines brunes, lisses, ovales et insipides de 4 à 6 mm de long (**chopra et al., 1960 ; Hammiche et al., 2013 ; Hammouda et al., 2005**).

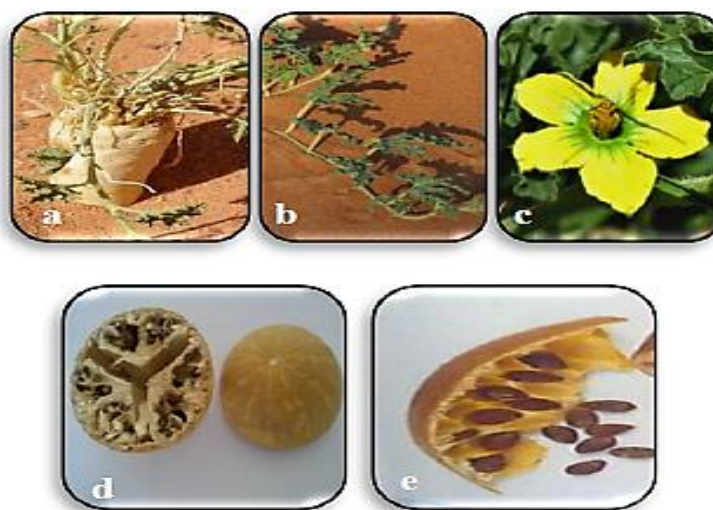


Figure 05 : Différentes parties de *Citrullus colocynthis* (a) racine, (b) tige et feuille, (c) fleur, (d) fruit et (e) graine.

Les études phytochimiques et de chimie analytique des différentes parties de la coloquinte (tiges, feuilles, fruits et graines) ont contribué à l'identification de la composition chimique de

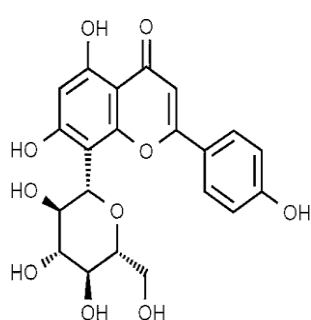
Synthèse Bibliographique

cette plante. Le **tableau 05** et la **figure 06** résume la composition phytochimique de la coloquinte.

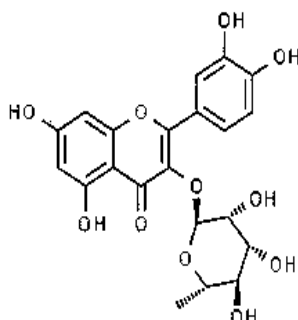
Tableau 05 : Composition phytochimique des différentes parties de *Citrullus colocynthis*.

Partie de la plante	Métabolites secondaires	Références
Fruit	<p>-Flavonoïdes glycosides : isovitexine, iso-orientine 3'-methyl ether iso-orientine</p> <p>- Cucurbitacines glycosides : 2-O-β-D-glucopyranosyl-cucurbitacine I 2-O-β-D-glucopyranosyl-cucurbitacine E 2-O-β-D-glucopyranosyl-cucurbitacine L 2-O-β-D-glucopyranosyl-hexano cucurbitacine I</p> <p>- Cucurbitacines glycosides triterpéniques : colocyntosides A et B</p> <p>-Alcaloïdes : C₁₀H₁₅NO₃, C₂₀H₃₂NO et C₁₆H₂₄NO₇</p> <p>-Stérols: n-octacosanol (n-C₂₈H₅₈O) etn-hexacosan-diol (n-C₂₆H₅₄O₂)</p>	<p>(Delazar et al., 2006) (Maatooq et al., 1997)</p> <p>(Seger et al., 2005) (Sturm et Stuppner, 2000) (Nayab et al., 2006)</p> <p>(Yoshikawa et al., 2007)</p> <p>(Afifi et al., 1973) (Hatam et al., 1990)</p>
Pulpe	-Alcaloïdes: Choline	(Mukherjee et Patil, 2012)
Tige et feuille	<p>-Flavonoïdes: 6-C-p-hydroxylvitexine 8-C-p-hydroxybenzoyl- iso-vitexine, 8-C-p-hydroxybenzoyl- iso-vitexine 4'-O-glucoside</p>	(Maatooq et al., 1997)

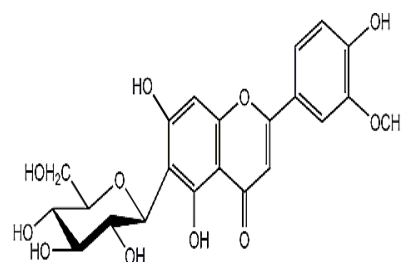
Synthèse Bibliographique



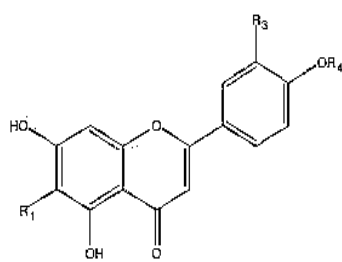
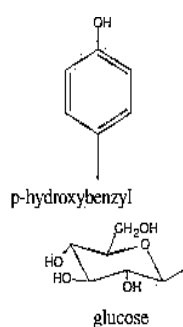
Isovitexine



iso-orientine



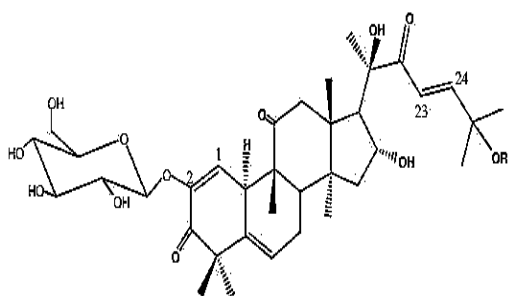
isorientin 3'-methyl ether



6-C-p-hydroxybenzoylvitexi (R1 - glucose, R2 - p-hydroxybenzyl, R3 - H, R4 - H)

8-C-p-hydroxybenzoylisovitexin (R1 - p-hydroxybenzyl, R2 - glucose, R3 - H, R4 - H)

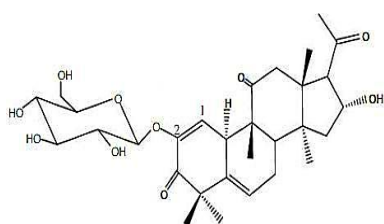
8-C-p-hydroxybenzoylisovitexin 4'O-t-D-glucoside (R1 - glucose, R2 - p-hydroxybenzyl, R3 - H, R4 - glucose)



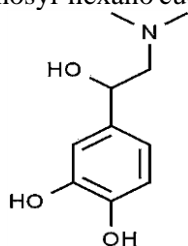
2-O-β-D-glucopyranosyl-cucurbitacin I : R= Ac

2-O-β-D-glucopyranosyl-cucurbitacine E : R= H

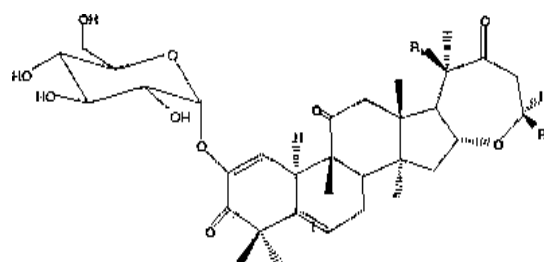
2-O-β-D-glucopyranosyl-cucurbitacine L : R= H, 23,24-dihydro



2-O-β-D-glucopyranosyl-hexano cucurbitacine I



N-Methylepinephrine



R1	R2	
OII		Colocynthine A
OII		Colocynthine B
II		Colocynthine C

Figure 06 : Structure chimique de certains composés identifiés dans les différentes parties de *Citrullus colocynthis*.

Synthèse Bibliographique

La coloquinte est largement utilisée en médecine traditionnelle depuis l'antiquité. Elle suscite l'intérêt des chercheurs en raison de ses propriétés thérapeutiques : purgative, diurétique, anti-inflammatoire, anti-acétylcholine, antimicrobienne, anticancéreuse, et herbicide (**Hammouda et al., 2005 ; Hammiche et al., 2013**). Elle est utilisée également dans le traitement de l'asthme, le rhumatisme, la jaunisse, la goutte, la leucémie, le cancer touchant certains organes (sein, colon, foie et la rate), certaines douleurs (arthralgies, myalgies, algies dentaires) et aussi contre les piqûres de scorpions (**Duke et al., 2002 ; Hammouda et al., 2005**).

Plusieurs travaux scientifiques ont permis de valoriser certaines activités biologiques de *C. colocynthis* notamment l'activité antioxydante, antidiabétique, antimicrobienne et anticancéreuse. L'étude de **Chekroun et al., (2015)** a montré que l'extrait n-butanol des fruits matures de la coloquinte a révélé une forte capacité à piéger le DPPH ($IC_{50} = 61 \mu\text{g/mL}$) et un pouvoir réducteur du fer ($EC_{50} = 241,25 \mu\text{g/mL}$). D'autres études ont montré un pouvoir antiradicalaire sur le DPPH des extraits méthanol et acétate d'éthyle des fruits et des graines de la coloquinte à des valeurs de IC_{50} variables entre 0,350 et 2500 mg/mL (**Kumar et al., 2008 ; Benariba et al., 2013b**). De même, **Marzouk et al., (2010)** ont révélé le pouvoir antiradicalaire sur le DPPH de l'extrait aqueux des graines de la coloquinte ($IC_{50} = 21 \mu\text{g/mL}$). Les flavonoïdes, isolés de fruit ont également présenté un pouvoir antiradicalaire intéressant prometteur révélé par de faibles valeurs de IC_{50} 70, 0,5 et 3 $\mu\text{g/mL}$ pour l'isosaponarine, isovitexine et l'éther isoorientine 3-O-méthyl, respectivement (**Kumar et al., 2008**).

Concernant l'activité antidiabétique, **Chakroun et al., (2016)** ont révélé que l'administration intrapéritonéale de l'extrait aqueux de fruit de *Citrullus colocynthis* (10 mg / kg, ip) pendant 21 jours provoque une réduction significative de l'hyperglycémie (-51%) chez des rats diabétiques néonataux-streptozotocine. De plus **Benariba et al., (2009)** et **Benariba et al., (2012)** ont enregistré des effets antidiabétiques prometteurs à long et à moyen terme de l'extrait aqueux des graines de *C. Colocynthis* sur la régulation de l'hyperglycémie et le maintien du poids corporel chez les rats rendus diabétiques par la STZ. L'administration orale de 200 mg/kg p.c de l'extrait aqueux, éthanolique ou chloroformique, des racines de *C. colocynthis* diminue significativement la glycémie chez les rats Wistar rendus diabétiques par l'alloxane jusqu'à 58,70%, 36,60% et 34,72%, respectivement, accompagnée d'une diminution de cholestérolémie et de triglycéridémie (**Agarwal et al., 2011**). L'extrait aqueux de graines de *C. colocynthis* riche en saponosides et alcaloïdes totaux est capable de réduire

Synthèse Bibliographique

significativement l'hyperglycémie chez les rats rendus diabétiques par la STZ (**Benmahdi et al., 2008 ; Lahfa et al., 2015**).

In vitro, les extraits de graines de la coloquinte, notamment les extraits acétate d'éthyle, n-butanol et hydrométhanol ont révélé un effet stimulateur de la sécrétion de l'insuline dans les îlots de Langerhans (**Benariba et al., 2013a**), un effet insulinomimétique en augmentant le transport basolatéral du Na⁺ au niveau des cellules rénales monocouches de *Xenopus laevis* (A6) en culture (**Benariba et al., 2023**), et un effet cytoprotecteur des îlots pancréatiques contre l'effet cytotoxique de la STZ (**Benariba et al., 2013**).

L'activité antimicrobienne de *C. colocynthis* a fait l'objet de plusieurs travaux de recherches qui ont révélé que l'extrait d'acétate d'éthyle des feuilles et des tiges de la coloquinte présente une activité antibactérienne potentielle contre les bactéries Gram positifs et négatifs, dont la CMI déterminée est de 625 µg/mL contre *Bacillus cereus*. Par contre la cucurbitaine E identifiée comme composant majoritaire de cet extrait était moins active et a enregistré une CMI de 1,25 mg/mL contre *Bacillus cereus* et *Enterococcus faecalis* (**Chawech et al., 2015**). De même **Shahraki-Mojahede et al., (2021)**, ont montré que *P. aeruginosa* est plus sensible à l'extrait acétate d'éthyle que l'extrait hydro-méthanolique du fruit de *C. colocynthis*, en mesurant des CMI de 620 µg/mL et 1,25 mg/mL, respectivement. En revanche, les extraits aqueux et organiques de différentes parties de *C. colocynthis* (racines, tiges, feuilles, fruits et graines) inhibent la croissance de *E. coli* (CMI = 6 µg/mL), *C. albicans*, *C. kreusei*, *C. glabrata*, et *C. parapsilosis* (**Merzouk et al., 2011 ; Al-Snafi, 2016**). En outre, des extraits organiques de feuilles fraîches : éthanol, chloroforme et éther de pétrole sont plus actifs contre *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris* et *Staphylococcus aureus*, et légèrement actifs contre *Klebsiella pneumoniae* et *Salmonella typhi* (**Paul, 2008**). Les extraits aqueux et hydro-alcoolique des fruits et des graines de cette plante présentent une activité antibactérienne contre *Pseudomonas aeruginosa* (CMI = 200 µg/mL), *Escherichia coli* (CMI = 200 µg/mL), *Staphylococcus aureus* (CMI = 5 mg/mL) et *Mycobacterium tuberculosis* (CMI = 31,2 mg/mL) et une activité antifongique contre *Aspergillus fumigatus* et *Aspergillus niger*, *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. guilliermondii* et *C. kreusei* (**Marzouk et al., 2010 ; Najafi et al., 2010 ; Mehta et al., 2013 ; Eidi et al., 2015**).

Matériel et méthodes

Matériel et Méthodes

L'étude expérimentale de cette thèse a été réalisée au laboratoire de recherche Antibiotiques, Antifongiques : Physico-chimie, Synthèse et Activité Biologique (LAPSAB), département de biologie, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Sciences de la Terre et de l'Univers (SNV-STU), Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen. Une partie du travail a été réalisé au Centre de Recherche en Biotechnologie (CRBt) à Constantine.

La démarche expérimentale de ce travail regroupe deux grandes parties :

- Etude phytochimique des extraits des racines de *B. dioïca* et des fruits de *C. colocynthis*. Cette partie consiste à la préparation des extraits aqueux et organiques, au screening phytochimique, à l'analyse chromatographique RP-HPLC-PDA, et au dosage des composés phénoliques totaux dans les extraits récupérés.
- Etude des activités biologiques des extraits des plantes étudiées, cette partie repose sur une évaluation *in vitro* de l'activité antioxydante en utilisant le test de piégeage du radical libre DPPH, et du radical ABTS, le test du pouvoir réducteur du fer (FRAP) et du cuivre (CUPRAC), le pouvoir antioxydant basé sur l'effet de phenanthroline, le test de la capacité antioxydante totale, ainsi que et l'évaluation de l'effet anti-hémolytique en mesurant l'effet cytoprotecteur des extrait sur les globules contre l'agression radicalaire induite par le AAPH. L'activité antidiabétique est évaluée par mesure de l'effet des extraits sur l'activité des enzymes digestives α -glucosidase et α -amylase en point terminal. L'activité antibactérien et antifongique des extraits préparés a été évaluée par la méthode de diffusion en milieu solide et la méthode de microdilution en milieu liquide. L'activité antibiofilm a été évaluée par le test anti-adhésion des bactéries à la surface des microplaques.

I. Etude phytochimique des racines de la bryone et des fruits de la coloquinte

1. Matériel végétal

Les racines de *B. dioïca* ainsi que et les fruits de *C. colocynthis* constituent le matériel végétal de cette étude. Ils sont récoltés à maturité durant le mois de juin 2017 dans la région d'Ain Sefra, Wilaya de Naâma, Sud-Ouest Algérien. L'identification botanique des plantes espèces végétales a été effectuée au niveau du laboratoire Ecologie et de la Gestion des écosystèmes naturels à l'Université de Tlemcen.

Au laboratoire, le matériel végétal a été nettoyé puis séché à l'abri de la lumière et de l'humidité. Les racines séchées broyées en poudre fine et les fruits concassés soigneusement

Matériel et Méthodes

(Figure 07) sont conservés à l'abri de la lumière jusqu'au jour de l'extraction.

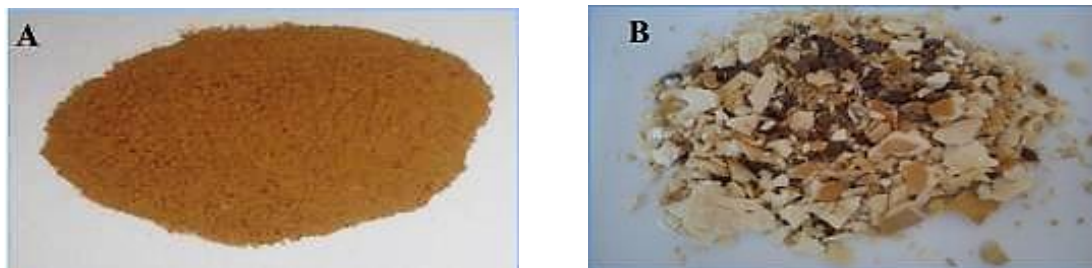


Figure 07 : Matériel végétal : racines broyées de *Bryonia dioïca* (A) et fruits concassés de *Citrullus colocynthis* (B)

2. Préparation des extraits

Les racines de *B. dioïca* ainsi que les fruits *C. colocynthis* ont été utilisés pour la préparation d'un extrait aqueux, un extrait hydrométhanolique et ses fractions chloroformique, acétate d'éthyle et n-butanol.

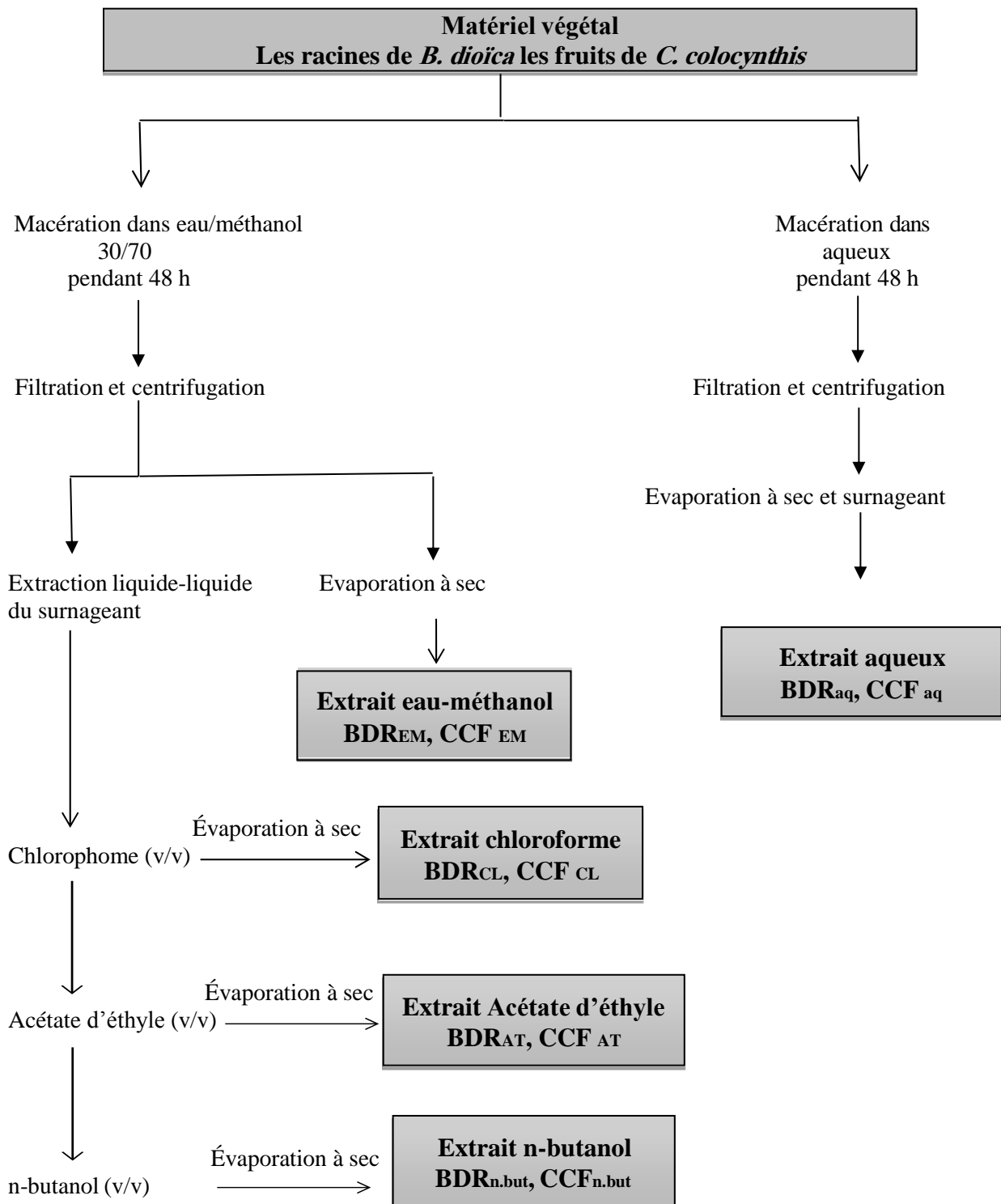
2.1. Préparation de l'extrait aqueux

L'extrait aqueux des racines de *B. dioïca* et des fruits de *C. colocynthis* a été préparé comme suit ; 10 g du matériel végétal sont mis en macération dans 100 ml d'eau distillée pendant 48 heures à température ambiante et sous agitation. La solution obtenue est filtrée puis centrifugée, et le surnageant récupéré est évaporé à sec. Les extraits aqueux des racines de *B. dioïca* (BDRaq) et des fruits de *C. colocynthis* (CCFaq) obtenus à l'état secs sont conservés hermétiquement à l'abri de la lumière et à 4°C (**Figure 08**).

2.2 Préparation de l'extrait eau-méthanol et ces fractions chloroforme, acétate d'éthyle et n-butanol

La préparation de l'extrait eau-méthanol BDR_{EM} et CCF_{EM} a été réalisée comme suit ; 10g du matériel végétal sont mis en macération dans 100 ml du mélange eau-méthanol (30/70 v/v) pendant 48 heures à température ambiante et sous agitation. La solution obtenue est filtrée puis centrifugée, le surnageant est évaporé à sec, le produit est récupéré dans les parois du ballon d'évaporation. L'extrait eau-méthanol a subi un fractionnement liquide-liquide en utilisant le chloroforme, acétate d'éthyle, et n-butanol (**Figure 08**).

Matériel et Méthodes



BDR_{aq} : extrait aqueux des racines de *B. dioica* ; **CCF_{aq}** : extrait aqueux des fruits de *C. colocynthis*
BDRE_{EM} : extrait eau-méthanol des racines de *B. dioica* ; **CCF_{EM}** : extrait eau-méthanol des fruits de *C. colocynthis*
BDR_{CL} : fraction chloroforme des racines de *B. dioica* ; **CCF_{CL}** : fraction chloroforme des fruits de *C. colocynthis*
BDR_{AT} : fraction acétate d'éthyle des racines de *B. dioica* ; **CCF_{AT}** : fraction acétate d'éthyle des fruits de *C. colocynthis*
BDR_{n.but} : fraction n. butanol des racines de *B. dioica* ; **CCF_{n.but}** : fraction n. butanol des fruits de *C. colocynthis*

Figure 08 : Schéma explicatif de la préparation des extraits à partir des racines de *Bryonia dioica* et des fruits de *Citrullus colocynthis*

Matériel et Méthodes

3. Calcul du rendement d'extraction

Le rendement d'extraction exprimé en pourcentage (%), défini le rapport entre la masse d'extrait obtenu et la masse de la plante sèche broyée. Il est calculé selon la formule suivante :

$$R(\%) = (M_0/M_1) \times 100$$

R : Rendement exprimé en %.

M₀ : Masse en gramme de l'extrait sec récupéré. **M₁** : Masse en gramme de la matière végétal initiale.

4. Screening phytochimique

Dans le but de mettre en évidence la présence de certaines familles des métabolites secondaires dans les extraits des plantes étudiées, nous avons réalisé des tests phytochimiques spécifiques basés sur des réactions de coloration, de précipitation, ou des observations sous la lumière ultra-violette (**Bruneton, 1999 ; Karumi *et al.*, 2004 ; Oloyede, 2005**).

❖ Tanins

La détection des tanins est réalisée par le mélange de 0,5 ml de FeCl₃ à 1% avec 2 ml de chaque extrait. L'apparition de la couleur verdâtre ou bleue-noirâtre après incubation indique la présence des tanins.

❖ Flavonoïdes

La présence des flavonoïdes est mise en évidence par l'ajout de 1 ml de chaque extrait avec 1 ml d'acide chlorhydrique concentré et quelques copeaux de magnésium. L'apparition d'une coloration rouge, orange ou rose indique leur présence.

❖ Quinones libres

La recherche des quinones est effectuée par l'addition de 1 ml de l'extrait avec 0,1 ml de soude (NaOH 1%). Leurs présences sont indiquées par l'apparition de couleur qui vire au jaune rouge.

Matériel et Méthodes

❖ Les coumarines

20 mg de l'extrait est Solubilisé dans 2 ml de l'eau chaude. La solution obtenue est divisée en deux volumes égaux dont le premier représente un témoin, le deuxième est traité avec 0,5 ml de NH_4OH à 10%. L'examen est réalisé sous la lumière ultraviolette UV à 366 nm et l'apparition d'une fluorescence intense révèle la présence de coumarines.

❖ Les saponines

Test de mousse : Dans un tube à essai, un volume de 10 mL de l'extrait a été bien agité puis laissé au repos pendant 15 min. une hauteur de mousse persistante supérieure à 1 cm indique la présence de saponosides.

La réaction de Liebermann-Burchard : À 5 mL de chaque extrait, 5 mL d'anhydrideacétique et quelques gouttes d' H_2SO_4 concentrée sont ajoutés. L'apparition d'une couleur verte ou rouge révèle la présence de saponines triterpéniques ou stéroïdiens, respectivement

❖ Les alcaloïdes

La mise en évidence des alcaloïdes a été effectuée par une réaction de précipitation en présence des réactifs de Mayer et de Wagner. A 1 ml de chaque extrait on ajoute 5ml d'HCL (1%) le mélange est chauffé au bain marie pendant 10 min, puis la solution obtenue est divisée en deux volumes égaux. Un volume est traité par le réactif de Mayer, l'autre par le réactif de Wagner. La formation d'un précipité blanc ou brun respectivement révèle la présence des alcaloïdes.

❖ Les anthraquinones

A 1 ml de chaque extrait, nous avons ajouté 0,5 ml de NH_4OH à 10%. L'apparition de la couleur violette indique leur présence.

❖ Les composés réducteurs

La recherche des composés réducteurs est mise en évidence par le mélange de 1 ml d'extraits avec 2 ml de la solution de Fehling. Après incubation au bain-marie à 100°C pendant 8 min l'apparition d'un précipité rouge brique indiquent leur présence

Matériel et Méthodes

5. Dosage de polyphénols et flavonoïdes totaux

5.1. Dosage de polyphénols

➤ **Principe :**

Ce dosage repose sur la méthode colorimétrique en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu. Ce dernier est constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$). L'oxydation des phénols réduit le Folin-Ciocalteu en un mélange d'oxydes bleu de tungstène et de molybdène. L'intensité de la couleur est proportionnelle au taux de composés phénoliques oxydés dont l'absorbance est mesurable entre 725 et 760 nm (**Bonnaillie et al., 2012**).

➤ **Mode opératoire**

Le dosage des polyphénols totaux a été réalisé selon le protocole de **Vermerris et Nicholson. (2006)**. Un volume de 0,1 ml de chaque extrait est mélangé avec 2 ml d'une solution de carbonate de sodium (Na_2CO_3) à 2% fraîchement préparée, après agitation et incubation pendant 5 min, 0,1 ml du réactif de Folin-Ciocalteu (0.2 N) est ajouté au mélange, l'ensemble est agité puis incubé pendant 30 minutes à l'obscurité et à température ambiante. L'absorbance est mesurée au spectrophotomètre UV-VIS à une longueur d'onde (λ) de 700 nm. Une courbe étalon a été réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant l'acide gallique à des concentrations allant de 50 à 1000 $\mu g/ml$.

Le taux des polyphénols a été exprimé en microgramme équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait (μg EAG/mg E) selon la formule suivante :

$$[\text{Polyphénol}] = a \cdot f / C$$

a : concentration des polyphénols ($\mu g/ml$) déterminée à partir de la courbe étalon.

f : facteur de dilution ($\times 22$).

C : concentration de l'extrait.

Matériel et Méthodes

5.2. Dosage des flavonoïdes totaux

➤ Principe

Le taux de flavonoïdes a été déterminé par la méthode colorimétrique en utilisant le trichlorure d'aluminium (AlCl₃) et la soude (NaOH). Le principe de cette méthode est basé sur l'oxydation des flavonoïdes en milieu basique et le trichlorure d'aluminium entraîne la formation d'un complexe jaune-orange qui absorbe à 510 nm (**Zhishen et al., 1999**).

➤ Mode opératoire

Le dosage de flavonoïdes a été réalisé selon le protocole décrit par **Ardestani et Yazdanparast. (2007)**. 500 µL de chaque extrait sont mélangés avec 2 mL d'eau distillée et 150 µL d'une solution de nitrite de sodium (NaNO₂) à 15%. Après 6 min d'incubation à température ambiante, 150 µL de trichlorure d'aluminium (AlCl₃) à 10% sont ajoutés, le mélange est incubé pendant 6 min. Ensuite, 2 ml d'hydroxyde de sodium (NaOH) à 4% est ajouté aux tubes et le volume final est ajusté à 5 ml avec de l'eau distillée. Après 15 min d'incubation, l'absorbance est mesurée à 510 nm.

Une courbe étalon a été réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant la catéchine à différentes concentrations allant de 50 à 1000 µg/ml.

Le taux en flavonoïdes est exprimé en microgramme équivalent catéchine par milligramme d'extrait (µg EC/mg E) selon la formule suivante :

$$[\text{flavonoïdes}] = a \cdot f / C$$

a : concentration des flavonoïdes (µg/ml) déterminée à partir de la courbe étalon.

f : facteur de dilution (x10)

C : concentration de l'extrait.

6. L'analyse chromatographique des composés phénoliques par RP-HPLC-PDA

Les fractions acétate d'éthyle et n-butanol de *B. dioïca* et *C. colocynthis*, BDR_{AT}, BDR_{n.but}, CCF_{AT} et CCF_{n.but} ont subi une analyse des composés phénoliques par chromatographie liquide à haute performance en phase inverse (RP-HPLC-PDA), au Laboratoire de Produits

Matériel et Méthodes

Naturels, Département de Biologie, Faculté SNV-STU, Université Aboubekr Belkaïd-Tlemcen.

Cette analyse a été effectuée sur une colonne Eclipse ODS Hypersil C₁₈ (150 mm, 4,6 µm) à température ambiante. La phase mobile utilisée a été composée d'eau/acide acétique (solvant A) et d'acétonitrile (solvant B). Le gradient d'élution a été comme suit : 5 min avec 10% de solvant B ; 25 min avec 90% de solvant B et 15 min de gradient linéaire de 90% à 100% de solvant B. Après 15 minutes permettant le calibrage de l'appareil. Le débit été de 1 mL/ min et le volume d'injection a été de 20 µL. La longueur d'onde utilisée pour l'identification des composés est 280 nm basée sur la combinaison entre le temps de rétention et l'appariement spectral (El Haci et al., 2020).

I. Etude des activités biologiques

1. Activité antioxydante

1.1 Evaluation de l'activité antiradicalaire par la méthode de piégeage du radical libre DPPH

➤ Principe

. Le 2,2-DiPhényl-1- Picryl-Hydrazyl (DPPH) et l'un des substrats les plus utilisés en raison de sa stabilité en forme radicalaire libre et de la simplicité de son utilisation. Le principe de cette méthode est basé sur la réduction de radical libre DPPH* (forme radicalaire) de couleur violette par un antioxydant (A-OH) qui cède son hydrogène à ce radical, ce dernier passe à la forme DPPH,H (forme non radicalaire) de couleur jaune (**figure 09**). Le pouvoir antiradicalaire est proportionnel à la disparition de la couleur violette dans la solution et qui est mesurable à 515-518 nm (**Popovici et al., 2009**).

Matériel et Méthodes

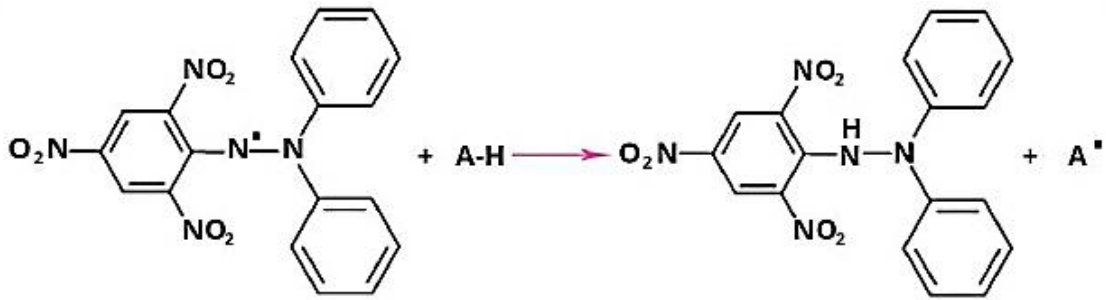


Figure 09 : Réaction de réduction du DPPH par un antioxydant (**Kouamé et al., 2009**).

➤ Mode opératoire

Le test du DPPH a été déterminé selon le protocole décrit par **Atoui et al., (2005)**. Un volume de 50 µL de chaque extrait à différentes concentrations est mélangé avec 1950 µL de la solution méthanolique du DPPH fraîchement préparée à 25µg/mL. Le mélange est incubé à l'obscurité pendant 30 minutes. L'absorbance a été mesurée à 515 nm contre un tube blanc qui contient 50 µL de l'échantillon testé et 1950 µL du méthanol. Le tube contrôle contient 50 µL du méthanol et 1950 µL de la solution du DPPH. L'absorbance est mesurée à 515 nm contre un tube blanc qui contient 2 ml du méthanol.

En parallèle et dans les mêmes conditions opératoires l'acide ascorbique, BHA et BHT sont utilisés comme des contrôles positifs.

Les résultats sont exprimés en pourcentage de réduction du DPPH en tenant compte de la moyenne de trois mesures obtenues pour chaque extrait selon la formule ci-dessous. Les résultats sont également exprimés en termes de valeur de IC₅₀, qui représente la concentration de l'extrait responsable de la réduction de 50% de la forme radicalaire du **DPPH**. Cette valeur, qui est inversement proportionnelle à l'activité antioxydante, est déterminée à partir de l'équation des courbes de régression du **DPPH (%) = f(C)**.

$$DPPH(\%) = \frac{(DO \text{ contrl}) - (DO \text{ éch})}{(DO \text{ contrl})} \times 100$$

DPPH (%) : Pourcentage de réduction du DPPH.

DO contrl : Densité optique du tube contrôle.

DO. Éch : Densité optique de l'échantillon.

Matériel et Méthodes

1.2. Piégeage de l'ABTS (2,2'-azinobis-[3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid])

➤ Principe

Pour ce test l'activité antioxydante d'un extrait est liée à sa capacité à inhiber le radical ABTS^{•+}. L'obtention du radical cation résulte de l'oxydation de la molécule stable ABTS avec le persulfate de potassium, cette formation se traduit par l'apparition d'une coloration vert bleu intense. En présence d'un donneur d'hydrogène (agent antioxydant) le passage de radical ABTS^{•+} à la forme non radicalaire s'accompagne de la disparition de la coloration qui est mesurable à 734 nm (Vuolo *et al.*, 2019) (Figure 10).

➤ Mode opératoire

L'analyse spectrophotométrique de l'activité de piégeage de l'ABTS^{•+}, réalisé au centre de recherche en biotechnologie, a été déterminée selon la méthode de Re *et al.*, (1999) avec légères modifications. La solution du radical ABTS^{•+} a été produite par mélange de ABTS 7 mM et du persulfate de potassium 2,45 mM, cette solution est stockée à l'obscurité à température ambiante pendant 12 h. Avant utilisation, la solution de l'ABTS^{•+} a été diluée pour obtenir une absorbance de $0,708 \pm 0,025$ à 734 nm. Ensuite, 160 μ L de cette solution ont été ajoutés à 40 μ L de solution d'extrait préparé dans du méthanol à différentes concentrations. Après 10 min d'incubation, l'absorbance a été mesurée à 734 nm au lecteur de microplaques à 96 puits le BHA et le BHT ont été utilisés comme molécules antioxydantes de référence.

Les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition de la réduction du radical ABTS^{•+} et en valeur de IC₅₀ déterminée à partir de l'équation des courbes de régression du ABTS^{•+} (%) = $f(C)$.

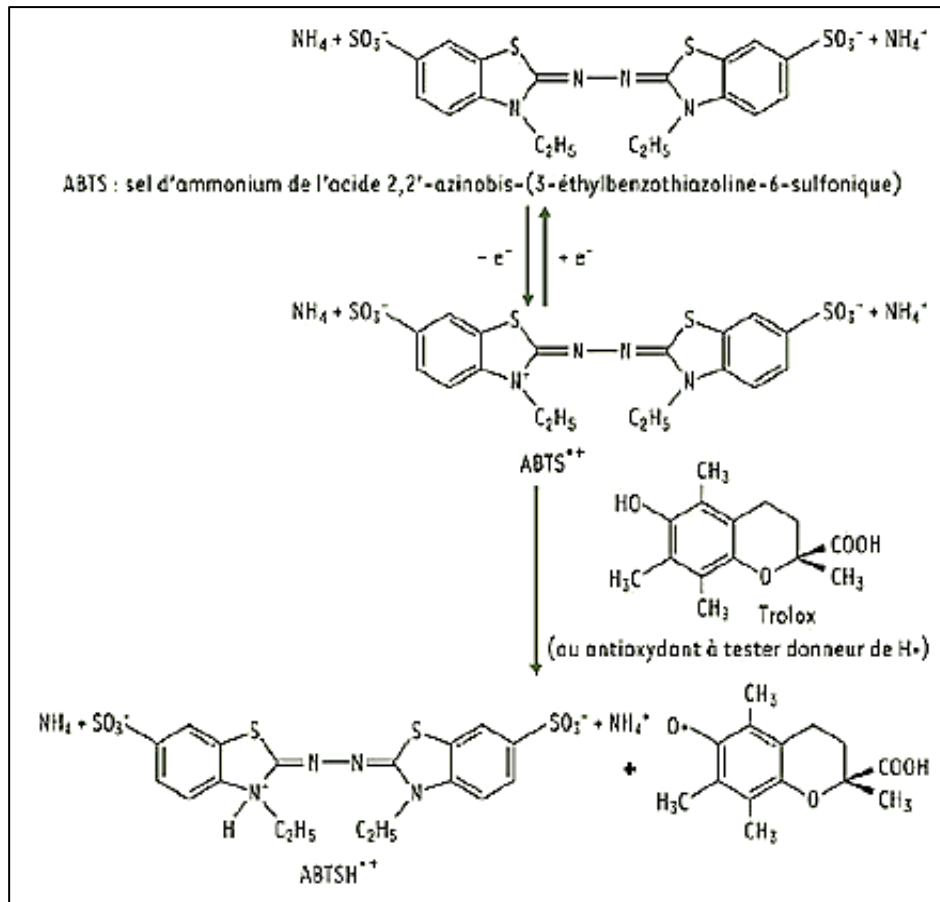


Figure 10 : Formation et piégeage du radical $\text{ABTS}^{\bullet+}$ par un antioxydant donneur de H
(Marc *et al.*, 2004).

1.3. Test de pouvoir réducteur du fer

➤ Principe

Cette technique est basée sur la capacité des extraits testés à réduire le fer ferrique (Fe^{+3}) présent dans le complexe $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ en fer ferreux (Fe^{+2}). L'absorbance du milieu réactionnel est déterminée à 700 nm. Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés (Li *et al.*, 2008 ; Bursal et Köksal, 2011).

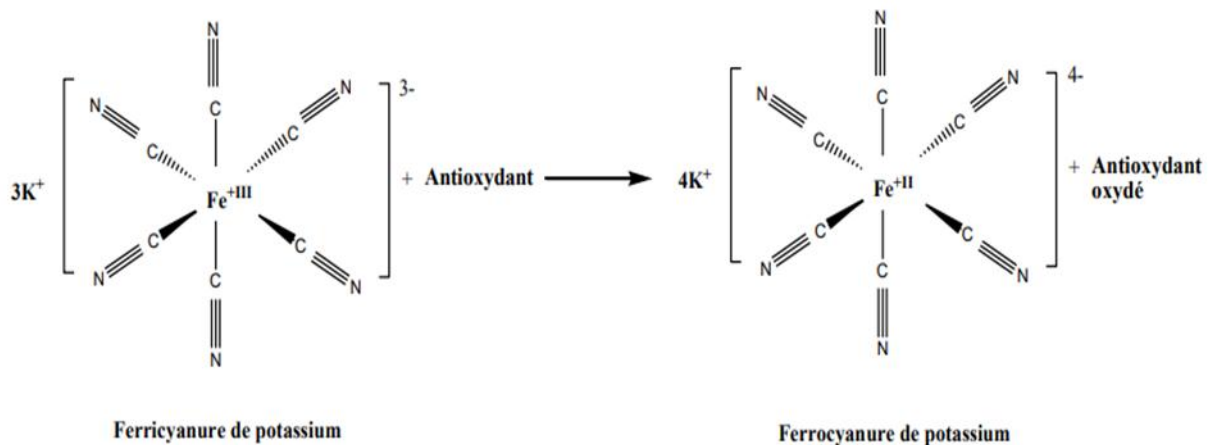


Figure 11 : Mécanisme réactionnel intervenant lors du test FRAP au ferricyanure de potassium $K_3Fe(CN)_6$

➤ Mode opératoire

Le pouvoir réducteur a été évalué selon la méthode de **Karagözler et al., (2008)**. Dans des tubes à essai contenant 1 ml de la solution de chaque extrait testé à différentes concentrations, 2,5 ml de tampon phosphate (0,2 M ; pH 6,6), et 2,5 ml de ferricyanure de potassium $[K_3Fe(CN)_6]$. Le mélange a été incubé à 50°C pendant 20 minutes. Après refroidissement des tubes à température ambiante on ajoute 0,25 ml d'acide trichloracétique (TCA) à 10%, puis le mélange a été centrifugé à 3000 tours/min pendant 10 minutes. Ensuite, 2,5 ml du surnageant ont été mélangés avec 2,5 ml d'eau distillée et 0,5 ml de chlorure du fer ($FeCl_3$) à 1%. L'absorbance est mesurée à 700 nm. L'acide ascorbique, BHA et BHT sont utilisés comme molécules antioxydantes de référence.

Les résultats sont exprimés en absorbance en fonction de la concentration d'extrait, dont la concentration efficace moyenne (EC_{50}) correspond à une absorbance égale à 0,5. Cette concentration est déterminée à partir de l'équation des courbes de régression de l'absorbance en fonction des concentrations des extraits $Absorbance = f(C)$.

1.4. Test de la capacité antioxydante par réduction du cuivre (CUPRAC)

➤ Principe

Le principe de ce test est basé sur la mesure de l'absorbance du cuivre (I)-Néocuproïne produit au cours de la réduction du complexe cuivre (II)- Néocuproïne par les antioxydants présents dans l'échantillon (**Figure 12**), il est caractérisé par sa couleur jaune et son

Matériel et Méthodes

absorbance maximale à 450 nm (Apak et al., 2004).

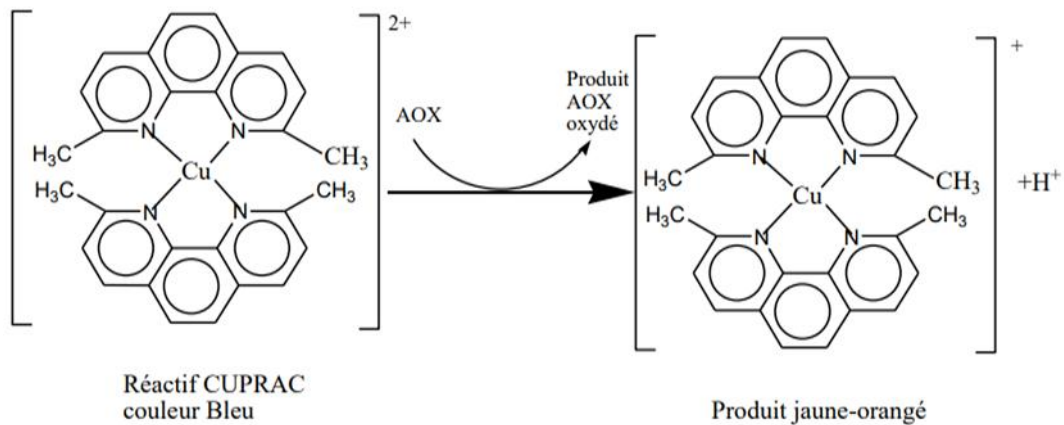


Figure 12 : Réduction du complexe chromogène de Cu^{+} -Néocuproïne.

➤ Mode opératoire

La capacité antioxydante réductrice du cuivre des extraits (réalisé au CRBt) a été déterminée selon la méthode d'Apak et al., (2004). Un mélange réactionnel contenant 40 μL de chaque extrait à différentes concentrations, 50 μL de CuCl_2 (10mM), 50 μL de la solution du cuivre (II)-Néocuproïne (7,5 mM), et 60 μL du tampon acétate d'ammonium (1M, pH 7,0). Après une heure d'incubation à température ambiante, l'absorbance est mesurée au spectrophotomètre lecteur de microplaques à 450 nm.

Le BHA et le BHT sont utilisés comme molécules antioxydantes standards.

Les résultats sont exprimés en absorbance en fonction de la concentration, dont la concentration efficace moyenne (EC_{50}) qui correspond à une absorbance égale à 0,5, a été déterminée à partir de l'équation des courbes de régression de l'absorbance en fonction des concentrations des extraits $\text{Absorbance} = f(C)$.

1.5 Activité antioxydante basée sur la réduction du complexe Fe^{+2} -Phénanthroline

➤ Principe

Cette technique est basée sur la formation du complexe Fe^{+2} -phénanthroline rouge-orangé suite à une réaction d'oxydoréduction du Fe^{3+} par les antioxydants présents dans l'extrait végétal (Figure 13). L'absorbance de ce complexe est mesurable à 510 nm (Szydłowska-Czerniaka et al., 2008).

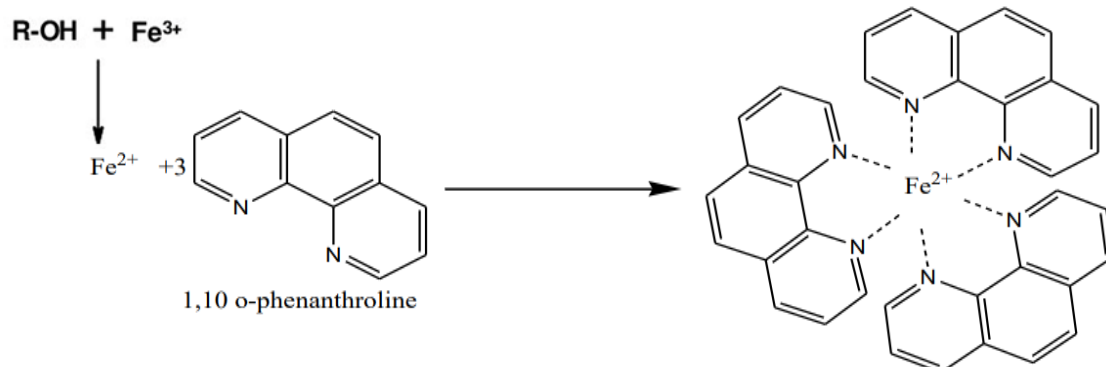


Figure 13 : La formation du complexe chromogène Fe^{+2} -phénantroline

➤ Mode opératoire

Le test de phénantroline (réalisé au CRBt) a été effectué selon le protocole de **Szydlowska-Czerniaka et al., (2008)**. 10 μL de chaque extrait à différentes concentrations est mélangé avec 50 μL de FeCl_3 (0,2%), 30 μL de phénantroline (0,5%), et 110 μL du méthanol. Après incubation à l'obscurité pendant 20 minutes à 30°C, l'absorbance a été mesurée à 510 nm au spectrophotomètre lecteur de microplaques. Le BHA et le BHT sont utilisés comme molécules antioxydante standards

Les résultats sont exprimés en absorbance en fonction de la concentration, dont la concentration efficace moyenne (**EC₅₀**) qui correspond à une absorbance égale à 0,5, a été déterminée à partir de l'équation des courbes de régression de l'absorbance en fonction des concentrations des extraits $\text{Absorbance} = f(C)$.

1.6. Capacité antioxydante totale CAT

➤ Principe

Ce test est basé sur la réduction du molybdène (Mo^{6+}) en molybdène (Mo^{5+}) par l'extrait de plante. Cette réduction induit, à pH acide, la formation du complexe phosphate/ Mo^{5+} de couleur verte ayant une absorbance maximale à 695 nm (**Prieto et al., 1999**).

➤ Mode opératoire

0,1 ml de chaque extrait convenablement dilué est combinée dans un tube avec 1ml de la solution contenant l'acide sulfurique (0,6 N), le phosphate de sodium (Na_3PO_4 , 28 mM) et de molybdate d'ammonium ($(\text{NH}_4)_6 \text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 4 mM). Les tubes sont incubés à 95°C

Matériel et Méthodes

pendant 90 min. Après refroidissement des tubes à température ambiante, l'absorbance est mesurée à 695 nm au spectrophotomètre.

La capacité antioxydante totale, déterminée à partir de la gamme étalon de l'acide gallique est exprimée en microgramme équivalent acide gallique par milligramme d'extrait ($\mu\text{g eq AG/mg}$ extrait).

1.7. Etude de l'effet cytoprotecteur des extraits de *Citrullus colocynthis* et *Bryonia dioica* sur les globules rouges humain soumis à une agression radicalaire par le AAPH

➤ Principe

Le test de l'effet cytoprotecteur des extraits sur les globules rouges soumis à une agression radicalaire induite par le AAPH (2,2'-azobis-2-aminodipropane dihydrochloride) est basé sur l'oxydation des lipides membranaires des globules rouges ce qui provoque une peroxydation lipidique. Ce test permet de mettre en évidence la capacité antioxydante d'une molécule ou d'un extrait végétal en mesurant sa capacité à inhiber l'hémolyse par rapport au témoin, ce qui signifie sa capacité à protéger la membrane lipidique des globules rouges.

L'agression radicalaire de la membrane lipidique des globules rouges est induite par mise en contact de la suspension érythrocytaire avec du AAPH. La décomposition thermique de ce composé génère des radicaux libres (**Figure 14**) qui attaquent la membrane des globules rouges. Lorsque les antioxydants endogènes sont consommés, la résistance des globules rouges diminue, la membrane éclate et l'hémoglobine se retrouve dans le surnageant. Le suivi de l'hémolyse se fait par spectrophotométrie à 545 nm. La présence d'antioxydant dans le milieu d'incubation diminue le taux de l'hémolyse (**Dai et al., 2006 ; Bessada et al., 2015**).

➤ Mode opératoire

1.7.1 Préparation de la suspension érythrocytaire

Le sang prélevé chez des volontaires sains dans des tubes héparinés est centrifugé à 4000 tr/min, pendant 10min à 4°C le culot de globules rouges résultant est lavé trois fois avec du tampon phosphate salin PBS (10 mM, pH 7,4) puis dilué pour obtenir une suspension érythrocytaire de 5%.

Matériel et Méthodes

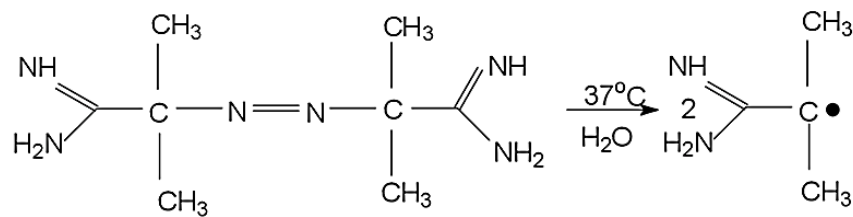


Figure 14 : décomposition thermique d'AAPH (Litescu et al., 2011 ; Werber et al., 2011)

1.7.2 Mesure du taux de l'hémolyse

100 μ l de la suspension érythrocytaire (5%) préalablement incubé avec 100 μ L de différentes concentrations d'extrait pendant 15 min à 37°C, a été mélangé avec 200 μ L de la solution du AAPH (100 mM). Les tubes sont incubés pendant 3 heures à 37°C, ensuite 8 mL du PBS a été ajouté au milieu réactionnel et les tubes sont centrifugés à 4000 tr/min pendant 10 min. l'absorbance du surnageant est mesuré au spectrophotomètre à 540 nm. L'acide ascorbique et la quercétine sont utilisés comme molécules antioxydantes standards (Yuan et al., 2005)

Les résultats de la résistance des globules rouges à l'agression radicalaire induite par le AAPH en présence et en absence des extraits ou des molécules standards ont été exprimée en pourcentage du taux de l'hémolyse selon la formule ci-dessous. Ces résultats ont permis de déterminer la valeur de IC₅₀ à partir de l'équation des courbes de régression du *taux d'hémolyse (%) = f(C)*.

$$\text{Taux de l'hémolyse (\%)} = [1 - (\text{A}_{\text{échantillon}} / \text{A}_{\text{contrôle}})] \times 100$$

A_{échantillon} : Absorbance de l'hémoglobine en présence de l'échantillon (extrait ou molécules standards)

A_{contrôle} : Absorbance du control positive qui provoque une hémolyse totale

2. Evaluation de l'activité antidiabétique des extraits de *Citrullus colocynthis* et *Bryonia dioïca*

L'activité antidiabétique des extraits de *C. colocynthis* et *B. dioïca* a été évalué *in vitro* en cherchant leur effet inhibiteur de l'activité des enzymes intestinales α -glucosidase et α -amylase en utilisant la méthode en point terminal.

Matériel et Méthodes

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

➤ Principe

L'inhibition de l' α -amylase, responsable de la dégradation des hydrates de carbone au niveau de l'intestin grêle, limite les pics de l'hyperglycémie post prandiale. L'incubation de l' α -amylase avec l'amidon (le substrat) permet son hydrolyse et la libération des sucres réducteurs. En milieu alcalin et à chaud, l'oxydation des groupements aldéhydes et cétones libres des sucres réducteurs, provoque la réduction de l'acide 3,5-dinitrosalicylique (DNSA) de couleur jaune-orange en acide 3-amino 5-nitrosalicylique de couleur rouge-orange qui absorbe à 540 nm. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la quantité de sucres réducteurs présents dans le milieu (**Bernfeld, 1955**).

2.1.1. Réactifs utilisés

➤ Solution de l' α -amylase

L'origine de l' α -amylase utilisée dans notre étude est le pancréas de porc (E.C.3.2.1.1) avec une activité spécifique de 13UI/ml. L'optimum de l'activité α -amylasique d'origine porcine est à pH 6,9 pour une température de 37°C.

➤ Solution du substrat

Comme substrat, nous avons utilisé l'amidon soluble de pomme de terre. Un gramme d'amidon est dissous dans 100 ml de solution tampon phosphate (0,02 M, pH 6,9) en chauffant à une température de 50-70°C sous agitation.

➤ Solution de l'extrait

Les extraits des deux plantes étudiées sont dissous dans la solution tampon phosphate. Une gamme de concentrations croissantes a été préparée variant 0,33 et 3,33 mg/ml.

➤ Solution de l'acarbose

Une solution d'acarbose à différentes concentrations 0,02 à 0,66 mg/ml est préparée dans le tampon phosphate (0,02 M, pH 6,9).

Matériel et Méthodes

Réactif chromogène 3,5-dinitrosalicylique (DNSA)

Dans un erlenmeyer, 1 g de l'acide 3,5-dinitrosalicylique est solubilisé dans 40 ml d'eau distillée. La solution obtenue est de couleur jaune opaque. En parallèle, nous avons préparé une solution de NaOH 2N dans laquelle nous avons dissous 30 g de tartrate double sodium / potassium sous agitation. Une fois les deux solutions sont mélangées, le réactif devient limpide avec une couleur orange. Le volume final est ajusté à 100 ml avec de l'eau distillée. Le réactif obtenu est conservé à l'abri de la lumière et à +4°C.

➤ Mode opératoire

Une gamme de concentration des extraits a été testé pour son effet inhibiteur de l'activité de l' α -amylase selon le protocole de **Thalapaneni et al. (2008)**. 200 μ L de la solution de chaque extrait (ou du contrôle positif : Acarbose) est incubé avec 200 μ L de la solution d'enzyme pendant 10 min à 37°C. Ensuite, l'addition de 200 μ L du substrat (amidon) dans le milieu réactionnel précède l'incubation des tubes pendant 15 min à 37°C. Après cette deuxième incubation, 600 μ L du DNSA est ajouté dans chaque tube pour arrêter la réaction enzymatique et révéler les sucres réducteurs. Les tubes sont d'abord placés dans un bain-marie bouillant pendant 8 min, ensuite ils sont placés directement dans un bain d'eau glacée afin de stopper la réaction par choc thermique entre le maltose et le DNSA. Après addition de 1mL d'eau distillée dans chaque tube la densité optique a été mesurée à 540 nm au spectrophotomètre. Les absorbances mesurées ont permis de calculer le pourcentage d'inhibition (I%) en utilisant la formule ci-dessous. Ces pourcentages ont permis de déterminer la valeur de IC₅₀ à partir de l'équation des courbes de régression du *pourcentage d'inhibition=f(concentration de l'échantillon)*

$$\text{Inhibition } \alpha\text{-amylase (\%)} = [(A_{\text{contrôle}} - A_{\text{échantillon}})/A_{\text{contrôle}}] \times 100$$

A_{contrôle} : Absorbance de l'activité enzymatique sans inhibiteur.

A_{échantillon}: Absorbance de l'activité enzymatique en présence de l'inhibiteur extrait ou acarbose.

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

➤ Principe

L'hydrolyse du para-nitrophényl- α -D-glucopyranoside (pNPG) par les α -glucosidases libère

Matériel et Méthodes

du glucose et du para-nitrophénol (pNP). Ce dernier, en présence du carbonate de sodium génère une coloration jaune qui absorbe à 400 nm (**Sinéad Lordan et al., 2013**).

2.2.1 Réactifs utilisés

➤ Solution de l' α -glucosidase

Dans cette étude nous avons utilisé l' α -glucosidase de *Saccharomyces cerevisiae* (0,1U/ml), Sigma-Aldrich, (E.C.3.2.1.20) caractérisée par son activité optimale à pH 6,9 et à 37°C.

➤ Solution du substrat (5 mM)

Le substrat utilisé est le para-nitrophényl- α -D-glucopyranoside (p-NPG). 15,06 mg est solubilisé dans 10 ml du tampon phosphate (100mM ; pH 6.9)

➤ Solution d'extrait

Les extraits de deux plantes étudiées sont dissous dans la solution tampon phosphate. Une gamme de concentrations croissantes a été préparée allant de 0,015 jusqu'à 1 mg/mL.

➤ Solution d'acarbose

L'acarbose utilisé comme contrôle positif a été préparé dans du tampon phosphate (0,02 M, pH 6,9) à différentes concentrations de 0,078 à 5 mg/ml.

➤ Mode opératoire

L'évaluation de l'effet inhibiteur des extraits de *C. colocynthis* et *B. dioïca* sur l'activité de l' α -glucosidase (réalisé au CRBt) a été effectué selon le protocole de **Sinéad Lordan et al., (2013)**. Dans une microplaque à 96 puits, 50 μ L de l'extrait et 50 μ L du substrat (p-NPG) préalablement incubés à 37°C pendant 5 min, sont mélangés avec 100 μ L de la solution d'enzyme (0,1U/ml). Après 30 min d'incubation à 37°C, le carbonate de sodium (100mM) est ajouté au milieu réactionnel, et l'absorbance du para-nitrophénol généré dans le milieu est mesuré au spectrophotomètre lecteur de microplaques à 400 nm.

Les résultats de l'effet des extraits testés sur l'activité de l' α -glucosidase sont exprimés en pourcentage d'inhibition calculé selon la formule ci-dessous. Ces pourcentages ont permis de déterminer la valeur de IC₅₀ à partir de l'équation des courbes de régression du *pourcentage*

Matériel et Méthodes

d'inhibition=f (concentration de l'échantillon)

$$\text{Inhibition } \alpha\text{-glucosidase (\%)} = [(A_{\text{contrôle}} - A_{\text{échantillon}}) / A_{\text{contrôle}}] \times 100$$

$A_{\text{contrôle}}$: Absorbance de l'activité enzymatique sans inhibiteur

$A_{\text{échantillon}}$: Absorbance de l'activité enzymatique en présence de l'extrait ou d'acarbose

3. Evaluation de l'activité antimicrobienne des extraits de *Citrullus colocynthis* et *Bryonia dioïca*

Les extraits de *B. dioïca* et *C. colocynthis* ont été testé pour leur activité antimicrobienne sur des bactéries à Gram positif et à Gram négatif, pour leur activité antifongique en utilisant la souche *Candida albicans*, et pour leur activité antibiofilm en utilisant le test anti-adhésion des bactéries à la surface des microplaques.

Cette étude a été réalisée sur des souches bactériennes de référence disponibles au niveau du laboratoire de recherche LAPSAB (**Tableau 06**). Nous avons utilisé en premier lieu la méthode de diffusion sur milieu solide (gélose) en particulier la méthode des disques. Les extraits qui présentent des zones d'inhibition remarquables au cours de la méthode des disques, seront testés par la méthode des dilutions en milieu liquide afin de déterminer les Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI).

Matériel et Méthodes

Tableau 06 : Les souches bactériennes et levures utilisées pour l'évaluation de l'activité antimicrobienne

	Souches
Bactéries à Gram négatif	<i>Citrobacter freundii</i> ATCC 8090
	<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 700603
	<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853
	<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 13311
	<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 35659
	<i>Acinetobacter baumannii</i> ATCC 19606
Bactéries à Gram positif	<i>Enterobacter cloacae</i> ATCC 13047
	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538
	<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 49452
	<i>Bacillus cereus</i> ATCC 25921
	<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633
	<i>Micrococcus luteus</i> ATCC 9341
Levures	<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 15313
	<i>Candida albicans</i> ATCC 10231
	<i>Candida albicans</i> IP444
	<i>Candida albicans</i> ATCC26790

3.1. Méthode de diffusion sur gélose : Méthode des disques

L'activité antibactérienne des extraits a été testée par la méthode standard de diffusion sur disque d'écrite par **CLSI M07-A9-2012**. La turbidité de la suspension bactérienne doit être normalisée astandard 0,5 McFarland (ce qui correspond à environ 10^8 UFC/ ml) mesurée au spectrophotomètre à 625 nm pour une absorbance comprise entre 0,08 et 0,13. Les suspensions ajustées représentent l'inoculum.

Des disques en papier buvard 6 mm de diamètre stériles imprégnés de 10 μ L de l'extrait à une concentration finale de 512 μ g/disque, sont déposés délicatement sur les milieux solides dans une boîte préalablementensemencée par inondation sur milieu Mueller-Hinton et inoculées par les souches bactériennes. La gentamicine est utilisée comme contrôl positif.

Les boîtes sont ensuite incubées pendant 24h à 37°C. La lecture a été réalisée par la mesure

Matériel et Méthodes

des diamètres des zones d'inhibition autour des disques (mm) en prenant la moyenne de trois mesures différentes.

Une échelle de diamètres des zones d'inhibition (mm) permet de distinguer l'effet antibactérien **Lee et al., (2007)** ;

Diamètre $\leq 6,4$ mm \rightarrow aucune activité antibactérienne ;

Diamètre entre 6,5 et 6,9 mm \rightarrow faible activité antibactérienne ;

Diamètre entre 7 et 7,9 mm \rightarrow activité antibactérienne moyenne ;

Diamètre ≥ 8 mm \rightarrow activité antibactérienne importante.

3.2. Méthode des dilutions sur milieu liquide

La concentration minimale inhibitrice (CMI) des extraits présentant une activité antibactérienne par la méthode de diffusion sur disque a été déterminée avec la méthode de microdilution sur milieu liquide selon la recommandation de **CLSI M07-A8 2009**.

Une gamme de concentrations décroissantes des extraits allant de 10 à 0,019 mg/mL a été préparée. 100 μ L de chaque dilution ont été déposés dans les puits des microplaques. Les premiers puits de la microplaque sont utilisés comme contrôles négatifs, remplis uniquement par le milieu de culture. Tandis que le dernier puits représente le contrôle positif, rempli uniquement par la suspension bactérienne. 100 μ L de chaque concentration de l'extrait ont été incubés avec 100 μ L de l'inoculum contenant 10^6 cellules/mL préparé dans le bouillon Mueller Hinton liquide pH de $7,2 \pm 0,2$.

La lecture des résultats est effectuée à l'œil nu après 24h d'incubation à 37°C. la CMI correspond à la concentration de l'extrait testé pour laquelle aucun trouble visuel n'est observé.

3.3. Evaluation de l'activité antifongique

L'évaluation de l'activité des *B. dioïca* et *C. colocynthis* vis-à-vis des levures a été réalisée par la méthode de diffusion sur milieu solide inspirée à partir d'une technique standardisée par le CLSI (**Espinel-Ingroff, 2007**). Le milieu de culture utilisé est le milieu de Mueller Hinton + 2% de glucose + 0,5 μ g/mL de bleu de méthylène à pH de 7,4. L'inoculum équivalent au 0,5 McFarland a été préparé selon les mêmes étapes que celles décrites pour les bactéries sauf que l'absorbance a été de l'ordre de 0,12-0,15 lue à une longueur d'onde de 530

Matériel et Méthodes

nm. L'ensemencement a été effectué par écouvillonnage. Les disques ont été déposés après séchage. Les boîtes ont été incubées à 35°C pendant 24h. La lecture a été réalisée de la même façon que celle décrite pour les bactéries.

L'étude de la CMI de la levure a été procédée de la même manière que celles des bactéries, sauf que le milieu de culture était le RPMI 1640. L'inoculum a été ajusté à une absorbance entre 0,12 à 0,15 lue à 530 nm, ce qui correspond à un inoculum équivalent à $1-5 \cdot 10^6$ UFC. La lecture a été réalisée de la même façon que celle décrite pour les bactéries.

3.4. Evaluation de l'activité antibiofilm : Test anti-adhésion des bactéries

L'adhésion est une étape nécessaire à la formation de biofilm (**Guo et al., 2021**). Dans ce but nous nous sommes intéressés à évaluer l'effet anti-adhésion des extraits de *C. colocynthis* et *B. dioïca* sur *Escherichia coli* ATCC 8739, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 et *Listeria monocytogenes* ATCC 15313, en mesurant leur capacité à inhiber l'adhésion de ces souches à la surface des microplaques (polystyrène). Cette activité a été réalisée selon le protocole de **Agarwal et al., (2011)** et **Aissaoui et al., (2021)**.

La concentration de la suspension bactérienne doit être fixée à 10^8 UFC/ mL et mesurée au spectrophotomètre à 620 nm. La densité optique des cellules adhérentes a été déterminée dans des microplaques en polystyrène à 96 puits. Les premiers puits de la microplaque sont utilisés comme contrôles négatifs, remplis uniquement par le milieu de culture. Tandis que le dernier puits représente le contrôle positif, rempli uniquement par la suspension bactérienne.

100 µL des différentes concentrations d'extraits ont été incubés avec 100 µL de la suspension bactérienne pendant 03 heures à 37°C. Après incubation, le contenu a été aspiré et les puits ont été lavés 3 fois avec de l'eau distillée stérile afin d'éliminer les cellules non adhérentes. Les cellules adhérentes ont été fixées dans du méthanol pendant 30 min, ensuite ont été colorées par addition de 200 µL du cristal violet (0,5%) pendant 1 min. Après coloration et séchage des microplaques la détermination des cellules adhérentes à la surface de microplaques est assurée par l'addition de 200 µL de la solution de décoloration (éthanol / acétone, 80 :20 %) dans chaque puits pendant 15 min. en suite l'absorbance est mesurée à 595 nm au lecteur de microplaque.

Matériel et Méthodes

Les résultats de l'effet anti-adhésion bactérienne des extraits testés sont exprimés en pourcentage d'inhibition calculé selon la formule suivante ;

$$\text{Effect anti-adhesion (\%)} = [(A_{\text{contrôle}} - A_{\text{échantillon}}) / A_{\text{contrôle}}] \times 100$$

4. Analyses statistiques

Toutes les expériences ont été répétées trois fois (n=3). Les résultats sont exprimés par le calcul de la moyenne \pm ESM (erreur standard de la moyenne). La différence entre les valeurs moyennes des résultats a été analysée par le test de Student « *t* » pour une probabilité $p \leq 0,05$.

La différence entre deux moyennes est

Significative : $P \leq 0,05$ (*)

Très significative : $P \leq 0,01$ (**)

Hautement significative : $P \leq 0,001$ (***)

Résultats et interprétation

Résultats et interprétation

I. Etude phytochimique

1. Caractéristiques des extraits des racines de la bryone et des fruits de la coloquinte

La préparation des extraits des deux plantes étudiées a été réalisée par macération. Après évaporation à sec du solvant d'extraction (eau, solvant organique) les différents extraits sont récupérés sous forme solide (poudre ou pâte). **Le tableau 07** résume quelques caractéristiques de ces extraits.

Tableau 07 : Caractéristiques des extraits des racines de *Bryonia dioica* et des fruits de *Citrullus colocynthis*

	Extraits	Rendement (%)	Couleur	Aspect	Solubilité
<i>Citrullus colocynthis</i>	Aqueux	11	Marron	Poudre	Eau distillée
	Eau-méthanol	10	Marron	Poudre	Eau distillée
	Chloroforme	18,5	Marron	Poudre	méthanol
	Acétate d'éthyle	1,65	Marron/sombre	Pâte	Eau distillée
	n- butanol	3	Marron	Poudre	Eau distillée
<i>Bryonia dioica</i>	Aqueux	12,5	Marron	Poudre	Eau distillée
	Eau-méthanol	8,26	Marron	Poudre	Eau distillée
	Chloroforme	17,5	Marron	Poudre	Méthanol
	Acétate d'éthyle	1,5	Marron/sombre	Pate	Eau distillée
	n-butanol	1,92	Orange	Poudre	Eau distillée

D'après ces résultats On remarque que l'extrait chloroformique des fruits de *C. colocynthis* donne le rendement le plus élevé, environ 18,5% suivi par L'extrait chloroformique des racines de *B. dioica* 17,5%. Tandis que les fractions acétate d'éthyle (E/Ac) des racines de *B. dioica* et des fruits de *C.colocynthis* présentent les rendements le plus faible 1,5% et 1,65 % respectivement. Les extraits des *C. colocynthis* sont récupérés avec un meilleur rendement par rapport aux extraits des racines de *B. dioica* à l'exception de l'extrait aqueux.

Résultats et interprétation

2. Screening phytochimique

L'apparition d'une coloration ou précipitation voire floculation par le biais de certains réactifs spécifiques utilisés, témoigne de la présence de certaines familles de composés chimiques dans les extraits testés. Les résultats de l'analyse phytochimique qualitative des différents extraits des deux cucurbitacées étudiées sont représentés dans le **tableau 08**.

Résultats et interprétation

Tableau 08 : Screening phytochimique des extraits des racines de *Bryonia dioïca* et des fruits de *Citrullus colocynthis*

		<i>Citrullus Colocynthis</i>					<i>Bryonia dioïca</i>				
		Aqueux	Eau-méthanol	Chloroforme	Acétate d'éthyle	n-butanol	Aqueux	Eau-méthanol	Chloroforme	Acétate d'éthyle	n-butanol
Tanins	Catéchiques	+	++	+	++	++	++	++	+	++	+++
	Galliques	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-
Flavonoïdes		++	+	+	+	+	++	+	+	++	
Coumarines		+	-	-	-	-	-	-	-	-	
Saponines	Triterpéniques	+	++	++	++	++	++	++	++	++	
	Stéroïdiques	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	Hauteur de lamousse (cm)	0,5	0,7	0,8	0,5	1,4	0,8	1,1	1,8	1	1,4
Alcaloïdes	Mayer	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	Wagner	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Quinones libres		++	+	+	+	+	++	+	+	+	
Anthraquinones		-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Sucres réducteurs		+	-	-	-	-	+	-	-	-	
(-): absent, (+): présent, (++): fortement présent.											

Le screening phytochimique des différents extraits a révélé la présence des tanins catéchiques, flavonoïdes, saponines triterpéniques, quinones libres, et l'absence des saponines stéroïdiques, alcaloïdes et des anthraquinones dans l'ensemble des extraits. Seuls les extraits hydro-méthanol et acétate d'éthyle des racines de *B. dioïca* se caractérisent par la présence de tanins Galliques.

Résultats et interprétation

3. Teneur en polyphénols et en flavonoïdes totaux

La teneur en polyphénols et flavonoïdes totaux a été quantifiée par la méthode spectrophotométrique en utilisant le réactif de Folin–Ciocalteu et le trichlorure d'aluminium (AlCl_3), respectivement. Les résultats obtenus sont exprimés en microgrammes équivalent acide gallique par milligramme d'extrait ($\mu\text{g eq AG/mg E}$) et en microgrammes équivalent de catéchine par milligramme d'extrait ($\mu\text{g eq Cat /mg E}$) respectivement. En utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique et de la catéchine, **figure 14 et 15**

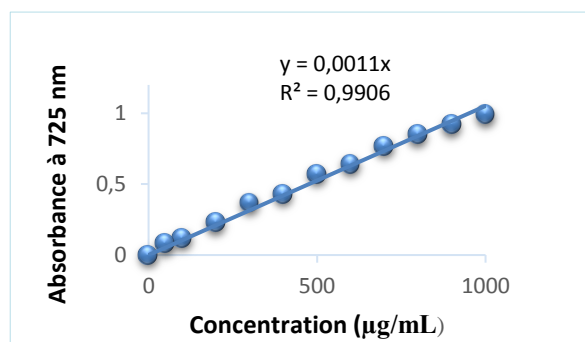
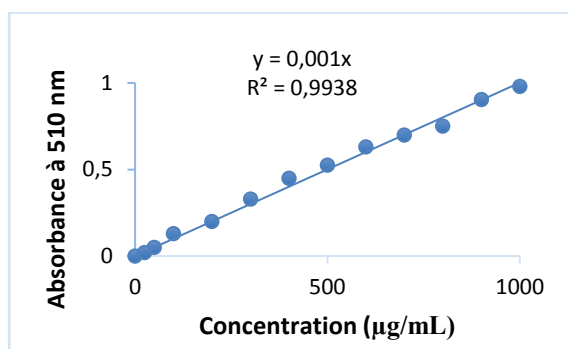


Figure 14 : Courbe étalon de la catéchine.

Figure 15 : Courbe étalon de l'acide gallique.

Le tableau 09 résume les teneurs en phénols et en flavonoïdes totaux déterminés dans les extraits de *B. dioica* et de *C. colocynthis*.

Selon les résultats obtenus dans le **tableau 09** nous avons remarqué que les teneurs en polyphénols et en flavonoïdes totaux varient considérablement entre les extraits des deux cucurbitacées étudiées et même entre les différents extraits au sein de la même plante. On remarque que les fractions n-butanol et acétate d'éthyle des racines de *B. dioica* renferment les taux les plus élevés en polyphénols totaux et en flavonoïdes, $540,27 \pm 21,32 \mu\text{g eq AG/mg E}$; $126,3 \pm 7,75 \mu\text{g eq Cat /mg E}$ et $513,63 \pm 9,30 \mu\text{g eq AG/mg E}$; $116 \pm 6,5 \mu\text{g eq Cat/mg E}$, respectivement. L'extrait hydro-méthanol de cette plante renferme un taux considérable en polyphénols et en flavonoïdes il est de $300,9 \pm 8,44 \mu\text{g eq AG/mg E}$ et $74,3 \pm 1,53 \mu\text{g eq Cat/mg E}$, respectivement. Les fractions n-butanol et acétate d'éthyle des fruits de *C. colocynthis* présentent des taux moins importants $260,61 \pm 13,88$ et $220 \pm 5,95 \mu\text{g eq AG/mg E}$ de polyphénols ; $77,7 \pm 3,01$ et $73,03 \pm 2,05 \mu\text{g eq Cat/mg E}$ respectivement. L'extrait chloroformique des deux cucurbitacées renferme toujours les faibles taux en composés phénoliques.

Résultats et interprétation

Tableau 09 : Teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes totaux des extraits de *Bryonia dioïca* et de *Citrullus colocynthis*.

	Extrait	Polyphénols totaux ($\mu\text{g eq AG/mg E}$)	Flavonoïdes totaux ($\mu\text{g eq Cat /mg E}$)
<i>Citrullus colocynthis</i>	Aqueux	150,6 \pm 11,22	53 \pm 2,64
	Eau-méthanol	203,94 \pm 8,97	60,33 \pm 2,52
	Chloroforme	117,27 \pm 5,68	42,4 \pm 1,44
	Acétate d'éthyle	222,72 \pm 4,54	73,03 \pm 2,05
	n-butanol	260,61 \pm 13,88	77,7 \pm 3,01
<i>Bryonia dioïca</i>	Aqueux	220 \pm 5,95	67,3 \pm 5,68
	Eau-méthanol	300,9 \pm 8,44	74,3 \pm 1,53
	Chloroforme	156,36 \pm 8,02	55,6 \pm 3,51
	Acétate d'éthyle	513,63 \pm 9,30	116 \pm 6,5
	n-butanol	540,27 \pm 21,32	126,3 \pm 7,75
Erreur standard (ES) (n=3).			

4. Identification des composés phénoliques par RP-HPLC-PDA

L'analyse chromatographique par RP-HPLC-PDA a été appliquée pour les fractions n-butanol et acétate d'éthyle de *B. dioïca* (racines) et de *C. colocynthis* (fruits) ayant présentés des résultats importants concernant les activités biologiques testés. Les chromatogrammes obtenus à 280 nm sont représentés dans les figures **16, 17,18 et 19**.

Un nombre important de molécules a été détecté dans les extraits de la bryone avec l'identification de six composants. Il s'agit de deux flavonoïdes : la rutine la quercétine ; et trois acides phénoliques : acide syringique, acide férulique, acide p-coumarique. Dans les fractions de la coloquinte, l'analyse chromatographique a identifié la présence d'un acide phénolique c'est l'acide férulique, et la rutine comme flavonoïde.

Il s'est avéré que l'acide férulique est le composé majoritaire, il est détecté dans les quatre fractions des deux plantes et c'était le plus abondant dans les fractions n-butanol des deux cucurbitacées. La fraction acétate d'éthyle de la bryone est riche en composés phénoliques, en particulier des acides phénoliques comme, l'acide p-coumarique, l'acide férulique et l'acidesyringique, elle renferme également deux flavonoïdes : la rutine et la quercétine

Résultats et interprétation

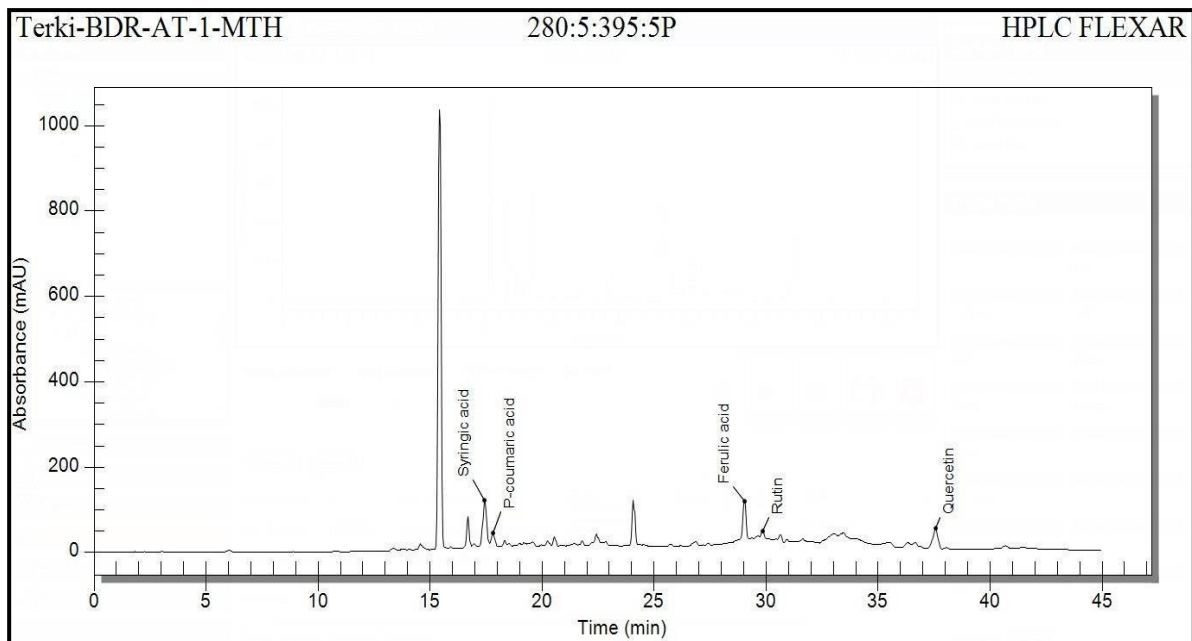


Figure 16 : Chromatogramme de la RP-HPLC-PDA de la fraction acétate d'éthyle de *B. dioica*

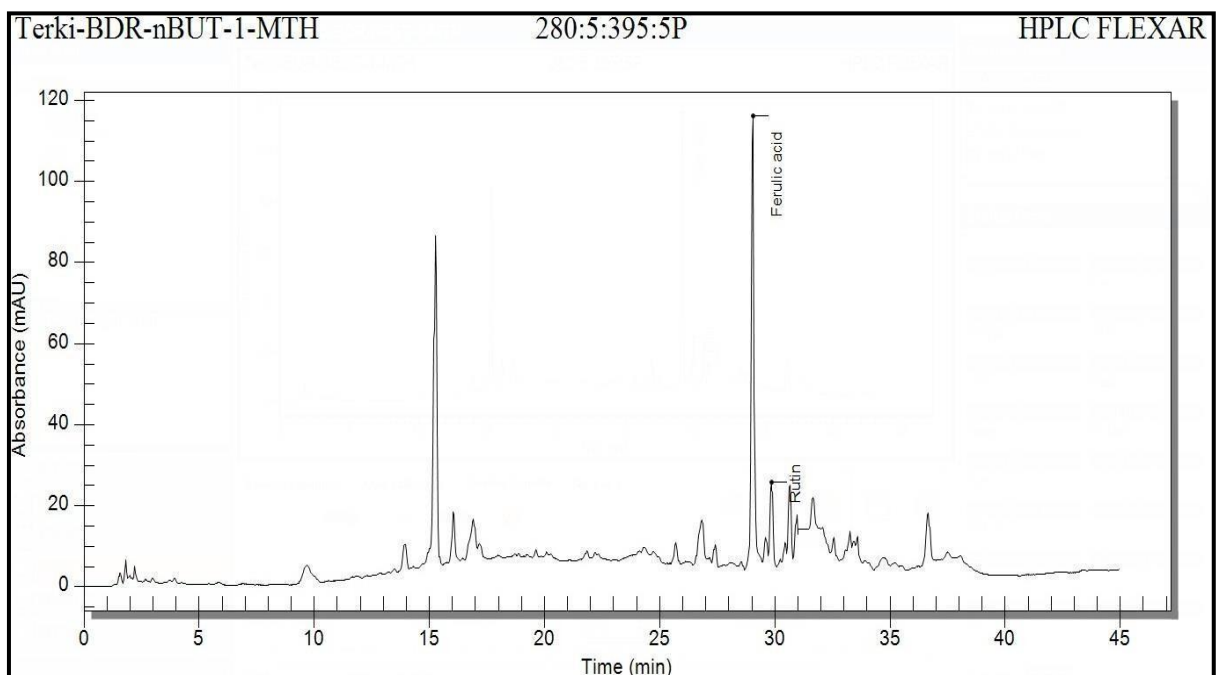


Figure 17 : Chromatogramme de la RP-HPLC-PDA de la fraction n-butanol de *B. dioica*

Résultats et interprétation

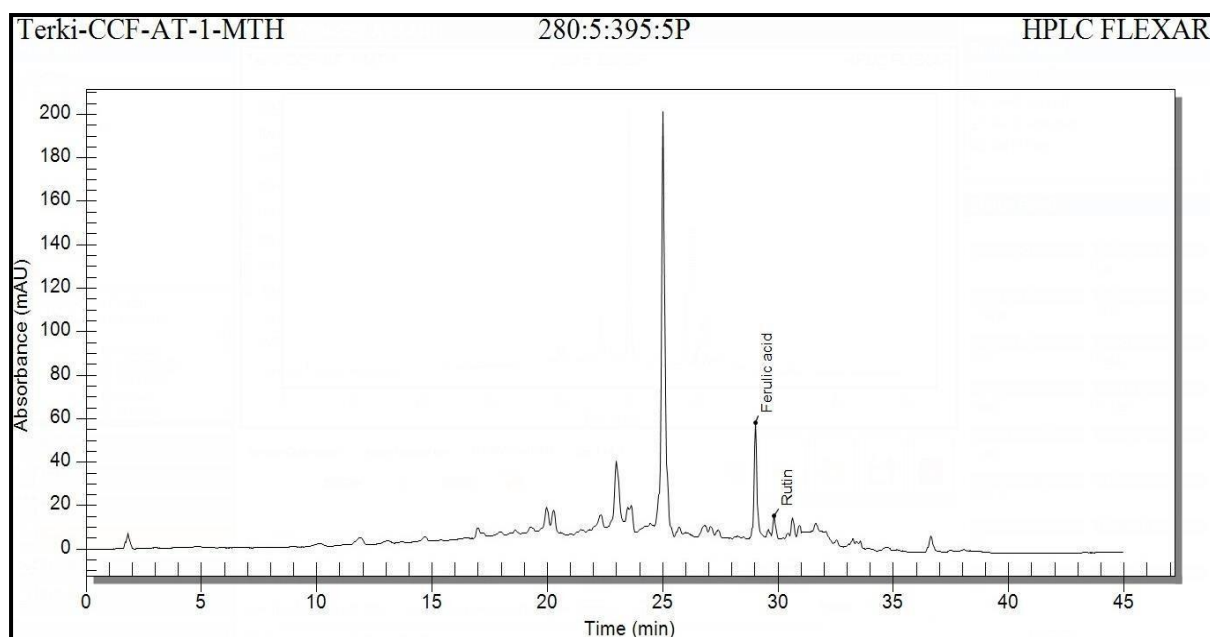


Figure 18 : Chromatogramme de la RP-HPLC-PDA de la fraction acétate d'éthyle de *C. colocynthis*

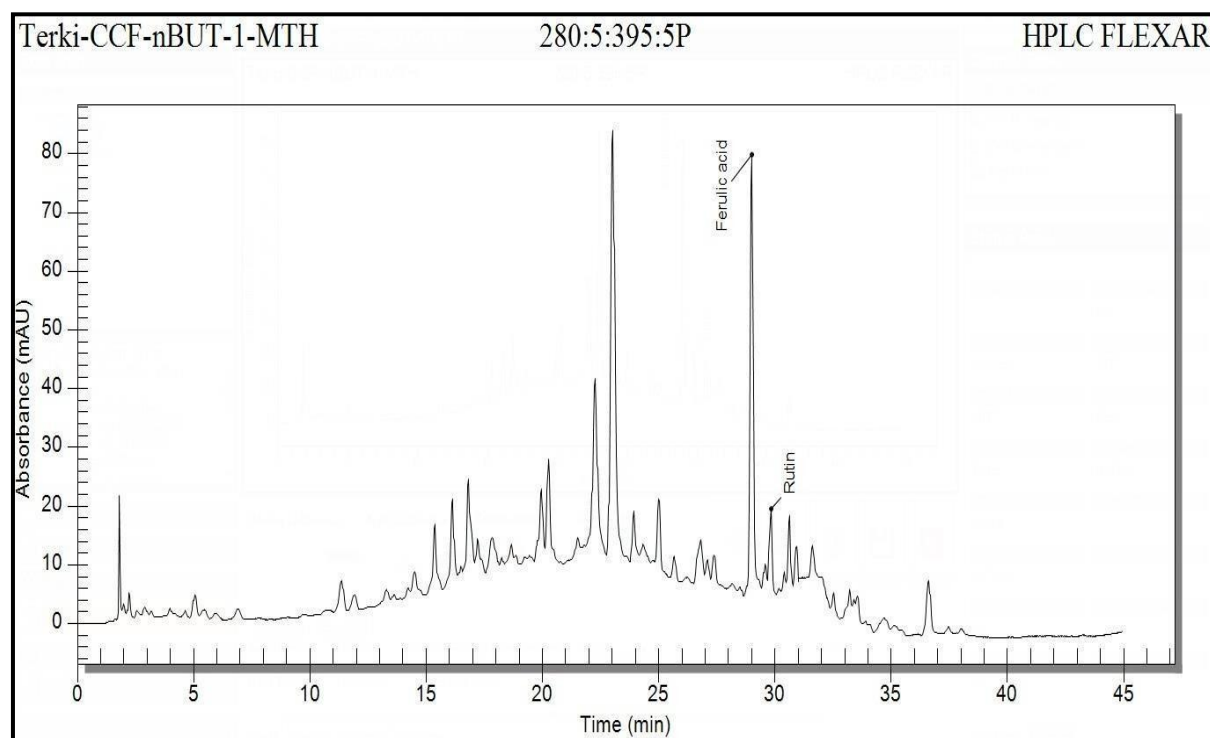


Figure 19 : Chromatogramme de la RP-HPLC-PDA de la fraction n-butanol de *C. colocynthis*.

Résultats et interprétation

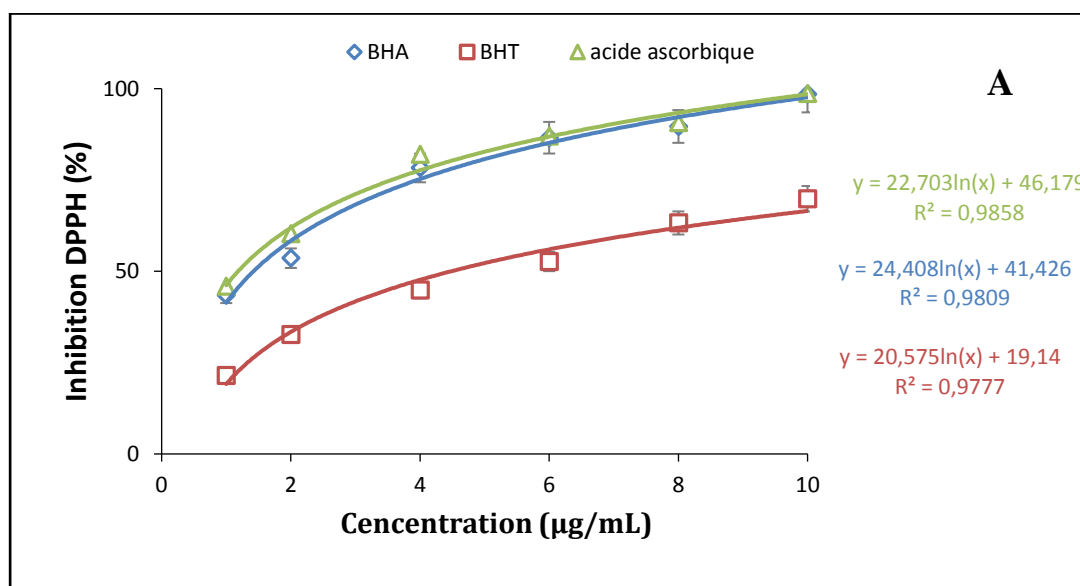
I. Les activités biologiques des extraits de *B. dioïca* et de *C. colocynthis*

1. Activité antioxydante

Le pouvoir antioxydant des extraits de *B. dioïca* (racines) et de *C. colocynthis* (fruits) a été évalué *in-vitro* en utilisant six tests différents : le test de piégeage du radical libre DPPH et du radical ABTS, le test du pouvoir réducteur du fer (FRAP) et du cuivre (CUPRAC), le pouvoir antioxydant basé sur l'effet de phenanthroline, le test de la capacité antioxydante totale, ainsi que et l'évaluation de l'effet anti-hémolytique en mesurant l'effet cytoprotecteur des extraits sur les globules contre l'agression radicalaire induite par le AAPH.

1.1. Effet antiradicalaire des extraits de *B. dioïca* et *C. colocynthis* sur le DPPH

Les résultats indiqués dans les **figures 20** représentent les pourcentages de réduction de DPPH en fonction des concentrations croissantes des extraits et des molécules standards utilisées. Les valeurs de IC₅₀ déterminées sont représentées dans le **tableau 10**.



Résultats et interprétation

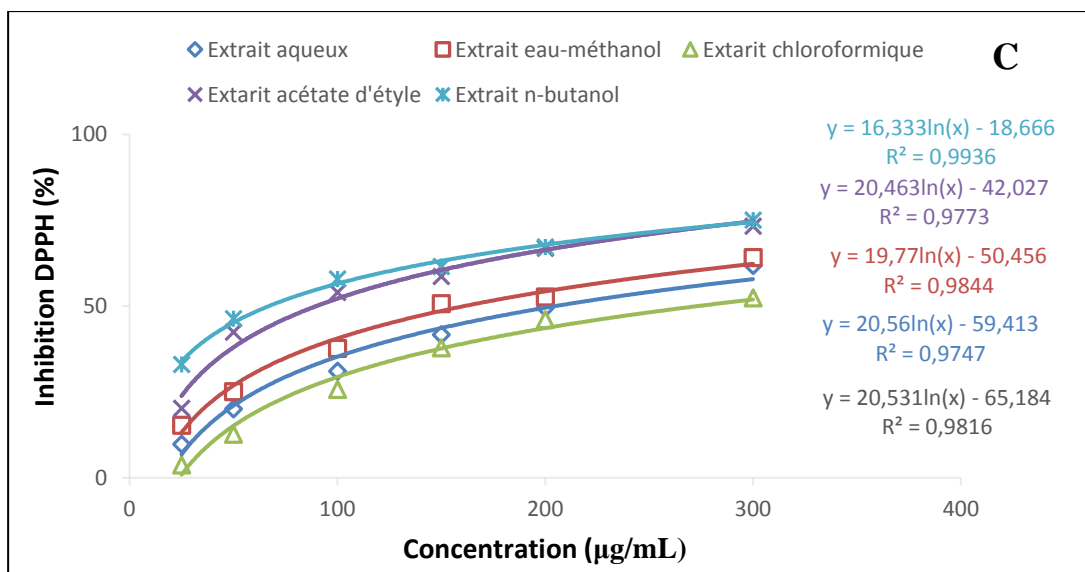
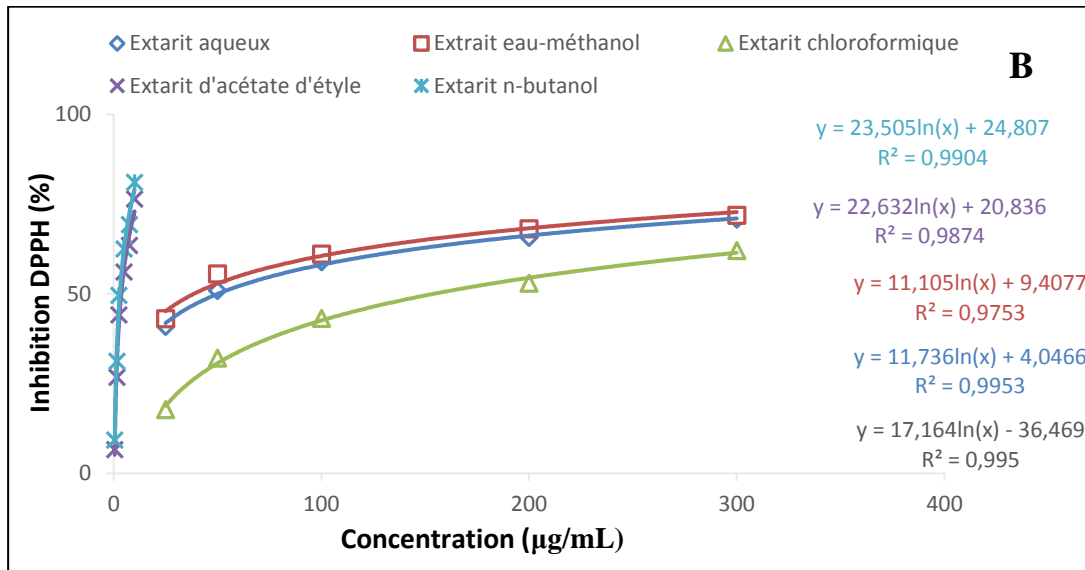


Figure 20 : Effet antiradicalaire sur le DPPH exprimé en pourcentage de réduction en fonction des concentrations des molécules antioxydantes de références (A) et les extraits de *Bryonia dioica* (B) et de *Citrullus colocynthis* (C).

Résultats et interprétation

Tableau 10 : Effet antiradicalaire des molécules antioxydantes de références et des extraits de *B. dioïca* et de *C. colocynthis* sur la réduction du DPPH exprimé en valeurs de IC₅₀ (µg/mL)

	IC ₅₀ (µg/mL)						
	Aqueux	Eau-méthanol	Chloroforme	Acétate d'éthyle	n- butanol	Acide Ascorbique	BHA
<i>Citrullus colocynthis</i>	200,76± 9,49	147,41± 2,21***	274,28± 13,51**	89,29± 1,41***	65,09± 8,4**	1,26±0,01	1,61± 0,04
<i>Bryonia dioïca</i>	49,01± 0,3	43,98± 1,33**	171,43± 3,6**	4± 0,03***	3,27± 0,05***		
(±) : Erreur standard (ES) (n=3). Comparaison entre les extraits et le BHA ** p < 0.01 très significative, *** p < 0.001 hautement significative.							

Les résultats illustrés dans la **figure 20** montrent une augmentation proportionnelle des pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations des molécules de référence et des extraits des fruits de *C. colocynthis* et des racines de *B. dioïca*.

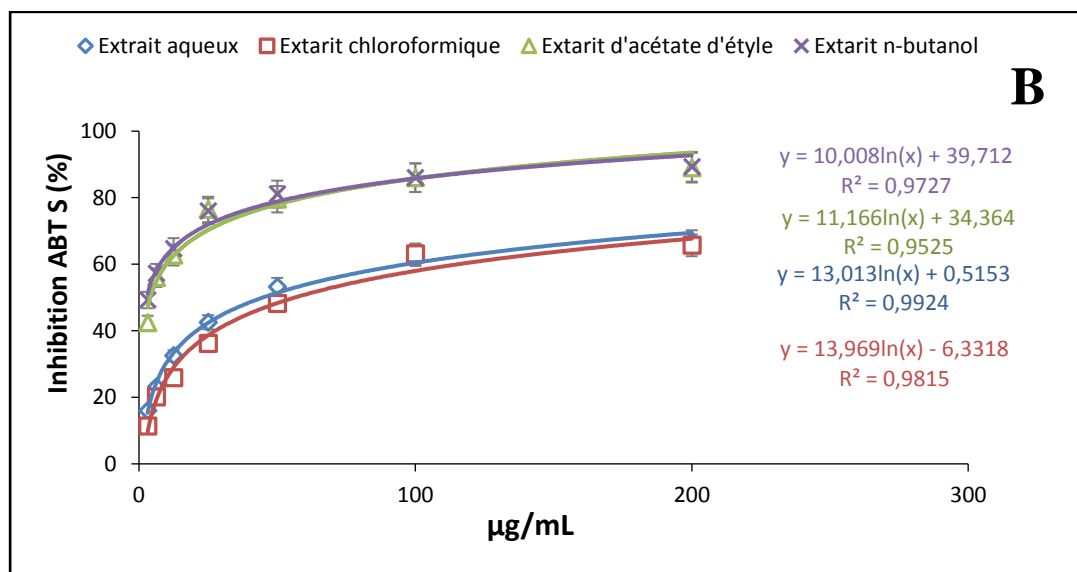
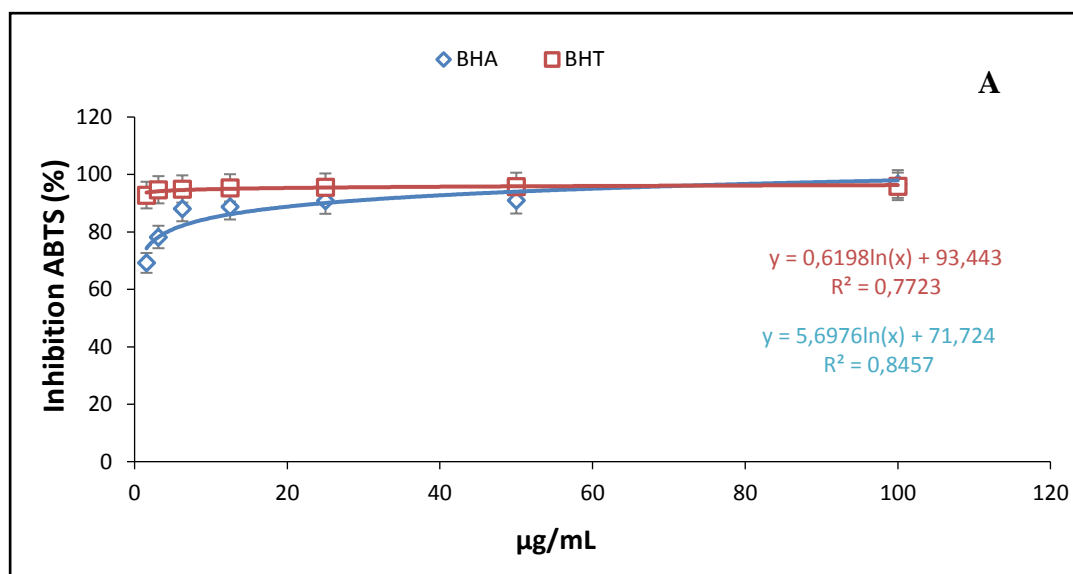
À une concentration de 10 µg/mL, les molécules de références : acide ascorbique et BHA ainsi que l'extrait n-butanol et l'extrait acétate d'éthyle des racines de *B. dioïca* révèlent une activité antiradicalaire importante avec un pourcentage de réduction de DPPH de 98,69 % ; 98,43 % ; 81,01 % et 76,36 %, respectivement. Tandis qu'à forte concentration 300 µg/mL le pourcentage d'inhibition est de l'ordre de 70,76 % ; 71,82 % et 62,02 % pour les extraits aqueux, hydro-méthanol et la fraction du chloroforme des racines de *B. dioïca* passant de 52,42 à 75,1 µg/mL pour les extraits des fruits de *C. colocynthis*.

Les résultats des valeurs de IC₅₀ représentés dans le **tableau 10** montrent que l'extrait n-butanol des racines de *B. dioïca* renferme une activité antiradicalaire très élevée avec une IC₅₀ de 3,27 µg/mL, cette valeur est proche de celle de l'acide ascorbique 1,26 µg/mL et du BHA 1,61 µg/mL. De même, l'extrait acétate d'éthyle des racines de *B. dioïca* montre une IC₅₀ égale à 4 µg/mL. Cependant les autres extraits des racines de *B. dioïca* et des fruits de *C. colocynthis* ont révélé des valeurs de IC₅₀ supérieurs à 40 µg/mL.

Résultats et interprétation

1.2. Effet antiradicalaire des extraits de *B. dioïca* et *C. colocynthis* sur l'ABTS

Dans cette méthode, la détermination de l'activité antioxydante est basé sur la capacité des extraits des deux cucurbitacées à inhiber le radical ABTS^{•+}. Par des dilutions en cascade des différents extraits à tester ainsi que les antioxydants de référence, Une gamme de concentrations allant de 10 à 200 µg/mL a été faite. Les absorbances obtenues ont permis de tracer des courbes logarithmiques avec R² compris entre 0,95 et 0,98 (**Figure 21**). Cette activité est aussi exprimée par la valeur IC₅₀ qui est correspond à la concentration qui assure la réduction de 50% du radical ABTS (**Tableau 11**).



Résultats et interprétation

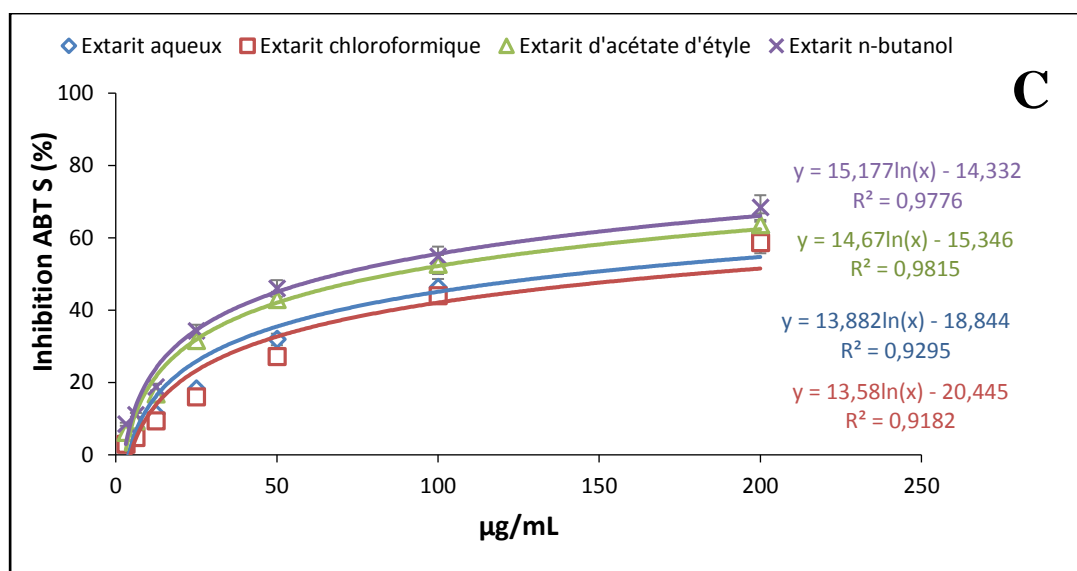


Figure 21 : Effet antiradicalaire sur l'ABTS exprimé en pourcentage de réduction en fonction des concentrations des molécules antioxydantes de références (A) et les extraits de *Bryonia dioïca* (B) et *Citrullus colocynthis* (C).

À 200 µg/mL, les molécules antioxydantes de références : BHA et BHT ainsi que les fractions n-butanol et acétate d'éthyle des racines de *B. dioïca* ont montré un effet antiradicalaire puissant sur l'ABTS avec des pourcentages d'inhibition de 95,39 % ; 96,68 % ; 89,29 % et 89,02 %, respectivement. À cette même concentration (200 µg/mL), le pourcentage d'inhibition des extraits des fruits de *C. colocynthis* arrive à 68%.

Les valeurs de IC_{50} représentées dans le **tableau 11** montrent que les fractions n-butanol (3,13 µg/mL) et acétate d'éthyle (5,45 µg/mL) présentent l'effet le plus puissant. Leurs valeurs de IC_{50} sont proches de celle des molécules antioxydantes de références BHA (1,81 µg/mL) et BHT (1,29 µg/mL). Cependant, l'extrait chloroformique et aqueux des racines de *B. dioïca* ainsi que les extraits des fruits de *C. colocynthis* ont des valeurs de IC_{50} supérieure à 47 µg/mL.

Résultats et interprétation

Tableau 11 : Effet antiradicalaire des molécules antioxydantes de références et des extraits de *B. dioïca* et de *C. colocynthis* sur la réduction de l'ABTS exprimé en valeurs de IC₅₀ (µg/mL).

	IC ₅₀ (µg/mL)					
	Aqueux	Chloroforme	Acétate d'éthyle	n-butanol	BHA	BHT
<i>Citrullus colocynthis</i>	134,91± 4,3	159,12± 2,1**	86,87± 1.26***	77,43± 3,36**	1,81±0,10	1,29±0,30
<i>Bryonia dioïca</i>	47,26± 4,94	122,24± 4,3**	5,45± 0,15***	3,13± 0,54***		
(±) : Erreur standard (ES) (n=3), Comparaison entre les extraits et le BHA ** p < 0.01 très significative, *** p < 0.001 hautement significative.						

1.3.Effet des extraits de *B. dioïca* et *C. colocynthis* sur la réduction du fer

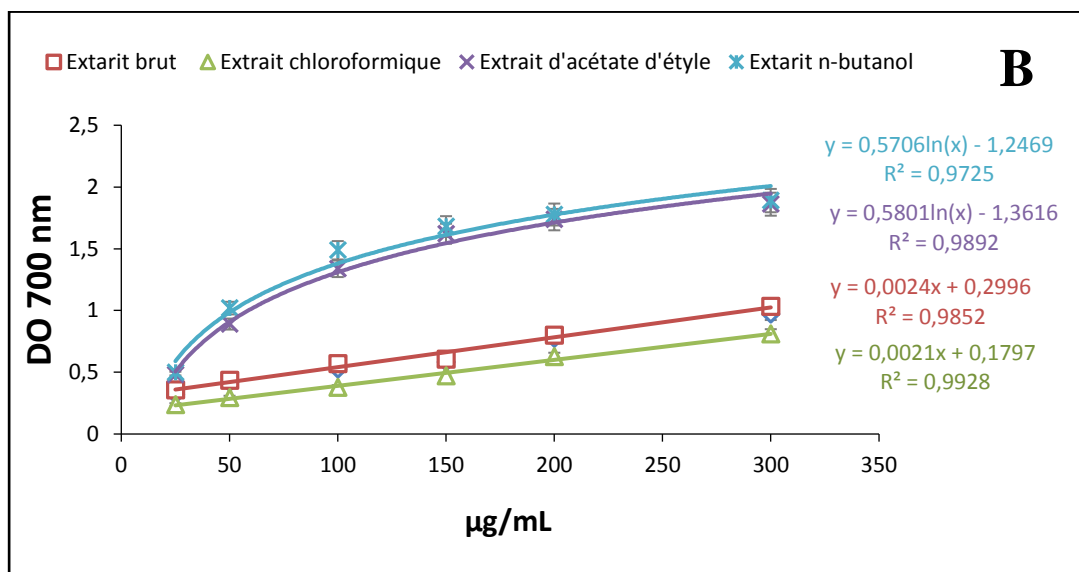
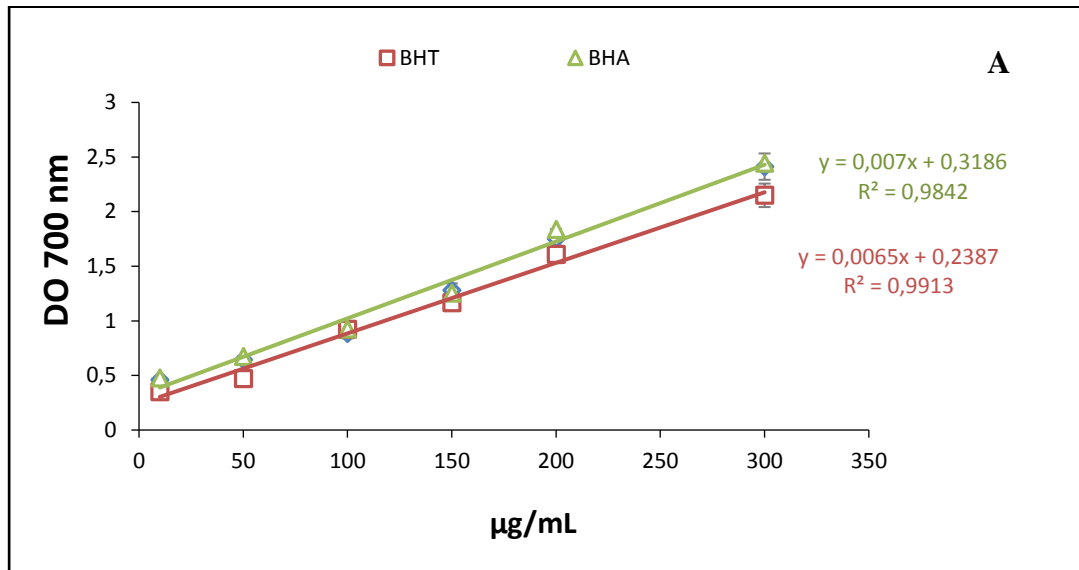
Ce pouvoir se traduit par la réduction du fer ferrique (Fe³⁺) en fer ferreux (Fe²⁺) en présence de molécules antioxydantes dans l'échantillon testé. La quantité du Fe²⁺ formé est suivie par la mesure de l'absorbance à 700 nm. Par des dilutions en cascade des extraits ainsi que les antioxydants de référence, une gamme de concentrations allant de 10 jusqu'à 300 µg/mL a été préparé. Les valeurs de densité optique ont permis de tracer des courbes logarithmiques ayant R² compris entre 0,97 et 0,99 (**Figure 22**). Les résultats sont également exprimés en concentration efficace EC₅₀ qui correspond à la concentration des molécules de références et extraits ayant une absorbance de 0,5 à 700 nm (**tableau 12**).

Selon les résultats représentés dans **la figure 22**, on remarque que le pouvoir réducteur du fer est proportionnel à la concentration des extraits et des molécules de références testées. À une concentration de 100 µg/mL, les absorbances enregistrées dans les extraits des deux plantes étudiées varient entre 0,32 et 1,49.

Les résultats des concentrations efficaces moyenne EC₅₀ représentées dans le **tableau 12** montrent que les fractions n-butanol (24,92 µg/mL) et acétate d'éthyle (27,02 µg/mL) des racines de *B. dioïca* sont les plus puissantes par rapport aux autres extraits et par rapport aux extraits de *C. colocynthis*. Leur pouvoir réducteur du fer dépasse significativement l'effet du BHT (54,17 µg/mL). Cependant, les autres extraits des deux cucurbitacées ont révélé des

Résultats et interprétation

valeurs de EC₅₀ supérieures à celles des molécules de références.



Résultats et interprétation

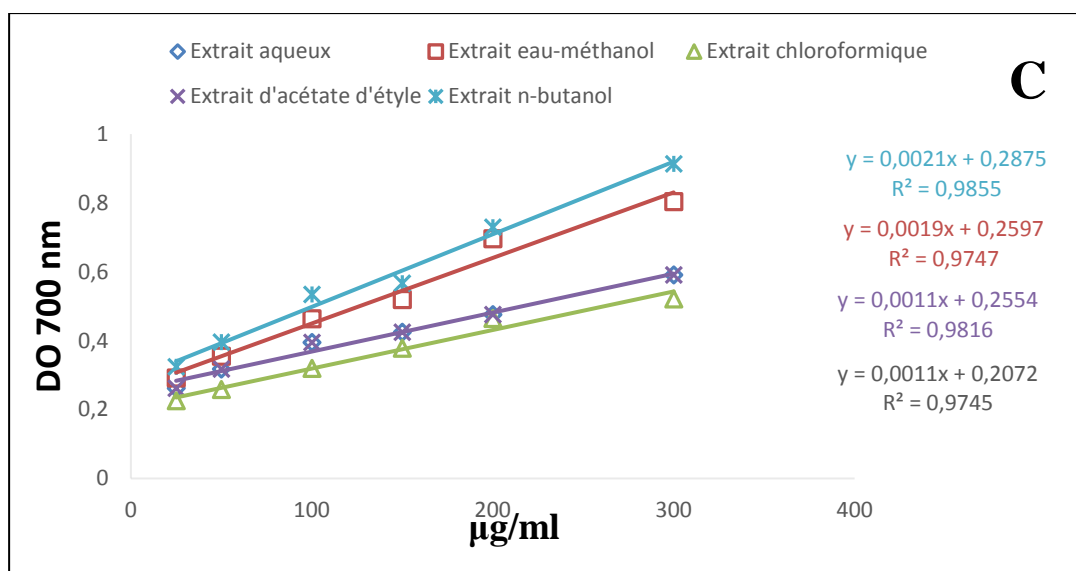


Figure 22 : Pouvoir réducteur du fer des molécules antioxydantes de références (A) et des extraits des racines de *Bryonia dioïca* (B) et de *Citrullus colocynthis* (C)

Tableau 12 : Pouvoir réducteur du fer des molécules antioxydantes de références et des extraits de *B. dioïca* et de *Citrullus colocynthis* exprimé en valeurs de EC₅₀ (µg/mL).

	IC ₅₀ (µg/mL)						
	Aqueux	Eau-méthanol	Chloroforme	Acétate d'éthyle	n-butanol	BHA	BHT
<i>Citrullus colocynthis</i>	241± 30,95	130,75± 2,35***	277,58± 7,92***	119,37± 9,73**	99,7± 5,46** *	14,53±5,76	54,17±1,76
<i>Bryonia dioïca</i>	93,6± 5,12	74,98± 2,69***	154,95± 2,11**	27,02± 1,6***	24,92± 0,98** *		

(±) : Erreur standard (ES) (n=3), Comparaison entre les extraits et le BHA ** p < 0.01 très significative, *** p < 0.001 hautement significative

Résultats et interprétation

1.4. Effet des extraits de *B. dioïca* et *C. colocynthis* sur la réduction du cuivre

Cette activité se traduit par la réduction du complexe Cu^{2+} -Néocuproïne en Cu^+ -Néocuproïne (450 nm) en présence de molécules antioxydantes.

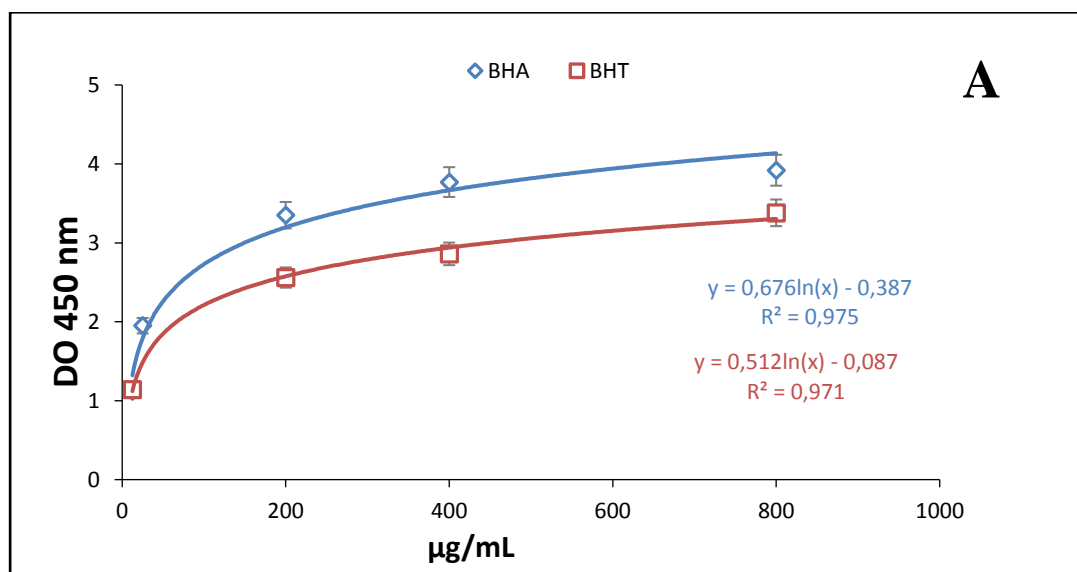
Les résultats obtenus concernant le pouvoir réducteur du cuivre des extraits de *C. colocynthis* et *B. dioïca* sont représentés dans la **Figure 23** et le **tableau 13**.

Dans cette figure on remarque que le pouvoir réducteur du cuivre augmente proportionnellement à la concentration des extraits et des molécules de références. À la concentration de 25 $\mu\text{g/mL}$, les absorbances des extraits varient entre 0,73 et 2,36.

Suivant les résultats de la concentration efficace CE_{50} représentés dans le **tableau 13** nous remarquons que les fractions n-butanol et acétate d'éthyle des racines de *B. dioïca* ont enregistré un fort pouvoir réducteur du cuivre par rapport au reste des extraits, ils ont affiché de faibles valeurs de EC_{50} 7,38 $\mu\text{g/mL}$ et 8,87 $\mu\text{g/mL}$, respectivement. Ces valeurs restent meilleures que celle du BHT (9,62 $\mu\text{g/mL}$) et proche de celle du BHA (3,64 $\mu\text{g/mL}$).

Les fractions n-butanol et acétate d'éthyle de *C. colocynthis* ont également révélé un pouvoir réducteur du fer mais qui reste faible par rapport à l'effet de la bryone. Les valeurs de EC_{50} déterminées pour ces fractions sont 19,41 $\mu\text{g/mL}$ et 26,63 $\mu\text{g/mL}$, respectives.

Les autres extraits des deux plantes étudiées ont présenté des valeurs de EC_{50} supérieures à 27 $\mu\text{g/mL}$.



Résultats et interprétation

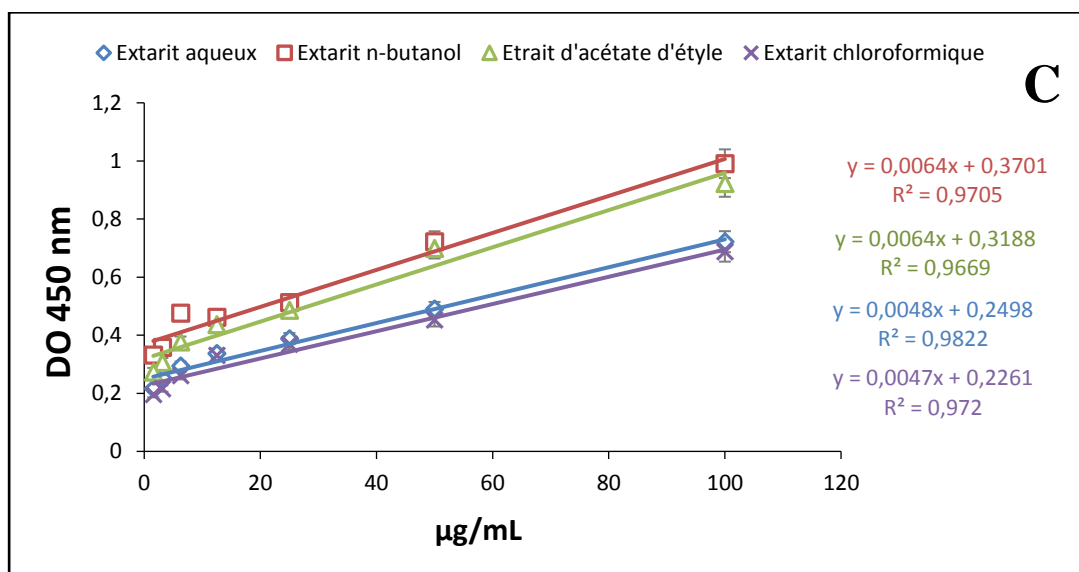
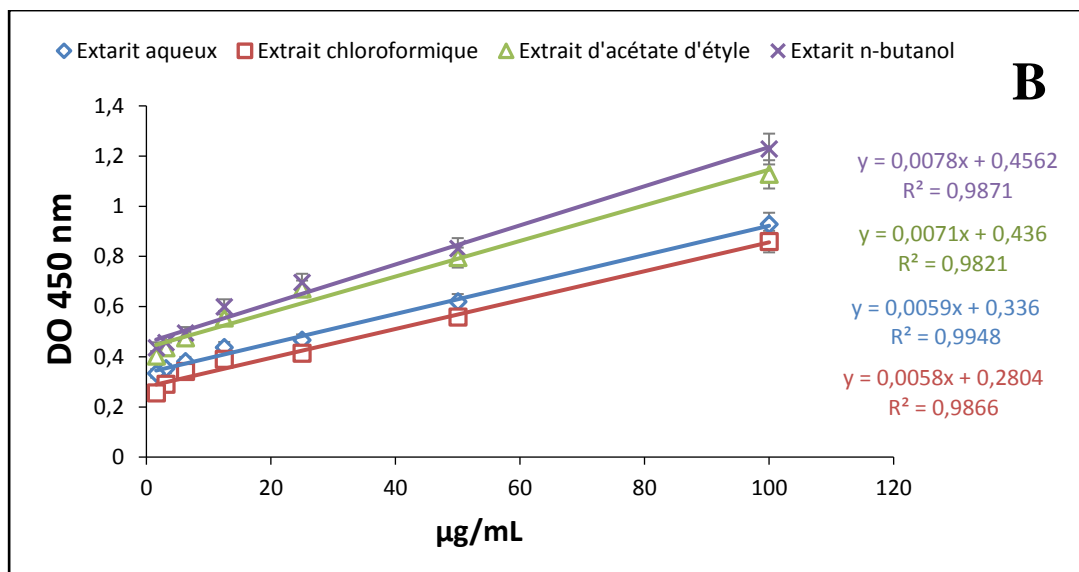


Figure 23 : Pouvoir réducteur du cuivre des molécules antioxydantes de références (A) et des extraits des racines de *Bryonia dioica* (B) et de *Citrullus colocynthis*(C)

Résultats et interprétation

Tableau 13 : Pouvoir réducteur du cuivre des molécules antioxydantes de références et des extraits de *B. dioïca* et de *Citrullus colocynthis* exprimé en valeurs de EC₅₀ (µg/mL).

	EC ₅₀ (µg/mL)					
	Aqueux	Chloroforme	Acétate d'éthyle	n-butanol	BHA	BHT
<i>Citrullus colocynthis</i>	51,6± 6,56	57,69± 2,98***	26,63± 3,43***	19,41± 1,94***	3,64±0,19	9,62±0,87
<i>Bryonia dioïca</i>	27,31± 3,79	40,7± 6,51**	8,87± 2,49***	7,38± 2,96***		
(±) : Erreur standard (ES) (n=3), Comparaison entre les extraits et le BHA ** p < 0.01 très significative, *** p < 0.001 hautement significative.						

1.5 Effet des extraits de *B. dioïca* et *C. colocynthis* sur la réduction du complexe Fe⁺²-Phénanthroline

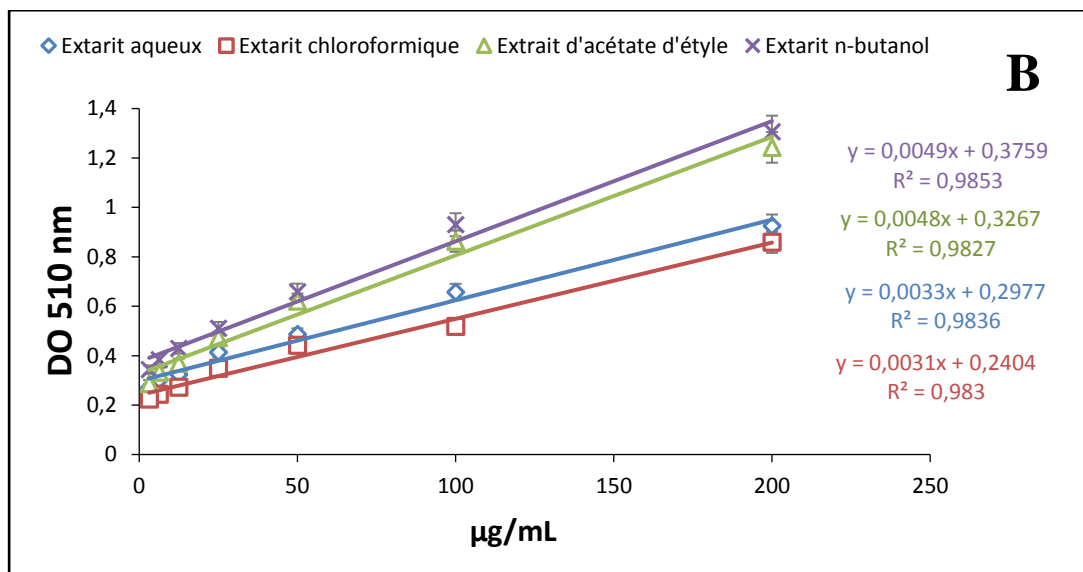
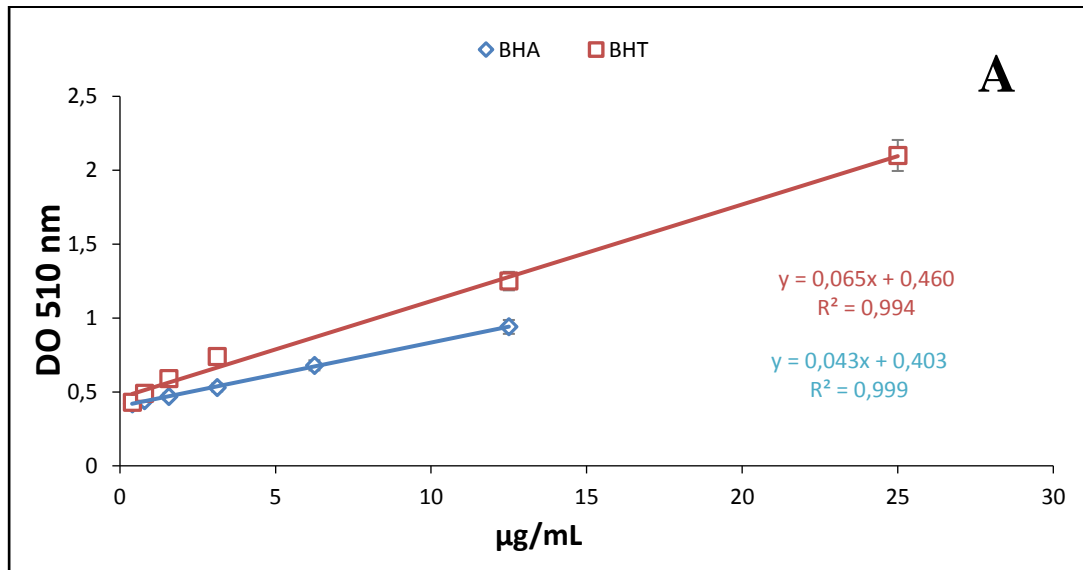
Le test phénanthroline est basé sur la formation d'un complexe Fe⁺²/phénanthroline. Le Fe⁺² est le résultat de la réduction de Fe⁺³ en présence de molécules antioxydantes dans l'échantillon testé.

La Figure 24 et le tableau 14 regroupent les résultats du pouvoir réducteur du complexe Fe⁺²/phénanthroline des extraits de la coloquinte et de la bryone.

Suivant les résultats obtenus nous avons remarqué que l'effet réducteur du fer augmente proportionnellement à la concentration des extraits. À 50 µg/mL les extraits des fruits de *Citrullus colocynthis* et les racines de *Bryonia dioïca* assurent des absorbances qui varient entre 0,38 et 0,66.

Les valeurs des concentrations efficaces moyennes CE₅₀ illustrées dans le tableau 14 montrent que l'ensemble des extraits présentent des valeurs significativement supérieures (variables entre 22 et 86 µg/mL) à celles des molécules antioxydantes de références, le BHA et le BHT qui ont enregistré 0,93 µg/mL et 2,24 µg/mL, respectivement. Les fractions n-butanol et acétate d'éthyle des racines de *Bryonia dioïca* ont révélé des valeurs de CE₅₀ plus faibles comparativement aux autres extraits, elles sont de l'ordre de 22,1 µg/mL et 31,29 µg/mL.

Résultats et interprétation



Résultats et interprétation

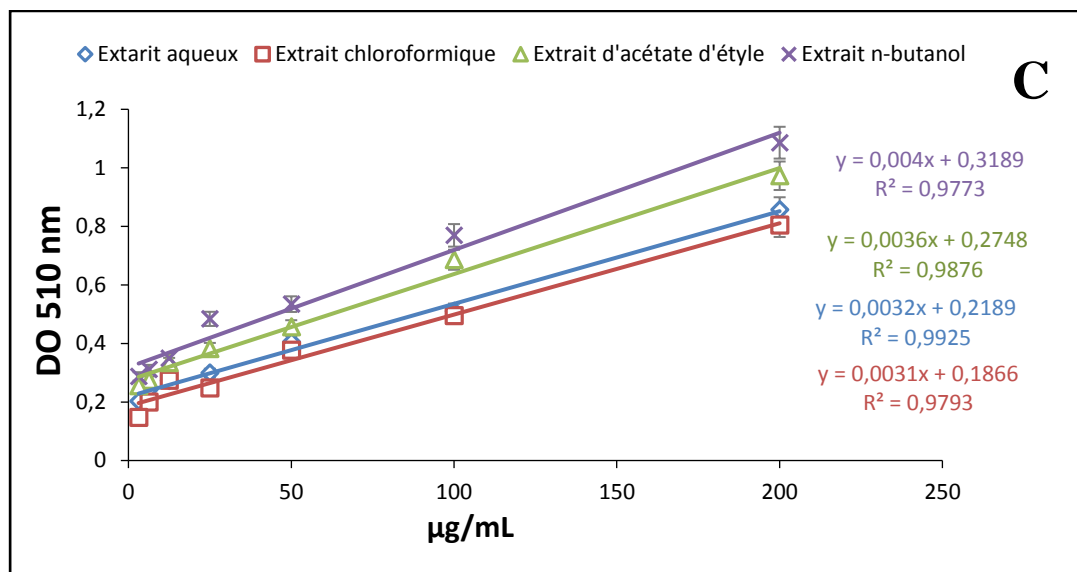


Figure 24 : Pouvoir réducteur du complexe Fe²⁺/phénantroline des molécules antioxydantes de références (A) et des extraits de *Bryonia dioïca* (B) et de *Citrullus colocynthis*(C)

Tableau 14 : Pouvoir réducteur du complexe Fe²⁺/phénantroline des molécules antioxydantes de références et des extraits de *B. dioïca* et de *Citrullus colocynthis* exprimé en valeurs de EC₅₀ (µg/mL).

Extraits	EC ₅₀ µg/mL					
	Aqueux	Chloroforme	Acétate d'éthyle	n-butanol	BHA	BHT
<i>Citrullus colocynthis</i>	86,33±	101,12±	58,75±	39,04±	0,93±0,07	2,24±0,17
	6,94	4,69**	2,04**	5,36**		
<i>Bryonia dioïca</i>	54,71±	80,64±	31,29±	22,1±		
	2,97	5**	3,39**	5,8***		

(±) : Erreur standard (ES) (n=3) , Comparaison entre les extraits et le BHA ** p < 0.01 très significative, *** p < 0.001 hautement significative.

Résultats et interprétation

1.6. Capacité antioxydante totale CAT

Les résultats de la capacité antioxydante totale des extraits de *C. colocynthis* et *B. dioïca* exprimée en microgrammes équivalent acide gallique par milligramme d'extrait ($\mu\text{g eq AG/mg E}$), sont représentés dans la **Figure 25** et le **tableau 15**.

Les résultats illustrés dans le **tableau 15** affichent des variations considérables de la capacité antioxydante totale (CAT) entre les extraits des deux plantes étudiées et même entre les différents extraits au sein de la même plante. Les fractions n-butanol et acétate d'éthyle des racines de *B. dioïca* suivis par l'extrait hydro-méthanol ont montré le meilleur résultat de la capacité antioxydante totale qui est de l'ordre de $194,03 \pm 4,46 \mu\text{g eq AG/mg E}$, $155,56 \pm 3,28 \mu\text{g eq AG/mg E}$ et $137 \pm 3,45 \mu\text{g eq AG/mg E}$, respectivement. Les fractions n-butanol et acétate d'éthyle des fruits de *Citrullus colocynthis* présentent une activité réductrice moins importante $123,97 \pm 5,45 \mu\text{g eq AG/mg E}$ et $114,89 \pm 3,67 \mu\text{g eq AG/mg E}$ respectivement. Pour les autres extraits l'activité réductrice reste faible.

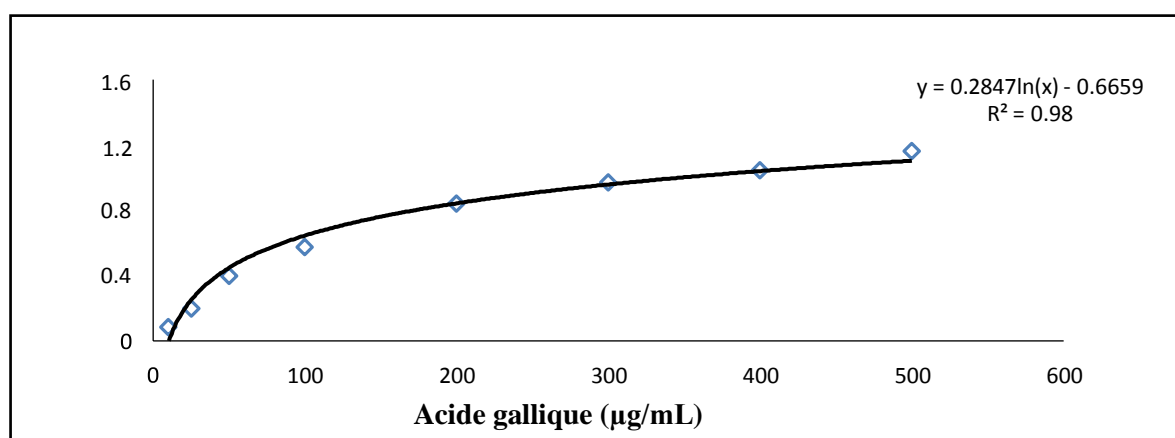


Figure 25 : Courbe étalon de l'acide gallique

Résultats et interprétation

Tableau 15 : Capacité antioxydante totale des extraits de *Citrullus colocynthis* et *Bryonia dioïca*

	Extraits	Capacité antioxydante totale ($\mu\text{g eq AG/mg E}$)
<i>Citrullus colocynthis</i>	Aqueux	72,24 \pm 5,13
	Eau-méthanol	103,54 \pm 2,67
	Chloroforme	47,6 \pm 1,38
	Acétate d'éthyle	114,89 \pm 3,67
	n-butanol	123,97 \pm 5,45
<i>Bryonia dioïca</i>	Aqueux	111,38 \pm 2,91
	Eau-méthanol	137 \pm 3,45
	Chloroforme	67,62 \pm 2,24
	Acétate d'éthyle	155,56 \pm 7,28
	n-butanol	194,03 \pm 4,46
(\pm) : Erreur standard (ES) (n=3).		

1.7. Effet cytoprotecteur des extraits de *B. dioïca* et *C. colocynthis* sur les globules rouges soumis à une agression radicalaire par le AAPH

Les résultats obtenus concernant l'effet des extraits sur l'inhibition de l'hémolyse des globules rouges soumis à une agression radicalaire par le AAPH sont indiqués dans **le tableau 16**.

Nous avons remarqué une augmentation proportionnelle du taux d'inhibition d'hémolyse en fonction de l'augmentation des concentrations des extraits des fruits de *C. colocynthis* et des racines de *B. dioïca*. À une concentration de 100 $\mu\text{g/mL}$, les molécules antioxydante de références : acide ascorbique et quercétrine ainsi que les fractions n-butanol et acétate d'éthyle des racines de *B. dioïca* révèlent un effet protecteur intéressant avec une inhibition d'hémolyse qui atteint 68,63% ; 58,75% ; 68,13% et 66,13% respectivement. Suivis par la fraction n-butanol de *C. colocynthis* avec un taux d'inhibition d'hémolyse de 56,21%. Tandis que les autres extraits des deux plantes présentent un effet protecteur moins important avec un pourcentage d'inhibition d'hémolyse qui ne dépasse pas 50%.

Résultats et interprétation

Les résultats des valeurs de IC₅₀ déterminées montrent que la fraction n-butanol des racines de *B. dioica* révèle un effet cytoprotecteur des globules rouges très puissant avec une IC₅₀ de 15,82 µg/mL ce résultat reste meilleur que celui des molécules de antioxydante de référence acide ascorbique (16,32 µg/ml) et la quercétine (18,27 µg/ml). Les extraits acétate d'éthyle de *B. dioica* et n-butanol de *C. colocynthis* ont présentés des valeurs de IC₅₀ de 16,47 µg/ml et 19,11 µg/ml, respectivement. Ces valeurs sont intéressantes par rapport à l'effet de la quercétine qui a affiché une IC₅₀ de 18,27 µg/mL. Tandis que l'effet du reste des extraits est moyennement faible avec des valeurs de IC₅₀ qui varient entre 90, 97 et 298,18 µg/mL.

Tableau 16 : Effet cytoprotecteur des extraits de *B. dioica* et *C. colocynthis* sur les globules rouges soumis à une agression radicalaire par le AAPH exprimé en pourcentage d'inhibition de l'hémolyse

		(µg/mL)				
		20	40	80	100	IC ₅₀
<i>Citrullus colocynthis</i>	Aqueux	28,79±1,89	30,79±3,55	31,42±4,13	35,04±1,89	298,18±2,86
	Eau-méthanol	35,88±1,38	37,42±0,95	37,46±3,44	41,63±8,06	216,81±3,45
	Acétate d'éthyle	41,83±1,91	43±2,09	45,71±3,07	50,21±1,46	99,64±2,92***
	n-butanol	51,21±2,69	52,13±3,88	53,66±0,47	56,21±2,11	19,11±0,5***
<i>Bryonia dioica</i>	Aqueux	38,63±2,14	39,66±2,5	41,42±1,44	45,42±4,13	159,77±2,55
	Eau-méthanol	41,33±1,61	44,33±2,36	46,25±2,95	51,66±2,19	90,97±0,64**
	Acétate d'éthyle	58,13±1,63	60,75±0,88	63,25±0,94	66,13±0,69	16,47±0,18***
	n-butanol	60,88±0,9	63,25±0,87	65,5±0,94	68,13±0,76	15,82±0,13***
	Quercitine	53±1,39	53,87±0,55	57,37±0,83	58,75±0,63	18,27±0,2
	Acide ascorbique	59,5±0,57	59,88±0,69	64,5±0,81	68,63±0,51	16,32±0,05

(±) : Erreur standard (ES) (n=3), Comparaison entre les extraits et le Quercitine ** p < 0.01 très significative, *** p < 0.001 hautement significative.

Résultats et interprétation

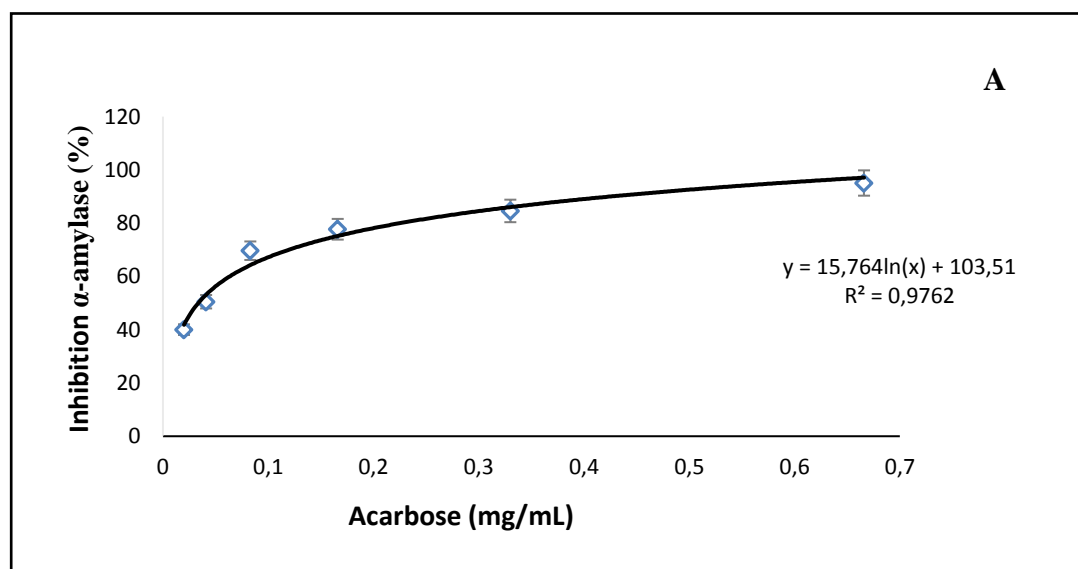
2. Activité antidiabétique

2.1. Effet des extraits de *B. dioïca* et *C. colocynthis* sur l'inhibition de l'activité de l' α -amylase

Les résultats obtenus concernant l'effet inhibiteur des extraits de la coloquinte et de la bryone de l'activité de l' α -amylase figurent dans **la figure 26** et **le tableau 17**.

En fonction de ces résultats on constate une augmentation proportionnelle des pourcentages d'inhibition de l' α -amylase en fonction des concentrations de molécule de référence (acarbose) et des extraits des fruits de *C. colocynthis* et des racines de *B. dioïca*. À une concentration de 3,3 mg/mL, les fractions n-butanol et l'extrait acétate d'éthyle des racines de *B. dioïca* révèlent une activité importante avec un pourcentage d'inhibition de 76,31 % et 79,22 %, respectivement. Suivi par l'extrait aqueux des fruits de *C. colocynthis* avec un taux d'inhibition de 71,63%. Le reste des extraits des deux plantes présentent un effet inhibiteur moins important avec un pourcentage d'inhibition qui ne dépasse pas 70 %.

Les résultats des valeurs de IC_{50} représentés dans **le tableau 17** montrent que la fraction n-butanol des *B. dioïca* présente le meilleur effet inhibiteur de l' α -amylase avec une IC_{50} de 0,73 mg/mL. En suite la fraction acétate d'éthyle des racines de *B. dioïca* présente également un effet inhibiteur remarquable avec une valeur de IC_{50} égale à 0,81 mg/mL. Cependant les autres extraits des racines de *B. dioïca* et des fruits de *C. colocynthis* ont montré des valeurs de IC_{50} supérieures à 0,91 mg/mL.



Résultats et interprétation

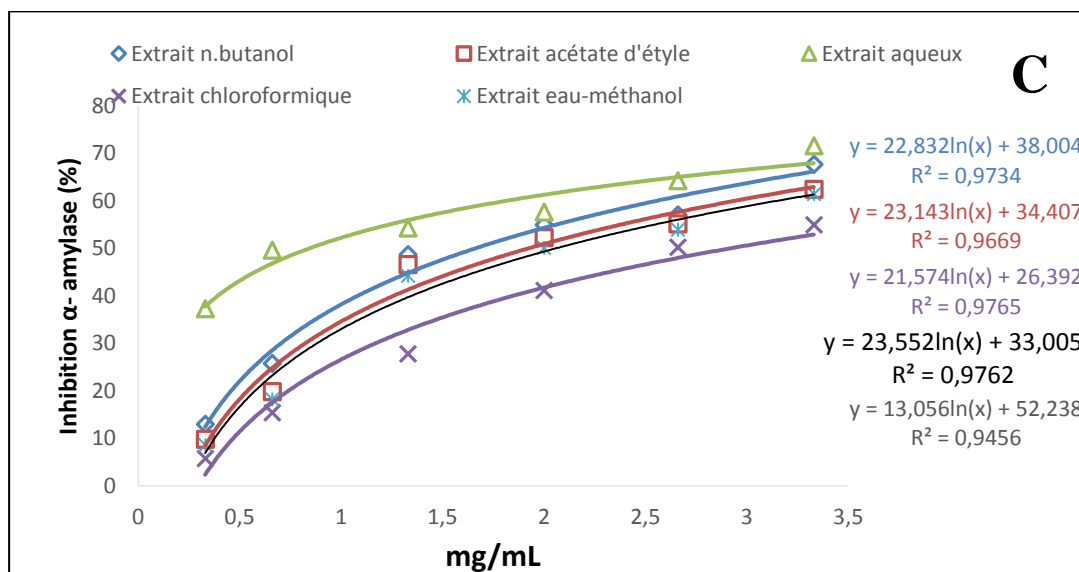
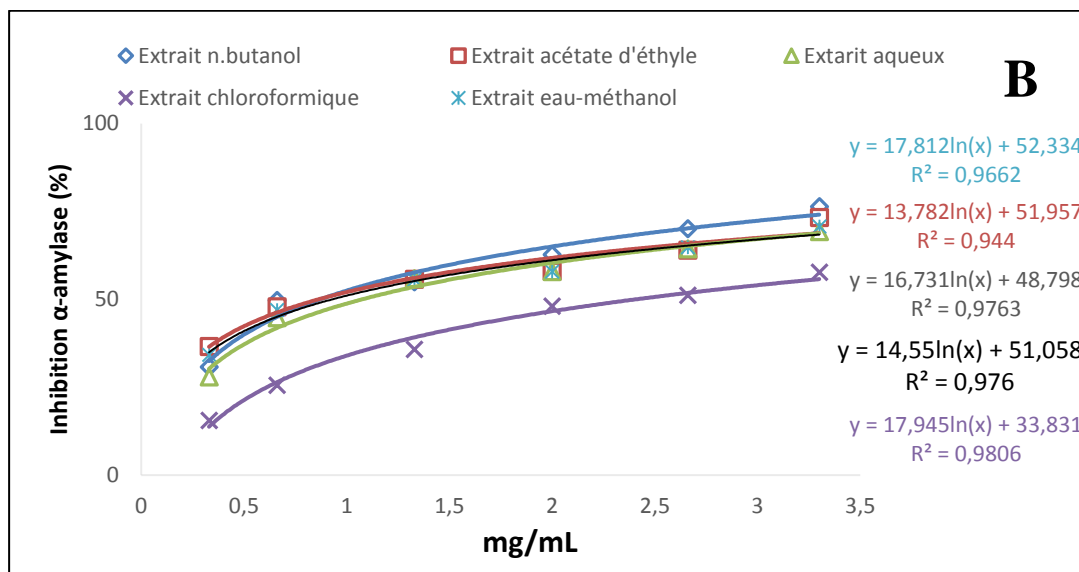


Figure 26 : Effet inhibiteur de l'activité de l' α -amylase par l'acarbose (A) et les extraits de *B. dioica* (B) et *C. colocynthis* (C).

Résultats et interprétation

Tableau 17 : Effet inhibiteur de l'activité de l' α -amylase par les extraits de *B. dioïca* et *C. colocynthis* exprimés en valeurs de IC₅₀ (μ g/mL)

	IC ₅₀ (mg/mL)				
	Aqueux	Choloroforme	Acétate d'éthyle	n-butanol	Acarbose
<i>Citrullus colocynthis</i>	0,95 \pm 0,04***	2,6 \pm 0,07***	1,76 \pm 0,02***	1,65 \pm 0,05***	0,04\pm0
<i>Bryonia dioïca</i>	1,05 \pm 0,01**	2,35 \pm 0,1***	0,81 \pm 0,09** *	0,73 \pm 0,07***	
(\pm) : Erreur standard (ES) (n=3), Comparaison entre les extraits et l'acarbose ** p < 0.01 très significative, *** p < 0.001 hautement significative.					

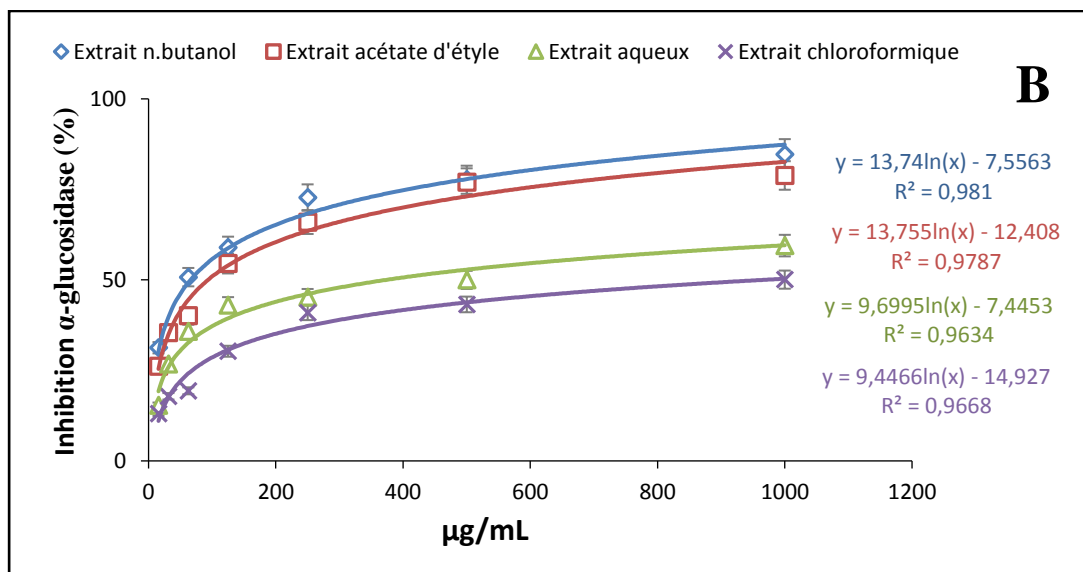
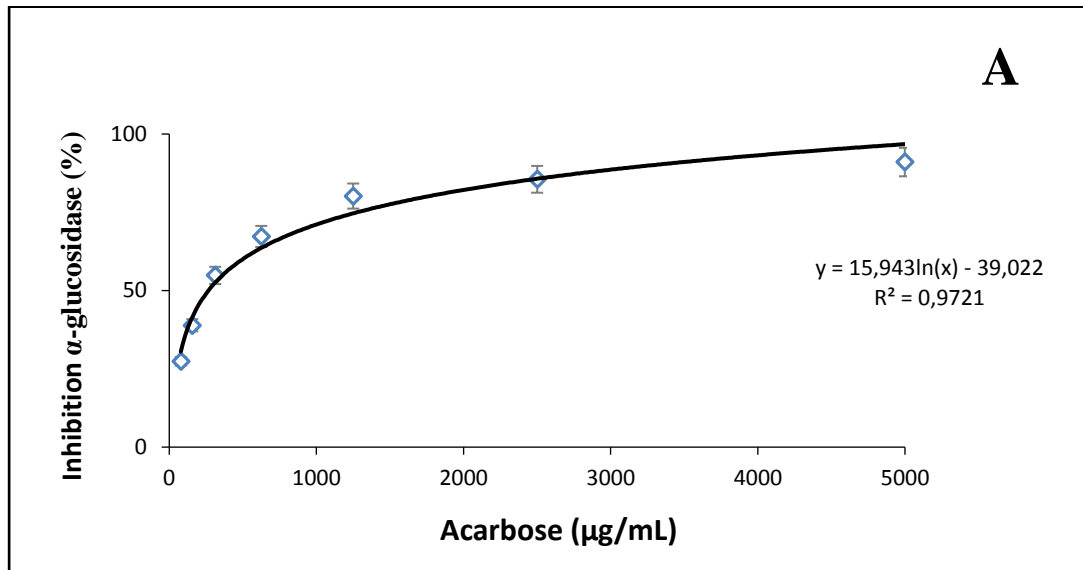
2.2. Effet des extraits de *B. dioïca* et *C. colocynthis* sur l'inhibition de l'activité de l' α -glucosidase

La figure 27 et le tableau 18 résument les résultats de l'effet inhibiteur des extraits de *B. dioïca* et *C. colocynthis* de l'activité de l' α -glucosidase. Selon ces résultats, on remarque que

le pourcentage d'inhibition de l' α -glucosidase augmente proportionnellement à l'augmentation de la concentration des extraits des fruits de *C. colocynthis* et des racines de *B. dioïca*. Les fractions n-butanol et acétate d'éthyle de *B. dioïca* à la concentration de 500 μ g/mL ont montré un pouvoir inhibiteur de l' α -glucosidase très prometteur avec un pourcentage d'inhibition qui atteint 77,66 % ; 76,96 % respectivement. À cette même concentration (500 μ g/mL) les autres extraits des deux plantes ne dépassent pas 50%.

D'après les résultats des valeurs de IC₅₀ représentés dans le tableau 18 on constate que les fractions n-butanol (61,91 μ g/mL) et acétate d'éthyle (105,52 μ g/mL) des racines de *B. dioïca* sont les inhibiteurs de l' α -glucosidase les plus puissants, ils ont enregistré des valeurs de IC₅₀ de l'ordre de 61,91 μ g/mL et 105,52 μ g/mL, respectivement. Ces valeurs restent plus intéressantes que la valeur déterminée pour l'acarbose (contrôle positif) qui est de 275,43 μ g/mL. Le reste des extraits des deux plantes étudiées ont révélé des valeurs de IC₅₀ supérieures à 500 μ g/mL.

Résultats et interprétation



Résultats et interprétation

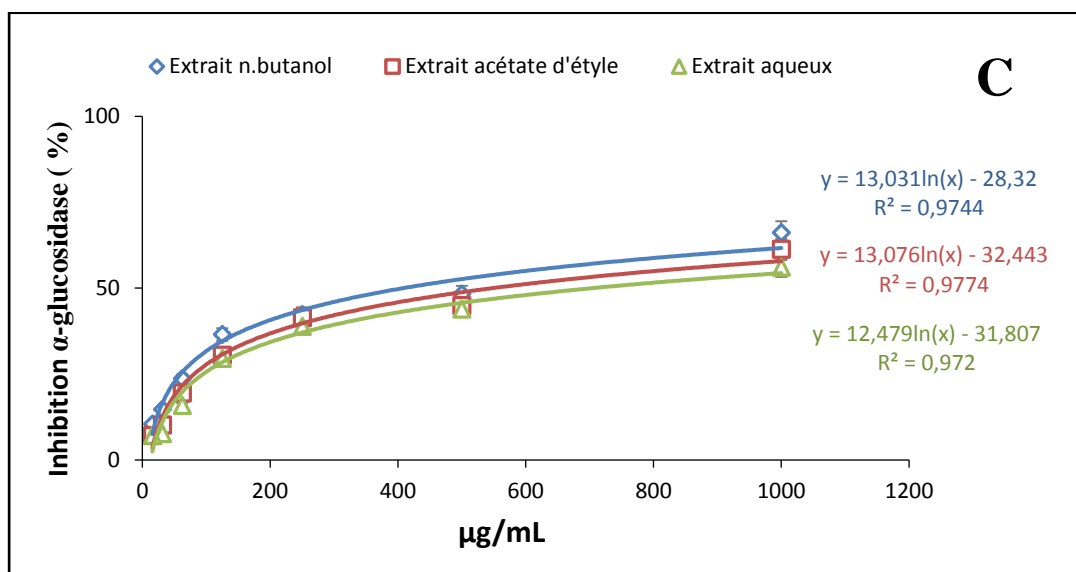


Figure 27 : Effet inhibiteur de l'activité de l'α-glucosidase par l'acarbose (A) et les extraits de *B. dioïca* (B) et *C. colocynthis* (C).

Tableau 18 : Effet inhibiteur de l'activité de l'α-glucosidase par les extraits de *B. dioïca* et *C. colocynthis* exprimés en valeurs de IC₅₀ (µg/mL).

	IC ₅₀ (µg/mL)				
	Aqueux	Chloroforme	Acétate d'éthyle	n- butanol	Acarbose
<i>Citrullus colocynthis</i>	743,23± 5,4***	/	612,69± 15,35***	513± 38,1**	275,43±1,59
<i>Bryonia dioïca</i>	500,08± 35,76***	1000,7± 31.59**	105,52± 5,02***	61,91± 2,01***	

(±) : Erreur standard (ES) (n=3), Comparaison entre les extraits et l'acarbose
 ** p < 0.01 très significative, *** p < 0.001 hautement significative.

Résultats et interprétation

3. Activité antimicrobienne

3.1. Effet antibactérien et antifongique des extraits de *B. dioïca* et *C. colocynthis*

L'évaluation de l'activité antimicrobienne des extraits de la bryone et de la coloquinte vis-à-vis des souches bactériennes à Gram+ et à Gram-, et antifongiques sur des souches de référence de *candida albicans* ont été réalisées par la la méthode de diffusion des disques sur milieu gélosé (Mueller-Hinton) et la technique de microdilution en milieu liquide.

Les résultats des diamètres des zones d'inhibitions de *B. dioïca* et *C. colocynthis* sont illustrés dans les **tableaux 19 et 20**, respectivement.

Selon les résultats obtenus on remarque que les bactéries à Gram positif sont plus sensibles aux extraits des deux plantes par rapport aux bactéries à Gram négatif. Les extraits de *B. dioïca* sont plus actives par rapport aux extraits de *C. colocynthis*. La souche *Salmonella typhimirium* ATCC 13311 a révélé une résistante à tous les extraits des deux plantes.

S. aureus ATCC 6538 ; *B. subtilis* ATCC 6633 ; *E. faecalis* ATCC 49452 ; *L. monocytogenes* ATCC 15313 et *M. luteus* ATCC 9341 ont présenté une sensibilité à la grande majorité des extraits de *B. dioïca* dont le diamètre des zones d'inhibition varie entre 9 et 16 mm ; tandis que ces souches ont été moins sensibles aux extraits de *C. colocynthis* et ils ont révélé des zones d'inhibition qui varient entre 7 et 12 mm. En milieu liquide ces souches ont montré vis-à-vis des extraits de la bryone des valeurs de CMI variables entre 2,5 et 0,078 mg/mL. Les CMI déterminées pour les extraits de la coloquinte varient entre 5 et 0,312 mg/mL.

Les souches bactériennes testées ont révélé une forte sensibilité à la fraction n-butanol de *B. dioïca*, dont le diamètre de la zone d'inhibition le plus élevé 16 mm a été obtenus contre *Micrococcus luteus* ATCC 9341 et *Staphylococcus aureus* ATCC 6538. La CMI déterminée pour cette fraction contre ces souches est de 0,156 et 0,078 mg/mL, respectivement.

La fraction n-butanol de *C. colocynthis* a assurée un effet antibactérien plus remarquable par rapport aux autres extraits, elle a affiché des valeurs de CMI variables entre 0,625 et 0,312 mg/mL contre *S. aureus* ATCC 6538 ; *B. subtilis* ATCC 6633 ; *E. faecalis* ATCC 49452 ; *L. monocytogenes* ATCC 15313 et *M. luteus* ATCC 9341. Tandis que les valeurs des autres extraits varient entre 5 et 0,625 mg/mL.

Résultats et interprétation

Concernant l'activité antifongique, les souches *C. albicans* ATCC 10231; *C. albicans* IP444; *C. albicans* ATCC26790 ont montré une sensibilité aux fractions n-butanol et acétate d'éthyle de la bryone par rapport aux fractions de la coloquinte, dont le diamètre des zones d'inhibition varient entre 10 et 16 mm contre 8 et 15 mm déterminés pour les extrait de la coloquinte. En milieu liquide, les CMI déterminés pour les fractions n-butanol et acétate d'éthyle de *B. dioica* sont majoritairement de l'ordre de 12,5 mg/mL, tandis que ces mêmes fractions isolées de la coloquinte ont montré des CMI qui varient entre 25 et 50 mg/mL.

L'extrait chloroformique des deux plantes n'a présenté aucune activité antifongique sur les souches de *Candida*.

Résultats et interprétation

Tableau 19 : Effet antibactérien et antifongique des extraits des racines *Bryonia dioïca* déterminé par la méthode des disques et la méthode de microdilution en milieu liquide

		Diamètre de zone d'inhibition (mm)							CMI (mg/mL)					
		Aqueux	Eau-méthanol	Chloroforme	Acétate d'éthyle	n-butanol	Gentamycine	Amphotéricin B	Aqueux	Eau-méthanol	Chloroforme	Acétate d'éthyle	n-butanol	Gentamicin (µg/mL)
Bactéries à gram négatif	<i>E. coli</i> ATCC 8739	6±0	7±0,8	6±0	9±0,4	10±0,8	22	-	1,25	1,25	2,5	0,312	0,312	0,32
	<i>K. pneumoniae</i> ATCC 700603	6±0	6±0,4	6±0	7±0,4	9±0	19	-	0,625	1,25	2,5	0,312	0,312	4,16
	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	7±0,4	6±0,7	6±0	6±0	8±0	12	-	2,5	1,25	2,5	0,625	0,312	0,78
	<i>A. baumannii</i> ATCC 19606	8±0,6	8±0,9	6±0	10±0,6	12±0,7	35	-	0,625	0,625	1,25	0,312	0,312	0,78
	<i>C. freundii</i> ATCC 8090	6±0	6±0	6±0	7±0,4	7±0	18	-	1,25	2,5	2,5	0,625	0,625	0,19
	<i>P. mirabilis</i> ATCC 35659	9±0,8	8±0,4	7±0,4	12±0,8	14±0,6	25	-	0,312	0,625	1,25	0,312	0,156	0,19
	<i>S. typhimurium</i> ATCC 13311	6±0	6±0	6±0	6±0	6±0	22	-	5	5	10	2,5	1,25	0,65
	<i>E. cloacae</i> ATCC 13047	7±0,4	7±0,4	7±0,6	9±0,9	8±0,4	21	-	1,25	1,25	2,5	0,312	0,312	2,6
Bactéries à gram positif	<i>S. aureus</i> ATCC 6538	11±0,9	10±0,6	8±0,7	14±0,9	16±0,9	32	-	0,156	0,312	1,25	0,156	0,078	0,19
	<i>B. cereus</i> ATCC 25921	6±0	6±0	6±0	7±0	07±0	20	-	1,25	0,625	2,5	0,312	0,312	0,19
	<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	10±0,8	10±0,8	9±0,8	13±0,6	14±0,7	22	-	0,312	0,625	1,25	0,312	0,156	5,20
	<i>E. faecalis</i> ATCC 49452	8±0,6	11±0,8	7±0,4	11±0,7	14±0,8	21	-	0,625	0,625	1,25	0,312	0,156	0,78
	<i>L. monocytogenes</i> ATCC 15313	10±0,8	11±0,9	10±0,9	11±0,6	13±0,6	22	-	1,25	0,625	1,25	0,312	0,156	2,21
	<i>M. luteus</i> ATCC 9341	12±0,9	12±0,7	10±0,8	14±0,9	16±0,9	22	-	1,25	0,625	1,25	0,312	0,156	0,12
Levures	<i>C. albicans</i> ATCC 10231	8±0,4	10±0,4	7±0	14±0,6	16±0,9	-	32	25	12,5	25	25	12,5	-
	<i>C. albicans</i> IP444	8±0,4	9±0,4	6±0	11±0,7	12±0,8	-	30	12,5	12,5	25	12,5	12,5	-
	<i>C. albicans</i> ATCC26790	9±0,6	8±0	6±0	12±0,8	10±0,8	-	30	25	25	25	12,5	12,5	-

Résultats et interprétation

Tableau 20 : Effet antibactérien et antifongique des extraits des fruits de *C. colocynthis* déterminé par la méthode des disques et la méthode de microdilution en milieu liquide.

		Diameter de zone d'inhibition (mm)							CMI (mg/mL)				
		Aqueux	Eau-méthanol	Chloroforme	Acétate d'éthyle	n-butanol	Gentamicin	Amphotericin B	Aqueux	Eau-méthanol	Acétate d'éthyle	n-butanol	Gentamicin (µg/mL)
Bactéries à gram négatif	<i>E. coli</i> ATCC 8739	6±0	6±0	6±0	8±0,4	8±0,6	22	-	5	2,5	1,25	1,25	0,32
	<i>K. pneumoniae</i> ATCC 700603	6±0	6±0	6±0	9±0,6	7±0	19	-	5	2,5	1,25	0,625	4,16
	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	6±0	6±0	6±0	6±0	7±0	12	-	5	2,5	2,5	1,25	0,78
	<i>A. baumannii</i> ATCC 19606	7±0,6	9±0,6	6±0	10±0,6	11±0,7	35	-	2,5	2,5	1,25	0,625	0,78
	<i>C. freundii</i> ATCC 8090	6±0	6±0	6±0	6±0	7±0	18	-	5	1,25	1,25	1,25	0,19
	<i>P. mirabilis</i> ATCC 35659	8±0,8	9±0,9	7±0,4	11±0,6	11±0,9	25	-	2,5	5	1,25	0,625	0,19
	<i>S. typhimurium</i> ATCC 13311	6±0	6±0	6±0	6±0	6±0	22	-	5	2,5	2,5	2,5	0,65
	<i>E. cloacae</i> ATCC 13047	6±0	7±0,4	6±0	7±0	9±0,8	21	-	5	1,25	2,5	1,25	2,6
Bactéries à gram positif	<i>S. aureus</i> ATCC 6538	8±0,9	10±0,8	7±0,7	11±0,8	13±0,9	32	-	2,5	1,25	0,625	0,312	0,19
	<i>B. cereus</i> ATCC 25921	6±0	6±0	6±0	6±0	6±0	20	-	5	5	2,5	1,25	0,19
	<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	9±0,8	10±0,6	7±0,4	9±0,6	10±0,7	22	-	5	1,25	1,25	0,625	5,20
	<i>E. faecalis</i> ATCC 49452	6±0	7±0,8	6±0	6±0	7±0,4	21	-	2,5	2,5	1,25	0,625	0,78
	<i>L. monocytogenes</i> ATCC 15313	7±0,8	8±0,6	7±0,4	10±0,4	9±0,6	22	-	5	2,5	2,5	1,25	2,21
	<i>M. luteus</i> ATCC 9341	9±0,9	11±0,4	8±0,6	12±0,8	13±0,9	22	-	1,25	1,25	0,625	0,625	0,12
Levures	<i>C. albicans</i> ATCC 10231	7±0	11±0,8	6±0	12±0,9	15±0,8	-	32	≥50	≥50	50	25	-
	<i>C. albicans</i> IP444	8±0,4	8±0,6	6±0	10±0,6	10±0,6	-	30	25	25	25	25	-
	<i>C. albicans</i> ATCC26790	8±0,6	7±0	6±0	13±0,8	8±0,4	-	30	≥50	≥50	50	25	-

Résultats et interprétation

3.2. Effet anti-adhésion bactérienne (test antibiofilm) des extraits de *B. dioïca* et *C. colocynthis*

L'effet anti adhésion des extraits des racines de *B. dioïca* et des fruits de *C. colocynthis* a été évalué vis-à-vis de trois souches bactériennes de référence *Staphylococcus aureus* ATCC6538, *Listeria monocytogenes* ATCC15313 et *E. coli* ATCC8739. Ces souches ont montré une sensibilité aux extraits, notamment les fraction acétate d'éthyle et n-butanol.

Les résultats exprimés en pourcentage d'inhibitions de l'adhésion des bactéries à la surface des microplaques sont représentés dans les **tableaux 21 et 22** Les résultats des pourcentages d'inhibitions de l'adhésion de certaines molécules phytochimiques acide gallique, catéchine et quercétine sont représentées dans le **tableau 23**.

Selon les résultats obtenus nous avons remarqué que l'effet anti-adhésion des bactéries à la surface des microplaques augmente proportionnellement à l'augmentation de la concentration des extraits, et des molécules phytochimique standards. Les extraits de *B. dioïca* ont montré un effet anti-adhésion très prometteur par rapports aux extraits de *C. colocynthis*, en particulier les fractions acétate d'éthyle et n-butanol, qui ont inhibé l'adhésion de *S. aureus* ATCC 6538 à un pourcentage de 59,65% et 56,93%, respectivement. le taux d'inhibition atteint 54,93% et 50% pour *Listeria monocytogenes* ATCC 15313 ; 49,3% et 45,26% pour *Escherichia coli* ATCC 8739. Les extraits de *C. colocynthis* ont été moins actifs et ils ont inhibé l'adhésion bactérienne à des pourcentage qui varient entre 33,23% et 51,29%, dont les pourcentages les plus ont été enregistré pour les fractions acétate d'éthyle et n-butanol. *S. aureus* ATCC 6538 et *Listeria monocytogenes* ATCC 15313 ont été plus inihibé par les extraits de la coloquinte par rapport à *Escherichia coli* ATCC 8739.

Les molécules phytochimique ont présenté un effet anti-adhésion bactérienne dose-dépendant, plus la concentration augmente plus l'effet inhibiteur augmente. La catéchine et la quercétine ont présenté un effet inhibiteur plus important par rapport à l'effet de l'acide gallique. Ces deux molécules ont inhibé l'adhésion de *S. aureus* ATCC 6538 à 47,51% et 44,65% contre 37,92% pour l'acide gallique. *Listeria monocytogenes* ATCC 15313 été plus sensible à la catéchine (44,77%) et à la quercétine (40,22%) et à l'acide gallique (41,2%). Tandis que, *Escherichia coli* ATCC 8739 était moins inhibé par la catéchine (41,2%) et à la quercétine (37,3%) et à l'acide gallique (35,5%).

Résultats et interprétation

Tableaux 21 : Effet anti-adhésion bactérienne des extraits des racines de *Bryonia dioïca*

		Extrait (mg/mL)							
		0,0156	0,031	0,0625	0,125	0,25	0,5	1	2
<i>S. aureus</i> ATCC 6538	n-butanol	14,88± 1,64	22,13± 0,57	32,09± 1,32	30,02± 0,56	51,45± 0,88	58,83± 0,69	59,65± 0,25	59,33± 0,44
	Acéate d'éthyle	13,87± 1,26	22,32± 1,76	29,82± 0,56	37,39± 0,56	49,87± 0,69	56,93± 1,20	56,68± 0,56	55,93± 0,69
	Eau-methanol	11,79± 0,31	17,08± 0,56	26,54± 1,32	30,07± 1,57	44,64± 0,88	50,06± 0,88	48,36± 0,06	46,59± 0,56
	Aqueux	9,14± 0,32	12,61± 0,63	19,10± 0,69	24,84± 1,13	37,64± 0,44	42,43± 0,56	42,18± 0,18	40± 0,37
<i>L. monocytogenes</i> ATCC 15313	n-butanol	11,18± 0,31	19,19± 0,56	26,44± 1,31	37,07± 0,68	48,13± 0,88	52,63± 0,5	54,56± 0,68	54,93± 0,44
	Acéate d'éthyle	9,38± 0,5	16,38± 0,87	25,38± 0,5	36,68± 0,69	45,06± 0,94	45,81± 0,68	47,37± 0,25	50± 0,38
	Eau-methanol	10,68± 2,18	17,81± 0,57	22,81± 0,57	30,69± 1,56	40,31± 0,67	41,13± 1	44,43± 0,19	45,06± 0,19
	Aqueux	9,31± 0,31	12,12± 0,63	16,06± 0,56	22,38± 0,50	27,25± 0,63	36,81± 0,44	38,81± 0,94	39± 0,38
<i>E. coli</i> ATCC 8739	n-butanol	16,74± 0,35	23,19± 152	29,8± 0,88	37,76± 0,53	41,74± 0,05	42,86± 0,35	47,36± 0,29	49,3± 0,7
	Acéate d'éthyle	16,98± 0,81	23,59± 0,05	30,62± 0,64	36,00± 0,52	38,34± 0,53	38,7± 0,64	44,37± 0,47	45,26± 0,64
	Eau-methanol	13,41± 0,29	20,49± 0,82	25,47± 0,53	33,26± 0,23	34,77± 0,7	35,01± 0,47	40,63± 1,17	41,33± 0,35
	Aqueux	8,6± 0,88	15,34± 0,59	20,02± 0,12	20,73± 0,35	28,92± 1,99	28,51± 0,41	32,85± 0,64	34,6± 0,64

Résultats et interprétation

Tableaux 22 : Effet anti-adhésion bactérienne des extraits des fruits de *Citrullus colocynthis*

		Extrait (mg/mL)							
		0,0156	0,031	0,0625	0,125	0,25	0,5	1	2
<i>S. aureus</i> ATCC 6538	n-butanol	10,97± 0,12	16,52± 0,74	25,59± 0,68	32,18± 0,99	46,36± 0,73	50,80± 0,74	51,17± 0,62	51,29± 0,67
	Acetate d'éthyle	8,75± 0,12	12,95± 0,25	19,3± 0,92	28,98± 0,62	35,08± 0,55	41,62± 0,55	41,8± 0,36	43,09± 0,31
	Eau-méthanol	8,08± 0,67	12,15± 0,06	14,72± 0,3	22,5± 0,55	28,91± 0,55	34,59± 0,18	36,31± 0,55	37,05± 1,04
	Aqueux	8,14± 0,25	13,0± 0,31	16,0± 0,12	21,89± 1,17	24,72± 0,43	26,81± 0,55	31,69± 0,73	32,18± 0,12
	n-butanol	10,73± 0,37	13,35± 0,3	18,48± 0,42	25,49± 0,37	31,4± 0,67	39,51± 0,97	48,84± 0,3	49,39± 0,12
<i>L. monocytogenes</i> ATCC 15313	Acetate d'éthyle	12,68± 0,12	13,05± 0,12	18,9± 0,37	29,39± 0,85	32,93± 0,85	37,74± 0,43	41,46± 0,24	41,52± 0,19
	Eau-méthanol	7,87± 0,43	10,98± 0,24	15,49± 1,34	19,7± 0,55	27,13± 1,15	33,23± 0,55	34,63± 0,12	35,18± 0,3
	Aqueux	6,85± 0,24	8,6± 0,79	11,65± 0,18	17,38± 0,79	24,45± 0,79	27,62± 0,67	29,81± 0,18	30,24± 0,12
	n.butanol	13,66± 0,18	15,86± 0,95	19,59± 0,3	28,64± 0,12	34,62± 0,77	41,72± 1,24	41,89± 1,18	41,95± 1,0
<i>E. coli</i> ATCC 8739	Acetate d'éthyle	8,46± 0,06	16,09± 0,83	16,57± 0,11	23,25± 0,53	27,81± 0,82	33,73± 0,36	36,27± 0,3	36,80± 0,35
	Eau-méthanol	9,4± 0,3	12,6± 0,3	15,08± 0,41	18,05± 1	20,65± 0,41	28,93± 0,89	33,25± 1,53	32,25± 0,65
	Aqueux	7,99± 0,06	8,7± 0,05	9,11± 0,82	12,37± 0,89	18,58± 0,72	20,53± 1,24	28,58± 0,53	29,7± 0,24
	n.butanol	13,66± 0,18	15,86± 0,95	19,59± 0,3	28,64± 0,12	34,62± 0,77	41,72± 1,24	41,89± 1,18	41,95± 1,0

Résultats et interprétation

Tableaux 23 : Effet anti-adhésion bactérienne des molécules phytochimiques

		(mg/mL)							
		0,0156	0,031	0,0625	0,125	0,25	0,5	1	2
<i>S. aureus</i> ATCC 6538	Catéchine	17,12± 0,81	19,17± 0,62	27,27± 0,75	34,06± 0,18	36,55± 0,62	44,02± 0,81	46,33± 0,37	47,51± 0,06
	Quercétine	17,25± 0,06	19,99± 1,18	22,04± 0,62	28,95± 0,44	39,91± 1,3	44,33± 0,12	44,52± 0,06	44,65± 0,19
	Acide gallique	12,64± 0,8	13,45± 0,75	18,49± 1,3	24,41± 0,62	30,7± 0,31	34,12± 0,25	37,61± 0,36	37,92± 0,44
<i>L. monocytogenes</i> ATCC 15313	Catéchine	12,02± 0,68	19,43± 0,62	31,32± 1,43	35,86± 1,49	49,25± 0,68	53,24± 0,81	53,11± 0,56	52,55± 0,87
	Quercétine	16,25± 1,18	16,63± 1,68	22,79± 1,49	26,71± 1,56	31,32± 2,55	42,09± 1	44,45± 0,37	44,77± 0,56
	Acide gallique	10,9± 1,56	13,76± 1,06	17,24± 0,31	22,6± 1,55	30,2± 0,31	39,66± 0,93	40,04± 0,55	40,22± 0,62
<i>E. coli</i> ATCC 8739	Catéchine	14,3± 0,46	16,25± 0,8	19,8± 1,95	25,17± 0,34	31,35± 1,6	37,01± 0,86	39,99± 0,17	41,2± 0,29
	Quercétine	12,12± 0,34	16,7± 1,71	18,02± 2,23	21,4± 0,46	25,74± 0,8	35,7± 1,26	37,07± 0,11	37,3± 0,06
	Acide gallique	9,55± 0,29	12,7± 1,03	17,16± 2,06	17,85± 1,94	23,51± 0,05	34,15± 0,29	34,32± 0,23	35,5± 0,51

Discussion

Discussion

Dans cette étude nous nous sommes intéressés à l'étude phytochimique et l'évaluation *in vitro* de l'activité antioxydante, antidiabétique et antimicrobienne des extraits aqueux et organiques de deux plantes de la famille des cucurbitacées, *Bryonia dioïca* Jacq (la bryone) et *Citrullus colocynthis* (L.) Schrad (la coloquinte).

L'étude phytochimique consiste à la préparation à partir des racines de *Bryonia dioïca* et du fruit de *Citrullus colocynthis* des extraits bruts aqueux, hydro-méthanol et ses fractions chloroformique, n-butanol et acétate d'éthyle. Ces extraits font l'objet d'un screening phytochimique, un dosage de polyphénols et de flavonoïdes totaux, et une analyse chromatographique RP-HPLC-PDA.

Le screening phytochimique a révélé la présence de tanins catéchiques, de flavonoïdes, de saponines triterpéniques, et de quinones libres dans l'ensembles des extraits des deux plantes, avec absence de saponines stéroïdiques, d'alcaloïdes et de anthraquinones.

Comparativement à la bibliographie, l'étude de **Kadhim. (2014)** a révélé dans les feuilles de *B. dioïca* l'absence des tannins et des saponines ainsi que la présence des anthraquinones. Nos résultats sont en accord avec ceux de **Benarba et al., (2012)** et **Chekroun et al., (2015)** qui ont révélé dans les extraits de *B. dioïca* et de *C. colocynthis* la présence de flavonoïdes, de tanins, de triterpènes, d'alcaloïdes, de saponines et de coumarines. De même, nos résultats concordent avec ceux obtenus par **Najafi et al., (2010)** ; **Koko et al., (2009)**, qui ont rapporté que l'extrait éthanolique (80%) du fruit de *C. colocynthis* contient des flavonoïdes et des saponosides triterpéniques avec l'absence des anthraquinones et des tanins.

Parallèlement aux tests phytochimiques nous avons procédé à une détermination du taux de polyphénols et de flavonoïdes totaux dans les extraits préparés. Le dosage des polyphénols et de flavonoïdes a révélé des teneurs qui varient considérablement entre les différents extraits et fractions des deux plantes étudiées dans Les fractions n-butanol ($540,27 \pm 21,32 \mu\text{g eq AG/mg E}$; $126,3 \pm 7,75 \mu\text{g eq Cat/mgE}$) et acétate d'éthyle ($513,63 \pm 9,30 \mu\text{g eq AG/mg E}$; $116 \pm 6,5 \mu\text{g eq Cat/mg E}$) de *B. dioïca* ont enregistré les teneurs les plus élevées en composés phénoliques par rapport aux autres extraits, et par rapport aux extraits de *C. colocynthis*. Les fractions n-butanol et acétate d'éthyle de *C. colocynthis* présentent des taux moins importants en polyphénols ($260,61 \pm 13,88$ et $220 \pm 5,95 \mu\text{g eq AG/mg E}$) et en flavonoïdes ($77,7 \pm 3,01$ et $73,03 \pm 2,05 \mu\text{g eq Cat/mg E}$).

Discussion

Nos résultats sont en accord avec ceux de **chekroun et al., (2015)** qui ont trouvé une forte teneur en polyphénols et flavonoïdes dans l'extrait n-butanolique des racines de *B. dioïca* et des fruits de *C. colocynthis* 541,78 µg eq AG/mg E ; 120,60 µg eq Cat/mg E et 221,85 µg eq AG/mg E ; 61,20 µg eq Cat/mg E respectivement. **Rafael et al., (2011)**, ont déterminé un taux de polyphénols et de flavonoïdes totaux dans l'extrait méthanolique des fruits matures de *B. dioïca* de l'ordre de 150,12 mg eq AG/g ES et 15,77 mg eq Cat/g ES, respectivement. Ces teneurs sont relativement plus faibles dans l'extrait méthanolique des jeunes pousses de *B. dioïca* révélées par **Morales et al., (2012)**. Les résultats obtenus par **Hussain et al., (2013)** sur les extraits hexanique et éthanolique des fruits de *C. colocynthis*, ont affiché des teneurs relativement faibles en polyphénols (84 mg eq AG/100g MVS ; 307 mg eq AG/100g MVS) et en flavonoïdes totaux (46 mg eq Cat/100g MVS ; 51 mg eq Cat/100g MVS), respectivement.

De même, **Kumar et al., (2008)** ont déterminé dans l'extrait méthanolique du fruit de *C. colocynthis* une teneur élevée en polyphénols totaux (740 mg eq AG/100 g d'extrait sec) et en flavonoïdes (130 mg eq Cat/100 g d'extrait sec). **Benariba et al., (2013)** ont également enregistré dans les extraits du fruit de *C. colocynthis* des teneurs élevées en polyphénols notamment l'extrait hydro-méthanol (1002 mg eq AG/100 g d'extrait sec) et sa fraction acétate d'éthyle (329 mg eq AG/100 g d'extrait sec) ainsi qu'en flavonoïdes 620 mg et 241 eq Cat/100 g d'extrait sec.

Les variations dans les teneurs en polyphénols et en flavonoïdes sont probablement liées à plusieurs paramètres qui concerne principalement le temps, la température et la méthode d'extraction utilisée, ainsi que le choix du solvant et même la saison de la récolte de la plante, et les parties choisies (feuilles, tiges, racines, graines) jouent un rôle déterminant dans la sélection et l'extraction des composants phytochimiques (**Wijngaad et Brunton, 2010 ; Benariba et al., 2013 ; Al-Nabli et al., 2022**).

L'analyse chromatographique RP-HPLC-PDA des composés phénoliques dans les fractions n-butanol et acétate d'éthyle des espèces étudiées a permis la détection d'un grand nombre de molécules et l'identification dans la bryone de deux flavonoïdes : la rutin et la quercétine ; et trois acides phénoliques : acide syringique, acide férulique, et acide p-coumarique. Tandis que dans les fractions de la coloquinte, nous avons détecté la présence de l'acide férulique, et de la rutine comme flavonoïde.

Selon la bibliographie, L'analyse par HPLC en phase inverse de l'extrait éthanolique des

Discussion

feuilles de *C. colocynthis* de la flore pakistanaise a révélé la présence d'acides phénoliques, dont les acides férulique, vanillique, p-coumarique, gallique, p-hydroxybenzoïque, vanillique, p-coumarique, gallique et p-hydroxybenzoïque, ainsi que des flavonoïdes, catéchine, myricétine et quercétine (**Hussain et al., 2013**). Les flavonoïdes C-glycosylés sont les principaux composés phénoliques identifiés (HPLC-DAD-ESI/MS) dans la partie aérienne de la bryone (jeunes pousses tiges et feuilles) en particulier apigénine 6-C-glucoside-7-O-glucoside (saponarine); lutéoline 6-C-glucoside-7-O-glu-coside (lutarine), lutéoline 6-C-glucoside, Apigénine 6-C-glucoside ; kaempférol 3,7-di-O-rhamnoside et Apigénine 6-C-gluco-side-O-rhamnosyl-hexoside (**Barros et al., 2011 ; Barreira et al., 2013**). Les travaux de **Ukiya et al., (2002)** ont caractérisé au niveau de l'extrait méthanolique des racines de la bryone des tritérpènes glycosides comme les bryoniosides (A à G), cabenoside et bryoamaride.

plusieurs analyses chimiques réalisées sur différents extraits de différentes parties de *C. colocynthis* (graine, pulpe, fruit, feuille et racine), ont permis la caractérisation des alcaloïdes ($C_{10}H_{15}NO_3$; $C_{20}H_{32}NO$; $C_{16}H_{24}NO_7$), des stérols ($C_{29}H_{48}O$; $C_{29}H_{50}O$), des cucurbitacines (I, E, L, J) ainsi que des flavonoïdes comme la quercétine, myricétine, kaemferol, isovitexine, isoorientine, iso-orientine-3'- methylether et les dérivés du C-phydroxybenzyl (8-C-p hydroxybenzoylisovitexine, 6-C phydroxybenzoylvitexine et 8-C-p-hydroxybenzoyl isovitexine-4'-O glucoside) (**Afifi et al., 1973 ; Hatam et al., 1990 ; Seger et al., 2005 ; Nayab et al., 2006 ; Mahesh et Vidya, 2008 ; Delazar et al., 2006 ; Maatooq et al., 1997**).

D'après plusieurs auteurs, il a été bien noté que les plantes médicinales qui contiennent de grandes quantités en composés phénoliques sont douées de potentiel antioxydant important (**Da Silva et al., 2006 ; Falleh et al., 2011 ; Dehshiri et al., 2013**). Ce qui nous a poussés à évaluer l'activité antioxydante des extraits et fractions de *B. dioica* (racines) et *C. colocynthis* (fruits) en utilisant le test de piégeage du radical libre DPPH, et du radical ABTS, le test du pouvoir réducteur du fer (FRAP) et du cuivre (CUPRAC), le pouvoir antioxydant basé sur la réduction de phénantroline, le test de la capacité antioxydante totale, ainsi que et l'évaluation de l'effet anti-hémolytique des extraits.

Nous avons constaté que les fractions n-butanol et acétate d'éthyle de *B. dioica* ont présenté le pouvoir antioxydant le plus important par rapport aux autres extraits, et par rapport aux extraits de *C. colocynthis*. Ces fractions ont assuré un piégeage des radicaux libres DPPH ($IC_{50} = 3,27 \mu g/mL$) et ABTS ($IC_{50} = 3,13 \mu g/mL$), une réduction du fer ($A_{0,5} = 24,92 \mu g/mL$),

Discussion

du cuivre ($A_{0,5} = 7,38 \mu\text{g/mL}$) et du complexe Fe^{2+} - phénanthroline ($A_{0,5} = 22,1 \mu\text{g/mL}$).

Nos résultats sont en accord avec ceux de **chekroun et al., (2015)** qui a montré le pouvoir de piégeage du radical libre DPPH et la réduction du fer (FRAP) de l'extrait de n-butanol de *B. dioïca* avec des valeurs de IC_{50} de 2,25 et 22,68 $\mu\text{g/ml}$, respectivement. Selon **Barreira et al., (2013)**, l'extrait éthanolique des fruits mûrs de *B. dioïca* assure un piégeage du radical libre DPPH et ABTS, une réduction du fer, ainsi une inhibition de décoloration du β -carotène.

De nombreuses études ont démontré une corrélation positive entre les teneurs en composés phénoliques et le potentiel antioxydant (**Ghasemzadeh et al., 2012 ; Chaouche et al., 2014**). Le potentiel antioxydant des composés phénoliques en particulier les flavonoïdes réside dans leur capacité à céder un atome d'hydrogène et piéger les radicaux libres. Leur activité antioxydante dépendent de leur structure chimique, notamment la distribution des groupes hydroxyles où la réduction des radicaux libre est liée étroitement à groupe 3',4'-orthodihydroxy sur le cycle B et le groupe 4-carbonyl sur le cycle C. Les groupes 3-OH et 5-OH sur le cycle C sont également appropriés pour l'effet antioxydant (**Chira et al., 2008 ; Benariba et al., 2013 ; Chekroun et al., 2015 ; El Kadi et al., 2021**). L'activité antioxydante des flavonoïdes est largement influencée par le nombre des hydroxyles présents dans les molécules (**Halbwirth, 2010**).

Les extraits de *B. dioïca* et *C. colocynthis* notamment les fractions acétate d'éthyle ont montré un effet cytoprotecteur des globules rouges très puissant en inhibant l'hémolyse des hématies soumis à une agression radicalaire par le AAPH. Les valeurs de IC_{50} les plus intéressantes varient entre 15,82 et 19, 11 $\mu\text{g/mL}$, ces valeurs sont parfois meilleures que l'effet des molécules de antioxydantes de référence acide ascorbique (16,32 $\mu\text{g/mL}$) et quercétine (18,27 $\mu\text{g/mL}$).

L'incubation d'une suspension de globules rouges avec le AAPH entraîne la décomposition thermique de ce dernier ce qui génère des radicaux libres peroxydes, qui oxydent les lipides et les protéines de la membrane cellulaire. Lorsque les antioxydants endogènes sont consommés, la résistance des globules rouges diminue, la membrane éclate et c'est l'hémolyse. La présence d'antioxydant dans le milieu diminue le taux de l'hémolyse (**Dai et al., 2006 ; Bessada et al., 2015**).

L'effet cytoprotecteur prometteur observé dans nos extraits peut être attribué à la richesse de

Discussion

ces extraits en polyphénols totaux et en flavonoïdes. Ces derniers jouent un rôle important dans la neutralisation et la prévention des effets délétères des radicaux libres qui provoquent la peroxydation des lipides membranaires et l'hémolyse des globules rouges (**Sekiya et al., 2005 ; Gali et al., 2019**). **Rramchoun et al., (2015)** ont montré que les flavonoïdes interagissent avec les têtes polaires des phospholipides membranaires par des liaisons hydrogènes, ce qui engendre leur accumulation du côté extra et intra-cellulaire et le maintien de l'intégrité membranaire qui limite l'interaction des radicaux libres avec la membrane cellulaire des globules rouges.

Parallèlement à l'évaluation de l'activité antioxydante, les extraits aqueux et organiques de *B. dioïca* et *C. colocynthis* ont été évalué *in vitro* pour leur activité antidiabétique, en mesurant leur effet sur l'activité de l' α -amylase et l' α -glucosidase.

L'inhibition de ces enzymes qui régule l'hyperglycémie postprandiale est utilisée comme approche thérapeutique du diabète de type 2 (**Riaz et al., 2020**). Actuellement, plusieurs inhibiteurs d' α -glucosidase conventionnels prescrits sont disponibles sur le marché, l'acarbose est l'un des principaux médicaments utilisés pour retarder la digestion des glucides et réduire le taux d'absorption du glucose (**Holmbäck et al., 2020**).

Dans la présente étude nous avons constaté que les extraits de *B. dioïca* ont significativement inhibé l'activité de l' α -amylase et l' α -glucosidase par rapport aux extraits de *C. colocynthis*, notamment les fractions n-butanol et acétate d'éthyle qui ont affiché des valeurs de IC₅₀ de 61,91 et 105,52 μ g/mL. Ces résultats restent inférieurs à celle de l'acarbose qui a enregistré une IC₅₀ de 0,04 mg/ml.

L'effet inhibiteur de nos extraits sur l'activité de l' α -amylase et l' α -glucosidase est principalement lié à la teneur élevée de ces extraits en polyphénols et en flavonoïdes. Selon la bibliographie, certains produits naturels ont montré un effet inhibiteur de l' α -amylase et de l' α -glucosidase comme les terpénoïdes, les alcaloïdes, les polysaccharides, les composés phénoliques et les flavonoïdes, ces derniers sont les meilleurs inhibiteurs (**Mentreddy, 2007 ; Tundis et al., 2010 ; de Sales et al., 2012 ; Xiao et al., 2013 ; Sun et al., 2019 ; Adjdir S. 2022**).

Des études antérieures ont signalé une corrélation entre la structure chimique des composés phénoliques et le pouvoir inhibiteur de l'activité de l' α -amylase et l' α -glucosidase (**Gninfanni**

Discussion

et al., 2019). Les groupes hydroxyle (-OH) des flavonoïdes sont essentiels pour l'inhibition de l' α -amylase, en formant des liaisons hydrogène entre les groupes -OH et les chaînes latérales des acides aminés du site actif de l'enzyme tels que Asp¹⁹⁷ et Glu²³³ (Xiao et al., 2013 ; Ng et al., 2015 ; Nyambe-Silavwe et al., 2015 ; Abdelli et al., 2020 ; Adjdir S. 2022). Tandis que, le résidu Glu³⁰⁴ de l' α -glucosidase échange des liaisons -H avec le substituant 7-OH des flavonoïdes, les résidus Asp²¹⁴, Glu276 et Arg⁴³⁹ s'engagent dans des liaisons -H avec les groupes hydroxyle du cycle B (Abdelli et al., 2020 ; Şöhretoğlu et al., 2020 ; Adjdir S. 2022).

Dans la présente étude nous nous sommes également intéressées à l'évaluation du pouvoir antibactérien, antifongique et antiadhésion des différents extraits de *B. dioïca* et *C. colocynthis* en utilisant la méthode de diffusion en milieu solide, et la méthode de microdilution en milieu liquide. Les résultats obtenus ont affiché un pouvoir antibactérien, antifongique et antiadhésif prometteur notamment les fractions n-butanol et acétate d'éthyle. Les bactéries à Gram positif sont plus sensibles aux extraits des deux plantes par rapport aux bactéries à Gram négatif. *S. aureus* ATCC 6538 ; *B. subtilis* ATCC 6633 ; *E. faecalis* ATCC 49452 ; *L. monocytogenes* ATCC 15313 et *M. luteus* ATCC 9341 ont présenté une sensibilité à la grande majorité des extraits de *B. dioïca* dont le diamètre des zones d'inhibition varie entre 9 et 16 mm ; tandis que ces souches ont été moins sensibles aux extraits de *C. colocynthis*, et ils ont révélé des zones d'inhibition qui varient entre 7 et 12 mm. En milieu liquide, ces souches ont montré vis-à-vis les extraits de la bryone des valeurs de CMI variables entre 2,5 et 0,078 mg/mL ; alors que, les CMI déterminées pour les extraits de la coloquinte varient entre 5 et 0,312 mg/mL.

Concernant l'activité antifongique, les souches *C. albicans* ATCC 10231; *C. albicans* IP444; *C. albicans* ATCC26790 ont montré une sensibilité aux fractions n-butanol et acétate d'éthyle de la bryone par rapport aux fractions de la coloquinte, dont le diamètre des zones d'inhibition varient entre 10 et 16 mm contre 8 et 15 mm déterminés pour les extrait de la coloquinte. En milieu liquide, les CMI déterminés pour les fractions n-butanol et acétate d'éthyle de *B. dioïca* sont majoritairement de l'ordre de 12,5 mg/mL, tandis que ces mêmes fractions isolées de la coloquinte ont montré des CMI qui varient entre 25 et 50 mg/mL.

Les extraits de *B. dioïca* ont montré un effet anti-adhésion très prometteur par rapports aux extraits de *C. colocynthis*, en particulier les fractions acétate d'éthyle et n-butanol, qui ont inhibé l'adhésion de *S. aureus* ATCC 6538 à un pourcentage de 59,65% et 56,93%,

Discussion

respectivement. Le taux d'inhibition atteint 54,93% et 50% pour *Listeria monocytogenes* ATCC 15313 ; 49,3% et 45,26% pour *Escherichia coli* ATCC 8739.

Selon la bibliographie, l'activité antimicrobienne de *C. colocynthis* a fait l'objet de plusieurs travaux de recherches qui ont révélé que l'extrait d'acétate d'éthyle des feuilles et des tiges de la coloquinte présente une activité antibactérienne potentielle contre les bactéries Gram positif et négatif, dont la CMI déterminée est de 625 µg/mL contre *Bacillus cereus*. Par contre la cucurbitaine E identifiée comme composant majoritaire de cet extrait été mois active et a enregistré une CMI de 1,25 mg/mL contre *Bacillus cereus* et *Enterococcus faecalis* (Chawech et al., 2015). De même Shahraki-Mojahede et al., (2021), ont montré que *P. aeruginosa* est plus sensible à l'extrait acétate d'éthyle que l'extrait hydro-méthanolique du fruit de *C. colocynthis*, en mesurant des CMI de 620 µg/mL et 1,25 mg/mL, respectivement. En revanche, les extraits aqueux et organiques de différentes parties de *C. colocynthis* (racines, tiges, feuilles, fruits et graines) inhibent la croissance de *E. coli* (CMI = 6 µg/mL), *C. albicans*, *C. kreusei*, *C. glabrata*, et *C. parapsilosis* (Merzouk et al., 2011 ; Al-Snafi, 2016). En outre, des extraits organiques de feuilles fraîches : éthanol, chloroforme et éther de pétrole sont plus actifs contre *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris* et *Staphylococcus aureus*, et légèrement actifs contre *Klebsiella pneumoniae* et *Salmonella typhi* (Paul, 2008). Les extraits aqueux et hydro-alcoolique des fruits et des graines de cette plante présentent une activité antibactérienne contre *Pseudomonas aeruginosa* (CMI = 200 µg/mL), *Escherichia coli* (CMI = 200 µg/mL), *Staphylococcus aureus* (CMI = 5 mg/mL) et *Mycobacterium tuberculosis* (CMI = 31,2 mg/mL).

D'autres études ont mis en valeur le pouvoir antibactérien de *B. dioïca*. L'étude de Chenni et al., (2012) a révélé la capacité de l'extrait méthanolique des racines à inihiber sélectivement la croissance des bactéries Gram-positives *Enterococcus faecalis* (14 mm), *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 (14 mm), *Bacillus subtilis* ATCC 6633 (12 mm) par rapport aux bactéries Gram négatives *Escherichia coli* ATCC25922 (12 mm), *Proteus mirabilis* ATCC 29906 (10 mm) et *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 14028 (10 mm). De même, Dhouioui et al., (2016) ont enregistré une forte activité antibactérienne dans l'extrait riche en lipide des racines sur les bactéries gram positif plus que les bactéries gram négatif, principalement *E. feacium* (MIC =125 µg/mL ; MBC > 250µg/mL). Cependant, l'extrait hydroéthanolique des feuilles est très actif contre *E. coli*, *K. pneumoniae*, et *P. valgaris* avec un diamètre de la zone d'inhibition qui varie entre 22 et 60 mm (Khamees et al., 2017).

Discussion

Selon la bibliographie, le pouvoir antimicrobien des composés phénoliques de faible poids moléculaire comme les acides phénoliques et les flavonoïdes est plus caractéristique par rapport aux tanins. Leur mécanisme d'action contre différentes souches microbiennes s'exerce de différentes manières; il consiste à une déstabilisation de la perméabilité membranaire via une inhibition des pompes à efflux, ou une inhibition de la biosynthèse de la paroi cellulaire, ou bien une perturbation directe du métabolisme microbien, ou l'inhibition de certaines enzymes critiques comme l'alcool déshydrogénase, la thiorédoxine réductase, l'uréase, la dihydrofolate réductase, et ARN polymérase (Simões et al., 2009 ; Daglia, 2012 ; Simões et al., 2012 ; Khameneh et al., 2019 ; Adjdir S. 2022). Les groupements OH du cycle B des flavonoïdes peuvent établir des liaisons hydrogènes avec les bases des acides nucléiques, ce qui explique leur action inhibitrice sur l'ADN et sur la synthèse de l'ARN (Simões et al., 2012 ; Cushnie et al., 2014 ; Khameneh et al., 2019 ; Prakash et al., 2020 ; Adjdir S. 2022).

Selon Ghannoum et O'tool (2004), le biofilm est la forme d'existence microbienne la plus répandue dans la nature. L'adhésion des bactéries à une surface est une première étape dans le développement du biofilm. Il a été démontré que divers facteurs tels que la structure chimique, la rugosité de surface et l'énergie de surface libre affectent les interactions entre les cellules bactériennes et la surface (Malhotra et al., 2019). Les extraits n-butanol et d'acétate d'éthyle des racines de *B. dioïca* et des fruits de *C. colocynthis* ont montré un effet anti adhésion élevé vis-à-vis les trois souche bactériennes *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *monocytogenes* ATCC 15313 et *Escherichia coli* ATCC 8739. Les résultats obtenus peuvent être expliqués par la variation des groupement fonctionnels présentent dans les différentes molécules de nos extraits donnant l'effet anti adhésion des bactéries. Selon Borges et al., (2012) l'acide gallique et l'acide férulique influencent les caractéristiques physico-chimiques des bactéries, telle que l'énergie libre d'adhésion entre les cellules bactériennes et le polystyrène. Cela rend l'attachement à la surface défavorable. De plus, plusieurs études ont montré que le quercétine réduit l'attachement bactérien à la surface en bloquant l'expression des gènes impliqués dans l'adhésion bactériennes (Lee et al., 2013 ; Hasan et al., 2014 ; Vazquez-Armenta et al., 2018). La quercétine inhibe également l'adhésion initial et la formation de micro colonies en diminuant la production de protéines extracellulaire dans le biofilm (41%) elle inhibe aussi l'expression des gènes d'adhésion intracellulaire des polysaccharides chez *S. aureus* (Vazquez-Armenta et al., 2018 ; Lee et al., 2013).

Discussion

Il est important de souligner la contribution active des composés phénoliques, en particulier les flavonoïdes et les acides phénoliques dans la définition des propriétés biologiques des extraits des racines de *B. dioïca* et les fruits de *C. colocynthis*, notamment l'activité antioxydante, antidiabétique et antimicrobienne.

Conclusion

Conclusion

Le présent travail est une contribution à l'étude phytochimique et l'évaluation *in vitro* de l'activité antioxydante, antidiabétique, et antimicrobienne des extraits aqueux et organiques des racines de *Bryonia dioïca* et du fruit de *Citrullus colocynthis*.

Les analyses phytochimiques ont révélé la richesse des extraits en polyphénols et en flavonoïdes, notamment les fractions acétate d'éthyle et n-butanol qui contiennent des taux variables entre 116 à 540,27 µg eq AG/mg E ; et 73,03 à 260,61 µg eq Cat/mg E, respectivement. L'analyse chromatographique RP-HPLC-PDA de ces fractions a permis d'identifier des acides phénoliques : syringique, férulique et p-coumarique, ainsi que des flavonoïdes représentés par la quercétine et la rutine (flavonol).

Les composés phénoliques identifiés ont assuré aux extraits de *B. dioïca* et *C. colocynthis*, notamment aux fractions n-butanol et acétate d'éthyle leur pouvoir antioxydant. Ces fractions ont assuré un piégeage des radicaux libres DPPH (IC₅₀= 3,27 µg/mL) et ABTS (IC₅₀= 3,13 µg/mL), une réduction du fer (A_{0,5}= 24,92 µg/mL), du cuivre (A_{0,5}= 7,38 µg/mL) et du complexe Fe²⁺-phénanthroline (A_{0,5}= 22,1 µg/mL), ainsi qu'un effet cytoprotecteur des globules rouges contre l'attaque radicalaire induite par le AAPH. Les composés phénoliques sont également responsables de l'effet antidiabétique des plantes étudiées suite à l'effet inhibiteur de l'activité de l'α-amylase et l'α-glucosidase observé dans la majorité des extraits. Les extraits de la coloquinte et de la bryone ont enregistré un pouvoir antibactérien, antifongique et antiadhésif prometteur notamment les fractions n-butanol et acétate d'éthyle contre *S. aureus* ATCC 6538, *Listeria monocytogenes* ATCC 15313 et *Escherichia coli* ATCC 8739.

A la lumière des résultats obtenus, il serait intéressant de mener d'autres études afin de compléter et d'approfondir ce présent travail, qui s'intéressent à ;

- L'analyse structurale et l'identification des molécules phytochimiques présentes dans les extraits des plantes étudiées, notamment les fractions acétate d'éthyle et n-butanol qui ont assuré une activité antioxydante et antidiabétique et antimicrobienne importantes.
- La recherche d'activité antioxydante *in vivo* en mesurant l'effet des extraits sur l'activité des enzymes antioxydantes (catalase, superoxy dismutase, glutathion peroxydase...)
- La recherche de l'activité antibactérienne sur d'autres souches bactériennes

Conclusion

pathogènes (multirésistantes, sauvages...).

- La recherche de l'activité antifongique sur d'autres levures et champignons.
- La recherche de l'effet antidiabétiques des extraits en mesurant leur effet sur la régénération des cellules β pancréatiques.
- La recherche d'autres éventuelles activités biologiques comme l'activité anti-inflammatoire, anti-tumorale, et anti-Alzheimer.

Références

Bibliographiques

Références Bibliographiques

- Abdelli, I., Benariba, N., Adjdir, S., Fekhikher, Z., Daoud, I., Terki, M., Benramdane, H., & Ghalem, S. (2020). *In silico* evaluation of phenolic compounds as inhibitors of α -amylase and α -glucosidase. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 1-7.
- ADA (American Diabetes Association). (2014). Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*, 37(Supplement 1), S81-S90.
- ADA (Association Américaine Du Diabète). (2009). Therapy for diabetes mellitus and related disorders. *Virginia: American Diabetes Association*.
- ADA (Association Américaine Du Diabète). (2020). Classification and diagnosis of diabetes: standards of medical care in diabetes. *Diabetes Care*, 43, 14-31.
- ADA (American Diabetes Association). (2012). Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*, 35 (1), 64-71.
- ADA (American Diabetes Association). (2016). Diabetes classification and diagnosis of diabetes. *Diabetes Care*, 39(Suppl. 1), S13–S22.
- Adanho, C. (2013). Les antioxydants dans la lutte contre le cancer. *Journal Des Sciences De La Santé Et De La Nutrition*, Vol 2 (1).
- Adjdir, S. (2022). Etude phytochimique et recherche de l'activité antioxydante, antidiabétique et antimicrobienne des extraits de *Ziziphus jujuba* Mill. et de *Micromeria inodora* (Desf.) Benth., de la région de Tlemcen. Université de Tlemcen option Biochimie Appliquée.
- Ademiluyi, AO., Oboh, G. (2012). Phenolic-rich extracts from selected tropical underutilized legumes inhibit α -amylase, α -glucosidase, and angiotensin i converting enzyme *In Vitro*. *J Basic Clin Physiol Pharmacol*, 23, 17–25.
- Adzitey, F. (2015). Antibiotic classes and antibiotic susceptibility of bacterial isolates from selected poultry. *World's Vet*, J 5 (3), 36–41.
- Afifi, MD., Sayed, MS., Balbaa, SI. (1973). Nitrogenous bases of different organ of *Citrullus colocynthis*. *Planta Med*, 24, 260-265.
- Agarwal, RK., Singh, S., Bhilegaonkar, KN., Singh, VP. (2011). Optimization of microtitre

Références Bibliographiques

plate assay for the testing of biofilm formation ability in different *Salmonella Serotypes*. *International Food*, 18(4), 1493-1498.

Ahangapour, A., Sayahi, M., & Sayahi, M. (2019). The antidiabetic and antioxidant properties of some phenolic phytochemicals : A review study . *Diabetes & Metabolic Syndrome : Clinical Research & Reviews*, 13(1), 854-857.

Ahmed, I., & Beg , A. Z. (2001). Antimicrobial and phytochemical studies on 45 Indian medicinal plants against multi-drug resistant human pathogens. *Journal of Ethnopharmacology*, 74, 113-123.

Aissaoui, M., Rahmoun, M., Latrache, H., Barek, S., Ellassri, A., Bensouici, C., El Hacı, I., Choukhou-Braham, N. (2021). Structural characterization, antioxidant, and antibiofilm activities of *Coffea canephora* green seeds. *Journal of Complementary and Integrative Medicine*, 18(1), 107-112.

Akroum, S. (2011). Étude Analytique Et Biologique Des Flavonoïdes Naturels. Thèse De Amjed HK, Enas JK, Hayder, Shihab HM (2017). *In Vitro* analysis of antioxidant and antimicrobial activity of iraqi *Bryonia dioica*. *Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res*, 43(1), 248-252.

Al-Nablsi, S., El-Keblawy, A., Ali, M.A., Mosa, K.A., Hamoda, A.M., Shanableh, A., Almeahdi, A.M. and Soliman, S.S. (2022). Phenolic contents and antioxidant activity of *Citrullus colocynthis* fruits, growing in the hot arid desert of the uae, influenced by the fruit parts, Accessions, and Season of Fruit Collection. *Antioxidants*, 11(4), 656.

Al-Snafi, A.E. (2016). Chemical constituents and pharmacological effects of *Citrullus colocynthis*-A review. *IOSR Journal of Pharmacy*, 6(3), 57-67.

Angelova, PR., Abramov, AY. (2018). Role of mitochondrial ROS in the brain: from physiology to neurodegeneration. *FEBS Letters*, 592, 692–702.

Aouadhi, C., Ghazghazi , H., Hasnaoui, B., & A., M. (2013). Comparaison de l'activité antifongique d'extraits méthanoliques de trois plantes collectées du nord-ouest de la Tunisie. *Microbiol. Hyg. Alim.*, 25(73),9-14.

Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., Karademir, S. (2004). Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability

Références Bibliographiques

in the presence of neocuproine: CUPRAC method. *Journal Of Agricultural And Food Chemistry*, 52, 7970–7981.

Arab K, Bouchenak., O, Yahiaoui, K. (2014). Etude phytochimique et evaluation de l'activite antimicrobienne et antioxydante de l'huile essentielle et des composes phenoliques du pistachier lentisque (*Pistacia Lentiscus L.*). *J. Fundment Appl Sci*, 6(1), 79-93.

Ardestani, A., Yazdanparast, R. (2007). Inhibitory effects of ethyl acetate extract of *teucrium polium* in vitro protein glycolxydation. *Food And Chemical Toxicology*, 45, 2402-2411.

Asmat, U., Abad, K., Ismail, K. (2016). Diabetes Mellitus and oxidative stress-A concise Review. *SaudiPharm J*, 24, 547-53.

Atamer, A., Bilici, A., Yenice, N., Selek, S., Ilhan, N., Atamer, Y. (2008). The importance of paraoxonase 1 activity, nitric oxide and lipid peroxidation in hepatosteatosis. *J Lnt Med Res*, 36, 771-776.

Atoui, AK., Mansouri, A., Boskou, G., Kefalas, P. (2005). Tea and herbal infusions: their antioxidant activity and phenolic profile. *Food Chemistry*, 89 (1), 27-36.

Azmir, J., Zaidul, ISM., Rahman, MM., Sharif, KM., Mohamed, A., Sahena, F., Jahurul, MHA., Ghafoor, K., Norulaini, NAN., Omar, AKM. (2013). Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. *J Food Eng*, 117, 426-436.

Azzi, R., Djaziri, R., Lahfa, F., Sekkal, FZ., Benmehdi, H., Belkacem, N. (2012). Ethnopharmacological survey of medicinal plants used in the traditional treatment of Diabetes Mellitus in the north western and south western Algeria. *J Med Plants Res*, 6 , 2041-2050

Bahare, S., Athar, A., Nanjangud, VAK., Farukh, S., Ramírez-Alarcón, K., Ruiz-Ortega, A. (2019). Antidiabetic Potential of medicinal plants and their active components. *Biomolecules*, 9, 551.

Barquissau, V., Morio, B. (2011). Physiopathologie de l'insulinorésistance dans le muscle squelettique et implication des fonctions mitochondriales. *Nutr Clin Metab*, 25(3), 114- 130.

Barreira, JC., Pereira, E., Dueñas, M., Carvalho, AM., Santos-Buelga, C., Ferreira, IC. (2013). *Bryonia Dioïca, Tamus Communis And Lonicera Periclymenum* Fruits: Characterization in

Références Bibliographiques

phenolic compounds and incorporation of their extracts in hydrogel formulations for topical application. *Industrial Crops And Products*, 49, 169-1

Barros, L., Dueñas, M., Ferreira, ICFR., Carvalho, AM., Santos-Buelga, C. (2011). Use of HPLC-DAD-ESI/MS to profile phenolic compounds in edible Wild greens from Portugal. *Food Chem*, 127, 169-173.

Basit, A., Fawwad, A., Qureshi, H., Shera, AS., NDSP Members. (2018). Prevalence of diabetes, pre-diabetes and associated risk factors: second national diabetes survey of Pakistan (NDSP), 2016–2017. *BMJ Open*, 8, 20961.

Benarba, B., Belabid, L., Riqhi, K., Bekkar, AA., Elouissi, M., Khaldi, A., Hamimed, A. (2015). Ethnobotanical study of medicinal plants used by traditional healers in Mascara (North West Of Algeria). *J Ethnopharmacol*, 175, 626-636.

Benarba, B., Meddah, B., Aoues, A. (2012). *Bryonia Dioica* aqueous extract induces apoptosis through mitochondrial intrinsic pathway in bl41 burkitt's lymphoma cells. *Journal Of Ethnopharmacology*, 141, 510-516.

Benariba, N., Djaziri, R., Zerriouh, BH., Boucherit, K., Louchami, K., Sener, A., Malaisse, WJ. (2009). Antihyperglycemic effect of *Citrullus colocynthis* seed aqueous extracts in streptozotocin-induced diabetic rats. *Metab Funct Res Diab*, 2, 71-76.

Benariba, N., Bellakhdar, W., Djaziri, R., Hupkens, E., Louchami, K., & Malaisse, W. J. (2013). Protective action of *Citrullus colocynthis* seed extracts against the deleterious effect of streptozotocin on both in vitro glucose-stimulated insulin release from rat pancreatic islets and in vivo glucose homeostasis. *Biomedical Reports*, 1(1), 119-121.

Benariba, N., Djaziri, R., Bellakhdar, W., Belkacem, N., Kadiata, M., Malaisse, W. J., & Sener, A. (2013b). Phytochemical screening and free radical scavenging activity of *Citrullus colocynthis* seeds extracts. *Asian Pacific journal of tropical biomedicine*, 3(1), 35-40.

Benariba, N., Djaziri, R., Hupkens, E., Louchami, K., Malaisse, W. J. and Sener, A. (2013a). Insulinotropic action of *Citrullus colocynthis* seed extracts in rat pancreatic islets. *Molecular Medicine Reports*, 7(1), 233-236.

Benariba, N., Djaziri, R., Zerriouh, B.H., Bellakhdar, W., Hupkens, E., Boucherit, Z.,

Références Bibliographiques

- Malaisse, W.J. (2012). Short-and long-term effects of various *Citrullus colocynthis* seed extracts in normal and streptozotocin-induced diabetic rats. *Int. J. Mol. Med*, 30 (6), 1528–1536.
- Benariba, N., Louchami, K., Djaziri, R., Sener, A., & Malaisse, W. J. (2023). Effects of *Citrullus colocynthis* Seed Aqueous Extracts upon Sodium Transport across A6 Kidney Cell Monolayers. *Clinical Complementary Medicine and Pharmacology*, 3(1), 100076.
- Benmehdi, H., Allali, H., Tabti, B., Djabou, N., Bendiabdellah, A., Lahfa, F., Djaziri, R., 2008. Hypo and antihyperglycaemic effect of *Citrullus colocynthis* L. seeds in normal and streptozotocin-induced diabetic rats. *Asian J. Chem*, 20 (4), 2711.
- Bennamara, FZ. (2017). Stress oxydant et pathologies humaines. Thèses. Pharmacie Université Mohammed, Pp, 16-18.
- Bentley, R., Bennett, JW. (2003). What Is An Antibiotic? Revisited. *Advances Applied*
- Bernfeld, P. (1955). Amylase, A and B, In methods in enzymology. (Colowick S. And Kaplan N.O. Eds.), *Academic Press, New York*, Vol , 149-158.
- Bessada, S., Barreira, J., Oliveira, M. (2015). Asteraceae specis with most prominent bioactivity and their potential applications. *A Review Industrial Crops And Products*, 76, 604-615.
- Bhushan, MS., Rao, CHV, Ojha, SK., Vijayakumar, M., Verma, A. (2010). An analytical review of plants for antidiabetic activity with their phytoconstituent & mechanism of action. *Int J Pharm Sci Res*, 1 (1), 29-46.
- Blair, J.M.A., Webber, MA., Baylay, A.J., Ogbolu, D O., And Piddock, JV. (2015). Molecular mechanisms of antibiotic resistance. *Nature Reviews Microbiology*, 13 (1), 13, 42–51 .
- Bokkon, I. (2012). Recognition of functional roles of free radicals. *J Curr Neuropharmacol*, 10, 287.
- Bonnaillie, C., Salacs, M., Vassiliova, E., Saykova, I. (2012). Étude de l'extraction de composés phénoliques a partir de pellicules d'arachide (*Arachis Hypogaea* L.). *Revue De Génie Industriel*, 7, 35-45

Références Bibliographiques

- Bonnefont-Rousselot, D. (2002). Glucose and reactive oxygen species. *Curr Opin Clin Nutr Met Care*, 5, 561-68
- Borges, A., Saavedra, MJ., Simões, M. (2012). The activity of ferulic and gallic acids in biofilm prevention and control of pathogenic bacteria. *Biofouling*, 28, 755-767.
- Bosquet, F., Hartemann-Heurtier, A. (2004). Insulinothérapie dans le diabète de type 2. *EMC-Endocrinologie*, 1 (1), 55-65
- Brownlee, M. (2001). Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature*, 414 (6865), 813-20
- Bruneton, J. (1999). Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes Médicinales, 3ème Edition, Edition Lavoisier TEC Et DOC.
- Bursal, E., Köksal, E. (2011). Evaluation of reducing power and radical scavenging activities of water and ethanol extracts from sumac (*Rhus Coriaria L.*). *Food Research International*, 44, 2217-2221,
- Campbell, RK., White, JR. (2008). More choices than ever before: emerging therapies for type 2 Diabetes. *Diabetes Educ*, 34, 518–34.
- Chaouche, TM., Haddouchi, F., Ksouri, R., Atik-Bekkara, F. (2014) Evaluation of antioxidant activity of hydromethanolic extracts of some medicinal species from south Algeria. *J Chin Med Assoc*, 77, 302–307.
- Chawech, R., Mhalla, D., Trigui, M., Mihoubi, M., Fabre, N., & Jarraya, R. (2015). Chemical composition and antibacterial activity of extracts and compounds isolated from *Citrullus colocynthis (L.) Schrad.* *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 4(4), 197-203.
- Chebaibi, A., Marouf, Z., Rhazi-Filali, F., Fahim, M., & Ed-Dra, A. (2016). Evaluation du pouvoir antimicrobien des huiles essentielles de sept plantes médicinales récoltées au Maroc. *Phytptherapie*, 14(6), 355-362.
- Chekroun C, Benariba, N., Adida, H., Bechiri, A., Azzi, R., Djaziri R (2015). Antioxidant activity and phytochemical screening of Two Cucurbitaceae: *Citrullus colocynthis* Fruits and *Bryonia Dioica* Roots. *Asian Pacific Journal Of Tropical Disease*, 5(8), 632-637.

Références Bibliographiques

- Chekroun C, Bechiri A, Azzi R, Adida H, Benariba N, Djaziri R (2016). Antidiabetic activity of Two Aqueous Extracts Of Two Cucurbitaceae: *Citrullus colocynthis* and *Bryonia Dioica*. *Phytothérapie*, S10298-016-1050-7.
- Chenni, M., Neggaz, S., Fortas, Z., El Abed, D. (2012). Etude du Pouvoir antibactérien de L'extrait Méthanolique de la racine De *Bryonia dioica* Jacq., de la région d'Oran. *Phytochem & Biosub Journal*, 6 (2).
- Chentir, I., Nasr, M. (2020). Composés bioactifs structure unique, fonctionnalités multiples : la phycocyanine en biotechnologie. *Nutr. Santé*, 09(01), 28-42.
- Chira, K., Suh, J. H., Saucier, C. and Teissède, P. L. (2008). Les polyphénols du raisin. *Phytotherapie*, 6(2), 75–82.
- Clinical And Laboratory Standards Institute (2009). Methods for antimicrobial susceptibility tests for bacteria that growth aerobically, 8th Ed. Approved Standard M7-A8. *Clinical And Laboratory Standards Institute Wayne, PA*.
- Clinical And Laboratory Standards Institute (2012). Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically, 9th Ed. Approved standard M07-A9. *Clinical And Laboratory Standards Institute Wayne, PA*.
- Coppieters, K., Boettler, T., Von Herrath, M. (2012). Virusinfections in Type 1 Diabetes. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 2, A007682.
- Da Silva, JFM., De Sousa, MC., Matta, SR., Andrade, MR., Nova Vidal, FV. (2006). Correlation analysis between phenolic levels of brazilian propolis extracts and their antimicrobial and antioxidant activities. *Food Chemistry*, 99, 431-435.
- Dannaoui, E. (2013). Résistance des Candida aux antifongiques : détection et mécanismes. *Revue Francophone Des Laboratoires*, 2013(450), 71-77.
- Davidson, JA., Parente, EB., Gross, JL. (2008). Incretin mimetics and dipeptidyl peptidase-4 inhibitors: innovative treatment therapies for type 2 diabetes. *Arq Bras Endocrinol Metabol*, 52, 1039–49.

Références Bibliographiques

- De Sales, P., de souza, P.M., Simeoni, L.A., Magalhães, P. de O., Silveira, D.(2012). A-amylase inhibitors : A review of raw material and isolated compounds from plant source. *Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 15(1), 141-183.
- Degraft-Johnson, J., Kolodziejczyk, K., Krol, M., Nowak, P., Krol, B., Nowak, D. (2007). Ferricreducing ability power of selected plant polyphenols and their metabolites: implication for clinical studies on the antioxidant effects of fruits and vegetable consumption. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*, 100, 345-352.
- Dehshiri, MM., Aghamollaei, H., Zarini, M., Nabavi, S.M., Mirzaei, M., Loizzo, M.R., Nabavi, SF. (2013). Antioxidant activity of different parts of *Tetrataenium Lasiopetalum*. *Pharmaceutical Biology*, 51, 1081-1085.
- Delazar, A., Gibbons, S., Kosari, AR., Nazemiyeh, H., Modarressi, M., Nahar, L., Satyajit, D. (2006). FlavoneC-Glycosides and cucurbitacin glycosides From *Citrullus colocynthis*. *DARU*, 14 (3), 109-114.
- Devaraj, S., Hirany, SH., Burk, R. (2001). Divergence between LDL oxidative susceptibility and urinary f2-isoprostanes as measures of oxidative stress in Type 2 Diabetes. *Clin Chem*, 47, 1974- 1979.
- Dhouioui, M., Boulila, A., Jemli, M., Schiets, F., Casabianca, H., & Zina, M. S. (2016). Fatty acids composition and antibacterial activity of *Aristolochia longia L.* and *Bryonia dioica Jacq.* growing wild in Tunisia. *Journal of oleo science*, 65(8), 655-661.
- Diallo, A. (2005). Etude de la phytochimie et des activités biologiques de *Syzygium guineense* Willd. (Myrtaceae) (Doctoral Dissertation, Thèse. Université De Bamako, Mali: Faculté De Médecine, De Pharmacie Et d'Odoto-Stomatologie).
- Diamant, M., Heine, R. (2003). Thiazolidinediones in Type 2 Diabetes Mellitus. *Drugs*, 63 : 1373–406. Doctorat, Université Mentouri De Constantine, Algérie. 113p
- Dichi, I., Breganó, J. W., & Cecchini, R.(2014). *Role of Oxidative Stress in Chronic Diseases* (CRC Press).
- Dower, JI., Geleijnse, JM., Gijssbers, L., Schalkwijk, C., Kromhout, D., Hollman, PC. (2015). Supplementation of the pure flavonoids epicatechin and quercetin affects some biomarkers of

Références Bibliographiques

endothelial dysfunction and inflammation in (pre) hypertensive adults: A Randomized Double- Blind, Placebo-Controlled, Crossover Trial. *J Nutr*, 145, 1459-1463

Du, XL., Edelstein, D., Rossetti, L., Fantus, IG., Goldberg, H., Ziyadeh, F., Wu, J., Brownlee, M. (2000). Hyperglycemia-Induced mitochondrial superoxide overproduction activates the hexosamine pathway and induces plasminogen activator inhibitor-1 increasing Sp1 glycosylation. *Proc Natl Acad Sci*, 97 (22), 12222-6.

Duletić-Laušević, S., Alimpić Aradski, A., Tivković, J., Gligorijević, N., Šavikin, K., Radulović, S., Danijela Č, Petar D. Marin. (2019). Evaluation of bioactivities and phenolic composition of extracts of *Salvia Officinalis L. (Lamiaceae)* Collected In Montenegro. *Botanica Serbica*, 43, 47-58.

Eidi, S., Azadi, HG., Rahbar, N., Mehmannaavaz, HR. (2015). Evaluation of antifungal activity of hydroalcoholic extracts of *Citrullus colocynthis* fruit. *Journal Of Herbal Medicine*, 5 (1), 36-40.

Ekoé, JM., Punthakee, Z., Ransom, T., Prebtani, APH., Goldenberg, R. (2013). Dépistage du diabète de type 1 et de type 2 comité d'experts des lignes directrices de pratique Clinique De l'Association Canadienne Du Diabète. *Can J Diabetes*, 37 , S373-S376.

El Haci, I.A., Mazari, W., Atik-Bekkara, F., Mouttas-Bendimerad, F. and Hassani, F. (2020). Bioactive compounds from the flowerpart of *Polygonum maritimum L.* collected from Algerian coast. *Current Bioactive Compounds*, 16(4), 543-545.

El Yahyaoui, O., Ait Ouaziz, N., Sammama1, A., Kerrouri, S., Bouabid, B., Lrhorfi1, L.A., Zidane, L., Bengueddour, R. (2015). Etude ethnobotanique : plantes médicinales commercialisées a la provincede laâyoune ; identification et utilisation. *International Journal Of Innovation And Applied Studies*, Vol .12, Pp. 533-541.

Elfazazi, K., Zahir, H., Tankiouine, S., Zanane, C., Ellouali, M., Latrache, H. (2018). Microbial adhesion of *Salmonella Muenster*, *Salmonella Kentucky*, *Salmonella Newport* and *Salmonella Kiel*: effect of ionic strength on physicochemical surface properties. *Annu. Res. Rev. Biol*, 27, 1-10.

Eliasson, B., Eeg-Olofsson, K., Cedeholm, J., Nilsson, PM., Gudbjörnsdóttir, S. (2007).

Références Bibliographiques

Antihyperglycaemic treatment of type 2 diabetes: results from national diabetes Register. *Diabetes And Metab*, 33, 269-276.

Elkadi, Z., Kanoun, K., Trouzine A., Tehami, W., LebgaHouaria, Boumaza, N. and Harir, N. (2021). Phenolic compound profiles and antioxidant activity of *Rutachalepensis* L. leaves, a spontaneous medicinal herb: influence of harvest zone (Western Algeria). *International Journal of Minor Fruits*,

Espinel-Ingroff, A. 2007. Standardized disk diffusion for yeasts. *Clinical Microbiology Newsletter*, 29, 97-100.

Etebu, E., And Arikekpar, I. (2016). Antibiotics: classification and mechanisms of action with emphasis on molecular perspectives *Int. J. Appl. Microbiol. Biotechnol. Res*, 4, 90–101

Falleh, H., Ksouri, R., Medini, F., Guyot, S., Abdelly, C., Magné, C. (2011). Antioxidant activity and phenolic composition of the medicinal and edible halophyte mesembryanthemum Edule L. *Industrial Crops And Products*, 34, 1066-1071.

FAO (organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture). (2017). *La résistance aux antimicrobiens*.

Favier, A. (2003). Le stress oxydant : Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *Actualité chimique*, 1(11-12), 108-115.

FID (Fédération Internationale Du Diabète). (2019). IDF Diabetes Atlas Ninth Edition.

FID : Fédération Internationale Du Diabète. (2019). Atlas De Diabète 9ème Edition.

Fip. (2008). Contrôle des résistances aux antimicrobiens. In *Fédération Internationale Pharmaceutique Boite*.

Foretz, M., & Viollet, B. (2014). New promises for metformin : Advances in the understanding of its mechanisms of action. *Medecine/Sciences*, 30(1), 82-92.

Forni, C., Facchiano, F., Bartoli, M., Pieretti, S., Facchiano, A., D'Arcangelo, D., Norelli, S., Valle, G., Nisini, R., Beninati, S., Tabolacci, C., Jadeja, RN. (2019). Beneficial role of

Références Bibliographiques

- phytochemicals on oxidative stress and age-related diseases. *Biomed Research International*.
- Franco, R.o., Sánchez-Olea, R., Reyes-Reyes, E.M., Panayiotidis, M.I. (2009). Environmental toxicity, oxidative stress and apoptosis. *Mutation Research*, 674, 3-22.
- Gairola, S., Mohd Shariff, N., Bhatt, A., Prakash Kala, C. (2010). Influence of climate change on production of secondary chemicals in high altitude medicinal plants: issues needs immediate attention. *J. Med Plants Res*, 4 (18), 1825-1829.
- Gali, L., Bedjou, F. (2019). Antioxidant and anticholinesterase effects of the ethanol extract, ethanolextract fractions and total alkaloids from the cultivated ruta chalepensis. *South African Journal Of Botany*, 120, 163-169.
- Gaschler, M. M., & Stockwell, B. R. (2017). Lipid peroxidation in cell death. Elsevier BV.
- Gbekley, EH., Agbodeka, K., Karou, SD. (2017). Composés bioactifs isolés des plantes À propriété antidiabétique Revue De Littérature. *IJJAS* 19, (4), 839-849
- Ghafoor, K., Norulaini, NAN., Omar, AKM. (2013). Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A Review. *J Food Eng*, 117, 426-436
- Ghannoum, MA., O'toole, GA. (2004) Microbial Biofilms, D.C. ASM Press, Washington.
- Ghasemzadeh, A., Azarifar, M., Soroodi, O., Jaafar, HZE. (2012). Flavonoid compounds and their antioxidant activity in extract of some tropical plants. *J Med Plant Res*, 6, 2639–2643.
- Giacco, F., Brownlee, M. (2010). Oxidative stress and diabetic complications. *Circ Res*, 107, 1058- 1070
- Gninfanni, SO., Doudjo, S., Gonnety, TG., Kouadio, E. K. (2019). *In Vitro* Inhibition of alpha amylase and glucosidase of digestive snail juice by crude extracts of cashew cakes. *Asian Food Science Journal*, 11, 1-10.
- Goossens, H., Ferech, M., Vander Stichele, R., Elseviers, M. (2005). Outpatient antibiotic use in europe and association with resistance: A Cross-National Database Study, *Lancet*, 365 (9459), 579-87
- Grimaldi, A., Hartemann-Heurtier, A., Jacqueminet, S., Bosquet, F., Masseboeuf. N., Halborn,

Références Bibliographiques

- M., Sachon, C. (2009). Guide pratique du Diabète. 4 Eme Edition. *Edition Elsevier Masson*, P 313.
- Habtemariam, S. (2019). Current pharmacotherapy options for type 2 diabetes. In *Medicinal Foods as Potential Therapies for Type-2 Diabetes and Associated Diseases*(pp.89-107).
- Halbwirth, H. (2010). The creation and physiological relevance of divergent hydroxylation patterns in the flavonoid pathway. *International Journal Of Molecular Sciences*, 11, 595-621.
- Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, JO., Charlier, C., Chapelle, JP. (2007). Le Stress Oxydant. *Revue Medicale De Liege*, 62(10), 628-38.
- Halliwell, B., Gutteridge, JM. (2015). Free radicals in biology and medicine, Oxford University Press, USA.
- Halliwell, B. (2012) Free radicals and antioxidants: Updating A Personal View. *Nutr Rev*, 70, 257-265
- Hasan, S., Singh, K., Danisuddin, M., Verma, PK., Khan, AU. (2014). Inhibition of major virulence pathways of *Streptococcus mutans* by quercitrin and deoxynojirimycin: a synergistic approach of infection control. *PLoS ONE*, 9, e91736.
- Hatam, NA., Whiting, DA., Yousif, NJ. (1990). Lipids and sterols of *Citrullus colocynthis*. *International Journal Of Crude Drug Research*, 28 (3), 183-184.
- Holaly, G. E., Efui Holaly, G., Kodjovi, A., Simplicite Damintoti, K., KOKOU, A., Yao, A., Gérard, T., Blaise, A., Jacque, S., & Messanvi, G. (2017). Composés bioactifs isolés des plantes à propriété anti-diabétique : Revue de littérature [Isolated bioactive plant compounds with anti-diabetic property : Review]. *International Journal of Innovation and Applied Studies*, 19(4), 839-849.
- Holmbäck, U., Forslund, A., Grudén, S., Alderborn, G., Söderhäll, A., Hellström, PM. (2020). Effects of a novel combination of orlistat and acarbose on tolerability, appetite, and glucose metabolism in persons with obesity. *Obesity Science And Practice J*, 1-11.
- Hsia, DS., Grove, O., Cefalu, WT. (2018). An update On SGLT2 inhibitors for the treatment of Diabetes Mellitus. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*, 24, 73–9.

Références Bibliographiques

- Hussain, AI., Rathore, HA., Sattar, MZA., Chatha, SAS., Ahmad, F., Ahmad, A., Johns, EJ. (2013). Phenolic profile and antioxidant activity of various extracts from *Citrullus colocynthis* (L.) From The Pakistani Flora. *Ind Crops Prod*, 45, 416-422
- Infante-Garcia, C., Garcia-Alloza, MN. (2019). Review of the effect of natural compounds and extracts on neurodegeneration in animal models of Diabetes Mellitus. *Int J Mol Sci*, 20, 2533.
- Jiri, D., Ondrej, Z., Jiri, S., Branislav, R.N., Petr, B., Miroslava, B., Jindrich, K., Jaromir, H., Borivoj, K., Rene, K., Vojtek, A. (2013). Electrochemical tools for determination of phenolic compounds in plants. *International Journal Of Electrochemical Science*, 8, 4520-4542.
- Kadhim, EJ. (2014). Phytochemicals investigation and hepato-protective studies of Iraqi *Bryonia Dioica* (Family Cucurbitaceae). *International Journal Of Pharmacy And Pharmaceutical Sciences*, 6 (4), 187-190.
- Kahn, S.E., Hull, R.L., Utzschneider, K.M. (2006). Mechanisms linking obesity to insulin resistance and type 2 Diabetes. *Nature*, 444, 840-6.
- Kailash, C., Pradeep, S., Shridhar, D., Jain, SK. (2019). Diabetes Mellitus and oxidative stress: a co- relative and therapeutic approach. DOI: 10.7860/JCDR/2019/40628.12878. Alwash M-S, Nazlina I.
- Kaneto, H., Katakami, N., Matsuhisa, M., Matsuoka, T.A. (2010). Role of reactive oxygen species in the progression of type 2 diabetes and atherosclerosis. *Mediators Inflamm*. <https://doi.org/10.1155/2010/453892>.
- Karagözler, AA., Erdağ, B., Emek, YÇ., Uygun, DA. (2008). Antioxidant activity and proline content of leaf extracts from *Dorystoechas hastata*. *Food Chem*, 111 (2), 400-407.
- Karumi, Y., Onyeyili, PA., Ogugbuaja, V. (2004). Identification of active principles of *M. balsamina* (Balsam Apple) Leaf Extract. *J Med Sci*, 4 (3), 179-182.
- Karuranga, S., Joao da rocha, F., Huang, Y., Malanda, B. (2017). Atlas Du Diabetela Huitième édition de la FID.
- Khacheba, I., Boussoussaa, H., Djeridanea, A., Bekhaouab, A., Bensayahb, N., Yousfia, M.

Références Bibliographiques

- (2017). Glucosidase inhibitory effect and antioxidant activity of the extracts of eighteen plants traditionally used in algeria for diabetes. *Current Enzyme Inhibition*, 13, 1- 12.
- Khachebaa, I., Djeridane, A., Yousfi, M. (2014). Twenty traditional algerian plants used in alpha- amylase activity. *International Journal Of Diabetes Therapy As Strong Inhibitors Of Carbohydrate Chemistry*. [Http://Dx.Doi.Org/10.1155/2014/287281](http://Dx.Doi.Org/10.1155/2014/287281).
- Khamees, A., H., Kadhim, E. J., Sahib, H. B., & Mutlag, S. H. (2017). *In vitro* Analysis of antioxidant and antimicrobial activity of Iraqi *Bryonia dioica*. *Int J Pharm Sci Rev Res*, 43(1), 248-52.
- Khameneh, B., Iranshahy , M., Soheili, V., Fazly Bazzaz, B. S.(2019). Review on plant antimicrobials : A mechanistic viewpoint. *Antimicrobial Resistance and Infection Control*, 8(118), 1-28.
- Khoshvaghti, A., Hamidi, AR. (2012). Comparative effects of oral administration of *Citrullus colocynthis* and insulin injection on serum biochemical parameters of alloxan-induced diabetic dogs. *Comparative Clinical Pathology*, 21 (6), 1337-1341.
- Kohen, R., Nyska, A. (2002). Oxidation of biological systems: Oxidative Stress NADPH Oxidase. *Redox Biol*, 28 (2), 694–701.
- Koko, WS., Osman, EE., Galal, M. (2009). Antioxidant and antiglycation potential of some sudanese medicinal plants and their isolated compounds. *Boletín Latinoamericano Del Caribe De Plantas Med Aromáticas*, 8, 402-411.
- Kumar, S., Kumar, D., Saroha, K., Singh, N. and Vashishta, B. (2008). Antioxidant and free radical scavenging potential of *Citrullus colocynthis* (L.) Schrad. Methanolic fruit extract. *Acta Pharmaceutica*, 58(2), 215-220.
- Lahfa, FB., Azzi, R., Mezoua,r D., Djaziri, R. (2015). Hypoglycemic effect of *Citrullus Colocynthis* Extracts. *Phytothérapie*, Pp, 2-7.
- Lankatillake, C., Huynh, T., Dias, DA. (2019). Understanding glycaemic control and current approaches for screening antidiabetic natural products from evidence-based medicinal plants. *Plant Methods*, 15, 105.

Références Bibliographiques

Lazo, M., And Fernández, C. (2013). Oxidative Stress In Diabetes Mellitus And The Role Of Vitamins With Antioxidant Actions, P 214

Lee, JH., Park, JH., Cho, HS., Joo, S.W., Cho, MH., Lee, J. (2013). Antibiofilm activities of quercetin and tannic acid against *Staphylococcus aureus*. *Biofouling*, 29, 491-499.

Lee, S. H., Chang, K.S., Su., Huang, Y. S., & Jang, H. Der. (2007). Effects of Chinese medicinal plant extracts on five different fungi. *Food Control*, 18(12), 1547-1554.

Lewis, K. (2013). Platforms for antibiotic discovery. *Nat Rev Drug Discov*, 12 (5), 371–87

Li, HB., Wong, CC., Cheng, KW., Feng, C. (2008). Antioxidant properties *In Vitro* and total phenolic contents in methanol extracts from medicinal plants. *Lebensmittel- Wissenschaft And Technology*, 41 (3), 385-390.

Litescu, S. C., Eremia, S. A., Diaconu, M., Tache, A., & Radu, G. L. (2011). Biosensors applications on assessment of reactive oxygen species and antioxidants. *Environmental Biosensors*, 1, 35-40.

Liu, Y.W., Liu, XL., Kong, L., Zhang, MY., Chen, YJ., Zhu, X., Hao, YC. (2019). Neuroprotection of quercetin on central neurons against chronic high glucose through enhancement of nrf2/are/glyoxalase-1 pathway mediated by phosphorylation regulation. *Biomed Pharmacother*, 109, 2145–2154.

Lugrin, J., Rosenblatt-Velin, N., Parapanov, R., Liaudet, L. (2014). The role of oxidative stress during inflammatory processes. *Biol Chem*, 395, 203-30.

Maatooq, GT., El-Sharkawy, SH., Afifi, MS., Rosazza, JP. (1997). C-P-Hydroxybenzoylglycoflavones From *Citrullus Colocynthis*. *Phytochemistry*, 44(1), 187-190.

Madkour, LH. (2020). Oxidative Stress And Oxidative Damage-Induced Cell Death. Reactive Oxygen Species (ROS), Nanoparticles and Endoplasmic Reticulum (ER) Stress-Induced Cell Death Mechanisms, Pp: 175-197.

Mahdizadeh, R., Moein, S., Soltani, N., Malekzadeh, K., Moein, M. (2018). Study the molecular mechanism of salvia species in prevention of Diabetes. *International Journal Of Pharmaceutical Sciences And Research*, 9, 4512-21.

Références Bibliographiques

- Mahesh, CM., Vidya, P. (2008). Isolation and identification of flavonoid “Quercetin” From *Citrullus Colocynthis* (Linn.) Schrad. *Asian J Exp Sci*, 22, 1137-1142.
- Malhotra, R., Dhawan, B., Garg, B., Shankar, V., Nag, TC. (2019). A comparison of bacterial adhesion and biofilm formation on commonly used orthopaedic metal implant materials: an in vitro study. *Indian J. Orthop*, 53, 148-153.
- Marc, F., Davin, A., Deglène-Benbrahim, L., Ferrand, C., Baccaunaud, M., Fritsch, P. (2004). Studies of several analytical methods for antioxidant potential evaluation in food. *Médecine Sciences*, 20, 387-490.
- Marchand, L., Thivolet, C. (2016). Étiologie et physiopathologie du Diabète De Type 1. EMC - Endocrinologie, 13, 1-12.
- Marsaudon, E. (2011). Le diabète connaitre, comprendre, prévenir, les 200 questions clés pour mieux vivre. Éditions Ellébore, P 19-20-23-33-34-44-45-115-116.
- Marzouk, B., Marzouk, Z., Décor, R., Mhadhebi, L., Fenina, N., Aouni, M. (2010). Antibacterial and antifungal activities of several populations of Tunisian *Citrullus Colocynthis* Schrad. Immature Fruits and Seeds. *Journal De Mycologie Médicale/Journal Of Medical Mycology*, 20 (3), 179-184.
- Marzouk, B., Marzouk, Z., Mastouri, M., Fenina, N. and Aouni, M. (2011). Comparative evaluation of the antimicrobial activity of *Citrullus colocynthis* immature fruit and seed organic extracts. *African Journal of Biotechnology*, 10(11), 2130-2134.
- Maugendre, D., Yaouanq, J., Guilhem, I., Campion, L., Lorcy, Y., Leguerrier, AM., Allannic, H. (2007). Etiologie et physiopathologie des diabètes secondaires. In : Encyclopédie Médicochirurgicale. Endocrinologie-Nutrition. *Editions Scientifiques Et Médicales, Elsevier Masson SAS*, 10-366-D-20, 6.
- Maulik, N., McFadden, D., Otani, H., Thirunavukkarasu, M., Parinandi, N.L., (2013). Antioxidants in longevity and medicine. *Oxid Med Cell Longev*, 820679. *Medicinal and Aromatic Plants*, 7(1), 26-35.
- Mehta, A., Srivastva, G., Kachhwaha, S., Sharma, M., Kothari, SL. (2013). Antimycobacterial activity of *Citrullus Colocynthis* (L.) Schrad. Against drug sensitive and drug resistant

Références Bibliographiques

mycobacteriumtuberculosis and MOTT Clinical Isolates. *Journal Of Ethnopharmacology*, 149 (1), 195-200.

Mentreddy, S. R. (2007). Medicinal plant species with potential antidiabetic properties. *Journal of the Science of Food and Agriculture. Journal of the Science of Food and Agriculture*, 87(5), 743-750.

Mitra, A., Dewanjee, D., Dey, B. (2012). Mechanistic studies of lifestyle interventions in type 2 diabetes. *World J Diabetes*, 3, 201–7.

Molecular mechanisms of antibiotic resistance. *Nature Reviews Microbiology*, 13 (1): 13, 42–51 <https://doi.org/10.1038/Nrmicro3380> Monnier L (2014). *Diabétologie. 2ème Edition Elsevier Masson Paris*, P 215-217, 254

Morales, P., Carvalho, AM., Sánchez-Mata, MC., Cámara, M., Molina, M., Ferreira, IC. (2012). Tocopherol composition and antioxidant activity of spanish wild vegetables. *Genetic Resources And Crop Evolution*, 59 (5), 851-863.

Mputu Kanyinda, J. N., Pierart, C., Destain, J., Noki, P., & Thonart, P. (2014). Impact du séchage sur la viabilité de *pseudomonas fluorescens* (synthèse bibliographique).

Najafi, S., Sanadgol, N., Nejad, BS., Beiragi, MA., Sanadgol, E. (2010). Phytochemical screening and antibacterial activity of *Citrullus Colocynthis* (Linn.) Schrad Against *Staphylococcus Aureus*. *J MedPlant*, 4, 2321-2325.

Nanjan, MJ., Mohammed, M., Prashantha Kumar, BR., Chandrasekar, MJN. (2018). Thiazolidinediones as antidiabetic agents: A Critical Review. *Bioorg Chem*, 77, 548–67.

Nayab, D., Ali, D., Arshad, N. A., Choudhary, MI., Ahmed, Z. (2006). Cucurbitacin glucosides from *Citrullus Colocynthis*. *Natural Product Research*, 20 (05), 409-413

Ng, K., Gu, C., Zhang, H., Patri, CY. (2015). Evaluation of alpha amylase and alpha glucosidase inhibitory activity of flavonoids. *Int J Nutrsci*, 2(6), 1-6.

Nyambe-Silavwe, H., Villa Rodriguez, J., Ifie, I., Holmes, M., Aydin, E., Jane Jensen, M., & Williamson, G. (2015). Inhibition of human α -amylase by dietary polyphenols. *Journal of Functional Foods*, 19, 723-732.

Références Bibliographiques

- Oguntibeju, OO. (2019). Type 2 Diabetes Mellitus, oxidative stress and inflammation: examining the links. *Int J Physiol Pathophysiol Pharmacol*, 11, 45-63.
- Okoye, TC., Uzor, PF., Onyeto, CA., Okereke, EK. (2014). Safe african medicinal plants for clinical studies. *Toxicological Survey Of African Medicinal Plants*, Pp: 535-555.
- Oloyede, OI. (2005). Chemical Profile Of Unripe Pulp Of *Carica papaya*. *Pakistan Journal Of Nutrition*, 4, 379-381
- OMS (Organisation Mondiale de la Santé). (2018). *Résistance aux antimicrobiens*.
- OMS. (2016). Le monde risque de sombrer dans une ère post-antibiotiques : Le moment est venu de prendre des mesures énergiques.
- OMS, Organisation Mondiale De La Santé. (2000). Principes méthodologiques généraux pour la recherche et l'évaluation relatives à la médecine traditionnelle. *Genève*, Pp : 1-77.
- OMS. (2020). *maladie infectieuse*. (Organisation Mondiale de la Santé).
- OMS. Organisation Mondiale De La Santé. (2016). Rapport mondial sur le diabète. <https://www.who.int/diabetes/global-report/fr/>
- Organisation Mondiale De La Santé. (2014). Stratégie de L'OMS pour la médecine traditionnelle pour 2014-2023. Catalogage A La Source : Bibliothèque De L'oms.
- Ou, JY., Huang, J.Q., Wang, MF., Ou, SY. (2017). Effect of rosmarinic acid and carnosic acid on ages formation *In Vitro*. *Food Chem*, 221, 1057–1061.
- Ozturk, MC., Xu, Q., Cinar, A. (2018). Agent-Based Modeling Of The Interaction Between CD8+ T Cells And Beta Cells In Type 1 Diabetes. *Journal Plos*, 13, 19.
- Pan, YK., Zheng, YM., Ho, WS. (2018 B). Effect of quercetin glucosides from *Allium* Extracts on Hepg2, PC-3 And HT-29 Cancer Cell Lines. *Oncol Lett*, 15, 4657-4661
- Pataky, MW., Yu, CS., Nie, Y., Arias, EB., Singh, M., Mendias, CL. (2019). Skeletal muscle fiber type- selective effects of acute exercise on insulin-stimulated glucose uptake in insulin-resistant, high-fat-fed rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 316 695–706.

Références Bibliographiques

- Paul, J. and John Peter. (2008). Studies on Antimicrobial Efficiency of *Citrullus colocynthis* (L.) Schrad. A Medicinal Plant. *Ethnobotanical Leaflets*: Iss, 1 , Article 128.
- Persson, T., Popescu, B.O., Cedazo-Minguez, A., (2014). Oxidative stress in Alzheimer's disease: why did antioxidant therapy fail. *Oxid Med Cell Longev*, ID 427318, 11.
- Pham-Huy, L.A., He, H., Pham-Huy, C. (2008). Free radicals, antioxidants in disease and health. *Int J Biomed Sci*, 4, 89-96.
- Pickering, A.M., Vojtovich, L., Tower, J., Davies J.A., (2013). Oxidative stress adaptation with acute, chronic and repeated stress. *Free radical biology and medicine*, 55, 109-118.
- Pillon, F., Tan, K., Jouty, P., & Frullani, Y. (2014). Le traitement médicamenteux du diabète de type2. *Actualites Pharmaceutiques*, 53(541), 23-28.
- Pisoschi, A. M., Pop, A., (2015). The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: a review. *European journal of medicinal chemistry*, 97, 55-74.
- Popovici, C., Saykova, I., Tylkowski, B. (2009). Evaluation de l'activité antioxydante des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *Revue Du Génie Industriel*, 4, 26-39.
- Prieto, P., Pineda, M., Aguilar, M. (1999). Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. *Anal. Biochem*, 269, 337-341.
- Rabiei, Z., Solati, K., Amini-Khoei, H., (2019). Phytotherapy in treatment of Parkinson's disease: a review. *Pharmaceutical Biology*, 57(1), 355-362.
- Radi, R., Denicola, A., Morgan, B., Zielonka. (2018). Foreword to the free radical biology and medicine special issue on current fluorescence and chemiluminescence approaches in free radical and redox biology. *Free Radic Biol Med*, 128, 1-2
- Rahimzadeh, M., Jahanshahi, S., Moein, S., & Moein, M. R. (2014). Evaluation of alpha-amylase inhibition by *Urtica Dioica* And *Juglans Regia* Extracts. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 17(6), 465-469.

Références Bibliographiques

- Ramchoun, M., Khalid, S., Hicham, H., Chakib, A., Mohamed, B., Farid, K., Souliman, A. (2015). Investigation of antioxidant and antihemolytic properties of *thymus satureioides* collected from tafilalet region, South-East of Morocco. *Asian Pacific Journal Of Tropical Biomedicine*, 5(2), 93-100.
- Ramdane, F., Sobti, A., Hrizat, N.H, Hadj, MM. (2019). Effet protecteur de *Myrtus Nivellei* contre le stress oxydatif chez les rattes rendues diabétiques a l'alloxane. *Phytothérapie*, 10, 3166
- Ramkumar, KM., Sekar, TV., Bhakkiyalakshmi, E. (2013). The impact of oxidative stress on islet transplantation and monitoring the graft survival by non-invasive imaging. *Curr Med Chem*, 20 (9), 1127-46
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Bio Med*, 26, 1231–1237.
- Riaz, Z., Najabat, MA., Qureshi, Z., Mohsin, M. (2020). *In Vitro* investigation and evaluation of novel drug based on polyherbal extract against type 2 Diabetes. *Hindawi Journal Of Diabetes Research*,1-9.
- Sahli, R. (2017). Etude phytochimique de quelques plantes extremophiles tunisiennes et exploration de leurs activité biologique. Thèses Université De Lille 2, Pp : 1.
- Samuel, VT., Shulman, GI. (2012). Mechanisms for insulin resistance: common threads and missing links. *Cell*, 148, 852–871.
- Seger, C., Sturm, S., Mair, ME., Ellmerer, EP., Stuppner, H. (2005). 1H And 13C NMR signal assignment of cucurbitacin derivatives from *Citrullus c olocynthis L.* Schrader And *Ecballium Elaterium L.* (Cucurbitaceae). *Magnetic Resonance In Chemistry*, 43 (6), 489-491.
- Shahraki-Mojahed, L., Behzadmehr, R. and Beigomi, Z. (2021). Antimicrobial effects of ethanol methanol and ethyl acetate *Teucrium polium* and *Citrullus colocynthis* extract on *Pseudomonas aeruginosa*. *Mic Environ*, 1, 26-32.
- Shao, B., Bayraktutan, U. (2014). Hyperglycaemia promotes human brain microvascular endothelial cell apoptosis via induction of protein kinase C-βI and prooxidant enzyme

Références Bibliographiques

NADPH oxidase. *Redox Biol*, 28 (2), 694–701

Sinéad, L., Thomas, J., Smyth Anna, S, Catherine, S., Paul, R. (2013). The alpha-amylase and alpha- glucosidase inhibitory effects of irish seaweed extracts. *Food Chemistry*, 141, 2170–2176.

Singh, R., Rajasree, PH., Sankar, C. (2012). Screening for anti-diabetic activity of the ethanolic extract of *Bryonia alba* Roots. *Int J Pharm Bio Sci*, 2 (3), 210-215.

Şöhretoğlu, D., & Sari, S. (2020). Flavonoids as alpha-glucosidase inhibitors : mechanistic approaches merger with enzyme kinetics and molecular modelling. *Phytochemistry Reviews*, 19(5), 1081-1092

Sosa, V., Moliné, T., Somoza, R., Paciucci, R., Kondoh, H., LLeonart, M. E. (2013). Oxidative stress and cancer: an overview. *Ageing research reviews*, 12, 376-390.

Sow, DS., Traoré, D., Dramé, BSI., Konaté, M., Bah, M., Gninkoun, CJ., Traoré, B., Mariko, M., Traoré, AK., Sidibé, AT. (2019). Statut des marqueurs du stress oxydatif au service de medecine interne et d'endocrinologie de l'hôpital de la mali. mali medical, Tome XXXIV N°2.

Spellberg, B., Guidos, R., Gilbert, D., Bradley, J., Boucher, HW., Scheld, W.M., Bartlett, JG., Edwards, J.JR., America, T. (2008). The Epidemic of Antibiotic-Resistant Infections: A Call to Action for the Medical Community from the Infectious Diseases Society of America. *Clin. Infect. Dis*, 46, 155-164.

Sun, L., Warren, F. J., & Gidley, M. J. (2019). Natural products for glycaemic control : Polyphenols as inhibitors of alpha-amylase. *Trends in Food Science and Technology*, 91, 262-273.

Szydłowska-Czerniaka, A., Dianoczki, C., Recseg, K., Karlovits, G., Szlyk, E. (2008). Determination of antioxidant capacities of vegetable oils by ferric-ion spectrophotometric methods. *Talanta*, 76, 899-905.

Tadera, K., Minami, Y., Takamatsu, K., Matsuoka, T. (2006). Inhibition of α -glucosidase and α - amylase by flavonoids. *J Nutr Sci Vitaminol*, 52, 149–153.

Références Bibliographiques

- Tanabe, H., Pervin, M., Goto, S., Isemura, M., Nakamura, M. (2017). Beneficial effects of plant polyphenols on obesity. *Obes Control Ther*, 4, 1-16
- Tangvarasittichai, S. (2015). Oxidative stress, insulin resistance, dyslipidemia and Type 2 Diabetes Mellitus. *World J Diabetes*, 6, 456–480.
- Tatsch, E., Bochi, GV., Piva, SJ., De Carvalho, JA., Kober, H., Torbitz, VD., Duarte, T., Signor, C., Coelho, AC., Duarte, MM., Montagner, GF., Da Cruz, IB., Moresco, RN. (2012). Association Between DNA Strand Breakage in Type 2 Diabetes. *Mutat Res*, 732, 16-20.
- Tenover, F.C. (2006). Mechanisms of antimicrobial resistance in bacteria. *American Journal of Infections control*, 34, 3-10.
- Teshima, Y., Takahashi, N., Nishio, S., Saito, S., Kondo, H., Fukui, A., Et Al. (2014). Production of reactive oxygen species in the diabetic heart. *Circ J* 78 (2), 300–6
- Therond, P. (2006). Stress oxydant Dommages créés aux biomolécules. *Annales Pharmaceutiques Françaises*, 64, 383-389.
- Thomas, M. (2011). Nouvelles méthodologies d'extraction, de fractionnement et d'identification: application aux molécules bioactives de l'argousier (*Hippophaë Rhamnoides*), Thèse De Doctorat En Chimie Analytique – Phytochimie L'université d'Orléans.
- Toda, S. (2011). Polyphenol content and antioxidant effects in herb teas. *Chin Med*, 2, 29-31.
- Trabsa, H., Baghiani, A., Boussoualim, N., Krache, I., Arrar, L. (2020). *In Vivo* and *In Vitro* antioxidant and anti-hemolytic effect of Algerian *Centaurea Calcitrapa L.* Extracts. *J Drug Deliv Ther*, 10, 202-207.
- Tremblay, MS., Colley, RC., Saunders, TJ., Healy, GN., Owen, N. (2010). Physiological and health implications of a sedentary lifestyle. *Appl Physiol Nutr Metab*, 35, 725–740.
- Tundis, R., Loizzo, M.R., & Menichini, F. (2010). Natural Products as α -Amylase and α -Glucosidase Inhibitors and their Hypoglycaemic Potential in the Treatment of Diabetes : An Update. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, 10(4), 315-331.

Références Bibliographiques

- Ukiya, M., Akihisa, T., Yasukawa, K., Tokuda, H., Toriumi, M., Koike, K., Takido, M. (2002). Anti-inflammatory and anti-tumor-promoting effects of cucurbitane glycosides from the roots of *Bryonia dioica*. *Journal Of Natural Products*, 65 (2), 179-183.
- Valko, M., Rhodes, C.J., Moncol, J., Izakovic, M., Mazur, M. (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions*, 160(1), 1-40.
- Vanielie, T.J., Muskhazli, M., Sulaiman, S., Kankara Rusea, G. (2019). Effect of drying methods and extraction solvents on phenolic antioxidants and antioxidant activity of *Scurrula Ferruginea* (Jack) Danser (*Loranthaceae*) leaf extracts. *Sains Malays*, 48, 1383–1393.
- Vatier, C., Fève, B. (2010). Place des produits de glycation avancés (ages) dans les complications du diabète : advanced glycation end products (ages) and diabetic complications. *Mmm*, 4 (6), 637-642
- Vazquez-Armenta, FJ., Bernal-Mercado, AT., Tapia-Rodriguez, MR., Gonzalez-Aguilar, GA., Lopez-Zavala, AA., Martinez-Tellez, MA., Hernandez-Onate, MA., Ayala-Zavala, JF. (2018). Quercetin reduces adhesion and inhibits biofilm development by *Listeria monocytogenes* by reducing the amount of extracellular proteins. *Food Control*, 90, 266-273.
- Vermerris, W., Nicholson, R. (2006). Isolation and identification of phenolic compounds. phenolic compound biochemistry. *Springer Netherlands*, Pp : 151-196.
- Vernhet, A., Licznar-Fajardo, P., & Jumas-Bilak, E. (2016). Antibiorésistance, quels rôles pour le pharmacien d'officine ? *Actualites Pharmaceutiques*, 55 (556), 37-40.
- Wan, YA. (2013). Identification and mode of action of antibacterial components from *Melastoma Malabathricum* Linn Leaves. *American Journal of Infectious Diseases*, 9, 46-58.
- Wanner, C., Marx, N. (2018). SGLT2 Inhibitors: the future for treatment of Type 2 Diabetes Mellitus And other chronic diseases. *Diabetologia*, 61, 2134–2139.
- Warnet, S. (2011). Lutter contre la résistance aux antimicrobiens. *La Revue de l'infirmière*, 170,4-93.

Références Bibliographiques

- Water and ethanol extracts from sumac (*Rhus Coriaria L.*). *Food Research International*, 44 : 2217-2221.
- Weidinger, A., Kozlov, A. V., (2015). Biological activities of reactive oxygen and nitrogen species: oxidative stress versus signal transduction. *Biomolecules*, 5, 472-484.
- Werber, J., Wang, YJ., Milligan, M., Li, X., Ji, JA. (2011). Analysis of 2,2'-Azobis (2-Amidinopropane) dihydrochloride degradation and hydrolysis in aqueous solutions. *Journal Of Pharmaceutical Sciences*, 100 (8), 3307–3315.
- Wijngaad, H., Brunton, N. (2010). The optimization of solid-liquid extraction of antioxidants from the apple pomace by response surface methodology. *J. Food Eng*, 96, 134-140.
- Xiao, J., Ni, Xi., Kai, G., & Chen, X. (2013). A review on structure-activity relationship of dietary polyphenols inhibiting α -amylase. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 53(5), 497-506.
- Xiaoping. Y., Jing, W., Huiyuan, Y., Feng, C. (2005). Free radical-scavenging capacity and inhibitory activity on rat erythrocyte hemolysis of feruloyl oligosaccharides from wheat bran insoluble dietary fiber. *Swiss Society of Food Science and Technology*, 877–883.
- Yakhlef, G., Laroui, S., Hambaba, L., Aberkane, M. C., & Ayachi, A. (2011). Evaluation de l'activité antimicrobienne de *Thymus vulgaris* et de *Laurus nobilis*, plantes utilisées en médecine traditionnelle. *Phytotherapie*, 9(4), 209-218.
- Yeh, WJ., Hsia, SM., Lee, WH., Wu, CH. (2017). Polyphenols with antiglycation activity and mechanisms of action: A review of recent findings. *J Food Drug Anal*, 25, 84–92.
- Zhang, L, Hogan, S., Li, J., Sun, S., Canning, C., Zheng, S. J, Zhou, K. (2011). *Food Chem*, 126, 46
- Zhang, R., Kang, K. A., Kim, K. C., Na, S. Y., Chang, W., Kim, G. Y., Kim, H. S., & Hyun, J. W. (2013). Oxidative stress causes epigenetic alteration of CDX1 expression in colorectal cancer cells. *Gene*, 524(2), 214-219.

Références Bibliographiques

Zhang, Z., Huang, Q., Zhao, D., Lian, F., Li, X., & Qi, W. (2023). The impact of oxidative stress-induced mitochondrial dysfunction on diabetic microvascular complications. *Frontiers in Endocrinology*, 14, 1112363.

