

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

Université Abou Abou Bekr Belkaïd –Tlemcen-

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, des Sciences de la Terre Et de l'Univers

Département de Biologie

Laboratoire Antibiotiques Antifongiques : physico-chimie, synthèse et activité Biologique



MÉMOIRE

Présenté par :

M^{elle} Khelifi Soumia

En vue de l'obtention du

Diplôme de MASTER

En : Sciences Biologiques

Option : Biochimie appliquée

Thème

Screening phytochimique et évaluation *in vitro* de l'activité antioxydante et antidiabétique des extraits des feuilles de *Chamaerops humilis* L

Soutenu le 10 / 07 /2024, devant le jury composé de :

Président	Pr. AZZI Rachid	Professeur	Université de Tlemcen
Encadrant	Pr. BENARIBA. Nabila	Professeur	Université de Tlemcen
Examinatrice	Dr. MEDJDOUB Houria	Maître de conférence A	Université de Tlemcen
Examinatrice	Dr. ABBOU Fayza	Maître de conférence B	Université de Tlemcen

Année universitaire :2023/2024

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

الملخص

Chamaerops humilis هو نبات طبي ينتمي إلى عائلة *Arecaceae*. يعرف باسم النخيل القزم أو نخيل الدوم, وهو منتشر في منطقة غرب و وسط البحر الأبيض المتوسط. يستخدم على نطاق واسع في الطب التقليدي نظرا لفوائده العلاجية العديدة. الهدف من هذه الدراسة هو إجراء تحليل كيميائي نباتي وتقييم النشاط المضاد للأكسدة و المضاد لمرض السكري لمستخلصات أوراق *Chamaerops humilis* المحضرة عن طريق غلي لمدة ساعة واحدة في خليط ماء و ميثانول (v/v: 70/30) وأجزاء أسيتات الإيثيل و ن-بيوتانول و عن طريق التقع لمدة 24 ساعة في خليط ماء و ميثانول (v/v: 70/30).

أظهر التحليل الكيميائي النباتي النوعي أن المستخلصات الأربعة غنية بالبوليفينول و الفلافونويدات و السكريات المرجعة والصابونين والكينونات الحرة. بينما كشف فحص المركبات الفينولية عن وجود مستوى عالٍ من البوليفينول, الفلافونويد و العفص المكثف في جزء أسيتات الإيثيل بقيم 52, 467, 52 ميكرو غرام مكافئ كاتشين/ميلي غرام من المستخلص و 117,56 ميكرو غرام مكافئ حمض غاليك/ ميلي غرام من المستخلص و 114,22 ميكرو غرام مكافئ كاتشين / ميلي غرام من المستخلص على التوالي.

تم تقييم النشاط المضاد للأكسدة باستخدام طريقة محاصرة الجذور الحرة DPPH وطريقة FRAP, و التي أظهرت أن جزء أسيتات الإيثيل كشف عن أقوى نشاط مضاد للأكسدة مع قيمة التركيز المثبط النصفية 50 و التركيز الفعال 50 تبلغ حوالي 8,36 و 52,31 ميكرو غرام/مل. يظل هذا النشاط منخفضا مقارنة بالنشاط الذي سجله حمض الاسكوربيك بقيمة التركيز المثبط النصفية 50 و التركيز الفعال 50 حوالي 0,39 و 17,51 ميكرو غرام/مل على التوالي, و BHA بقيمة التركيز الفعال 50 تبلغ 24,19 ميكرو غرام/مل.

فيما يتعلق بالنشاط المضاد لمرض السكري الذي تم تقييمه في المختبر عن طريق إختبار تثبيط نشاط إنزيم α -amylase , وإختبار امتصاص الجلوكوز. أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها أن أجزاء أسيتات الإيثيل و ن-بيوتانول لها تأثير مثبط مهم بقيمة التركيز المثبط النصفية 50 تبلغ حوالي 8,62 و 12,58 ميكرو غرام/مل, وهي قريبة من تلك التي تم الحصول عليها بالنسبة ل acarbose عند 6,22 ميكرو غرام/مل. ومع ذلك، أظهرت جميع المستخلصات تأثيرًا ضعيفًا على تثبيط جلوكوز، على عكس حمض الغاليك الذي أظهر قدرة تثبيط جلوكوز مرتفعة للغاية.

الكلمات المفتاحية : *Chamaerops humilis*, FRAP, DPPH, المركبات الفينولية, α -amylase , قدرة تثبيط الجلوكوز.

Résumé

Chamaerops humilis est une plante médicinale appartenant à la famille des Arecaceae, connue sous le nom du palmier nain ou palmier doum. Elle est largement répandue dans la région méditerranéenne occidentale et centrale, et très utilisée en médecine traditionnelle pour ses nombreuses vertus thérapeutiques. L'objectif de cette étude est basé sur l'évaluation *in vitro* de l'activité antioxydante et antidiabétique des extraits des feuilles de *Chamaerops humilis* préparés par décoction dans le mélange eau-méthanol (v/v : 30/70) et ces fraction acétate d'éthyle et n-butanol, ainsi que l'extrait eau-méthanol (v/v : 30/70) préparé par macération.

Le screening phytochimique a montré la richesse des quatre extraits en polyphénols, flavonoïdes, composés réducteurs, saponines, quinones libres. Tandis que le dosage des composés phénoliques a révélé un taux élevé en flavonoïdes, en polyphénols et en tanins condensés dans la fraction acétate d'éthyle avec des valeurs de l'ordre de 467,52 $\mu\text{g EC/mg E}$, 117,56 $\mu\text{g EAG/mg E}$ et 114,22 $\mu\text{g EC/mg E}$, respectivement.

L'activité antioxydante a été évaluée par la méthode de piégeage du radical libre DPPH et la méthode de FRAP, dont la fraction acétate d'éthyle a assuré l'activité antioxydante la plus puissante par rapport aux autres extraits avec les valeurs de IC_{50} et de EC_{50} suivantes, 8,36 et 52,31 $\mu\text{g/mL}$, respectivement. Cette activité reste faible par rapport à l'effet de l'acide ascorbique qui a enregistré une valeur IC_{50} et EC_{50} de 0,39 et 17,51 $\mu\text{g/mL}$ respectivement, le BHA arrive à une EC_{50} de 24,19 $\mu\text{g/mL}$.

Concernant l'activité antidiabétique évaluée *in vitro* par le test d'inhibition de l'activité de l' α -amylase et le test d'adsorption au glucose. Les résultats obtenus ont montré que les fraction acétate d'éthyle et n-butanol présentent un effet inhibiteur de l' α -amylase très intéressant avec des valeurs de IC_{50} très importantes 8,62 et 12,48 $\mu\text{g/mL}$, qui sont proches de celle obtenue pour l'acarbose 6,22 $\mu\text{g/mL}$. Alors que, l'ensemble des extraits ont montré un faible effet sur l'adsorption au glucose, contrairement à l'acide gallique qui a présenté un effet adsorbant très élevé.

Mots-clés : *Chamaerops humilis L*, composés phénoliques, DPPH, FRAP, α -amylase, capacité d'adsorption au glucose.

Abstract

Chamaerops humilis is a medicinal plant belonging to the Arecaceae family. This species, known as dwarf palm or doum palm, is widely distributed in the western and central Mediterranean region. It is widely used in traditional medicine for its many therapeutic properties. The aim of this study was to carry out a phytochemical analysis and evaluate the antioxidant and antidiabetic activity of extracts of *Chamaerops humilis* Leaves prepared by decoction for 1 h in a water-methanol mixture (v/v:30/70) and by maceration for 24 h in a water-methanol mixture (v/v:30/70).

Phytochemical screening showed that the four extracts were rich in polyphenols, flavonoids, reducing compounds, saponins and free quinons. While the determination of phenolic compounds revealed a high levels of flavonoids, polyphenols and condensed tannins in the ethyl acetate extract, with values of 467.52 $\mu\text{g EC/mg E}$, 117.56 $\mu\text{g EAG/mg E}$ and 114.22 $\mu\text{g EC/mg E}$, respectively.

Antioxidant activity was assessed by the DPPH free radical scavenging method and the FRAP method, with the ethyl acetate fraction providing the most potent antioxidant activity compared to the other extracts with the following IC_{50} and EC_{50} values, 8.36 and 52.31 $\mu\text{g/mL}$, respectively. This activity remains low compared with the effect of ascorbic acid, which recorded an IC_{50} and EC_{50} value of 0.39 and 17.51 $\mu\text{g/mL}$ respectively, while BHA achieved an EC_{50} of 24.19 $\mu\text{g/mL}$.

Concerning the anti-diabetic activity assessed in vitro by the α -amylase activity inhibition test and the glucose adsorption test. The results obtained showed that the ethyl acetate and n-butanol fractions have a very interesting α -amylase inhibitory effect, with very high IC_{50} values of 8.62 and 12.48 $\mu\text{g/mL}$, which are close to that obtained for acarbose at 6.22 $\mu\text{g/mL}$. Whereas, all the extracts showed a weak effect on glucose adsorption, unlike gallic acid which showed a very high adsorbing effect.

Keywords: *Chamaerops humilis* L, phenolic compound, DPPH, FRAP, α -amylase, glucose adsorption capacity.

Remerciements

Avant tout propos, je remercie **Dieu**, le tout puissant de m'avoir donné la force, la capacité, le courage, la volonté, la patience et la santé pour terminer ce chemin et pour réaliser ce modeste travail.

Tout d'abord, je voudrais adresser tous mes profonds remerciements et mes reconnaissances à mon honorable encadrant **Pr. Benariba**, Professeur au département de Biologie, Faculté des Sciences de la Nature et de la vie, des Sciences de la Terre et de l'Univers, Université Abou Bekr Belkaïd-Tlemcen, pour avoir accepté de m'encadrer et diriger ce modeste travail, pour sa gentillesse, sa patience, sa disponibilité et sa confiance. Ses précieux conseils, son expertise et son soutien ont été d'une aide inestimable et ont grandement contribué à l'aboutissement de ce mémoire.

J'adresse mes remerciements au **Pr. Azzi Rachid**, Professeur au département de Biologie, Faculté des Sciences de la Nature et de la vie, des Sciences de la Terre et de l'Univers, Université Abou Bekr Belkaïd-Tlemcen, d'avoir accepté de présider le jury de ce mémoire.

J'exprime ma vive reconnaissance au **Dr. Medjdoub Houria**, Maître de conférences class A au département de Biologie, Faculté des Sciences de la Nature et de la vie, des Sciences de la Terre et de l'Univers, Université Abou Bekr Belkaïd-Tlemcen, d'avoir acceptée d'examiner ce mémoire.

J'exprime ma vive reconnaissance aussi au **Dr. Abbou Fayza**, Maître de conférences class B au département de Biologie, Faculté des Sciences de la Nature et de la vie, des Sciences de la Terre et de l'Univers, Université Abou Bekr Belkaïd-Tlemcen, d'avoir acceptée d'examiner ce mémoire.

Mes remerciements **Pr. Hassani, F.** Professeur et chef département, au département d'écologie, Faculté des Sciences de la Nature et de la vie, des Sciences de la Terre et de l'Univers, Université Abou Bekr Belkaïd-Tlemcen, pour ses orientations et identification du *Chamaerops*.

Mes sincères remerciements s'adressent au **M^{me}. Adjdir Sarra**, Maître de conférences class B, au département de Biologie, Faculté des Sciences de la Nature et de la vie, des Sciences de la Terre et de l'Univers, Université Abou Bekr Belkaïd-Tlemcen, et au **M^{me} Brixî Gormat R et M^{lle} Fekhikher Z**, doctorantes en biochimie pour leur gentillesse, leurs précieux conseils, leur réponse, leur aide et leur disponibilité au cours de la réalisation de la partie expérimentale du travail.

Je tiens à remercier **M^r HABI Salim**, ingénieur du laboratoire n° 5 au département de Biologie, pour leur disponibilité, leur aide, leurs précieux conseils et leurs qualités humaines et professionnelles. Je remercie également **M^{lle} Zazoua L.** et **M^r Ferouani M.** ingénieurs de laboratoire de pédagogie de biochimie au département de Biologie, pour leur disponibilité et leur aide au cours de la réalisation de ce travail.

Enfin, je tiens à remercier toutes les personnes qui, de pris ou de lois, ont contribué à la réalisation de ce mémoire.

Dédicace

Avec l'aide de Dieu, je dédie ce modeste travail à :

À ma chère mère et mon cher Papa, source de tendresse et d'amour qui ont restés à mes côtés et avoir patients avec moi dans mes moments difficiles et qui m'ont éclairé mon chemin et qui m'ont encouragé et soutenue toute au long de mes études. Je vous aime de tout mon cœur, que Dieu les gardes et les entoure de sa bénédiction.

À mes chers frères Abdelbasset et Abd hai.

À ma chère cousine Manar El Islam.

A mon cher oncle cheikh et sa femme pour leur encouragement, leur soutien, leur conseil, et leur amour.

À mes chers grands-parents maternels et paternels, que Dieu les garde.

À mon chère professeur Benariba Nabila

À toute ma famille.

À mes chères amies. Ainsi que toutes mes collègues de la promo master 2 Biochimie appliquée 2023-2024.

Soumia

Liste des figures

Figure n° 1: Structure chimique de la vitamine C.....	7
Figure n° 2: Structure chimique de la vitamine E.....	7
Figure n° 3: Structure chimique du β -carotène.....	7
Figure n° 4: Structure de base des flavonoïdes	8
Figure n° 5: Structure tridimensionnelle de l' α -amylase	13
Figure n° 6: Différentes parties du <i>Chamaerops humilis</i> L.	17
Figure n° 7: Répartition géographique du <i>Chamaerops humilis</i>	18
Figure n° 8: Feuilles frais (a) et séchées (b) de <i>Chamaerops humilis</i> L.	23
Figure n° 9: Schéma récapitulatif de la préparation des extraits à partir des feuilles de <i>Chamaerops humilis</i> L.	25
Figure n° 10: Courbe étalon de l'acide gallique.	43
Figure n° 11: Courbe étalon de la catéchine pour dosage des flavonoïdes (A) et des tanins condensés (B).	43
Figure n° 12: Activité antioxydante de l'acide ascorbique sur le piégeage du DPPH.....	45
Figure n° 13: Activité antioxydante des extraits de <i>Chamaerops humilis</i> sur le piégeage du DPPH.....	47
Figure n° 15: Pouvoir réducteur du fer de l'acide ascorbique.	48
Figure n° 16: Pouvoir réducteur du fer du BHA (méthode de FRAP).....	49
Figure n° 17: Pouvoir réducteur du Fer par les extraits de <i>Chamaerops humilis</i>	50
Figure n° 19: Effet de l'acarbose sur l'inhibition de l'activité de l' α -amylase exprimée en pourcentage.	52
Figure n° 20: Effet des extraits <i>Chamaerops humilis</i> sur l'activité de l' α -amylase.	54
Figure n° 22: La capacité d'adsorption au glucose des extraits de <i>Chamaerops humilis</i> après 1h d'incubation.....	56
Figure n° 23: La capacité d'adsorption au glucose des extraits de <i>Chamaerops humilis</i> après 3h incubation.	56

Liste des Tableaux

Tableau n°1: Les plantes médicinales inhibiteur de l'enzyme α -amylase.	14
Tableau n°2: Classification botanique du <i>Chamaerops humilis</i> L.....	16
Tableau n°3: Quelque composés chimiques des différentes parties du <i>Chamaerops humilis</i>	19
Tableau n°4: Protocole expérimental du dosage de polyphénols totaux dans les extraits de <i>Chamaerops humilis</i>	28
Tableau n°5: Protocole expérimentale du dosage des flavonoïdes dans les extraits de <i>Chamaerops humilis</i>	29
Tableau n°6: Protocole expérimental du dosage des tanins condensés dans les extraits <i>Chamaerops humilis</i>	31
Tableau n°7: Mode opératoire du test de piégeage du radical du DPPH par les extraits de <i>Chamaerops humilis</i>	32
Tableau n°8: Mode opératoire pour évaluer le pouvoir réducteur du fer par les extraits de <i>Chamaerops humilis</i>	34
Tableau n°9: Mode opératoire du test in vitro de l'activité de l' α -amylase en présence des extraits de <i>Chamaerops humilis</i>	36
Tableau n°10: Mode opératoire du test in vitro de la capacité d'adsorption des extraits <i>Chamaerops humilis</i> au glucose.....	38
Tableau n° 11: Les caractéristiques et les rendements des extraits de <i>Chamaerops humilis</i>	41
Tableau n° 12: Screening phytochimique des différents extraits de <i>Chamaerops humilis</i> L.....	42
Tableau n° 13: Taux de polyphénols totaux, de flavonoïdes et de tanins dans les extraits de <i>Chamaerops humilis</i>	44
Tableau n° 14: Effet antioxydant de l'acide ascorbique sur la réduction du DPPH exprimé en...45	45
Tableau n° 15: Effet antioxydant des extraits des feuilles <i>Chamaerops humilis</i> sur piégeage du DPPH exprimé en pourcentage.....	46
Tableau n° 16: Effet de l'acide ascorbique sur la réduction du fer (méthode du FRAP).....	48
Tableau n° 17: Effet du BHA sur la réduction du fer (méthode du FRAP).....	49
Tableau n° 18: Absorbance de l'effet des extraits <i>Chamaerops humilis</i> sur la réduction du fer (méthode de FRAP).....	50
Tableau n°19: Effet de l'acarbose sur le pourcentage d'inhibition de l'activité de l' α -amylase...51	51
Tableau n°20: Effet des extraits <i>Chamaerops humilis</i> sur l'activité de α -amylase exprimé en pourcentage d'inhibition.....	53
Tableau n°21: La capacité d'adsorption au glucose des extraits de <i>Chamaerops humilis</i>	55

Liste des abréviations

% : Pourcentage

°C : Degrés Celsius

¹O₂: Oxygène singulet

4-AF : 4-aminophénazone

ADA : American Diabetes Association

ADN : Acide désoxyribonucléique

AlCl₃ : Chlorure d'aluminium

BHA: Butyl Hydroxy Anisole

C. humilis: *Chamaerops humilis*

C: Concentration molaire

CAG : Capacité d'adsorption au glucose

CAT: Catalase

DNSA: Acide 3,5-Dinitrosalicylique

DO : Densité Optique

DPPH : 2,2-diphényle-1-picrylhydrazyl

EC₅₀ : Concentration efficace médiane

ERN : Espèces réactives de l'azote

ERO : Espèces réactives de l'oxygène

Fe²⁺ : Fer Ferreux

Fe³⁺ : Fer Ferrique

FeCl₃: Chlorure de fer

FRAP: Ferric Reducing Antioxydant Power

g: Gramme

GOD: Glucose-oxydase

GPx: Glutathion peroxydase

h: Heure

H₂O₂: Peroxyde d'hydrogène

H₃PMo₁₂O₄₀: Acide phosphomolybdique

H₃PW₁₂O₄₀: Acide phosphotungstène

HCl: Acide Chlorhydrique

IC₅₀ : La Concentration Inhibant 50% de l'activité enzymatique

K₃Fe (CN)₆: Ferricyanure de potassium

m : Masse

M : Masse molaire

MDA: Malondialdéhyde

mg : Milligramme

mg/dl : Milligramme par decilitre.

mg/ml : Milligramme par millilitre.

min: Minute

mL: Millilitre

mMol : Milli molaire

mMol/g : Millimole par gramme

Mo₈O₂₃: Molybdène

N : Normalité

Na₂CO₃: Carbonate de sodium

NaNO₂ : Nitrite de sodium

NaOH : Hydroxyde de sodium.

nm : Nanomètre

O₂^{•-}: Radical superoxyde

OH[•]: Radical hydroxyle

ONOO[•]: Peroxynitrite

ORAC : Oxygen Radical Absorbance Capacity

PBS: Tampon phosphate salé (Phosphat buffer salin)

POD : Peroxydase

R% : Rendement En %

ROO•: Peroxydes

T° : Température

TCA : Acide Trichloracétique

UI : Unité Internationale.

µg : Microgramme

µg EAG/mg E : Microgramme équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait

µg EC/mg E : Microgramme équivalent de catéchine par milligramme d'extrait

µl : Microlitre

V : Volume

v/v : Rapport volume par volume

W₈O₂₃ : Oxyde De Tungstène

Sommaire

Introduction	1
--------------------	---

Chapitre I: Stress oxydatif

1. Définition	3
2. Les radicaux libres	3
2.1 Définition	3
2.2 Les principales espèces réactives	4
2.3 Source d'espèces réactives de l'oxygène.....	4
2.4 Cibles biologiques des ERO	4
3. Les antioxydants	5
3.1 Classification des antioxydants	6
3.1.1 Les antioxydants enzymatiques	6
3.1.2 Les antioxydants non enzymatiques	6

Chapitre II : Diabète et α -amylase

1. Classification du diabète	10
1.1 Diabète type 1	10
1.2 Diabète type 2	10
1.3 Diabète gestationnelle.....	11
1.4 Diabète secondaire.....	11
2. Traitement de diabète.....	11
3. α -amylase	12
3.1 <i>Origine</i>	12
3.2 <i>Structure</i>	13
3.3 Plantes médicinales inhibitrice de l' α -amylase	13

Chapitre III : *Chamaerops humilis* L

1. Nomenclature	16
2. Classification botanique.....	16
3. Description botanique	17
4. Répartition géographique.....	18
5. Composition chimique	18
6. Utilisation traditionnelle de <i>Chamaerops humilis</i>	20

7. Propriétés biologiques du <i>Chamaerops humilis</i>	20
--	----

Matériels et méthodes

1. Partie phytochimique	23
1.1 Matériel végétale	23
1.2 Extractions	24
1.2.1 Préparation de l'extrait eau-méthanol par macération.....	24
1.2.2 Préparation de l'extrait eau-méthanol par décoction	24
1.2.3 Préparation des fractions acétate d'éthyle et n-butanol	24
1.3 Le rendement des extraits	26
1.4 Tests phytochimiques	26
1.4.1 Les composés phénoliques.....	26
1.4.2 Les composés azotés (les alcaloïdes).....	26
1.4.3 Les composés terpéniques.....	27
1.4.4 Les composés réducteurs	27
1.5 Dosage des composés phénoliques dans les extraits de <i>Chamaerops humilis</i>	27
1.5.1 Dosage des polyphénols totaux.....	27
1.5.2 Dosage des flavonoïdes.....	29
1.5.3 Dosage des tanins condensés	30
2. Evaluation de l'activité antioxydante.....	31
2.1 Test de piégeage du radical libre DPPH (2,2 diphenyl-1-picryl hydrazyl)	32
2.2 Test du pouvoir réducteur du Fer (FRAP : <i>Ferric reducing antioxidant power</i>).....	33
3. Evaluation de l'activité antidiabétique des extraits <i>Chamaerops humilis</i>	34
3.1 Evaluation de l'effet sur l'activité de l' α -amylase.....	35
3.2 Evaluation <i>in vitro</i> la capacité d'adsorption des extraits au glucose.....	37
4. Analyse statistique	39

Résultats et interprétation

1. Partie phytochimique	41
1.1 Le rendement et les caractéristiques des extraits <i>C. humilis</i>	41
1.2 Tests phytochimiques	41
1.3 Dosage des composés phénoliques.....	42
2. Effet antioxydant des extraites des feuilles de <i>Chamaerops humilis</i>	44
2.1 Effet des extraits <i>Chamaerops humilis</i> sur le piégeage du radical libre (DPPH).....	44

2.2	Effet des extraits de <i>C. humilis</i> sur le pouvoir réducteur du Fer (FRAP).....	48
3.	Activité antidiabétique des extraits des feuilles <i>Chamaerops humilis</i>	51
3.1	Effet des extraits de <i>Chamaerops humilis</i> sur l'activité de l' α -amylase	51
3.2	Effet d'adsorption au glucose des extraits des feuilles de <i>Chamaerops humilis</i>	54
Discussion	59
Conclusion	64
Références bibliographiques	66

Introduction

Malgré l'évolution de la chimie de synthèse, l'usage des plantes médicinales a maintenu une place importante en raison de leur efficacité dans différentes approches thérapeutiques. Elles sont riches en principe actif qui possèdent des propriétés thérapeutiques comme les molécules anticancéreuse, antibactérienne, antivirales, antioxydantes, antidiabétiques... (**Aires *et al.*, 2013 ; Lazli *et al.*, 2019**).

L'évaluation des plantes médicinales pour leurs activités biologiques a considérablement augmenté en Algérie, ce pays est caractérisé par sa flore végétale la plus diversifiées du bassin méditerranéen. Elle regroupe environ 3744 espèces végétales, dont 125 espèces sont largement employées en médecine traditionnelle sans aucune valorisation scientifique en phytochimie et en pharmacologie (**Abbou, 2022**). Parmi ces espèces, *Chamaerops humilis* est une plante de la famille Arecaceae, répandue dans la région méditerranéenne occidentale et centrale. Cette plante est utilisée en médecine traditionnelle pour le traitement de diverses maladies tels que le diabète, les troubles gastro-intestinales, la gastrite, la constipation, hépatite, rhumatisme, les maladies cardiovasculaires, les maladies neurologiques et l'anémie (**Medjati *et al.*, 2019 ; kouchlaa, 2023**).

Dans cette étude, nous nous sommes intéressées à la recherche des propriétés antioxydante et antidiabétique de *Chamaerops humilis* de la région de Tlemcen. L'approche expérimentale de ce travail consiste d'une part, à un screening phytochimique et un dosage des composés phénoliques dans les extraits des feuilles de cette plante. D'autre part, elle consiste à l'évaluation *in vitro* l'activité antioxydante des extraits préparés en utilisant le test du piégeage du radicaux libre DPPH, et le test de réduction du fer (FRAP), ainsi que l'évaluation de l'activité antidiabétique par le test de l'activité de l' α -amylase, et par le test de la capacité des extraits à adsorber le glucose.

Chapitre I:

Stress oxydatif

1. Définition

Le stress oxydatif est traduit par l'incapacité de l'organisme vivant à se débarrasser de la perturbation de l'équilibre entre la production des radicaux libres et le système antioxydant (**Batteridge, 2000 ; Bensakhria, 2018**). Ce déséquilibre est produit lorsque la production des espèces réactif de l'oxygène augmente, ou lorsque la présence des antioxydants, ou leurs cofacteurs diminuent dans l'organisme (**Jean Marie Remeind, 2002**).

Le stress oxydatif est impliqué dans l'apparition de plusieurs pathologies et dans leur développement, notamment les maladies cardio-vasculaires, cancer, diabète sucré, vieillissement accéléré, œdème pulmonaire, les rhumatismes, syndrome de détresse respiratoire et les maladies neurodégénératives tels que l'Alzheimer (**Favier, 2003**). Les pathologies associées au stress oxydatif se manifestent souvent avec l'âge en raison de l'augmentation de la production des radicaux mitochondriaux et de la carence des défenses antioxydants (**Favier, 2003**).

2. Les radicaux libres

2.1 Définition

Les radicaux libres sont des molécules ou des atomes instables et très réactives grâce à la présence d'un ou plusieurs électrons non appariés dans leur couche externe. La formation de ces composés chimique peut se produit par la perte ou le gain d'électron à partir d'un composé non radicalaire. De plus, ils peuvent aussi se manifester au cours de la rupture symétrique d'une liaison covalente après laquelle chaque atome conserve un électron et devient un radical libre. Ils sont caractérisés par un effet destructeur considérable, car ils sont très actifs dans l'organisme et par une durée de vie extrêmement courte. Ces radicaux libres produites ont la capacité de provoquer des dommages aux tissus des systèmes organiques tels que les reins, le cœur, les poumons, le cerveau et le foie, qui jouent un rôle essentiel pour la santé (**Tessier F et Marconnet P, 1994 ; Taysi et al., 2019**).

2.2 Les principales espèces réactives

Les espèces réactives de l'oxygène (ERO) et les espèces réactives de l'azote (ERN) représentent les deux principales classes chimiques désignée sous le nom du RONS qui sont les espèces réactives de l'oxygène et de l'azote (**Weidinger et Kozlov, 2015**).

Les espèces réactives oxygénés (ROS) sont des espèces formées directement à partir de l'oxygène. Ils peuvent être des radicaux libres tels que l'anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$), le radical hydroxyle (HO^{\bullet}), le peroxyde ROO^{\bullet} ou des molécules comme le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) ou l'oxygène singulet (1O_2) (**Chaouach, 2014 ; Saidi, 2018**).

Les espèces réactives azotés (ERN), il existe deux espèces réactives très connues issues de l'azote qui sont le monoxyde d'azote (NO^{\bullet}) et le peroxyde d'azote ($ONOO^{\bullet}$). Le monoxyde d'azote est synthétisé par le nitrique oxyde synthase (NOS) lors du métabolisme de l'arginine dans les conditions physiologiques et physiopathologiques. Il se distingue par une demi-vie de quelques secondes et par une réactivité limitée. Le peroxyde d'azote est formé à partir de la combinaison de monoxyde d'azote avec l' O_2 et se caractérise par une demi-vie plus prolongée. Il peut entraîner des lésions cellulaires des lipides, qui constituent les membranes mitochondriales, il favorise la perméabilité des vaisseaux sanguins et la formation d'œdème aussi, et perturbe les canaux de sodium (**Saidi, 2018**).

2.3 Source d'espèces réactives de l'oxygène (ERO)

Il existe deux sources principales pour la production des espèces réactives de l'oxygène :

La source endogène regroupe les ERO produits par les mitochondries, les cellules phagocytaires, polynucléaires et les macrophages. La biosynthèse des prostaglandines et des leucotriènes peut produire des ROS (**Chaouach, 2014**).

La source exogène représente plusieurs facteurs environnementaux qui interviennent dans l'augmentation de la production des radicaux libres tels que l'exposition au fumé de la cigarette, ou aux rayons UV, les allergènes, les médicaments, la pollution, les pesticides ou insecticides, les toxines et les métaux lourds comme le fer, le cuivre, le cadmium (**Sharifi-Rad et al., 2020**).

2.4 Cibles biologiques des ERO

Les espèces réactives de l'oxygène sont générées par l'organisme de façon continue et sont considérées comme des produits toxiques du métabolisme, ils ont la capacité d'oxyder les

molécules biologiques qui possèdent des doubles liaisons dans leur structure tels que les protéines, les lipides et les acides nucléiques (**Goudable et favier, 1997 ; Beaudeau *et al.*, 2006 ; Durand *et al.*, 2013**).

L'oxydation des protéines par les ERO entraîne l'introduction d'un groupe carbonyle dans les protéines. Les réactions d'oxydations des protéines peuvent être soit par la rupture de la liaison peptidique en modifiant la chaîne peptidique, soit par la modification du peptide par l'addition des produits issus de la peroxydation lipidique comme le 4-hydroxynonène. Ces réactions d'oxydation entraînent une perte de la fonction catalytique ou structurelle des protéines. Parmi les acides aminés plus affectés par les ERO sont les acides aminés basiques (Arginine, Histidine, Lysine), soufrés (Méthionine, Cystéine) et aromatique (Phénylalanine, Tryptophane et Tyrosine) (**Servais, 2004 ; Durand *et al.*, 2013**).

Les acides gras polyinsaturés des membranes cellulaires sont les cibles privilégiées des espèces réactives de l'oxygène. La peroxydation lipidique implique la formation des éléments radicalaires au niveau de diverses cibles notamment les protéines, et l'ADN, ce qui entraîne la formation des métabolites tels que le malondialdéhyde (MDA) ou le 4-hydroxynonène (4-HNE) qui peuvent perturber la fluidité et le fonctionnement membranaires. De plus, ils peuvent interagir avec ADN et produire des adduits mutagènes (**Farhat, 2015**).

Les bases azotées purine et/ou pyrimidine de l'ADN nucléaire et/ou mitochondriale représentent les principales cibles d'oxydation par le radical hydroxyle. Par exemple, la guanine peut réagir avec le radical hydroxyle $\bullet\text{OH}$ pour constituer la 8-hydroxy-2'-déoxyguanosine (8-OH-dG) qui, au lieu de s'associer avec la cytosine, s'associera avec l'adénine ce qui entraîne des mutations dans l'ADN et des altérations du message génétique qui sont impliqués dans le développement du cancer et le vieillissement (**Haleng *et al.*, 2007 ; Farhat, 2015**).

3. Les antioxydants

Les antioxydants sont des substances qui ont la capacité de réagir avec d'autres substances oxydables à des concentrations relativement faibles ce qui permet de retarder ou d'empêcher l'oxydation de ces substrats. Ils jouent un rôle essentiel dans la neutralisation des radicaux libres, la protection des cellules contre leurs effets toxiques et la prévention des maladies (**Pham-Huy *et al.*, 2008 ; Hamma *et al.*, 2015**).

3.1 Classification des antioxydants

Les antioxydants sont classés en deux grandes catégories principales :

3.1.1 Les antioxydants enzymatiques

Les antioxydants enzymatiques sont considérés comme une première défense des cellules contre les agressions des radicaux libres tels que le superoxyde dismutase SOD, la glutathion peroxydase GPx et la catalase (**Sun-Migul *et al.*, 2009**).

Le superoxyde dismutase (SOD) est un métalloenzyme très efficace qui permet d'éliminer l'anion superoxyde $O_2^{\bullet-}$ par une réaction de dismutation et le transformer en peroxyde d'hydrogène H_2O_2 et l'oxygène O_2 (**Sun-Migul *et al.*, 2009**).



La glutathion peroxydase (GPx) est une scléroprotéine responsable d'une part de la réduction de peroxyde d'hydrogène en oxygène et d'autre part de la réduction des hydro-peroxydes lipidique en alcool (**Humma *et al.*, 2015**).

La catalase est une hémoprotéine tétramérique qui se trouve dans tous les organes notamment les érythrocytes et le foie, elle est localisée principalement dans les peroxysomes. Elle catalyse la réaction de réduction de peroxyde d'hydrogène en eau (**Sun-Migul *et al.*, 2009**).



3.1.2 Les antioxydants non enzymatiques

Sont apportés par alimentations, il s'agit des vitamines (la vitamine C, la vitamine E et les caroténoïdes), des oligoéléments (sélénium et manganèse) et des polyphénols (**Pham-Huy *et al.*, 2008**).

La vitamine C ou l'acide ascorbique (**Figure n°1**) est un antioxydant hydrosoluble, et un piègeur efficace pour les espèces réactives de l'oxygène tels que l'anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$) ou le radical hydroxyle (HO^{\bullet}) (**Haleng *et al.*, 2007 ; Sun-Migul *et al.*, 2009**).

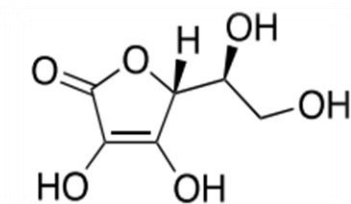


Figure n° 1:Structure chimique de la vitamine C (Dismier, 2016).

La vitamine E, également appelée α -tocophérol (**Figure° 2**), est un antioxydant liposoluble très efficace capable de capter les radicaux peroxydes lipidiques RO_2 qui sont responsables de la propagation des chaînes de peroxydation. De plus, elle piège les radicaux superoxydes, les radicaux hydroxyles et l'oxygène singulet (Gardèse-Albert *et al.*, 2003).

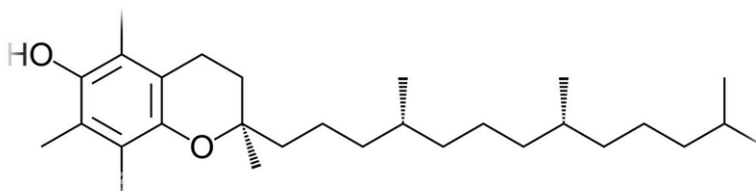


Figure n° 2:Structure chimique de la vitamine E (Sharifi-Rad *et al.*,2020).

Les caroténoïdes (**Figure n° 3**) sont des pigments naturels synthétisés par les plantes, les bactéries, les algues et les champignons. Elles sont responsables de la couleur rouge, orange et jaune de différents organes de la plante. Parmi les principaux caroténoïdes, les β -carotène possèdent une activité antioxydante efficace et jouent un rôle crucial dans l'élimination de l'oxygène singulet et du radical peroxyde (Stahl *et Sies*,2003).

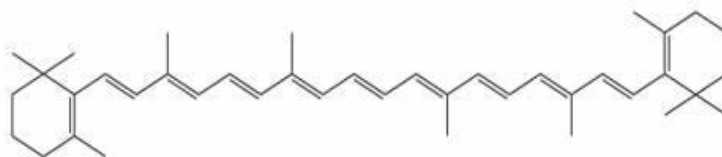


Figure n° 3:Structure chimique du β -carotène (Dismier,2016).

Les flavonoïdes (**Figure n° 4**) appartiennent à la classe des composés phénoliques présente dans la plupart des plantes. Ils se caractérisent par leur activités antioxydants puissante grâce à la présence d'un plusieurs groupes hydroxyles. Ils agissent en tant que piègeurs de radicaux

superoxydes, extincteurs d'oxygène singulet, des réducteurs et donneurs d'hydrogène (Pham-Huy *et al.*,2008 ; Malka *et al.*, 2020).

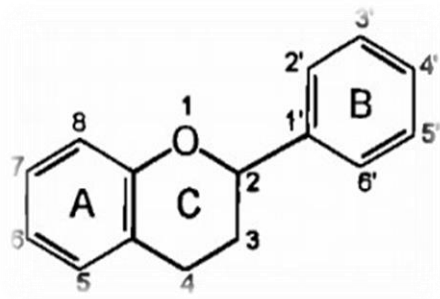


Figure n° 4: Structure de base des flavonoïdes (Zahaf et Bahloul.,2019).

Chapitre II :

Diabète et α -amylase

De nombreuses pathologies sont associées au stress oxydatif. La production excessive des radicaux libres oxygénés, tels que le superoxyde, le radical hydroxyle et le peroxyde d'hydrogène peuvent entraîner des modifications métaboliques et des mutations d'ADN ce qui favorise l'installation de certaines maladies chroniques et le développement de leurs complications, comme les cancers, les maladies neurodégénératives, auto-immune, inflammatoires, et les maladies métaboliques comme le diabète sucré, l'hypertension, le syndrome métabolique (**khebièch *et al.*, 2011 ; Pisoschi *et al.*, 2021**).

Le diabète sucré est un trouble métabolique caractérisé par une hyperglycémie chronique, une polyurie, perte de poids ou obésité, polydipsie, et polyphagie, qui sont les conséquences d'une altération du métabolisme glucidique, lipidique et protéique. Cette affection est due à une insuffisance soit dans la sécrétion de l'insuline soit dans l'action de l'insuline, ou la combinaison des deux anomalies (**Neild *et al.*, 2009 ; Azzi, 2014**).

1. Classification du diabète

Selon **Baynes, (2015)** le diabète sucré regroupe principalement le diabète type 1, et le diabète type 2, et autres types comme le diabète gestationnel et le diabète spécifique (diabète monogénique).

1.1 Diabète type 1

Le diabète type 1 ou diabète insulino-dépendant est une affection chronique causé par une destruction des cellules β -pancréatique par le système immunitaire (destruction auto-immune). L'absence de mécanisme de réparation des cellules β des îlots de Langerhans entraîne une perte totale de l'insuline ce qui oblige les patients diabétiques de prendre l'insuline exogène pour maintenir le taux de glucose dans les normes (**Atkinson *et al.*, 2014 ; Pathak, 2019**). Environ 5 à 10 % des diabétiques dans le monde sont atteints de diabète de type 1 et la plupart d'entre eux sont les jeunes adultes et les enfants, d'où le nom de diabète juvénile. (**Daneman, 2006**).

1.2 Diabète type 2

Le diabète de type 2 est appelé aussi le diabète de l'adulte ou le diabète non insulino-dépendant. Cette affection est caractérisée par une carence de la production de l'insuline par les cellules β -pancréatiques (insulinopénie relative) avec une insulino-résistance dominante. Il existe des

facteurs environnementaux et génétiques qui contribuent au développement du diabète de type 2 comme l'obésité, le vieillissement, l'âge, stress, certains médicaments, et la prédisposition génétique (**Belkacem, 2009**).

1.3 Diabète gestationnelle

Le diabète gestationnel est une classification opérationnelle plutôt qu'une condition physiopathologique est utilisée pour identifier les femmes ayant de diabète sucré pendant la grossesse (**Baynes, 2015**). Cette maladie est déclenchée par une intolérance au glucose qui s'apparaît, ou est détectée pour la première fois durant la grossesse généralement dans le troisième trimestre, et qui parfois disparaît après accouchement (**Punthakee et al., 2018**). Environ 7% des femmes enceintes dans une population américaine sont affectées par le diabète gestationnel (**Monnier, 2014**).

1.4 Diabète secondaire

Les autres types spécifiques du diabète également connue sous le nom de diabète secondaire, caractérisé par les déficiences monogéniques qui affectent le fonctionnement des cellules β -pancréatique ce qui entraîné l'apparition de diabète Moody et les anomalies génétiques qui altèrent l'action de l'insuline. Aussi les affections pancréatiques exocrines comme la pancréatite, les endocrinopathies, hyperthyroïdie, et acromégalie induites par des médicaments ou des produits chimiques, les infections et les syndromes génétiques (syndrome de Down) favorisent l'installation du diabète secondaire (**Genuth et al., 2018**).

2. Traitement de diabète

L'hyperglycémie mal contrôlé provoque des complications aiguës et chroniques, dont la rétinopathie neuropathie périphérique, la néphropathie et la neuropathie autonome qui peuvent entraîner des symptômes gastro-intestinaux, génito-urinaires, et cardiovasculaires sont les plus dangereuses (**ADA, 2010**).

Pour cela le diabétique reçoit un traitement à vie, car il n'existe pas de remède définitif pour guérir la maladie, mais pour prévenir les complications, qu'elles soient aiguës ou chronique, et de maintenir la glycémie dans les valeurs normales. (**Coutant et Nicolino, 2019**). En fonction de l'état du patient et les complications développées, le traitement repose sur le régime alimentaire, l'insuline exogène, et/ou les antidiabétiques oraux (**Auberval, 2010**).

L'insulinothérapie est destinée aux personnes atteintes du diabète de type 1 ainsi qu'aux personnes atteintes du diabète de type 2 qui ont besoin de l'insuline (Auberval, 2010).

Les mesures hygiéno-diététiques exigent principalement un régime alimentaire riche en légumes, fruit associées à une activité physique régulière (Benariba, 2013).

Les antidiabétiques oraux sont utilisés pour traiter le diabète non insulino-dépendant, après les recommandations diététiques et l'exercice physique. Ils se divisent en trois catégories principales : les agents qui stimulent la sécrétion d'insuline tel que les sulfamides hypoglycémiantes et les glitinides, les agents qui augmentent la sensibilité à l'insuline comme la metformine et les thiazolidinediones. Il existe également un médicament qui inhibe l'hydrolyse des glucides dans l'intestin et limite leur absorption, c'est l'acarbose, une approche thérapeutique qui consiste à diminuer l'hyperglycémie postprandiale, par inhibition de l' α -amylase, une enzyme intestinale responsable de la digestion des glucides, et par la suite l'inhibition de leur absorption intestinale (Khacheba *et al.*, 2014).

3. α -amylase

α -amylase (α -(1, 4) glucane glycanohydrolase, EC.3.2.1.1), sont des endo-amylases capables de catalyser l'hydrolyse des liaisons glycosidiques α -(1, 4) présentes à l'intérieur de la chaîne d'amylose pour produire un maltotriose et un maltose, ou d'amylopectine pour produire le glucose, le maltose et la dextrine limite. Ils sont des métaloenzymes calciques dépendent totalement de la présence des ions calciques pour assurer leur fonctionnement. α -amylase sont utilisées dans divers domaines industriels tels que l'industrie du pain, du papier, du détergent et du textile, aussi dans la production de l'éthanol (kumari *et al.*, 2012 ; Tiwari *et al.*, 2015).

3.1 Origine

α -amylases sont largement répandus chez les animaux, les plantes et les archées. Aussi ils sont produits par une grande variété de microorganismes tels que les bactéries du genre *Bacillus* comme *Bacillus Amyloliquefaciens*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus stearothermophilus* ; et les champignons filamenteux du genre *Aspergilluse* tels que *Aspergillus oryzae* et *Aspergillus niger* (Tiwari *et al.*, 2015).

3.2 Structure

L' α -amylase est un enzyme constitué de 512 acides aminés regroupés dans une seule chaîne peptidique de poids moléculaires de 57,6 KDa. Elle est caractérisée par une structure tridimensionnelle à trois domaines (**figure n° 5**): le domaine A est le plus grand et il possède une structure en forme de tonneau (β/α)₈, et le domaine B est inséré entre le domaine A et le domaine C. Il est relié au domaine A par une liaison disulfure, tandis que le domaine C présente une structure en feuillets et il est attaché au domaine A par une simple chaîne polypeptidique. Il semble être un domaine indépendant dont la fonction est inconnue. Le site actif de l' α -amylase se trouve dans une longue fente entre l'extrémité carboxyle des domaines A et B et contient les ions de calcium (Ca^{+2}) qui ont un rôle essentiel dans la stabilisation de la structure tridimensionnelle et agit également comme activateur allostérique (**De Souza *et al.*, 2010**).

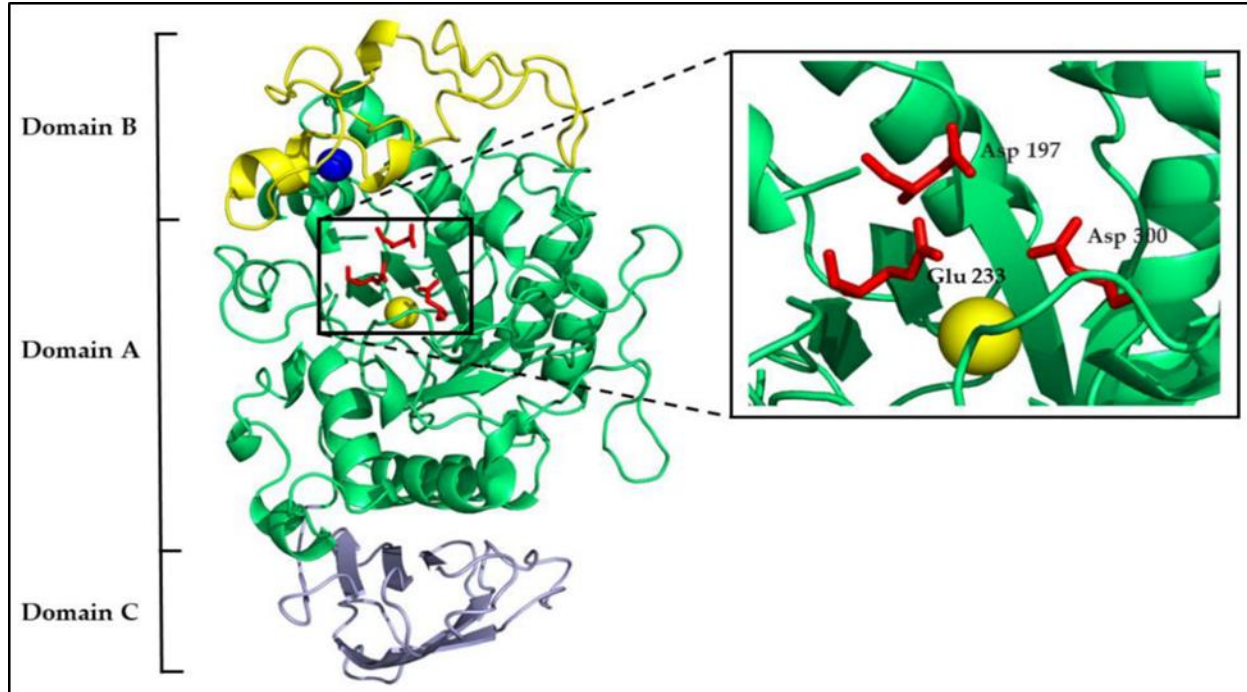


Figure n° 5: Structure tridimensionnelle de l' α -amylase (Kalinovskii, 2023) .

Un ion calcium est représenté par une sphère bleue, tandis qu'un ion chlorure est indiqué par une sphère jaune. Les résidus au niveau du site catalytique sont illustrés sous forme de bâtonnets rouges, avec un agrandissement de ces résidus dans une boîte noire.

3.3 Plantes médicinales inhibitrice de l' α -amylase

Les plantes médicinales sont utilisées à l'échelle mondiale pour gérer une grande variété des symptômes diabétiques. Par conséquent plusieurs extraits des plantes médicinales montrant une

activité inhibitrice de l' α -amylase (Kashtoh et Beak, 2023). Le tableau suivant résume les différentes parties des plantes médicinales qui ont un effet inhibiteur de l' α -amylase ainsi que leur concentration inhibitrice à 50% (IC₅₀).

Tableau n° 1: Les plantes médicinales inhibiteur de l'enzyme α -amylase.

Plante	Partie utilisé	Extrait	IC ₅₀	Référence
<i>Urtica dioica</i>	Les feuilles	Extrait aqueux	1,38 mg/mL	(Rahimzadeh et al., 2014)
<i>Juglans regia</i>	Les feuilles	Extrait aqueux	0,32mg/mL	(Rahimzadeh et al., 2014)
<i>Hibiscus sabdariffa L</i>	Les fleurs	Extrait méthanol	29,3 μ g/mL	(Buchholz et Melzig, 2015)
<i>Tamarindus indica L</i>	Ecorce	Extrait aqueux	139,4 μ g/mL	(Buchholz et Melzig, 2015)
<i>Punica granatum</i>	Ecorce de fruit	Extrait eau-méthanol	3,65g/l	(Belkacem et al., 2010)
<i>Morus nigra</i>	Les feuilles	Fraction hexane	13,05 mg/mL	(Da Silva et al., 2021)
<i>Englerophytum magalismontanum</i>	Les feuilles	Fraction méthanol	10,76 μ g/mL	(Olaokun et al., 2022)

Chapitre III :
***Chamaerops humilis* L**

Chamaerops humilis L. est une plante de la famille arecaceae ou la famille des palmiers. Cette famille est connue sous le nom scientifique de Palmae, mais elle est également appelée *Arecaceae*, terme souvent utilisé dans la littérature spécialisée. Les palmiers sont classés dans le groupe des plantes des monocotylédones qui font partie de l'ordre des arécales. Elle compte environ 212 genres et 2800 espèces divisées en cinq sous-familles (les *Arecoideae*, les *Calamoideae*, les *Coryphoideae*, les *Ceroxyloideae* et *Nypoideae*) et qui se trouvent dans différentes régions, notamment les zones tropicales, subtropicales et chaudes. Elles sont caractérisées par un stipe constitué d'un bourgeon apical, dont les extrémités des feuilles sont disposées sous forme de couronne (Mohamed *et al.*, 2022 ; Rezaire, 2012 ; Yao *et coll.*, 2023).

1. Nomenclature

Le terme *Chamaerops* est dérivé des mots grecs "**Chamai**", qui signifie "nain", et "**Rhops**", qui signifie "buisson" (Medjati., 2014). Le nom vernaculaire de la plante en Français c'est le palmier éventail, le palmier méditerranéen, ou le palmier nain (Hasnaoui *et al.*, 2011). En Anglais c'est Dwarf fan palm, European fan palm (Muguel *et al.*, 2014). En Algérie cette plante est appelée doum (Hasnaoui *et al.*, 2011).

2. Classification botanique

La classification botanique de l'espèce *C. humilis* est représentée dans le tableau suivant :

Tableau n° 2: Classification botanique du *Chamaerops humilis* L. (Hasnaoui *et al.*, 2011).

Phylum	Spermaphyte
Sous-Phylum	Angiosperme
Class	Monocotylédone
Ordre	Arécales
Famille	Arécaceae
Sous-Famille	Coryphoideae
Tribu	Corypheae
Sous-Tribu	Thrinacinea
Genre	<i>Chamaerops</i>
Espèce	<i>Chamaerops humilis</i> L

3. Description botanique

Chamaerops humilis est un arbuste qui atteint généralement une hauteur variable entre 1 et 1,5 mètre, mais dans les zones protégées il peut atteindre jusqu'à 9 ou 10 mètre de hauteur. Cet arbuste est caractérisé par plusieurs tiges portant dans un tronc et entourés par des fibres de couleur brune et de taille moyenne entre 50 à 150 cm. Les feuilles présentées sous forme d'éventail sont disposées en une touffe terminale, elles sont vertes dans la face supérieure et blanches dans la face inférieure. Les fruits sont des drupes sous forme globulaire et de couleur brun rougeâtre, contenant à l'intérieur une seule graine très solide. La floraison de *C. humilis* se fait en printemps (Hasnaoui *et al.*, 2011 ; Benmahdi *et al.*, 2012 ; Medjati., 2014 ; Belhaous, 2018 ; Aicha *et al.*, 2019).

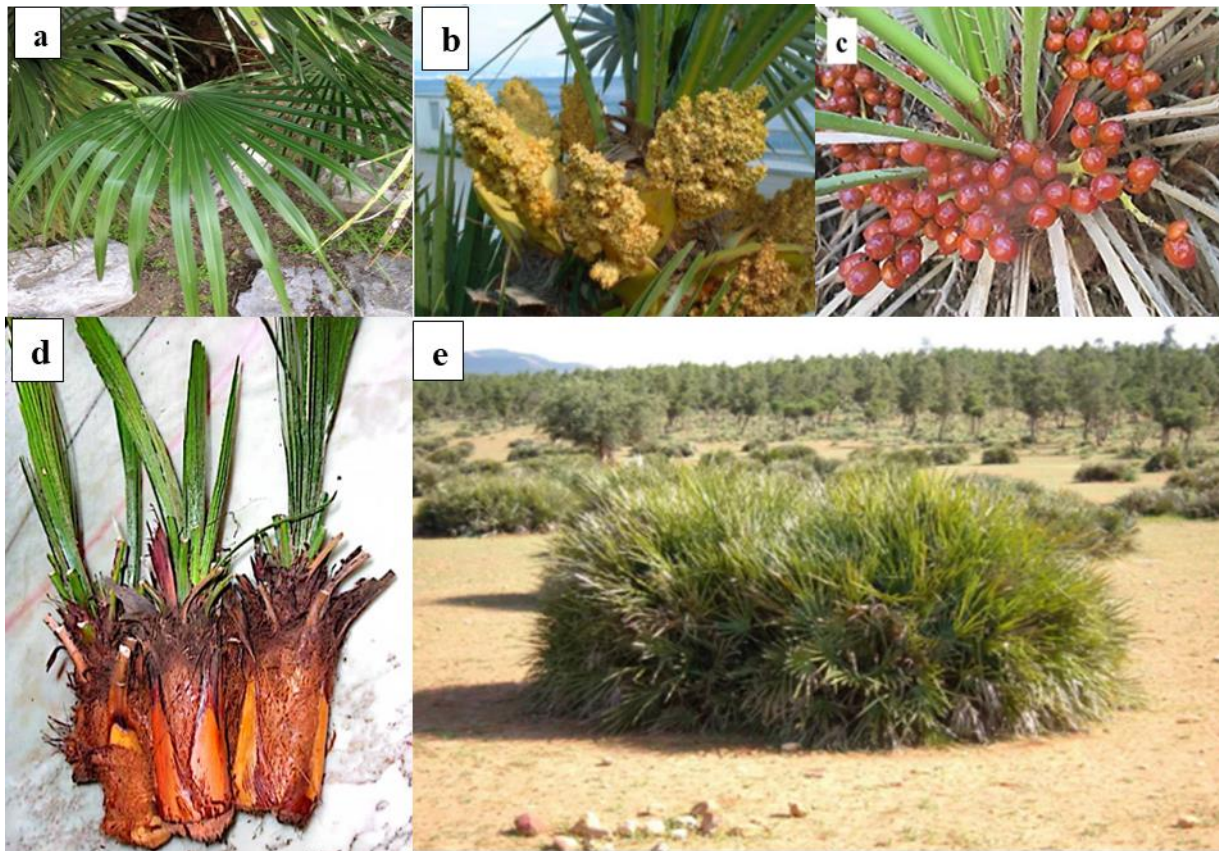


Figure n° 6: Différentes parties du *Chamaerops humilis* L.

a: Feuille ; b: Fleur ; c : Fruit ; d : Cœur du palmier (extrémité supérieure du tronc) ; e : Doum entier (Belhaous, 2018 ; Belkhirat et Tazerkounet, 2022 ; Kouchlaa, 2023).

<https://api.tela-botanica.org/img:000193706O.jpg>.

4. Répartition géographique

Espèce *Chamaerops humilis* L ou le palmier méditerranéen représente la seule espèce du genre *Chamaerops*, il est originaire des régions côtières de la méditerranée occidentale, en particulier dans le sud de l'Europe, y a compris l'Espagne, l'Italie, Malte et le sud de la France, et en Afrique du Nord notamment l'Algérie, le Maroc et la Tunisie (García-Castaño *et al.*, 2014 ; kouchlaa, A, 2023) (Figure n° 7).



Figure n° 7: Répartition géographique du *Chamaerops humilis* (Belhaous, 2018).

5. Composition chimique

L'analyse de la composition chimique et minérale du *Chamaerops humilis* en particulier les folioles, les rachis et les fruits montre que cette plante riche en protéine, les fibres et les minéraux notamment du potassium, du magnésium, du calcium, du zinc, du fer, du chrome, du strontium, du cuivre, du rubidium, du vanadium, du baryum, de l'argent et du lithium ce qui en fait un complément alimentaire potentiellement nourrissant (Aicha *et al.*, 2019).

L'huile des grains de *C. humilis* constitue une source importante des molécules bioactives tels que les acides gras notamment l'acide oléique, l'acide laurique, l'acide linoléique, l'acide palmitique et l'acide stéarique, aussi sa richesse en tocophérol et tocotriénol (Nehdi *et al.*, 2014).

Des études phytochimiques ont caractérisé certaines molécules phytochimiques dans les feuilles et les fruits de *C. humilis* comme les tanins galliques et catéchiques, les polyphénols, les flavonoïdes, les saponines, les terpénoïdes, et les hétérosides cardiotoniques ; cependant les huiles essentielles et les stéroïdes sont minoritaires (Benmahdi *et al.*, 2012 ; Mokbil., 2018).

Tableau n° 3: Quelque composés chimiques des différentes parties du *Chamaerops humilis*.

Partie de la plante	Groupes des composés	Les composés	Références
Feuille	Phénol	Acide hydroxycinnamique Lutéoline-8-C-glucoside Apigenin-8-C-glucoside	(Gonçalves <i>et al.</i> , 2018)
		Isoorientin et orientin Isomères de la procyanidine Isomère de l'acide 3 et 5-caféoylquinique Luteolin-7-O-glucopyranosil-8-C-glucopyranoside	(Coelho <i>et al.</i> , 2017)
	Stéroïdes	Campesterol B-sitostérol	(Ahmed <i>et al.</i> , 2015)
	Terpénoïdes	Sparthuléol β - eudesmol Oxyde de caryophyllène α -santalol	(kouchlaa, 2023)
Fruit	Acide gras	Acide n-hexadécanoïque	(Cadi <i>et al.</i> , 2021)
	Monosaccharide	Mannose Galactose Arabinose Glucose	(Dawood <i>et al.</i> , 2020)

6. Utilisation traditionnelle de *Chamaerops humilis*

L'étude ethnobotanique réalisée par **Medjati et al., (2019)** sur l'utilisation des différentes parties de *Chamaerops humilis* en médecine traditionnelle a montré que les feuilles et le cœur de stipe sont utilisées dans le traitement du diabète, les maladies cardiovasculaires, dyspepsie, hépatite et l'hypertension artérielle. Les fruits sont préparés par macération, décoction, ou sous forme poudre pour traiter la grippe, l'asthme et les affections du tube digestif. De même, L'extrait des racines préparé par macération ou décoction est utilisé dans le traitement de l'anémie, l'hépatite, contre les vers intestinaux, le rhumatisme, et le diabète sucré.

Hors l'utilisation traditionnelle, les feuilles de *C. humilis* sont employées dans la fabrication des paniers, des sièges de chaises et des balais. De plus, les fibres des feuilles sont appliquées dans l'industrie du papier (**Belhaous, 2018**). Grâce à sa nature résistante au froid elle est utilisée dans l'aménagement paysages dans les climats tempérés, comme elle est utilisée dans la régénération de la couverture végétale dans les zones arides (**Aicha et al., 2019**).

7. Propriétés biologiques du *Chamaerops humilis*

Selon la bibliographie, *C. humilis* présente plusieurs propriétés biologiques :

Les travaux **Coel et al., (2017)** ont montré que l'extrait méthanolique des feuilles de *C. humilis* possède un pouvoir antiradicalaire puissant sur le DPPH ($IC_{50} = 0,455$ mg/mL) et sur l'ABTS ($IC_{50} = 0,354$ mg/mL). De plus, les travaux de **Lachkar et al., (2022b)** ont montré *in vitro* le pouvoir antidiabétique des extraits aqueux et organiques de *C. humilis* en particulier l'extrait éthanolique en inhibant l'activité de l' α -amylase, l' α -glucosidase, et β -galactosidase et il assure de faibles valeurs de IC_{50} 8,90 ; 2,21 ; et 2,00 μ g/mL, respectivement. Cette plante a également révélé un effet hypolipémiant en diminuant le taux des triglycérides et le taux du cholestérol (**khouchlaa., 2023**). En outre, les extraits des écorces et des graines de *C. humilis* sont de puissant inhibiteur des enzymes associés aux maladies neurodégénératives acétylcholinestérase, butyrylcholinestérase, et tyrosinase (**Gonçalves et al., 2018**).

Une étude récente menée par **Nakhla *et al.*, (2023)** a montré que les extraits des feuilles, des fruits, et de la pulpe présentent une forte activité antibactérienne sur *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, et *Bacillus subtili*.

Matériels et méthodes

Notre étude expérimentale a été réalisée au niveau du laboratoire de pédagogie de Biochimie n° 4 et 5 au niveau du département de Biologie, Faculté SNV-STU, Université Abou Bekr Belkaïd, Tlemcen. Elle comporte deux grandes parties :

- ✓ Une partie phytochimique qui regroupe la préparation des différents extraits à partir des feuilles de *Chamaerops humilis* L., et le dosage des composés phénoliques dans les extraits préparés.
- ✓ Une partie biologique qui consiste à l'évaluation *in vitro* de l'activité antioxydante des extraits des feuilles de *Chamaerops humilis* en utilisant le test du DPPH et la méthode de FRAP. Ainsi que, l'évaluation l'activité antidiabétique en mesurant l'effet des extraits sur l'inhibition de l'activité de l' α -amylase, et sur l'adsorption au glucose.

1. Partie phytochimique

1.1 Matériel végétale

Le matériel végétal utilisé dans cette étude est les feuilles de *C. humilis* (**Figure n° 8**) qui ont été récoltées dans la région Ain Tallout wilaya de Tlemcen, en février 2024. Les feuilles ont été séchées à température ambiante et à l'obscurité, puis découpées en petits morceaux et conservées jusqu'à leur utilisation.

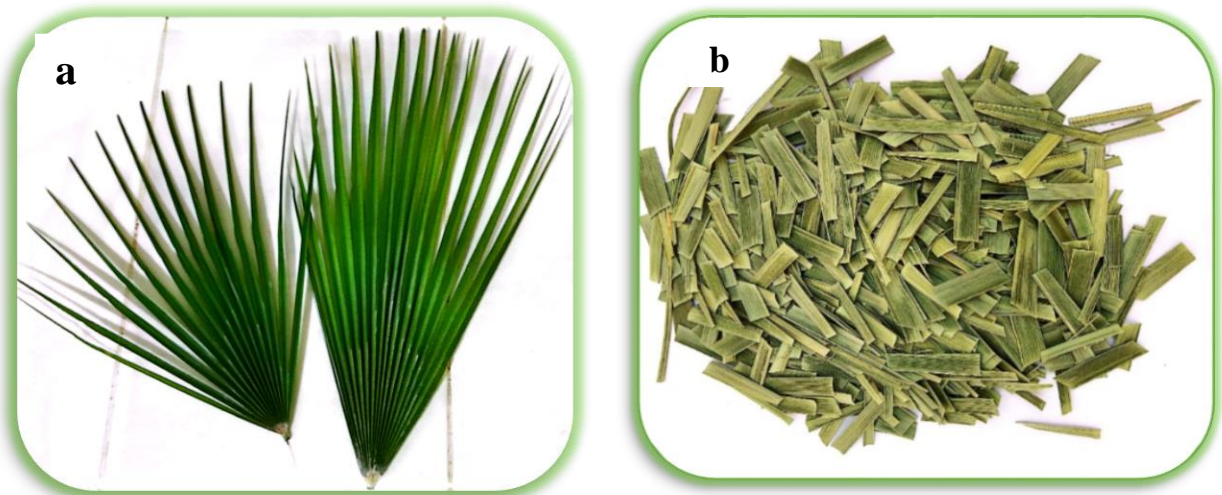


Figure n° 8: Feuilles frais (a) et séchées (b) de *Chamaerops humilis* L.

1.2 Extractions

Les extraits des feuilles *C. humilis* utilisée dans cette étude expérimentale sont préparés par différentes techniques et leur préparation est réalisée comme suit (**Figure n° 9**) :

1.2.1 Préparation de l'extrait eau-méthanol par macération

Cet extrait a été préparé par macération de 60 g de feuilles séchées dans 400 mL du mélange eau/méthanol (v/v : 30/70) pendant 24 h à température ambiante et à l'obscurité. Après filtration, le filtrat subit une concentration au rotavapeur (60 °C) pour évaporer le méthanol et récupérer un extrait brut de macération.

1.2.2 Préparation de l'extrait eau-méthanol par décoction

Cet extrait a été préparé par décoction de 50g des feuilles séchées dans un 300 mL du mélange eau /méthanol (v/v :30/70) pendant 1h à température (50°C). Après filtration, le filtrat obtenu est concentré au rotavapeur (60°C) pour évaporer le méthanol et récupéré un extrait brut de décoction.

1.2.3 Préparation des fractions acétate d'éthyle et n-butanol

L'extrait eau-méthanol préparé précédemment par décoction et après concentration, subi un fractionnement par extraction liquide-liquide en utilisant L'hexane (v/v) pour éliminer les lipides et la chlorophylle. La phase aqueuse récupérée est traitée deux fois par l'acétate d'éthyle (v/v) en suite par le n-butanol (v/v). Les deux phases organiques obtenus sont évaporées pour récupérer la fraction acétate d'éthyle et la fraction n-butanol, respectivement.

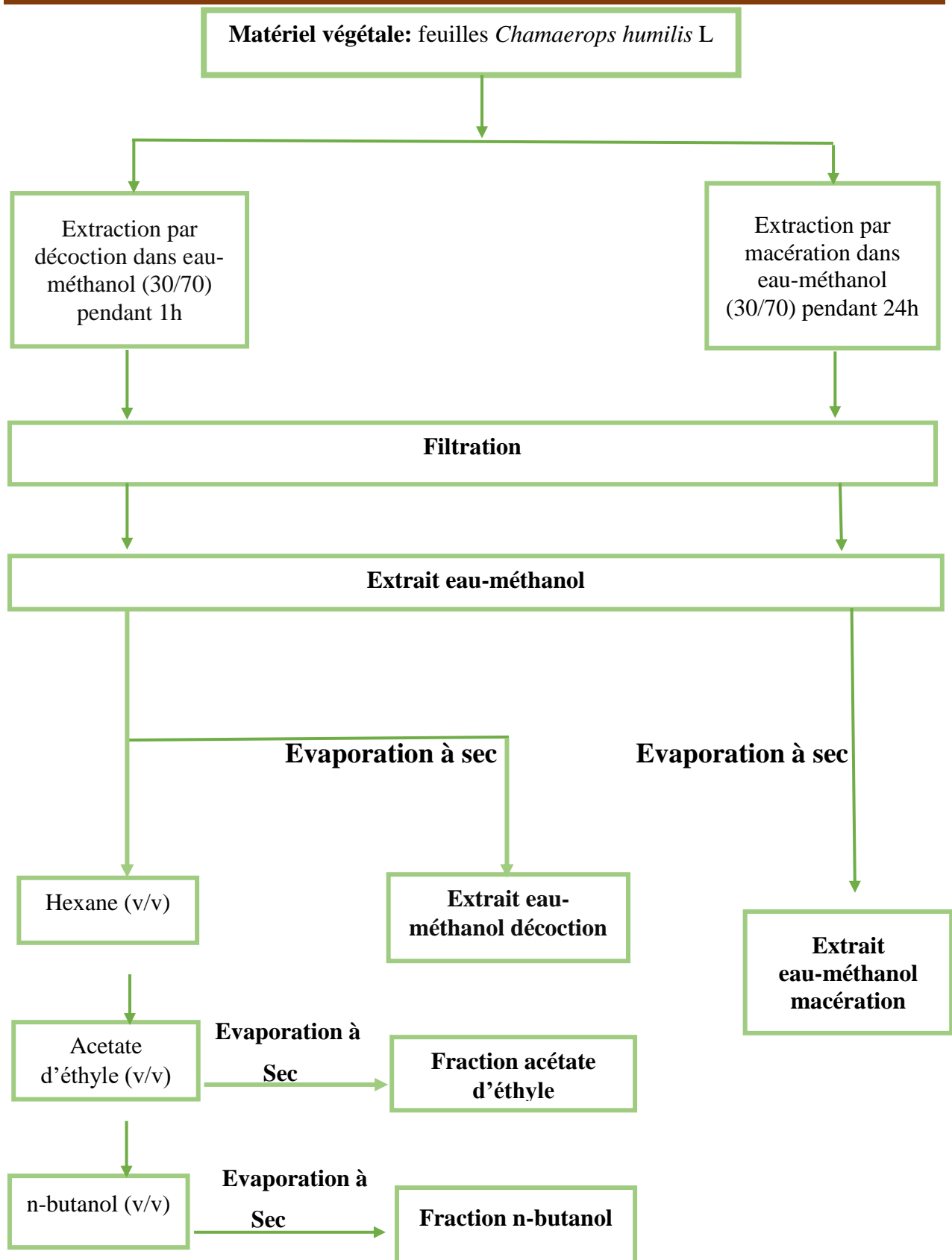


Figure n° 9: Schéma récapitulatif de la préparation des extraits à partir des feuilles de *Chamaerops humilis* L.

1.3 Le rendement des extraits

Après extraction, le rendement de chaque extrait préparé est exprimé en pourcentage (%) et calculé selon la formule ci-dessous :

$$\text{Rendement (\%)} = m / M * 100$$

R (%) : rendement exprime en %.

m : La masse de l'extrait récupéré.

M : La masse de la matière végétale sèche initiale.

1.4 Tests phytochimiques

Les tests phytochimiques sont des tests qualitatifs effectuer principalement pour identifier la présence ou l'absence de divers groupes des métabolites secondaires dans les extraits organiques et brutes de *C. humilis*. Le principe de ces tests basés sur l'observation soit d'un changement de couleur soit la formation d'un précipité. L'analyse phytochimique utilisé dans notre étude ont été réalisé selon les procédures standards décrites par **Harborne (1998)** et **Trease et Evans (1989)**.

1.4.1 Les composés phénoliques

☐ Les Tanins

Dans un tube à essai, 1 mL d'extrait à analyser est ajouté à 0,25 mL d'une solution aqueuse de Chlorure de fer (FeCl_3) à 1%. Incubation du mélange pendant 15 min à température ambiante.

La présence des tanins est montrée par une coloration verdâtre ou bleu-noirâtre.

☐ Les flavonoïdes

Dans un tube à essai, introduire 1 mL d'extrait à analyser puis additionner 1 mL d'acide chlorhydrique HCl (1%) et quelques copeaux de magnésium. La présence des flavonoïdes est montrée par une coloration rouge, rose ou jaune.

☐ Les quinones libres

Dans un tube à essai, on ajoute 1 mL d'extrait à analyser à 0,1 mL d'hydroxyde de sodium (NaOH) à 1%. La présence des quinones libre est indiqué par un virage de couleur jaune, rouge ou violet.

1.4.2 Les composés azotés (les alcaloïdes)

Dans deux tubes à essai, introduire 0,5 mL d'extrait et additionner quelques gouttes de HCl (1%) pour acidifier le milieu. Puis ajouter dans le premier tube 0,5 mL de réactif de Mayer et 0,5 mL

de réactif de Wagner au deuxième tube. La présence des alcaloïdes est montrée par l'apparition d'un précipité blanc ou brun, respectivement.

1.4.3 Les composés terpéniques

❑ Les terpénoïdes (test de Slakowski)

Dans un tube à essai, introduire 1 mL de l'extrait à analyser est ajouté à 0,4 mL de Chloroforme et 0,6 mL d'acide sulfurique concentré. Les terpénoïdes est montré par la présence de deux phases et une couleur marron à l'interphase.

❑ Les saponines (Test de mousse)

Dans un tube à essai, 10 mL d'extrait à analyser, puis agitation du tube fortement pendant 15 secondes. La présence des saponines est montrée par la formation d'une mousse persistante avec une hauteur supérieure à 1 cm.

1.4.4 Les composés réducteurs

Dans un tube à essai, 1 mL de liqueur de Fehling (0,5 mL réactif A et 0,5 mL réactif B) est ajouté à 1 mL d'extrait à analyser et incubation du mélange pendant 8 min dans un bain marie bouillant. La présence des composés réducteurs indique par l'apparition d'un précipité rouge brique.

1.5 Dosage des composés phénoliques dans les extraits de *Chamaerops humilis*

1.5.1 Dosage des polyphénols totaux

Principe

Le dosage des polyphénols totaux des extraits de *C. humilis* a été réalisée par une méthode colorimétrique au folin-ciocalteu, ce réactif est composé d'un complexe d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$) de couleur jaune. Lorsque les composés phénoliques sont oxydés, le réactif folin-ciocalteu est réduit pour former un complexe de molybdène (Mo_8O_{23}) et de tungstène (W_8O_{23}) de couleur bleu. L'intensité de la coloration produite caractérisée par une absorbance maximale comprise entre 725 et 750 nm, est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits testés (Boizot et Charpentier, 2006).

Mode opératoire

Le tableau ci-dessous résume le protocole du dosage de polyphénols totaux réalisé selon le protocole de Benariba *et al.*, (2013).

Tableau n° 4: Protocole expérimental du dosage de polyphénols totaux dans les extraits de *Chamaerops humilis*.

Concentration acide gallique (µg/mL)	50	100	200	300	400	500	Extrait	Blanc
Acide gallique (mL)	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1		
Extrait (ml)							0,1	
Eau distillé (mL)								0,1
Na₂CO₃ 1% (mL)	2	2	2	2	2	2	2	2
Première incubation à température ambiante pendant 5 min								
Folin-Ciocalteu 0,2N (mL)	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Deuxième incubation à l'obscurité pendant 30 min								
Absorbance mesurée à 680 nm								

Les résultats exprimés en microgramme équivalent acide gallique par milligramme d'extrait (µg EAG/mg E) sont calculés selon la formule ci-dessous :

$$[\text{Polyphenols}] = a.f/C$$

a : concentration finale des polyphénols déterminée à partir de la courbe d'étalon.

f : facteur de dilution (22).

C : concentration de l'extrait (5 mg/mL).

1.5.2 Dosage des flavonoïdes

Principe

Le principe de cette technique repose sur la présence du nitrite de sodium (NaNO_2) et le chlorure d'aluminium (AlCl_3) qui oxydent les flavonoïdes dans un milieu alcalin pour former un complexe de couleur rose qui absorbe à 510 nm. L'intensité de cette coloration est proportionnelle à la concentration des flavonoïdes présent dans l'extrait (Zhishen *et al.*, 1999).

Mode opératoire (Benariba *et al.*, 2013)

Le tableau n° 5 résume le protocole du dosage des flavonoïdes dans les différents extraits de *C. humilis*.

Tableau n° 5: Protocole expérimentale du dosage des flavonoïdes dans les extraits de *Chamaerops humilis*.

Concentration catéchine ($\mu\text{g/mL}$)	20	50	100	300	400	500	Extrait	Blanc
Catéchine (μL)	250	250	250	250	250	250		
Extrait (μL)							250	
Eau distillée (μL)	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1250
NaNO_2 15 % (μL)	75	75	75	75	75	75	75	75
Première incubation à température ambiante pendant 6 min								
AlCl_3 10 % (μL)	75	75	75	75	75	75	75	75
Deuxième incubation à température ambiante pendant 6 min								
NaOH (μL)	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000
Ajuster le volume totale à 2500 μL								
Troisième incubation à température ambiante pendant 15 min								
Absorbance mesurée à 520 nm								

La quantité des flavonoïdes présent dans les différents extraits de *C. humilis* a été exprimés en microgrammes équivalent de catéchine par milligrammes d'extrait ($\mu\text{g EC/ mg E}$) est déterminée selon la formule ci-dessous :

$$[\text{Flavonoïdes}] = \frac{a \cdot f}{C}$$

a : concentration de flavonoïdes déterminée à partir de la courbe étalon.

f : facteur de dilution (10).

C : concentration de l'extrait (1 mg/mL).

1.5.3 Dosage des tanins condensés

Principe

Le principe de cette méthode repose sur la capacité de la vanilline à réagir avec les tanins condensés pour constituer un complexe de couleur rose qui présente une absorption maximale à 500 nm (Sun *et al.*, 1998).

Mode opératoire

Le tableau ci-dessous résume le protocole du dosage des tanins condensés réalisé selon le protocole de (Kanon *et al.*, 2014).

Tableau n° 6: Protocole expérimental du dosage des tanins condensés dans les extraits *Chamaerops humilis*.

Concentration catéchine (µg/mL)	50	200	500	800	900	1000	Extrait	Blanc
Catéchine(µL)	50	50	50	50	50	50		
Extrait (µL)							50	
Eau distillé (µL)								50
Vanilline 4% (µL)	1500	1500	1500	1500	1500	1500	1500	1500
Agitation des tubes								
Acide sulfurique(µL)	750	750	750	750	750	750	750	750
Incubation à température ambiante pendant 15min								
Absorbance mesurée à 490 nm								

La quantité des tanins condensés présent dans les différents extraits de *C. humilis* a été exprimé en microgrammes équivalent de catéchine par milligrammes d'extrait (µg EC/mg E) et déterminée selon la formule ci-dessous :

$$[\text{Tannins}] = a.f/C$$

a : concentration finale des Tanin déterminée à partir de la courbe d'étalon.

f : facteur de dilution (46).

C : concentration de l'extrait (5 mg/mL).

2. Evaluation de l'activité antioxydante

Il existe plusieurs méthodes pour évaluer l'activité antioxydante *in vitro*, dans notre étude nous avons utilisé le test de piégeage du radical libre DPPH et le test de la réduction du fer pour chercher l'effet antioxydant des extraits de *C. humilis*.

2.1 Test de piégeage du radical libre DPPH (2,2 diphenyl-1-picryl hydrazyl)

Principe

Le DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle) est un radical libre instable qui contient un électron célibataire et qui présente une couleur violacée. En présence d'un antioxydant, le DPPH[•] (forme radicalaire) se réduit et donne un composé stable (DPPHH forme non radicalaire) ce qui entraîne un changement de couleur en jaune lorsque son électron non apparié est apparié avec un hydrogène provenant de l'antioxydant. L'activité antioxydante correspond à la diminution de la couleur violet (caractéristique du DPPH[•]), dont l'absorbance est mesurée au spectrophotomètre à 518 nm (Popovici *et al.*, 2009).

Mode opératoire (Benariba *et al.*, 2013)

L'effet antiradicalaire de chaque extrait de *C. humilis* sur DPPH a été testé en triplicata selon le protocole résumé dans le tableau ci-dessous.

Tableau n° 7: Mode opératoire du test de piégeage du radical du DPPH par les extraits de *Chamaerops humilis*.

A. ascorbique (µg/mL)	5	10	25	50	100	Tube Extrait	Tube contrôle
A. ascorbique (µL)	25	25	25	25	25		
Les extraits (µL)						25	
Méthanol (µL)							25
DPPH (µL)	975	975	975	975	975	975	975
Incubation à température ambiante et à l'obscurité pendant 30 min							
Absorbance mesurée à 520 nm,							

En utilisant la moyenne des valeurs d'absorbance obtenues à partir trois des répétitions de chaque concentration de chaque extrait pour calculer le pourcentage de réduction du DPPH selon la formule suivante:

$$\text{DPPH}\% = \frac{DO_{\text{contr}} - DO_{\text{éch}}}{DO_{\text{contr}}} \times 100$$

DPPH (%): Pourcentage de réduction du DPPH.

DO_{contr} : Densité optique du tube de contrôle.

DO_{éch} : Densité optique de l'échantillon.

IC₅₀ est la valeur qui représente la concentration de l'extrait responsable de la réduction de 50% du DPPH[•]. Cette valeur a été déterminée à partir de l'équation des graphes du DPPH (%) = f (C). Plus la valeur de IC₅₀ est faible, plus l'activité antioxydante des extraits est élevée.

2.2 Test du pouvoir réducteur du Fer (FRAP : *Ferric reducing antioxidant power*)

Principe

La méthode de FRAP est une technique simple, rapide et peu coûteuse. Le principe de cette technique repose sur la mesure de la capacité des extraits testés à réduire le fer ferrique (Fe³⁺) présent dans le complexe K₃Fe(CN)₆ en fer ferreux (Fe²⁺). Ce dernier forme un complexe avec FeCl₃, ce qui entraîne un changement de la couleur jaune de la solution en bleu-vert, dont l'absorbance est mesurable à 700 nm. L'intensité de la coloration est proportionnelle au pouvoir réducteur des extraits (Benzie & strain, 1998 ; Hubert, 2006 ; Deore *et al.*, 2008),

Mode opératoire (Karagozler *et al.*, 2008)

Le tableau n° 8 résume le mode opératoire pour l'évaluation du pouvoir antiradicalaire des extraits de *C. humilis*.

Tableau n° 8: Mode opératoire pour évaluer le pouvoir réducteur du fer par les extraits de *Chamaerops humilis*.

Concentration BHA($\mu\text{g/mL}$)	5	10	25	50	100	200	400	Extrait	Blanc
BHA (μL)	50	50	50	50	50	50	50		
Extrait (μL)								50	
Eau distillée (μL)									50
PBS (0,2N; pH=6,6) (μL)	125	125	125	125	125	125	125	125	125
K3Fe (CN) ₆ 1% (μL)	125	125	125	125	125	125	125	125	125
Incubation dans l'étuve pendant 20 min à 50° C									
TCA 10 % (μL)	125	125	125	125	125	125	125	125	125
Incubation à température ambiante pendant 10 min									
Surnageant (μL)	250	250	250	250	250	250	250	250	250
Eau distillée (μL)	250	250	250	250	250	250	250	250	250
FeCl ₃ 0,1% (μL)	50	50	50	50	50	50	50	50	50
Absorbance mesurée à 680 nm									

EC₅₀ représente la concentration efficace de l'extrait ayant une absorbance égale à 0,5. Elle est calculée à partir de l'équation de la courbe de régression linéaire des absorbances en fonction des concentrations des extraits analysés. Plus la valeur de EC₅₀ est faible plus l'extrait est efficace.

3. Evaluation de l'activité antidiabétique des extraits *Chamaerops humilis*

La recherche de l'activité antidiabétique *in vitro* des extraits bruts et organiques de la plante étudiée a été évaluée par le test d'inhibition de l' α -amylase, et le test d'adsorption au glucose.

3.1 Evaluation de l'effet sur l'activité de l' α -amylase

Principe

Lorsque la solution de l'enzyme α -amylase est incubé avec la solution de l'amidon (le substrat), ce dernier est hydrolysé et il y aura la libération des sucres réducteurs qui sont déterminés par la méthode de **Benfeld, (1955)**. Le principe de cette méthode repose sur l'oxydation des sucres réducteurs dans un milieu alcalin et à chaud ce qui provoque la réduction de l'acide 3,5-dinitrosalicylique (DNSA) de couleur jaune-orange en acide 3-amino-5-nitrosalicylique de couleur rouge-orange. Ce chromogène absorbe à 540 nm, dont l'intensité de la coloration obtenue est proportionnelle à la teneur en sucres réducteurs présents dans le milieu réactionnel (**Adjdir, 2022**).

Préparation des réactifs (Benfeld, 1955)

Solution de l' α -amylase

L'enzyme utilisé dans ce test est α -amylase d'origine animale (pancréas du porc), elle présente une activité spécifique de 13 UI/mg et leur conservation à 4°C. Pour préparer la solution enzymatique à 1,3 UI/mL, 3mg d'amylase porcine sont dissous dans 10 mL de la solution tampon phosphate (0,02 M ; pH=6,9). Cette enzyme α -amylase a une activité optimale à 37°C et à pH=6,9.

Solution du substrat

Le substrat utilisé dans ce test est l'amidon soluble. La solution d'amidon a été préparé dans la solution tampon phosphate (0,02M ; pH = 6,9) à une concentration de 0,5 %.

Solution tampon phosphate (0,02M ; pH 6,9)

On prépare la solution tampon à partir de deux solutions, la solution monobasique (NaH_2PO_4) de masse 1,103g pour 400mL eau distillé et la solution dibasique (Na_2HPO_4) de masse 1,136g pour 400mL eau distillé, ensuite on mélange les deux solutions (NaH_2PO_4 et Na_2HPO_4) pour obtenir une solution tampon phosphate à une concentration de 0,02 et de pH= 6,9.

Réactif 3,5-Di Nitro Salicylique Acide (DNSA)

La solution DNSA est préparé comme suit :

La Solution A contient 1,6g NaOH est solubilisé dans un volume de 20mL de l'eau distillée. A température ambiante le mélange est préchauffé sous agitation jusqu'à 60°C puis l'ajoute de 30g

de tartrate double de sodium et de potassium. La solution B contient 1g de DNSA solubilisé dans 40mL de l'eau distillée préchauffé, puis en mélange la solution A avec la solution B et le volume obtenue est ajusté à 100ml avec de l'eau distillée. La solution DNSA est conservée à l'abri de la lumière.

Solution des extraits de *C. humilis*

Les concentrations des extraits organiques et bruts de *C. humilis* (25, 50, 90, 180, 240, 400, 1000 µg/mL) sont préparées dans la solution tampon phosphate (0,02 ; pH = 6,9) pour évaluer leur effet sur l'activité enzymatique de l'α-amylase.

Mode opératoire (Benfeld., 1955 ; Laoufi et al., 2017)

Le mode opératoire du test *in vitro* de l'activité de l'α-amylase est résumé dans le **tableau n° 9**.

Tableau n°9 : Mode opératoire du test *in vitro* de l'activité de l'α-amylase en présence des extraits de *Chamaerops humilis*.

Tube extrait	Tube blanc	Tube contrôle	Tube blanc contrôle
100 µL Extrait	100 µL Extrait	100 µL PBS	100 µL PBS
100 µL Enzyme	100 µL PBS	100 µL Enzyme	100 µL PBS
Incubation pendant 10 min à 37° C dans l'étuve.			
100 µL amidon	100 µL amidon	100 µL amidon	100 µL amidon
Incubation pendant 15 min à 37° C dans l'étuve.			
300 µL DNSA	300 µL DNSA	300 µL DNSA	300 µL DNSA
Dénaturation de l'enzyme au bain Marie pendant 8 min à 100° C suivi par un choc thermique au Bain de glace à 3 min.			
500 µL eau distillée	500 µL eau distillée	500 µL eau distillée	500 µL eau distillée
Mesure de l'absorbance à 540 nm.			

L'inhibition de l'α-amylase a été exprimée en pourcentage calculé selon la formule suivante :

$$\% \text{ d'inhibition de l'}\alpha\text{-amylase} = (\text{DO}_{\text{contrôle}}) - (\text{DO}_{\text{extrait}}) / (\text{DO}_{\text{control}}) \times 100$$

(%): Pourcentage d'activité d' α -amylase.

DO contrôle : Densité optique du tube contrôle.

DO extrait : Densité optique du tube extrait.

La valeur de IC₅₀ représente la concentration inhibitrice de 50 % de l'activité enzymatique, elle est déterminée à partir des équations des régressions linaires des courbes qui représentent les pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations des extraits.

3.2 Evaluation *in vitro* la capacité d'adsorption des extraits au glucose

Principe

Le principe de ce test repose sur la mesure de la capacité des extraits de plante à s'adsorber au glucose et former des complexes de glycosylation, ce qui peut nous renseigner sur le mécanisme par lequel les extraits de plante peuvent avoir un effet hypoglycémiant (antidiabétique). Le glucose non adsorbé est déterminé par une méthode enzymatique en utilisant la glucose-oxydase-peroxydase GOD-POD (Kebieche, M., 2009 ; Roussel *et al.*, 2020). Le glucose libre est oxydé par la glucose-oxydase (GOD) en acide gluconique avec la formation du H₂O₂. Ce dernier dégradé par la peroxydase (POD) en H₂O permet la réduction du phénol et 4-aminophénazone en quinone qui développe une couleur rose qui absorbe entre 490-550 nm, dont l'absorbance maximale est à 510 nm.

Mode opératoire (Kebieche, M., 2009 ; Roussel *et al.*, 2020)

Une gamme de concentration de glucose a été préparée (5 ; 10 ; 50 et 100 mMol). Une seule concentration de chaque extrait (10 mg/mL) a été testée. Pour ce test ont utilisé deux contrôle positif l'acide gallique et l'acarbose à une concentration 1 et 2 mg/mL, respectivement. Le mode opératoire de ce test est résumé dans le **tableau n° 10**.

Tableau n° 1: Mode opératoire du test in vitro de la capacité d'adsorption des extraits *Chamaerops humilis* au glucose.

Concentration du glucose (mMoL)	5	10	50	100	Etalon	Blanc
Glucose(µL)	100	100	100	100		
Extrait 10 (mg/mL) Ou Acarbose 2 (mg/mL), ou Acide gallique (1mg/mL)	100	100	100	100		
Agitation des tubes						
Incubation dans l'étuve à 37 °C pendant 1h et pendant 3h.						
Dosage enzymatique du glucose (GOD/POD)						
Echantillon (µL)	10	10	10	10		
Etalon (µL)					10	
Réactif (GOD-POD) (µL)	1000	1000	1000	1000	1000	1000
Incubation à température ambiante pendant 15 min						
Absorbance mesurée à 520 nm						

Le taux de glucose adsorbé exprimé en mMol/g d'extrait est déterminé à partir de la formule suivante :

Formule suivante:

$$\text{Le glucose adsorbé (mM/g extrait)} = \frac{(C_i - C_f)}{\text{Masse de l'extrait (g)}} * \text{Volume du milieu (L)}$$

C_i: Concentration initiale du glucose.

C_f: Concentration finale du glucose.

C_f (mM) = [(DO_{échantillon}/DO_{étalon}) x 100] x 0,0555 mM (SPINREACT).

DO_{échantillon} : Densité optique du tube échantillon.

DO_{étalon} : Densité optique du tube étalon.

4. Analyse statistique

Les résultats obtenus sont analysés par Excel et sont exprimés en moyenne \pm l'erreur standard. La comparaison des moyennes et le degré de signification statistiques ont été évalué par analyse de variance (ANOVA) et par le test de tukey. La différence est considérée peu significative lorsque $p \leq 0,05$ (*), significative lorsque $p \leq 0,01$ (* *), très significative lorsque $p \leq 0,001$ (***), et hautement significative lorsque $p \leq 0,0001$ (*).

Résultats et interprétation

1. Partie phytochimique

1.1 Le rendement et les caractéristiques des extraits *C. humilis*

Selon les résultats résumés dans le tableau n°11 qui représente les caractéristiques et les rendements de chaque extrait préparé par différentes techniques. On observe que tous les extraits sont récupérés sous forme d'une pâte de couleur marron ou verte. Par ailleurs, la solubilité des extraits eau-méthanol par macération et par décoction, ainsi que la fraction n-butanol sont totalement solubles dans l'eau distillée. Par contre la fraction acétate d'éthyle est totalement soluble dans le mélange eau/méthanol. Concernant les rendements, l'extrait eau-méthanol par décoction présente le meilleur rendement (8,1 %) par rapport aux extraits eau-méthanol par macération et la fraction n-butanol, 3,14 % et 2,49 % respectivement. L'extrait acétate d'éthyle présente le faible rendement à 0,32%.

Tableau n° 2: Les caractéristiques et les rendements des extraits de *Chamaerops humilis*.

Extrait	Aspect et Couleur	Rendement (%)	Solubilité
Fraction acétate d'éthyle	Pâteux, de couleur verte	0,32 ± 0,08	Mélange Eau/méthanol
Fraction n-butanol	Pâteux, de couleur marron foncé	2,49 ± 0,05	Eau distillée
Extrait eau-méthanol décoction	Pâteux, de couleur marron foncé	8,1 ± 0,78	Eau distillée
Extrait eau-méthanol macération	Pâte visqueuse, de couleur marron foncé	3,14 ± 0,94	Eau distillée

1.2 Tests phytochimiques

Les résultats du screening phytochimique réalisé sur les différents extraits de *C. humilis* sont résumés dans le tableau n° 12. L'apparition d'une coloration ou d'une précipitation en utilisant un réactif spécifique indique la présence de certaines familles des composés phytochimiques dans les extraits testés.

Tableau n° 3:Screening phytochimique des différents extraits de *Chamaerops humilis* L.

	Fraction acétate d'éthyle	Fraction n-butanol	Extrait eau- méthanol décoction	Extrait eau- méthanol macération
Tanins catéchiqes	+	+	+	+
Tanins galliques	-	-	-	-
Flavonoïdes	+	+	+	+
Quinones libres	+	+	+	+
Alcaloïdes	-	-	-	-
Terpénoïdes	-	-	-	-
Saponines	+	+	+	+
Sucres réducteurs	+	+	+	+

Test positif (+) ; Test négatif (-).

Les résultats du screening phytochimique réalisé sur les différents extraits de *Chamaerops humilis* montre la présence de différents métabolites secondaires notamment les tanins catéchiqes, les flavonoïdes, les quinones libres, les saponines et les sucres réducteurs, avec absence des alcaloïdes et des terpénoïdes.

1.3 Dosage des composés phénoliques

Le dosage des composés phénoliques a été réalisé par des méthodes spectrophotométrique pour déterminer le taux de polyphénols, flavonoïdes et des tanins condensés dans les différents extraits de *Chamaerops humilis*.

Les résultats obtenus (tableau n° 13) sont exprimés en microgramme équivalent d'acide gallique par mg d'extrait ($\mu\text{g EAG/mg}$) pour les polyphénols, et μg équivalent catéchine par mg d'extrait ($\mu\text{g EC/mg}$) pour les flavonoïdes et les tanins condensés, Les courbes étalon de l'acide gallique et de la catéchine sont illustré dans la figure n°10 et n°11.

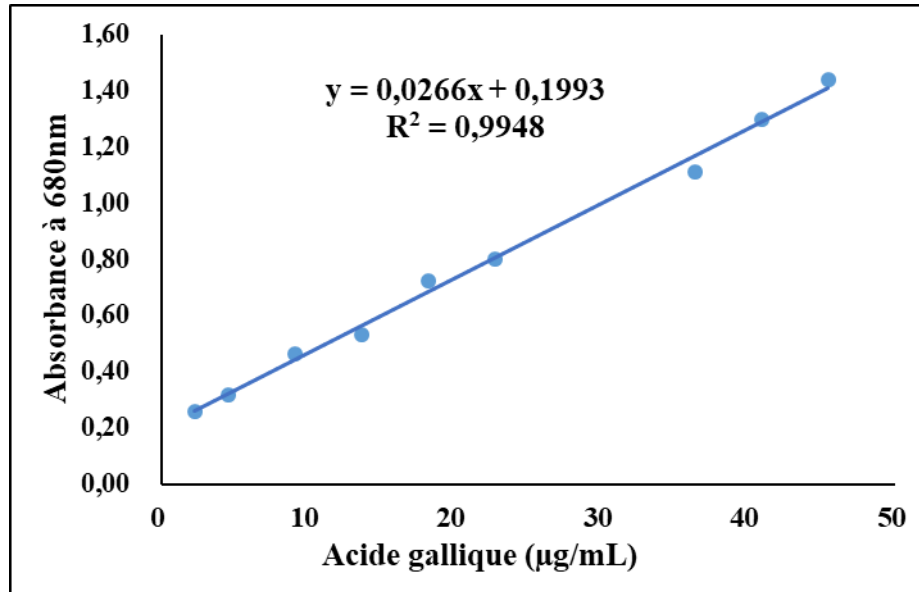


Figure n° 10: Courbe étalon de l'acide gallique.

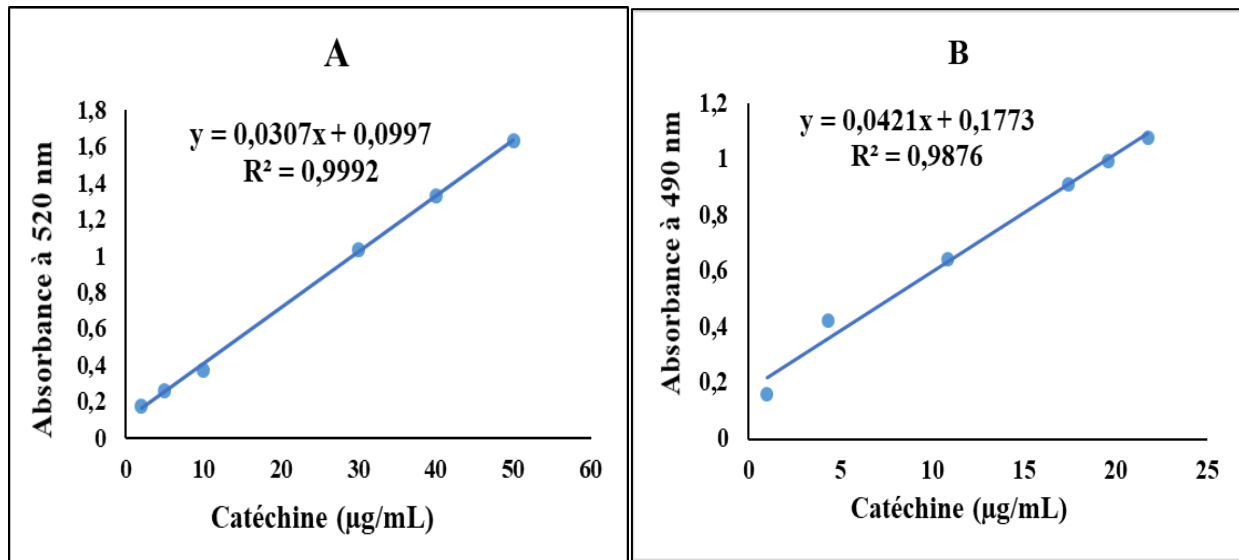


Figure n° 11: Courbe étalon de la catéchine pour dosage des flavonoïdes (A) et des tanins condensés (B).

D'après les résultats mentionnés dans le tableau n°13, on remarque que les fractions acétate d'éthyle et n-butanol reforment le taux le plus élevé en composés phénoliques par rapport aux autres extraits. La teneur en polyphénols dans ces fractions est variable entre 84,48 et 117,56 µg EAG/ mg E, entre 467,52 et 436,58 µg EC/ mg E pour les flavonoïdes, et entre 37,74 et 114,22 µg EC/ mg E pour les tanins condensés. Ces teneurs sont significativement élevées aux teneurs

déterminées dans l'extrait eau-méthanol par décoction qui a affiché 74,55 µg EAG/ mg E de polyphénols), 49 µg EC/ mg E de flavonoïdes, et 15,89 µg EC/ mg E de tanins condensés. L'extrait eau-méthanol par macération a montré les teneurs les plus faibles en composés phénoliques.

En fonction de ces résultats, on constate que les fractions acétate d'éthyle et n-butanol sont riches en composés phénoliques par rapport aux extraits bruts préparés par décoction et de macération. La température ainsi que le mode d'extraction peuvent influencer le taux des composés phénoliques.

Tableau n° 4:Taux de polyphénols totaux, de flavonoïdes et de tanins dans les extraits de *Chamaerops humilis*.

	Polyphénols (µg EAG/mg E)	Flavonoïdes (µg EC/mg E)	Tanins condensés (µg EC/mg E)
Fraction acetate d'éthyle	117,56 ± 0,09 ^d	467,52± 0,03 ^d	114,22± 0,16 ^d
Fraction n-butanol	84,48 ± 0,04 ^c	436,58 ±0,06 ^c	37,74 ± 0,03 ^c
Extrait eau-méthanol decoction	74,55 ± 0,01 ^b	49± 0,00 ^a	15,89 ± 0,12 ^b
Extrait eau-méthanol maceration	51,39 ± 0,01 ^a	35,9 ± 0,02 ^a	0,59 ± 0,01 ^a
Valeur de <i>p</i> globale par rapport à la fraction acétate d'éthyle (P<0,001, ***) très significatif. Différentes lettres signifient une différence significative à <i>p</i> = 0,05 selon le test de Tukey.			

2. Effet antioxydant des extraites des feuilles de *Chamaerops humilis*

L'évaluation de cette activité a été effectuée par deux méthodes : le test de piégeage du radical libre DPPH et le test de réduction du Fer FRAP.

2.1 Effet des extraits *Chamaerops humilis* sur le piégeage du radical libre (DPPH)

Concernant les résultats de l'évaluation de l'activité antiradicalaire de l'acide ascorbique et les différents extraits de *C. humilis* sont exprimés en pourcentage de réduction du DPPH en fonction

des concentrations, et ils sont rapportés dans les tableaux n° 14 et n°15, et les figures n°12 et n°13, respectivement.

D'après le tableau n°14, on remarque une augmentation proportionnelle du pourcentage de réduction du DPPH aux concentrations de l'acide ascorbique. À la concentration 2,5 µg/mL l'acide ascorbique arrive à 97,10 % de réduction du DPPH avec une valeur de IC₅₀ de 0,39 µg/mL.

Tableau n° 14: Effet antioxydant de l'acide ascorbique sur la réduction du DPPH exprimé en pourcentage.

	Concentrations finales de l'acide ascorbique (µg/mL)					IC ₅₀ (µg/mL)
	0,125	0,25	0,625	1,25	2,5	
Réduction de DPPH (%)	16,43±0,00	34,78±0,05	70,05±0,03	85,02±0,04	97,10±0,01	0,39^a±0,04

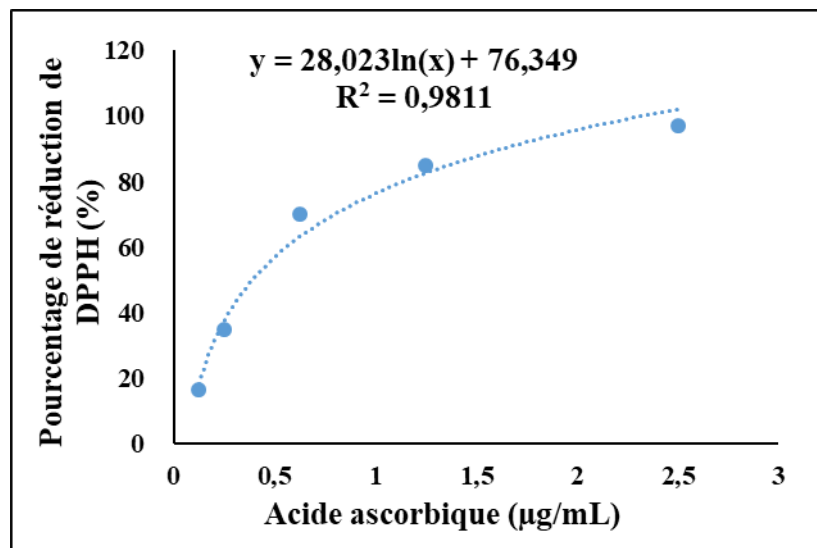


Figure n° 12:Activité antioxydante de l'acide ascorbique sur le piégeage du DPPH.

L'effet antioxydant des différents extraits de *C. humilis* est représenté dans le tableau n°15 et la figure n°13, on remarque que l'ensemble des extraits ont présenté un effet antioxydant intéressant exprimé en valeurs de IC₅₀ très importantes notamment la fraction acétate d'éthyle qui a assuré le meilleur pouvoir antiradicalaire avec une valeur de IC₅₀ la plus intéressante qui est de 8,36

µg/mL. Également, la fraction n-butanol montre une forte activité antioxydante et a révélé une valeur de IC₅₀ de l'ordre de 22,73 µg/mL, suivi par extrait eau-méthanol préparé par décoction et par macération, dont les valeurs de IC₅₀ déterminées sont 36,58 et 69,87µg/mL, respectivement.

Tableau n° 15: Effet antioxydant des extraits des feuilles *Chamaerops humilis* sur piégeage du DPPH exprimé en pourcentage.

	Concentrations de l'extrait (µg/mL)						IC ₅₀ (µg/mL)
	5	6	10	25	50	75	
Fraction acétate d'éthyle	25,93 ± 0,06	35,8 ± 0,05	54,32 ± 0,07	97,53 ±0,01	-	-	8,36^b ± 0,07
Fraction n-butanol	33,33 ± 0,01	35,80 ± 0,01	40,74 ±0,01	54,32 ±0,04	72,83 ±0,00	90,12 ±0,01	22,73^c ± 0,04
Extrait eau-méthanol décoction	13,89 ± 0,01	19,44 ± 0,01	27,78 ±0,01	33,33 ±0,02	67,90 ±0,01	87,5 ±0,04	36,58^d ± 0,015
Extrait eau-méthanol macération	15,28 ± 0,01	16,67 ± 0,01	19,44 ±0,04	27,78 ±0,01	38,89 ±0,01	52,78 ±0,04	69,87^e ± 0,04

Valeur de *p* globale par rapport à l'acide ascorbique (**P<0,001, *****) très significatif.
Différentes lettres signifient une différence significative à *p* = 0,05 selon le test de Tukey.

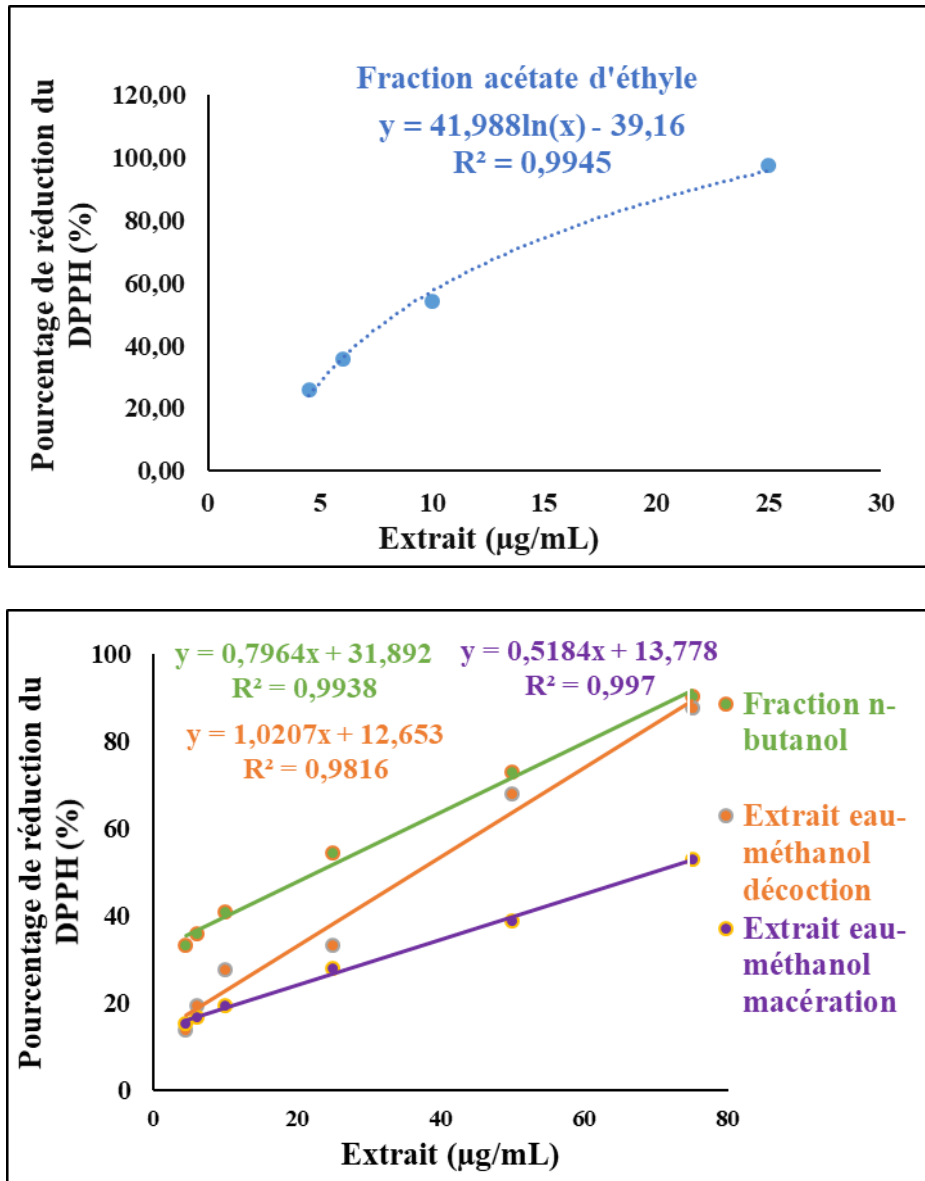


Figure n° 13: Activité antioxydante des extraits de *Chamaerops humilis* sur le piégeage du DPPH.

En fonction de ces résultats, on constate que les fractions acétate d'éthyle et n-butanol, qui sont riches en composés phénoliques notamment en flavonoïdes, ont révélé le pouvoir antiradicalaire le plus puissant suivi par l'extrait eau-méthanol préparé par décoction, ce qui nous renseigne sur l'implication des flavonoïdes dans le pouvoir antioxydant de ces extraits.

2.2 Effet des extraits de *C. humilis* sur le pouvoir réducteur du Fer (FRAP)

Le pouvoir réducteur des ions métalliques des extraits testés a été évalué par le test de la réduction du Fer. L'acide ascorbique et BHA ont été utilisé comme contrôles positifs, et les résultats sont représentés dans les tableaux n°16 et n°17, ainsi que les figure n°15 et n°16.

D'après les résultats obtenus, on remarque que l'acide ascorbique présente un effet réducteur du fer intéressant avec une concentration efficace (EC₅₀) égal à 17,51 µg/mL par rapport au BHA (EC₅₀ = 24,19 µg/mL).

Tableau n° 16: Effet de l'acide ascorbique sur la réduction du fer (méthode du FRAP).

	Concentrations de l'acide ascorbique (µg/mL)							EC ₅₀ (µg/mL)
	1	2	4	8	17	33	67	
Absorbance à 680 nm	0,01 ±0,00	0,07 ±0,01	0,10 ±0,01	0,29 ±0,01	0,46 ±0,01	0,84 ±0,05	1,99 ±0,01	17,51^a±0,01

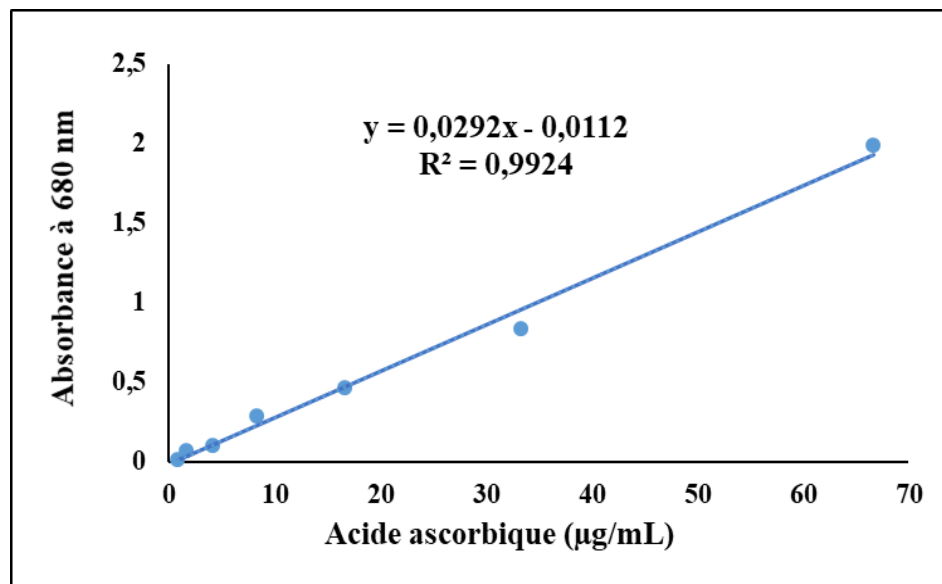


Figure n° 14: Pouvoir réducteur du fer de l'acide ascorbique.

Tableau n° 17: Effet du BHA sur la réduction du fer (méthode du FRAP).

	Concentrations du BHA (µg/mL)							EC ₅₀ (µg/mL)
	1	2	4	8	17	33	67	
Absorbance à 680 nm	0,05 ±0,003	0,06 ±0,003	0,10 ±0,003	0,22 ±0,01	0,40 ±0,003	0,68 ±0,01	1,28 ±0,10	24,19^b±0,01

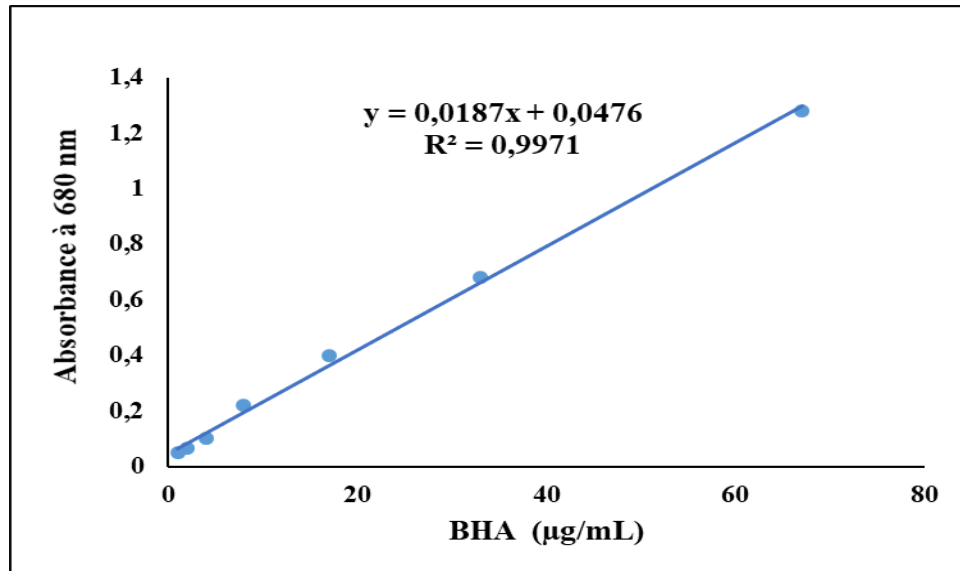


Figure n° 15: Pouvoir réducteur du fer du BHA (méthode de FRAP).

Selon les résultats du tableau n°18 et la figure n°17 qui représentent l'effet des extraits de *C. humilis* sur la réduction du fer, on remarque que l'ensemble des extraits ont montré un pouvoir réducteur du fer très remarquable. La fraction acétate d'éthyle a révélé la valeur de EC₅₀ la plus importante 52,31µg /mL. Cette valeur est significativement la plus faible par rapport aux autres extraits. Les EC₅₀ déterminées pour la fraction n-butanol et l'extrait eau-méthanol par décoction 284,11 et 388,15µg/mL respectivement. Tandis que l'extrait eau-méthanol par macération a affiché la valeur de 588,87 µg/mL.

Tableau n° 18: Absorbance de l'effet des extraits *Chamaerops humilis* sur la réduction du fer (méthode de FRAP).

	Concentrations finales de l'extrait (µg/mL)						EC ₅₀ (µg/mL)
	30	40	67	167	333	500	
Fraction acétate d'éthyle	0,31 ±0,01	0,43 ±0,01	0,60 ±0,01	1,22 ±0,02	2 ±0,00	-	52,31^c ±0,01
Fraction n-butanol	0,06 ±0,01	0,09 ±0,01	0,12 ±0,01	0,17 ±0,01	0,65 ±0,01	0,87 ±0,01	284,11^d ±0,01
Extrait eau-méthanol décoction	0,03 ±0,01	0,05 ±0,01	0,09 ±0,01	0,18 ±0,01	0,45 ±0,01	0,62 ±0,00	388,15^e ±0,005
Extrait eau-méthanol macération	0,05 ±0,00	0,06 ±0,01	0,07 ±0,01	0,14 ±0,01	0,31 ±0,003	0,39 ±0,00	588,87^f ±0,00

Valeur de *p* globale par rapport à l'acide ascorbique (**P<0,001, *****) très significatif.
Différentes lettres signifient une différence significative à *p* = 0,05 selon le test de Tukey.

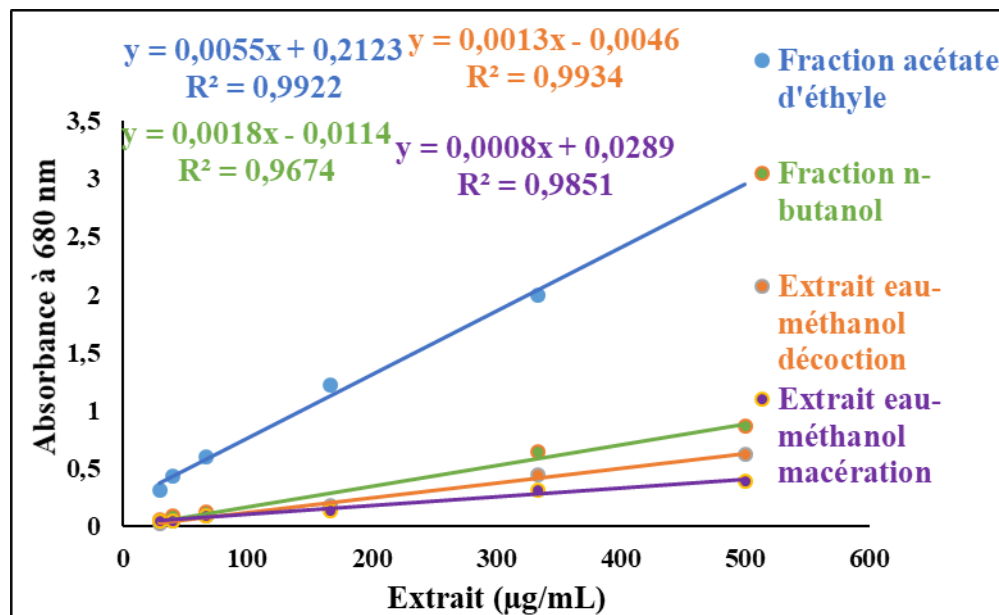


Figure n° 16: Pouvoir réducteur du Fer par les extraits de *Chamaerops humilis*.

En fonction de ces résultats, on constate pour ce test que la fraction acétate d'éthyle a assuré le pouvoir réducteur du fer le plus puissant suivi par la fraction n-butanol et l'extrait eau-méthanol préparé par décoction.

3. Activité antidiabétique des extraits des feuilles *Chamaerops humilis*

L'évaluation de cette activité *in vitro* a été réalisé par deux tests, le test de l'activité de l' α -amylase et le test de la capacité d'adsorption au glucose.

3.1 Effet des extraits de *Chamaerops humilis* sur l'activité de l' α -amylase

Les résultats obtenus comparés à l'effet de l'acarbose utilisé comme contrôle positif, sont mentionnés dans le tableau n° 19 et la figure n°19. A la lumière de ces résultats, on remarque que l'acarbose présente un fort pourcentage d'inhibition de l' α -amylase (93,47 %) à une concentration de 167 $\mu\text{g/mL}$ avec une valeur IC_{50} de l'ordre de 6,22 $\mu\text{g/mL}$.

Tableau n°19: Effet de l'acarbose sur le pourcentage d'inhibition de l'activité de l' α -amylase.

	Concentration de l'acarbose ($\mu\text{g/mL}$)						IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)
	5	10	21	42	83	167	
Inhibition de l'α-amylase(%)	43,99 ± 0,048	54,30 ± 0,007	72,16 ± 0,006	85,57 ± 0,006	90,38 ± 0,003	93,47 ± 0,003	6,22^a ± 0,027

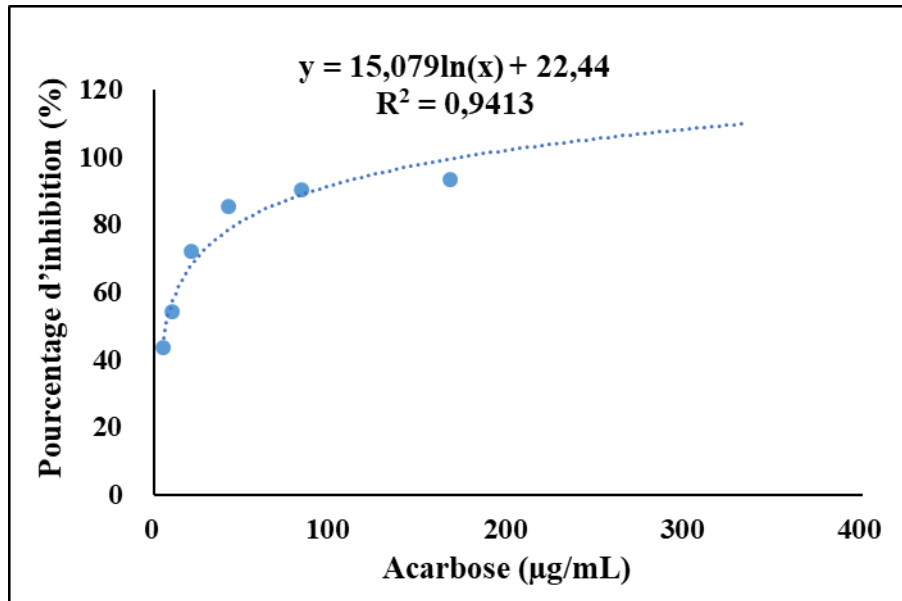


Figure n° 17: Effet de l'acarbose sur l'inhibition de l'activité de l'α-amylase exprimée en pourcentage.

Afin de déterminer l'effet des extraits de *Chamaerops humilis* sur l'activité de l'α-amylase *in vitro*, nous avons testé l'effet de différentes concentrations de chaque extrait sur l'activité de l'enzyme α-amylase en présence de son substrat qui est amidon soluble. Les résultats obtenus sont représentés dans le tableau n° 20 et la figure n° 20.

D'après ces résultats, on remarque que les fractions acétate d'éthyle et n-butanol ont significativement inhibé l'activité de l'α-amylase, et ils ont affiché des valeurs de IC₅₀ très intéressantes 8,62 et 12,48 µg/mL, ces valeurs sont très proches de celle de l'acarbose (6,22 µg/mL). L'effet des extraits eau-méthanol préparés par décoction et par macération a été instable, dont le pourcentage d'inhibition maximale ne dépassait pas 20 %, ce qui a été difficile de déterminer IC₅₀ pour ces deux extraits.

Tableau n°20: Effet des extraits *Chamaerops humilis* sur l'activité de α -amylase exprimé en pourcentage d'inhibition.

	Concentrations d'extrait ($\mu\text{g/mL}$)							IC ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$)
	8	17	30	60	67	133	333	
Fraction acétate d'éthyle	49,67 ± 0,02	52,77 ± 0,02	54,62 ± 0,02	56,01 ± 0,02	58,33 ± 0,00	61,11 ± 0,00	63,88 ± 0,01	8,62^b ± 0,02
Fraction n-butanol	46,60 ± 0,02	53,24 ± 0,06	-	56,17 ± 0,03	57,40 ± 0,01	59,26 ± 0,01	62,96 ± 0,00	12,48^c ± 0,02
Extrait eau-méthanol décoction	19,17 ± 0,03	18,88 ± 0,03	20,35 ± 0,02	20,94 ± 0,02	21,83 ± 0,01	21,24 ± 0,02	14,45 ± 0,05	-
Extrait eau-méthanol macération	12,62 ± 0,02	6,78 ± 0,02	5,31 ± 0,02	15,63 ± 0,03	10,03 ± 0,02	12,39 ± 0,02	13,86 ± 0,02	-
<p>Valeur de <i>p</i> globale par rapport à l'acarbose (P<0,001, ***) très significatif. Différentes lettres signifient une différence significative à <i>p</i> = 0,05 selon le test de Tukey.</p>								

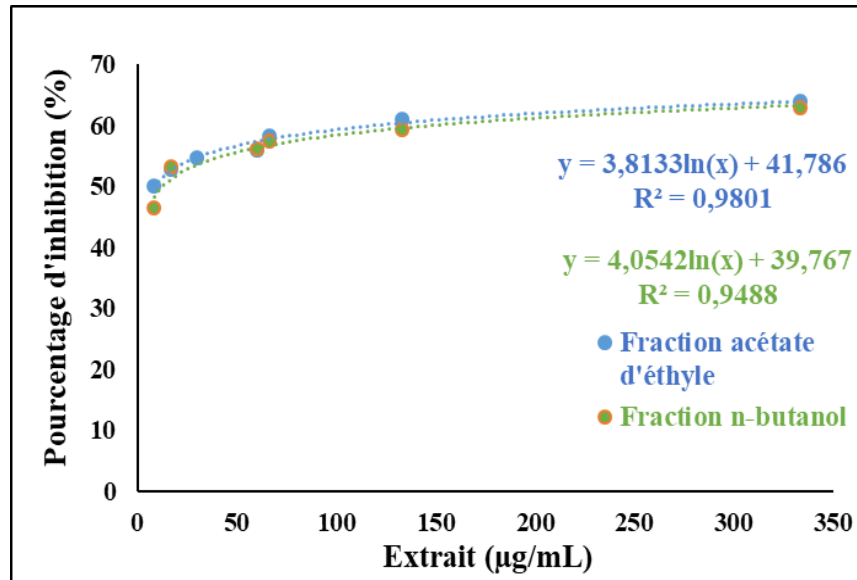


Figure n° 18: Effet des extraits *Chamaerops humilis* sur l'activité de l'α-amylase.

3.2 Effet d'adsorption au glucose des extraits des feuilles de *Chamaerops humilis*

Afin d'évaluer l'activité antidiabétique des extraits des feuilles de *Chamaerops humilis*, nous avons testé la capacité d'une concentration de 10 mg/mL de chaque extrait sur d'adsorption au glucose pendant 1h et pendant 3h d'incubation. L'acide gallique à la concentration 1mg/mL, et l'acarbose à 2 mg/mL sont utilisés comme contrôles positifs. Les résultats obtenus sont représentés dans les tableau n° 21, et dans les figures n°22 et n°23.

D'après les résultats du tableau n°21 et la figure n°22 et n°23, montrent que l'incubation des extraits avec le glucose pendant 1h et pendant 3h ne présentent pas une différence significative sur l'adsorption du glucose. L'effet adsorbant est proportionnel aux concentrations de glucose, et non pas en fonction du temps. À faible concentration de glucose 5 et 10 mMol/L, l'acide gallique présente une adsorption au glucose moyennement faible avec des valeurs qui varient entre 0,98 et 1,99 mMol/g d'acide gallique. La capacité d'adsorption de l'acarbose est encore plus faible elle est entre 0,31 et 0,77 mMol/g. À forte concentration de glucose 50 et 100 mM, la capacité des contrôles positifs augment, en particulier l'acide gallique qui arrive à une adsorption variable entre 8,88 et 17,73 mMol/g.

La capacité d'adsorption de tous les extraits est très faible à faible concentration de glucose 5mMol et 10 mMol et qui ne dépasse pas 0,09 mMol/g. À forte concentrations 50 et 100 mMol,

le taux de glucose adsorbé augmente dans tous les extraits, et les valeurs sont variables entre 0,75 et 1,81 mMol/g. Cette activité reste relativement faible par rapport à l'effet des contrôles positifs l'acide gallique et l'acarbose.

Tableau n°21: La capacité d'adsorption au glucose des extraits de *Chamaerops humilis*.

	Concentration du glucose (mMol/L)			
	après 1h d'incubation			
	5	10	50	100
Acide gallique	0,98 ± 0,001	1,95 ± 0,021	8,27 ± 0,014	17,34 ± 0,037
Acarbose	0,31 ± 0,014	0,66 ± 0,027	3,29 ± 0,043	7,78 ± 0,089
Fraction acétate d'éthyle	0,03 ± 0,017	0,09 ± 0,005	0,80 ± 0,021	1,79 ± 0,043
Fraction n-butanol	0,03 ± 0,014	0,06 ± 0,020	0,75 ± 0,017	1,65 ± 0,006
Extrait eau-méthanol décoction	0,02 ± 0,020	0,03 ± 0,026	0,66 ± 0,024	1,67 ± 0,024
Extrait eau-méthanol macération	-	-	0,76 ± 0,008	1,73 ± 0,01
	Concentrations de glucose (mMol/L)			
	après 3h d'incubation			
	5	10	50	100
Acide gallique	0,88 ± 0,048	1,99 ± 0,00	8,88 ± 0,004	17,73 ± 0,012
Acarbose	0,31 ± 0,009	0,7 ± 0,009	3,42 ± 0,034	7,88 ± 0,074
Fraction acétate d'éthyle	0,01 ± 0,016	0,06 ± 0,008	0,82 ± 0,013	1,81 ± 0,055
Fraction n-butanol	0,01 ± 0,012	0,06 ± 0,011	0,80 ± 0,031	1,77 ± 0,03
Extrait eau-méthanol décoction	0,0001 ± 0,03	0,009 ± 0,034	0,75 ± 0,04	1,70 ± 0,0
Extrait eau-méthanol macération	-	-	0,77 ± 0,026	1,73 ± 0,018
Valeur de <i>p</i> globale par rapport à l'acarbose (P<0,001, ***) très significatif.				
Différentes lettres signifient une différence significative à <i>p</i> = 0,05 selon le test de Tukey.				

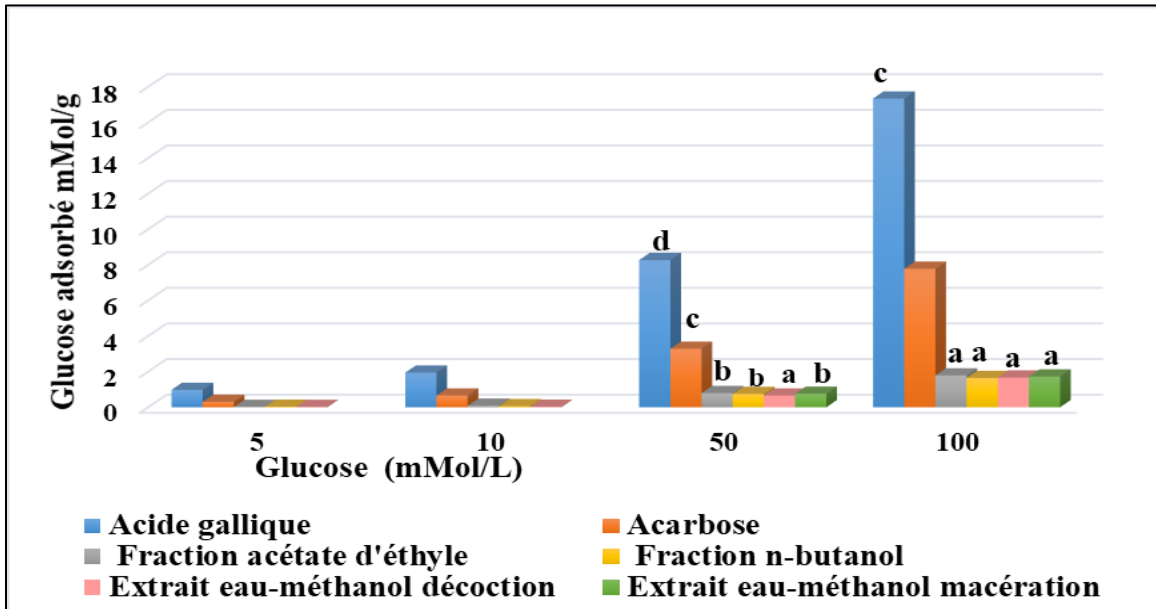


Figure n° 19: La capacité d'adsorption au glucose des extraits de *Chamaerops humilis* après 1h d'incubation.

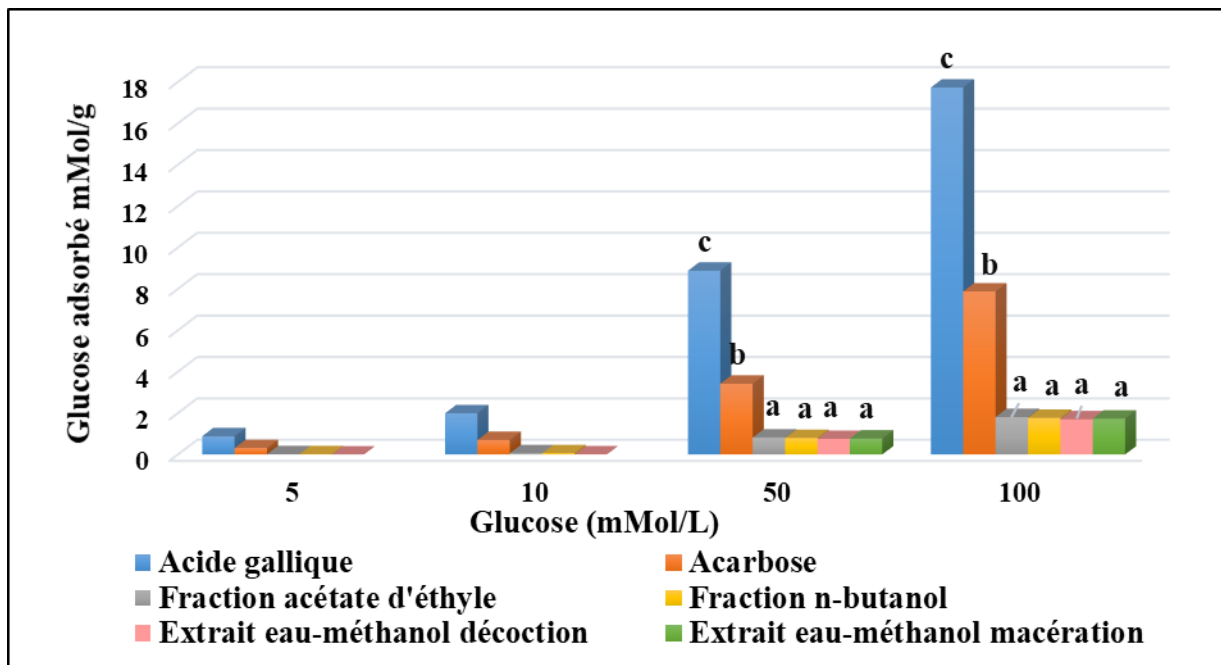


Figure n° 20: La capacité d'adsorption au glucose des extraits de *Chamaerops humilis* après 3h incubation.

Discussion

Le but de notre étude expérimentale consiste d'une part, à réaliser une analyse phytochimique et évaluation de l'activité antioxydant des différents extraits de *C. humilis* en utilisant deux méthodes : le test de piégeage des radicaux libres DPPH et la réduction du fer FRAPP, D'autre part, sur l'évaluation de l'activité antidiabétique des différents extraits de *C. humilis* (l' α -amylase et la capacité d'adsorption du glucose).

L'extraction des feuilles de *Chamaerops humilis* a été réalisée par deux technique différentes : une extraction sous reflux (décoction) pendant 1h dans un mélange eau-méthanol pour préparer l'extrait brut et ses fractions acétate d'éthyle et n-butanol, et une extraction par macération pendant 24 h dans un mélange eau-méthanol pour préparer l'extrait eau-méthanol de macération.

Les résultats des rendements d'extraction obtenus dans notre étude sont variés entre 0,32 et 8,1 % et la fraction acétate d'éthyle présente un faible rendement par contre l'extrait brut de décoction montre un rendement plus élevé. Ces résultats sont légèrement inférieurs aux résultats cités par **Belhaous (2018)**, qui a mené des études sur la même espèce récoltée dans la Wilaya de Annaba, et qui a enregistré un rendement de 1,34 ; 6,29 et 8,53 % pour les extraits acétate d'éthyle, n-butanol et l'extrait aqueux, respectivement. Dans une autre étude, **Eddahhaoui et al., (2018)** qui ont récolté la même espèce dans la région de Zaer (Maroc), ont mentionné un rendement de l'ordre de 1,63 % pour l'extrait hexane et de 22,98 % pour l'extrait méthanol.

Selon la littérature la différence des rendements est influencée par plusieurs paramètres comme la période et la région de la récolte, les conditions de séchage, le temps, la température, ainsi que la méthode et la polarité du solvant d'extraction utilisé sachant que les solvants polaires montrent un rendement d'extraction plus important par rapport aux solvant moins polaires. De plus, les parties de la plante utilisée (les feuilles, les fleurs, les tiges et les racines) ainsi que le stade de maturation de la plante (fraiche, sèche, en floraison, en fructification...) peuvent avoir un impact sur la qualité de l'extrait (**Bruneton, 2009 ; Mussatto et al., 2011 ; Keskes et al., 2014 ; Daoudi et al., 2015 ; Adjdir, 2022**).

Les tests phytochimique réalisés sur les quatre extraits des feuilles de *Chamaerops humilis* ont permet d'enregistrer la présence des tanins catéchiqes, les flavonoïdes, les composés réducteurs, les quinones libres et les saponines, et l'absence des alcaloïdes et des terpénoïdes.

Nos résultats sont en accord avec l'étude de **Lachkar et al., (2022)**, qui ont révélé la présence des tanins catéchiques, les flavonoïdes, les saponines et les quinones libres, ils ont noté aussi la présence des stérols et l'absence des alcaloïdes. De plus, **Eddahhaoui et al., (2018)** ont détecté la présence des tanins catéchiques et tanins galliques, les flavonoïdes et les saponines, ainsi que l'absence des alcaloïdes. En revanche, **Benmehdi et al., (2012)**, qui ont montré la présence des tanins galliques, les flavonoïdes, les saponines, les composés réducteurs, les terpénoïdes et l'absence des alcaloïdes.

La variation des tests phytochimiques de nos extraits par rapport à la bibliographie peut être liée à plusieurs facteurs en particulier les conditions climatiques, la localisation géographique et la période de la récolte ainsi que les facteurs génétiques et les conditions expérimentales (**Bouchnek et al.,2020**).

Le dosage quantitatif des différents extraits de *Chamaerops humilis* a révélé un taux élevé en flavonoïdes, en polyphénols et en tanins condensés d'ordre de 467,52 µg EC/mg E, 117,56 µg EAG/mg E et 114,22 µg EC/mg E, respectivement, en particulier au niveau de la fraction acétate d'éthyle et au niveau de la fraction n-butanol (436,58 µg EC/mg E, 84,48 µg EAG/mg E et 37,74 µg EC/mg E). L'extrait eau-méthanol par décoction possède un taux considérable en polyphénols, en flavonoïdes et en tanins d'ordre de 74,55 µg EAG/ mg E, 49 µg EC/ mg E et 15,89 µg EC/ mgE, respectivement, par rapport à l'extrait eau-méthanol préparé par macération qui montre des taux faibles en polyphénols (51,39 µg EAG/ mg E), en flavonoïdes (35,9 µg EC/ mg E) et en tanins condensés (0,59 µg EC/ mg E).

D'après les travaux de **Lachkar et al., (2022)**, l'extrait éthanol contient une teneur élevée en flavonoïdes, en polyphénols et en tanins condensés de l'ordre de 457,98 mg QE/g E, 96,99 mg GAG/gE et 50,27 mg CE/gE, respectivement. Dans une autre étude réalisée par **Eddahhaoui et al., (2018)**, révèlent que l'extrait de méthanol présente un taux élevé en polyphénols et en flavonoïdes de l'ordre de 97,74 mg GAG/g E et 39,13 mg QE/g E, respectivement et faible teneur en tanins condensés de l'ordre de 1,97 mg CE /g E. De plus, **Nakhla et al., (2023)**, montrent que l'extrait de méthanol a révélé un taux élevé en polyphénol 116, 209 mg GAE/g de poids sec et une faible teneur en flavonoïdes 2,313 mg GAE/g de poids sec.

La composition et la quantité des métabolites secondaires peuvent être influencer par divers facteurs notamment le temps, la température et la méthode d'extraction ainsi que la polarité de

solvant utilisé (**Ncube et al., 2008**). De plus, plusieurs études ont montré que l'utilisation de solvants organique permet d'extraire un maximum de composés phénoliques (**Trabelsi et al., 2010**)

Les composés phénoliques sont responsables de diverses activités biologiques, dont l'activité antioxydante (**Alvarez-Jubete et al., 2010**), Dans ce cadre, nous avons évaluée l'activité antioxydante des différents extraits de *Chamaerops humilis* en utilisant deux méthodes, le test de piégeage des radicaux libres DPPH et le test de réduction du fer (FRAPP).

Les résultats obtenus concernant la mesure de l'activité antioxydante montre que tous les extraits préparés à partir de *C. humilis* possèdent une activité antioxydante puissante. La fraction acétate d'éthyle a révélé une forte activité antioxydante avec une valeur de IC₅₀ de l'ordre de 8,35 µg/mL par rapport aux autres extraits. Cependant cette activité reste plus faible à celle de l'acide ascorbique (0,39 µg/ mL).

Nos teneurs restent plus importantes que celle enregistrés par **Belhaous et al., (2017)**, qui ont trouvé des valeurs de IC₅₀ de l'ordre de 0,12 ; 0,53 et 1,37 mg/mL pour les extraits acétate d'éthyle, n-butanol et l'extraits aqueux, respectivement. Elles sont également supérieures aux teneurs déterminées par **Gonçalves et al., (2018)**, qui ont enregistré une valeur IC₅₀ de l'ordre de 0,346 mg/mL pour l'extrait eau-méthanol des feuilles *C. humilis*.

Concernant l'activité réductrice du fer, les résultats obtenus ont signalé que la fraction acétate d'éthyle possède une forte activité réductrice du fer avec une valeur de EC₅₀ de l'ordre de 52,31 µg/mL par rapport à la fraction n-butanol et l'extrait eau-méthanol par décoction qui ont enregistré des valeurs de EC₅₀ de l'ordre de 284,11 et 388,15 µg/mL, respectivement. Par contre, l'extrait eau-méthanol par macération n'a pas enregistré une forte activité réductrice du fer. Néanmoins, cette activité reste relativement faible à celle des contrôles positifs l'acide ascorbique (17,51 µg/mL) et le BHA (24,19 µg/).

Nos résultats restent supérieurs aux résultats obtenus par **Belhaous et al., (2017)**, qui ont déterminé des valeurs de EC₅₀ de l'ordre de 0,19 mg/mL pour l'extrait acétate d'éthyle et de 0,62 et 0,90 mg/mL pour les extraits n-butanol et aqueux. Nos résultats sont également supérieurs aux résultats obtenus par **Eddahhaoui et al., (2018)**, où EC₅₀ de l'extrait méthanol des feuilles de *Chamaerops humilis* est de l'ordre de 0,599 mg /mL.

Le pouvoir antioxydant puissant déterminé pour les fractions acétate d'éthyle et n-butanol des feuilles de *Chamaerops humilis* est principalement lié à leur teneur élevée en composés phénoliques notamment les flavonoïdes, et les polyphénols qui sont caractérisés par leurs groupements hydroxyles capables de neutraliser les radicaux libres (**Lachkar et al., 2022b**).

Les composés phénoliques sont des antioxydants très puissants, en raison de leur capacité à neutraliser les radicaux libres et à réduire ou chélater les ions de transition. L'activité antioxydante des flavonoïdes réside dans leur pouvoir à céder un atome d'hydrogène à partir de leur groupement hydroxyle et à capturer les radicaux libres en créant une molécule stable (RH) et un radical flavoxyle (FLO•) moins réactif. Ce dernier subit à une modification de structure par résonance et redistribution des électrons impairs sur le noyau aromatique, produisant des molécules moins réactives par rapport aux radicaux libres (R•) (**Adjdir, 2022**).

Enfin, pour l'activité antidiabétique, nous avons évalué *in vitro* l'effet des quatre extraits de *Chamaerops humilis* sur l'activité de l' α -amylase et la capacité d'adsorption au glucose.

Les résultats obtenus montrent que la fraction acétate d'éthyle possède une activité inhibitrice plus élevée par rapport à la fraction n-butanol avec des valeurs de IC₅₀ de l'ordre de 8,62 et 12,48 $\mu\text{g}/\text{mL}$, respectivement. Plus la valeur de IC₅₀ est faible, plus les extraits testés présentent une activité antidiabétique plus élevée, ce qui nous permet de constater que les extraits des feuilles de *Chamaerops humilis* possèdent une activité antidiabétique considérable.

Les résultats obtenus par **Lachkar et al., (2022b)**, qui ont montré que l'extrait éthanol et l'extrait aqueux (décoction) présentent une forte inhibition de l' α -amylase avec des valeurs de IC₅₀ de 8,90 et 17,81 mg/mL respectivement. Dans une autre étude, **Attaallah et al., (2021)**, révèlent que l'extrait aqueux des racines de *Chamaerops humilis* inhibe l' α -amylase avec une valeur de IC₅₀ de 4,34 mg/mL.

En ce qui concerne le test de la capacité d'adsorption au glucose, les résultats obtenus ont révélé que cette capacité est proportionnelle à la concentration du glucose et la durée incubation, Nous avons remarqué que l'ensemble des extraits des feuilles de *Chamaerops humilis* montrent un taux d'adsorption au glucose considérable et similaire qui varie entre 1,81 et 1,70 mMol/g à 100 mMol du glucose et après 3h d'incubation.

Aucun travail scientifique n'a été réalisé sur l'effet de *Chamaerops humilis* sur la capacité d'adsorption au glucose.

Selon **Lachkar et al., (2022b)**, l'effet hypoglycémiant des extraits de *Chamaerops humilis* pourrait dû à sa teneur en minéraux. En particulier, le potassium, le zinc et le calcium sont essentiels pour améliorer la tolérance au glucose et contribuent indirectement à la gestion du diabète de type 2. De plus, le calcium joue un rôle crucial dans la libération de l'insuline par les cellules β des îlots de Langerhans.

L' α -amylase et l' α -glucosidase sont des enzymes digestives responsables de la dégradation et l'absorption intestinales des sucres, et peuvent être inhibées par des produits naturels tels que les terpénoïdes, les alcaloïdes, les polysaccharides, les composés phénolique et les flavonoïdes. Ces derniers sont les meilleurs inhibiteurs de ces enzymes. L'inhibition de l' α -amylase est fortement influencée par la structure chimique des flavonoïdes, le nombre de cycles et la position de leurs groupes hydroxyles dans la molécule (**Adjdir, 2022**).

Conclusion

Afin de découvrir de nouvelles approches thérapeutiques pour le traitement de différentes affections, notamment le diabète, Nous nous sommes intéressés à une analyse phytochimique qualitative et quantitative des extraits des feuilles de *Chamaerops humilis*, récoltées dans la région de Ain Tallout wilaya de Tlemcen, ainsi qu'à la recherche et à l'évaluation *in vitro* de leurs activités biologiques, en particulier l'activité antioxydante et antidiabétique.

L'analyse phytochimique qualitative a mis en évidence la présence des tanins catéchiques, des flavonoïdes, des composés réducteurs, des saponines et des quinones libres, ainsi que l'absence des terpénoïdes et des alcaloïdes dans les différents extraits de *Chamaerops humilis*. Concernant le dosage des composés phénoliques (les polyphénols totaux, les flavonoïdes et les tanins condensés) les extraits ont révélé la richesse de cette plante en ces composés, qui pourraient être à l'origine de leur activité antioxydante puissante, notamment les fractions acétate d'éthyle et n-butanol. Ainsi que ces deux fractions révèlent une forte activité inhibitrice sur α -amylase avec IC_{50} d'ordre 8,62 et 12,48 $\mu\text{g/mL}$ respectivement et faible effet sur l'adsorption au glucose varie entre 0,73 et 1,81 mM/g.

À la lumière de ces résultats préliminaires, il serait préférable d'approfondir cette étude par la réalisation des recherches qui portent sur :

- ✚ Choix d'autres solvants et d'autres méthodes d'extraction pour améliorer le rendement d'extraction et extraire le maximum des métabolites secondaires.
- ✚ Effectuer des études sur d'autre partie de la plante (fruit, pulpe, racine et les graines).
- ✚ Extraction et identification de nouveaux composés actifs de cette plante à l'aide de techniques d'analyse (CCM; HPLC ; RMN...).
- ✚ Evaluer l'activité antioxydant *in vitro* par d'autre test tels que le test de blanchiment du β -carotène et ORAC (Oxygen Radical Absorbance Activity), et *in vivo* à travers la mesure de l'activité des enzymes antioxydants tels que Superoxyde dismutase et catalase.
- ✚ Evaluer *in vivo* l'effet de ces extraits sur l'hyperglycémie chez les rates diabétiques.
- ✚ Recherche d'autre activité biologiques tels que l'activité antiinflammatoire, l'activité anticancéreuse, l'activité antimicrobienne...
- ✚ Analyser la toxicité de cette plante.

Références bibliographiques

Abbou, F. (2022). Etude phytochimique et évaluation de l'activité antioxydante, antidiabétique et anti-Alzheimer des extraits et des fractions riches en composés phénoliques préparés de *Mentha pulegium* L. et *Santolina chamaecyparissus* L. Thèse de doctorat, Université Abou Bekr Belkaïd, Tlemcen.

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. Thèse de doctorat, Université Abou Bekr Belkaïd, Tlemcen.

Ahmed, S.A, Hassan, H.M, Elghandour, A.H (2015). Comparative investigation of minerals, amino acids, lipoidal contents and general analysis of *Chamaerops humilis* L. organs growing in Egypt. *The Journal of American Science* 11(9):94-100.

Aicha, B., Ahmed, B., Ismail, Y., Lamine, D.M., Tiguirangué, D., Kheira, E., Riad, M., Hamdi, T., & Meriem, K.H. (2019). Chemical composition and mineral contents of leaflets, rachis and fruits of *Chamaerops humilis* L. *Annals: Food Science & Technology* 20(1):142-149.

Aires, A., Marques, E., Carvalho, R., Rosa, E.A.S., & Saavedra M.J. (2013). Evaluation of biological value and appraisal of polyphenols and glucosinolates from organic baby-leaf salads as antioxidants and antimicrobials against important human pathogenic bacteria. *Molecules*, 18: 4651- 4668.

Alvarez-Jubete, L., Wijngaard, H., Arendt, E. K., & Gallagher, E. (2010). Polyphenol composition and in vitro antioxidant activity of amaranth, quinoa buckwheat and wheat as affected by sprouting and baking. *Food chemistry*, 119(2), 770-778.

American Diabetes Association. (2010). Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes care*, 33(Supplement_1), S62-S69.

Atkinson, M. A., Eisenbarth, G. S., & Michels, A. W. (2014). Type 1 diabetes. *The lancet*, 383(9911), 69-82.

Auberval, N. (2010). Prévention du stress oxydant dans le diabète et ses complications par des antioxydants d'origine naturelle (Doctoral dissertation, Strasbourg).

Azzi, R. (2013). Contribution à l'étude de plantes médicinales utilisées dans le traitement traditionnel du diabète sucre dans l'ouest algérien: enquête ethno pharmacologique, analyse

pharmaco-toxicologique de figuier (*ficus carica*) et de coloquinte (*citrullus colocynthis*) chez le rat WISTAR. *Analyse pharmaco-toxicologique de Figuier (Ficus carica) et de coloquinte (Citrullus colocynthis) chez le rat Wistar*. Thèse de doctorat, Université Abou Bekr Belkaïd, Tlemcen.

Baynes, H. W. (2015). Classification, pathophysiology, diagnosis and management of diabetes mellitus. *J diabetes metab*, 6(5), 1-9.

Beaudeau, J. L., Peynet, J., Bonnefont-Rousselot, D., Therond, P., Delattre, J., & Legrand, A. (2006, Novembre). Sources cellulaires des espèces réactives de l'oxygène et de l'azote: Implication dans la transcription et la régulation des gènes. In *Annales pharmaceutiques françaises* (Vol. 64, No. 6, pp. 373-381). Elsevier Masson.

Belhaoues, S. (2018). Étude phytochimique et activités biologiques des extraits de feuilles et de fruits de *Chamaerops humilis L.* Thèse de doctorat. Université Badji Mokhtar-Annaba.

Belhaoues, S., Amri, S., Bensouilah, M., & Seridi, R. (2017). Antioxidant, antibacterial activities and phenolic content of organic fractions obtained from *Chamaerops humilis L.* leaf and fruit. *Int. J. Biosci*, 11, 284-297.

Belkacem, N. (2009). Contribution à l'étude des propriétés antidiabétiques de *Punica granatum L.*(grenadier) chez le rat diabétique (Doctoral dissertation, Tlemcen, Université Abou Bekr Belkaïd. Faculté des Science).

Belkacem, N., Djaziri, R., El-Haci, I. A., Lahfa, F., & Boucherit, K. (2010). Antihyperglycaemic effect of hydroalcoholic extract from *Punica granatum L.* peels in normal and streptozotocin-induced diabetic rats and its potent α -amylase inhibitory. *Der Pharma* .

BELKHIRAT, A. A., & TAZERKOUNET, A. (2022). *Etude floristique et syntaxonomique des groupements de Chamaerops humilis dans la région de Tiaret* (Doctoral dissertation, Université Ibn Khaldoun-Tiaret-).

Benariba, N. (2013). Contribution à l'étude de l'effet antidiabétique des extraits de graines de *Citrullus colocynthis* Chez le rat Wistar rendu diabétique par la streptozotocine. Thèse de doctorat, Université de Tlemcen.

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

Benfeled, P (1955), Amylase, and. *Meth. Enzymology*; 1: 149-158.

Benmehdi, H., Hasnaoui, O., Benali, O., & Salhi, F. (2012). Phytochemical investigation of leaves and fruits of *Chamaerops humilis L.* *Journal of Materials and Environmental Science* 3(2):320-337.

Bensakhria, A. (2018). Toxicologie Générale : Le stress oxydatif. Chapitre IX, p 70- 86.

Benzie, I.F.F., & Strain, J.J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: The FRAP assay, *Analytical Biochemistry*, 239: 70–76.

Betteridge, D. J. (2000). What is oxidative stress?. *Metabolism: clinical and experimental*, 49 (2 Suppl 1), 3–8.

Boizot, N., & Charpentier, J. (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. *Méthodes et outils pour l'observation et l'évaluation des milieux forestiers, prairiaux et aquatique*, INRA ,79-82.

Bouchenak, O., Yahiaoui, K., Benhabyles, N., Laoufi, R., Toubal, S., El Haddad, D., ... & Arab, K. (2020). Criblage phytochimique et évaluation du pouvoir antioxydant des feuilles de *Myrtus Communis L.* et *Rhamnus Alaternus L.*

Buchholz, T., & Melzig, M. F. (2016). Medicinal plants traditionally used for treatment of obesity and diabetes mellitus—screening for pancreatic lipase and α -Amylase inhibition. *Phytotherapy research*, 30(2), 260-266.

Burneton, J. (2009). Pharmacognosie : phytochimie, plantes médicinales.4^{ème} Ed Paris, Lavoisier Tech & Doc.

Cadi, H.E, Bouzidi ,H.E, Selama, G, Ramdan B, Majdoub YOE, Alibrando F, Arena K, Lovillo MP, Brigui J, Mondello L (2021). Elucidation of antioxidant compounds in Moroccan *Chamaerops humilis L.* fruits by GC–MS and HPLC–MS techniques. *Molecules* 26(9):2710.

- Chaouche, T.M. (2014).** Contribution à l'étude des activités antioxydantes et antimicrobiennes des extraits de quelques plantes médicinales. Thèse de doctorat. Université Abou Bekr belkaid Tlemcen.
- Coelho, J.P., Veiga, J.G., Elvas-Leitão, R., Brigas, A.F., Dias, A.M., & Oliveira, M.C., (2017).** Composition and *in vitro* antioxidants activity of *Chamaerops humilis* L. IEEE 5th Portuguese Meeting on Bioengineering (ENBENG) 1-4.
- Coutant, R., & NICOLINO, M. (2019).** Diabétologie de l'enfant. Elsevier Health Sciences.
- Da Silva, D.H.A., Barbosa, H.d.M., Beltrão, R.L.d.A., Silva, C.d.F.O., Moura, C.A., Castro, R.N., Almeida, J.R.G.d.S., Gomes, D.A., & Lira, E.C.(2021).** Hexane Fraction from Brazilian *Morus nigra* Leaves Improved Oral Carbohydrate Tolerance and Inhibits α -Amylase and α -Glucosidase Activities in Diabetic Mice. *Nat. Prod. Res.* 2021, 35, 4785–4788.
- Daneman, D. (2006).** Type 1 diabetes. *The Lancet*, 367(9513), 847-858.
- Daoudi, A., Sabiri, M., Bammou, M., Zair, T., Ibijbijen, J., & Nassiri, L. (2015).** Valorisation des extraits de trois espèces du genre *Urtica*: *Urtica urens* L., *Urtica membranacea* Poiret et *Urtica pilulifera* L. *Journal of Applied Biosciences*, 87, 8094-8104.
- Dawood, D.H, Elmongy, M.S, Negm A, Taher, M.A. (2020).** Extraction and chemical characterization of novel water-soluble polysaccharides from two palm species and their antioxidant and antitumor activities. *Egyptian Journal of Basic and Applied Sciences* 7(1):141-158.
- De Souza, P. M., & de Oliveira Magalhães, P. (2010).** Application of microbial α -amylase in industry—A review. *Brazilian journal of microbiology*, 41(4), 850.
- Deore S. L., Khadabadi S. S., Baviskar B.A., Khangenbam R.A., Koli U.S., Daga N.P., Gadail P.A., and Jain P.A., (2008).** *In vitro* antioxidant activity and phenolic content of *Croton caudatum*. *International Journal of Chemistry Technology Research*; 1 (2): 174-176.
- Desmier, T. (2016).** *Les antioxydants de nos jours: définition et applications* (Doctoral dissertation).

- Di Carlo, G., Mascolo, N., Izzo, A. A., & Capasso, F. (1999).** Flavonoids: old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. *Life sciences*, 65(4), 337-353.
- Durand, D., Damon, M., & Gobert, M. (2013).** Le stress oxydant chez les animaux de rente: principes généraux. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, 48(5), 218-224.
- Eddahhaoui, F.Z., Boudalia, M., Harhar, H., Chahboun, N., Tabyaoui, M., Guenbour, A., Zarrouk, A., & Bellaouchou, A. (2022).** Effect of the extraction technique on the bioactive compounds and the antioxidant capacity of the *Chamaerops humilis* L. fruit (pulp and seeds). *Chemical Data Collections* 40:100882.
- Embuscado, M.E. (2015).** Épices et herbes : sources naturelles d'antioxydants – une mini-revue. *Journal of Functional Foods*, 18, 811–819.
- Farhat, F. (2015).** Fonction mitochondriale et espèces réactives dérivées de l'oxygène: effets du genre et de l'entraînement en endurance chez le rat Wistar et l'anguille européenne (Doctoral dissertation, Brest).
- Favier, A. (2003).** Le stress oxydant Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique, *Actualité en Chimie*, 108-115
- Garcia-Castano, J.L., Terrab, A., Ortiz, M.A., Stuessy, T.F., Talavera, S. (2014).** Patterns of phylogeography and vicariance of *Chamaerops humilis* L. (Palmae). *Turkish Journal of Botany* 38(6):1132-1146.
- Gardès-Albert, M., Bonnefont-Rousselot, D., Abedinzadeh, Z., & Jore, D. (2003).** Espèces réactives de l'oxygène. *L'actualité chimique*, 91.
- Genuth, S.M, Palmer, J.P., Nathan, D.M. (2018).** Classification and Diagnosis of Diabetes. In: Cowie CC, Casagrande SS, Menke A, et al., editors. *Diabetes in America*. 3rd edition. Bethesda (MD): National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases (US). CHAPTER 1. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK568014/>.
- Gonçalves, S., Medronho, J., Moreira, E., Grosso, C., Andrade, P.B., Valentão, P., & Romano, A. (2018).** Bioactive properties of *Chamaerops humilis* L.: Antioxidant and enzyme inhibiting activities of extracts from leaves, seeds, pulp and peel. *3 Biotech* 8:1-8.

- Goudable , J., & Favier, A. (1997).** Radicaux libres oxygénés et antioxydants. *Nutrition Clinique et Métabolisme*, 11(2), 115-120.
- Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J.O., Charlier, C., & Chapelle, J.P. (2007).** Le stress oxydatif. *Revue Médicale Liège* ; 62 : 628-638.
- Hamma, S. A., Nouri, N., Fergani, I., Lekhal, A., Cheriet, S., Abadi, N., ...& Benlatreche, C. (2015).** Biologie des espèces réactives et Stress oxydant. *Journal algérien de médecine*, 23(2), 48-53.
- Harborne, J.B. (1998).** Phytochemical methods: A guide to modern techniques of plant analysis. Chapman & hall thomson science (uk). London, 203-234.
- Hasnaoui, O., Bouazza, M., Benali, O., & Thinon, M. (2011).** Ethno botanic study of *Chamaerops humilis L. var. Argentea Andre* (Arecaceae) in Western Algeria. *Agricultural Journal* 6(1): 1-6.
- Hubert, A.J. (2006).** Caractérisation biochimique et propriétés biologiques des micronutriments du germe de Soja. Etude des voies de sa valorisation en nutrition et santé humaine. Thèse de doctorat de l'institut national polytechnique de Toulouse, école doctoral des sciences écologiques, vétérinaires, agronomiques et bioingénieries, spécialité : qualité et sécurité des aliments, p 174.
- Jean –Marie Reimund. (2002).** Stress oxydant au cours des syndromes inflammatoires chroniques. *Nutrition clinique et métabolisme*, 16 (4), 275-287.
- Kalinovskii, A. P., Sintsova, O. V., Gladkikh, I. N., & Leychenko, E. V. (2023).** Natural Inhibitors of Mammalian α -Amylases as Promising Drugs for the Treatment of Metabolic Diseases. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(22), 16514.
- Kanonn, K., Belyagoubi-Benhammou, N., Ghembaza, N., & Atik Bekkara, F. (2014).** Etude comparatives sur les activités antioxydantes des extraits de feuilles, de tiges et de baies de *Myrurus communis L.* *International Food Research Journal* 21(5) : 1957-1962.
- Karagözler, A., Erdag C.S., & ÇalmazEmek Y. (2008).** Antioxydant activity and proline content of leaf extracts from *Dorystoechas hastate*. *Food Chemistry*, 111:400-407.

Kashtoh, H., & Baek, K. H. (2023). New insights into the Latest advancement in α -amylase inhibitors of plant origin with anti-diabetic effects. *Plants*, 12(16), 2944.

Kebieche, M. (2009). Activité biochimique des extraits flavonoïdiques de la plante *Ranunculus repens* L.: effet sur le diabète expérimental et l'hépatotoxicité induite par l'Epirubicine. *Biochimie*, These de Doctorat, Université Mentouri Constantine.

Kebièche, M., Lakroun, Z., Mraïhi, Z., & Soulimani, R. (2011). Effet antidiabétogène et cytoprotecteur de l'extrait butanolique de *Ranunculus repens* L. et de la quercétine sur un modèle expérimental de diabète alloxanique. *Phytothérapie*, 9(5), 274-282.

Keskes, H., Mnafigui, K., Hamden, K., Damak, M., El Feki, A., & Allouche, N. (2014). In vitro anti-diabetic, anti-obesity and antioxidant proprieties of *Juniperus phoenicea* L. leaves from Tunisia. *Asian Pacific journal of tropical biomedicine*, 4, S649-S655.

Khacheba, I., Djeridane, A., & Yousfi, M. (2014). Twenty Traditional Algerian Plants Used in Diabetes Therapy as Strong Inhibitors of α -Amylase Activity. *International Journal of Carbohydrate Chemistry*, 2014(1), 287281.

Khouchlaa, A. (2023). Utilisation ethnomédicale, phytochimie, pharmacologie et toxicologie de *Chamaerops humilis* : une revue. *Notulae Scientia Biologicae*, 15 (3), 11630.

Khoudali, S., Essaqui, A., Zertoubi, M., Azzi, M., & Benaissa, M. (2014). Study of antioxidant activity and anticorrosion action of the methanol extract of dwarf palm leaves (*Chamaerops humilis* L.) from Morocco [Étude de l'activité antioxydante et de l'action anti corrosion de l'extrait méthanolique des feuilles du palmier nain (*Chamaerops humilis* L.) du maroc]. *Journal of Materials and Environmental Science* 5(3):887-898.

Kumari, A., Singh, K., & M Kayastha, A. (2012). α -Amylase: General properties, mechanism and biotechnological applications-A review. *Current Biotechnology*, 1(1), 98-107.

Lachkar, N., Lamchouri, F., & Toufik., H. (2022). Ethnopharmacological survey, mineral and chemical content, in vitro antioxidant, and antibacterial activities of aqueous and organic extracts of *Chamaerops humilis* L. var. *Argentea* Andre leaves. *BioMed Research International*, 2022, 1-27.

Lachkar, N., Lamchouri, F., & Toufik, H. (2022b). In Vitro Antimitotic and Hypoglycemic Effect Study and Acute Toxicity Assessment of the Aqueous and Organic Extracts of *Chamaerops humilis* L. var. *argentea* Andre. *BioMed Research International*, 2022, 1–13. Lavoisier Tech & Doc.

Laoufi, H., Benariba, N., Adjdir, S., & Djaziri, R. (2017). In vitro α -amylase and α -glucosidase inhibitory activity of *Ononis angustissima* extracts. *Journal of applied pharmaceutical science*, 7(2), 191-198.

Malik, M. S., Azam, M., & Basra, M. A. R. (2020). Impact of natural antioxidants on biological systems. *Life Sciences*, 4(2).

Medjati, N. (2014). Contribution à l'étude biologique et phytoécologique du *Chamaerops humilis* L., dans la partie occidentale de l'Algérie. Thèse de doctorat. Université Abou Bekr Belkaïd, Tlemcen.

Medjati, N., Hasnaoui, O., Babali, B., & Hachemi, N. (2019). Ethnobotanical investigation of “*Chamaerops humilis*” in the area of Beni Snous (Western of Algeria). *Mediterranean Botany*, 40(2), 177–184.

Miguel, M., Bouchmaaa, N., Aazza, S., Gaamoussi, F., & Lyoussi, B. (2014). Antioxidant, anti-inflammatory and anti-acetylcholinesterase activities of eleven extracts of Moroccan plants. *Fresenius Environmental Bulletin* 23:1-14

Mohammed, M., & Fouad, M. (2022). Chemical and biological review on various classes of secondary metabolites and biological activities of Arecaceae (2021-2006). *Journal of advanced Biomedical and Pharmaceutical Sciences*, 5(3), 113-150.

Mokbli, S., Sbihi, H. M., Nehdi, I. A., Romdhani-Younes, M., Tan, C. P., & Al-Resayes, S. I. (2018). Characteristics of *Chamaerops humilis* L. var. *humilis* seed oil and study of the oxidative stability by blending with soybean oil. *Journal of food science and technology*, 55(6), 2170–2179.

Monnier, L. (2014). Diabétologie. 2e édition. Paris, 464 Page (3; 4; 5).

- Mussatto, S. I., Ballesteros, L. F., Martins, S., & Teixeira, J. A. (2011).** Extraction of antioxidant phenolic compounds from spent coffee grounds. *Separation and purification technology*, 83, 173-179.
- Ncube, N. S., Afolayan, A. J., & Okoh, A. I. (2008).** Assessment techniques of antimicrobial properties of natural compounds of plant origin: current methods and future trends. *African journal of biotechnology*, 7(12).
- Nehdi, I. A., Mokbli, S., Sbihi, H., Tan, C. P., & Al-Resayes, S. I. (2014).** *Chamaerops humilis* L. var. *argentea* André date palm seed oil: A potential dietetic plant product. *Journal of food science* 79 (4) : C534-C539.
- Nekhla, H., El Ghadraoui, L., Ousaaïd, D., Harrach, A., Tarmoun, K., Squalli, W., & Mansouri, I. (2021).** Ethnobotanical survey of *Chamaerops humilis* L. in the rural commune of Sidi Youssef Ben Ahmed, Sefrou Province, Morocco. *Tropical Journal of Natural Product Research* 5(9):1586-1590.
- Nield, L., Moore, H., Hooper, L., Cruickshank, K., Vyas, A., Whittaker, V., & Summerbell, C. D. (2009).** Dietary advice for treatment of type 2 diabetes mellitus in adults. *Cochrane database of systematic reviews*, (3).
- Olaokun, O. O., Manonga, S. A., Zubair, M. S., Maulana, S., & Mkolo, N. M. (2022).** Molecular Docking and Molecular Dynamics Studies of Antidiabetic Phenolic Compound Isolated from Leaf Extract of *Englerophytum magalismontanum* (Sond.) TD Penn. *Molecules*, 27(10), 3175.
- Pathak, V., Pathak, N. M., O'Neill, C. L., Guduric-Fuchs, J., & Medina, R. J. (2019).** Therapies for type 1 diabetes: current scenario and future perspectives. *Clinical Medicine Insights: Endocrinology and Diabetes*, 12, 1179551419844521.
- Pham-Huy, L. A., He, H., & Pham-Huy, C. (2008).** Free radicals, antioxidants in disease and health. *International journal of biomedical science: IJBS*, 4(2), 89.
- Pisoschi, A. M., Pop, A., Iordache, F., Stanca, L., Predoi, G., & Serban, A. I. (2021).** Oxidative stress mitigation by antioxidants - An overview on their chemistry and influences on health status. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 209(112891), 112891.

Popovici, C., Saykova, I., & Tylkowski, B. (2009). Evaluation de l'activité antioxydante des composés phénoliques. Roginsky V. et Lissi E.A., (2005). Review of methods to determine chainbreaking antioxidant activity in food. *Food Chemistry*. 92: 235-254. Méthode de dosage de l'activité antioxydante par la réactivité avec le radical libre DPPH. *Revue de Génie Industriel*. 4: 25-39.

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.

Rezaire, A. (2012). Activité anti-oxydante et caractérisation phénolique du fruit de palmier amazonien *Oenocarpus bataua* (patawa). Thèse de doctorat. Université des Antilles et de la Guyane.

Roussel, T. N. G., Laure, N. J., & Enyong, O. J. (2020). Antioxidant and Glucose Lowering Effects of Hydroethanolic Extract of *Baillonella toxisperma* Pulp. *Journal of Food Research*, 9(2).

SAIDI, I. (2019). Caractérisation et valorisation d'une plante de la famille des fabaceae: *Gleditsia triacanthos* de la région de Sidi Bel Abbès: Extraction des substances bioactives (Doctoral dissertation).

San-Miguel, A., & Martin-Gil, F. J. (2009). Importancia de las especies reactivas al oxígeno (radicales libres) y los antioxidantes en clínica. *Gaceta Médica de Bilbao*, 106(3), 106-113.

Servais, S. (2004). Altérations mitochondriales et stress oxydant pulmonaire en réponse à l'ozone: effets de l'âge et d'une supplémentation en oméga-3 (Doctoral dissertation, Université Claude Bernard-Lyon I).

Sharifi-Rad, M., Anil Kumar, N. V., Zucca, P., Varoni, E. M., Dini, L., Panzarini, E., & Sharifi-Rad, J. (2020). Lifestyle, oxidative stress, and antioxidants: back and forth in the pathophysiology of chronic diseases. *Frontiers in physiology*, 11, 694.

Stahl, W., & Sies, H. (2003). Antioxidant activity of carotenoids. *Molecular aspects of medicine*, 24(6), 345-351.

Sun, B., Ricardo-da-Silva, J.M., & Isabel, S. (1998). Critical factors of vanillin assay for catechins and proanthocyanidins. *J. of Agriculture and Food Chemistry* ; 46 : 4267-4274.

- Taysi, S., Tascan, A. S., Ugur, M. G., & Demir, M. (2019).** Radicals, oxidative/nitrosative stress and preeclampsia. *Mini reviews in medicinal chemistry*, 19(3), 178-193.
- Tessier, F., & Marconnet, P. (1995).** Radicaux libres, systèmes antioxydants et exercice. *Science & sports*, 10(1), 1-13.
- Tiwari, S. P., Srivastava, R., Singh, C. S., Shukla, K., Singh, R. K., Singh, P., ... & Sharma, R. (2015).** Amylases: an overview with special reference to alpha amylase. *J Global Biosci*, 4(1), 1886-1901.
- Trabelsi, N., Megdiche, W., Ksouri, R., Falleh, H., Oueslati, S., Soumaya, B., ... & Abdelly, C. (2010).** Solvent effects on phenolic contents and biological activities of the halophyte *Limoniastrum monopetalum* leaves. *LWT-Food Science and Technology*, 43(4), 632-639.
- Trease G. E., & Evans, W. C. (1989).** Pharmacognosy (13th edn). BailliereTindall, London, 176-180.
- Weidinger, A., & Kozlov, A. V. (2015).** Biological activities of reactive oxygen and nitrogen species: oxidative stress versus signal transduction. *Biomolecules*, 5(2), 472-484.
- Yao, G., Zhang, Y. Q., Barrett, C., Xue, B., Bellot, S., Baker, W. J., & Ge, X. J. (2023b).** A plastid phylogenomic framework for the palm family (Arecaceae). *BMC Biology*, 21(1).
- Zhishen, J., Mengcheng, T., & Jianming, W. (1999).** The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry* ; 64 : 555-559.