



République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة أبو بكر بلقايد - تلمسان
Université ABOU BEKR BELKAID – TLEMEN
كلية علوم الطبيعة والحياة، وعلوم الأرض والكون
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, et Sciences de la Terre et de
l'Univers
Département de BIOLOGIE

MÉMOIRE

Présenté par

Mlle Bouderbala Hanane

Mlle Boukais Rania

En vue de l'obtention du diplôme de master en

Sciences biologiques

Option : **Biochimie Appliquée**

Thème

*Étude de l'utilisation combinée des extraits de *Berberis vulgaris* et de médicaments antidiabétiques synthétiques sur l'effet inhibiteur de l'alpha amylase*

Devant le jury :

Président	Mr AZZI R.	Professeur	Université de Tlemcen
Examineur	MR CHAOUICHE M.T.	Maître de conférences A	Université de Tlemcen
Promotrice	Mlle MEZOUAR D.	Maître de conférences A	Université de Tlemcen

Année universitaire : 2023– 2024



Dédicaces

À ma très chère mère Zahra Zuoi que je fasse ou que je dise, je ne saurais point te remercier comme il se doit. Ton affection me couvre, ta bienveillance me guide et ta présence à mes côtés a toujours été ma source de force pour affronter les différents obstacles.

À mon très cher père Rahmoun Tu as toujours été à mes côtés pour me soutenir et m'encourager.

Que ce travail traduit ma gratitude et mon affection

À mes frères que j'adore : Mohammed Seif eddine et Abderrezak

À mes belles sœurs : Sara et Kawter .

À mes amies : Amira ,Meriem , Amel et kawter .

Puisse Dieu vous donner santé, bonheur, courage et surtout réussite.



Dédicaces

Je dédie ce modeste travail

À

*Ma chère maman et mon père leur soutien et pour tous les efforts consentis
pour mon éducation,*

À

*Mon père Lakhdar et ma mère Houria qui consacrent leurs vies pour
Moi.*

À

Mes frères et mes sœurs Hakim, Meriem, Sihem.

À

*Mes chères amies : Amer berrahou Meriem, Guerni Nesrine qui m'ont
toujours soutenue et encouragée*

Au cours de la réalisation de ce travail



Remerciements

On remercie dieu Allah le tout puissant de nous avoir donné la santé et la volonté d'entamer et de terminer ce mémoire.

Nous tenons également à remercier notre encadreur Mlle Mezouar Dounia pour avoir me diriger dans ce travail avec bienveillance, patience, pour les efforts et les conseils qu'elle a fourni

Nous tenons vivement à remercier les membres du jury qui ont accepté de juger ce travail : Mr Azzi Rachid et Mr Chaouche Mohammed Tarik

Nos remerciements s'adressent également à tous nos enseignants du département de Biologie, en particulier Mlle Benariba Nabila

Nos remerciements s'adressent à la doctorante Mimoun Amira pour son aide pratique et son soutien moral et ses encouragements

المخلص

قيمت دراستنا النشاط المثبط على نشاط إنزيم ألفا-أميلاز لمستخلصات لحاء نبات الغريس، وهو نبات طبي تقليدي. كما استكشفنا أيضًا تأثيرها المشترك مع الأكاربوز، وهو دواء مسوق مضاد لمرض السكري. تم استخلاص لحاء جذر هذا النبات عن طريق النقع بالماء المقطر والهيدروميثانول (70/30) (ح/ح). كشف الفحص الكيميائي النباتي لمستخلصات نبات الغريس عن وجود قلويدات و عفص ومركبات مختزلة وغياب تام للكينونات الحرة.

تم تسجيل مستويات عالية من إجمالي البوليفينول في مستخلص الهيدروميثانول (463.35 ميكروغرام مكافئ حمض الغاليك لكل مليغرام من المستخلص). من ناحية أخرى، أظهر المستخلص المائي محتوى عالٍ من الفلافونويد (169.75 ميكروغرام مكافئ الكاتشين لكل مليغرام من المستخلص). وفقًا لنتائج النشاط المثبط الأنزيمي، تم الحصول على أعلى نشاط بواسطة مستخلص الهيدروميثانول لنبات الغريس (1.23 مليغرام /مل)، يليه المستخلص المائي (1.29 مليغرام /مل)، مقارنة بالأكاربوز (0.18 مليغرام /مل). أظهر اختبار تركيبة مستخلصات الغريس مع الأكاربوز، المستخدم في العلاج المضاد لمرض السكري، معدلات تثبيط تصل إلى 70%. تم حساب مؤشرات التركيبة وأظهرت التركيبات تأثيرًا تآزريًا. تحتوي مستخلصات هذا النبات على نشاط مثبط جيد لإنزيم ألفا-أميلاز. وقد يوفر ذلك استراتيجيات علاجية فعالة للحد من ارتفاع السكر في الدم المرتبط بمرحلة ما بعد السكري وآثاره.

الكلمات الرئيسية: نبات الغريس، مستخلص الهيدروميثانول، مستخلص مائي، إنزيم ألفا-أميلاز، تركيبة

Résumé

Notre étude s'est intéressée à évaluer l'activité inhibitrice des extraits d'écorce de *Berberis vulgaris*, une plante médicinale traditionnelle, sur l'activité de l'alpha-amylase. Nous avons également exploré leur effet combiné avec l'acarbose, un médicament antidiabétique commercialisé. La partie d'écorce de racine de cette plante a été extraite par macération, avec de l'eau distillée et l'eau-méthanol (30 : 70) (v : v).

L'examen phytochimique réalisé sur les extraits de *Berberis vulgaris* a révélé la présence des alcaloïdes, des tanins et des composés réducteurs et l'absence totale des quinones libres.

Les teneurs élevées en polyphénols totaux sont enregistrés pour l'extrait hydrométhanolique (463,35µg EAG/mg E). Tandis que, l'extrait aqueux a montré un taux élevé en flavonoïdes (169,75 µg EC/mg E).

D'après les résultats de l'activité inhibitrice enzymatique, l'activité élevée a été obtenue par l'extrait hydrométhanolique de *Berberis vulgaris* avec une valeur de CI₅₀ de 1,23 mg/ml, suivi par l'extrait aqueux (1,29 mg/ml), par rapport à l'acarbose (standard) qui a présenté une valeur de CI₅₀ de 0,18 mg/ml.

Le test de combinaison des extraits de *Berberis vulgaris* avec l'acarbose, utilisé en thérapeutique antidiabétique, a montré des taux d'inhibition atteignant 70 %. Les indices de combinaison (IC) ont été calculés et les combinaisons montrent un effet synergique aux IC₅₀ et IC₆₀.

Les extraits de cette plante présentent une bonne activité inhibitrice de l'α-amylase. Cela peut offrir des stratégies thérapeutiques efficaces pour réduire l'hyperglycémie post-diabétique et ses effets.

Mots clés : *Berberis vulgaris*, extrait hydrométhanolique, extrait aqueux, α-amylase, combinaison

Abstract

Our study aims to evaluate the inhibitory activity of root bark extracts from *Berberis vulgaris*, a traditional medicinal plant, on alpha-amylase activity. We have also explored their combined effect with acarbose, a commercially anti-diabetic drug. The root bark part of this plant was extracted by maceration with distilled water and water-methanol (30:70) (v:v).

Phytochemical examination of *Berberis vulgaris* extracts revealed the presence of alkaloids, tannins and reducing compounds, and the total absence of free quinones.

The highest levels of total polyphenols are recorded in hydromethanolic extract (463.35 μ gEAG/mg). While the highest levels of flavonoids were obtained for aqueous extract (169.75 μ gEC/mg).

According to the enzymatic inhibitory activity results, the highest activity was obtained by the hydromethanolic extract of *Berberis vulgaris* with an IC₅₀ value of 1.23 mg/ml, followed by the aqueous extract (1.29 mg/ml), compared to acarbose (standard) which presented an IC₅₀ value of 0.18 mg/ml.

Combination assay of *Berberis vulgaris* extracts with acarbose, used in anti-diabetic therapy, showed inhibition rates of over 70%. Combination indexes (CI) were calculated, and the combinations showed a synergistic effect at CI₅₀ and CI₆₀.

Keywords: *Berberis vulgaris*, hydromethanolic extract, aqueous extract, α -amylase, combination

Table des matières

Introduction générale	1
Partie bibliographique	
I. Diabète	4
1. Définition	4
2. Classification du diabète.....	5
3. Les types de diabète	5
4. Les signes et symptômes du diabète	6
5. Complications du diabète	7
6. Traitement du diabète.....	7
6.1.Traitement non médicamenteux	7
6.1.1. Régime alimentaire	7
6.1.2. Activités physiques	8
6.1.3. Traitement traditionnel	8
6.2 . Traitement médicamenteux	9
7. Alpha amylase	10
7.1 Définition	10
7.2. Structure de l'alpha amylase	11
7.3 Inhibition de l'alpha amylase.....	12
II. .Plante étudiée : Berberis vulgaris	13
1. Situation botanique	13
2. Description botanique	13
3. Répartition géographique	14
4. Composition chimiques	14
5. Utilisation traditionnelle	15
6. Effet pharmacologie	16
Matériel et méthodes	18
Étude phytochimique	18
1. Matériel végétal	18

2. Préparation des extraits aqueux 1	19
3. Préparation des extraits hydrométhanolique	19
4. Détermination des rendements	19
5. Tests phytochimiques	20
5.1. Flavonoïdes : Réaction à la cyanidine	20
5.2. Tanins	20
5.3. Quinoneslibres	20
5.4. Terpenoïdes.....	20
5.5. Saponines.....	20
5.6. Composés réducteurs	20
Les dosages des composés phénoliques	21
6.1. Dosage des polyphénols totaux	21
6.2. Dosage des flavonoïdes	21
II . Évaluation de l'effet inhibiteur des extraits et acarbose vis-à-vis de l'alpha amylase.....	22
1. Préparation des solutions	22
1.1.Solution de tampon phosphate (0.02 M, pH 6.9)	22
1.2.Solution d'amidon soluble (substrat)	22
1.3.Réactif de l'acide 3,5-dinitrosalicylique DNSA	22
1.4.Solution d'extraits	23
1.5.Solution échantillon d' α -amylase	23
1.6.Solution d'acarbose	23
2. Mode opératoire	23
3. Test de combinaisons	24
Résultats et discussion	26
I. Études phytochimique	26
1. Rendement d'extraction	26
2. Tests phytochimiques	26
3. Dosage des composés phénoliques	28
II. Évaluation de l'effet inhibiteur des extraits et acarbose vis-à-vis de l'alpha amylase	30

Conclusion générale	35
Références bibliographiques	41

Liste des figures

Figure 01 : structure de alpha amylase

Figure 02 : Fruits de *Berberis vulgaris*

Figure 03 : Ecorces des racines de *Berberis vulgaris*

Figure 04 : Rendement en extrait brut aqueux et hydrométhanolique de *Berberis vulgaris*

Figure 05 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols

Figure 06 : Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des flavonoïdes

Figure 07 : Estimation des concentrations en polyphénols et en flavonoïdes des deux extraits aqueux et hydrométhanolique

Figure 08 : Courbe du pourcentage d'inhibition en fonction des différentes concentrations de l'extrait hydrométhanolique macéré

Figure 09 : Courbe du pourcentage d'inhibition en fonction des différentes concentrations de l'extrait aqueux macéré

Figure 10 : Courbe du pourcentage d'inhibition en fonction des différentes concentrations de l'acarbose

Figure 11 : Effet de la combinaison de l'extrait aqueux avec l'acarbose sur l'inhibition de l'activité de l' α -amylase

Figure 12 : Effet de la combinaison de l'extrait hydrométhanolique avec l'acarbose sur l'inhibition de l'activité de l' α -amylase

Liste des tableaux

Tableau 01 : Critères de diagnostics du diabète

Tableau 02 : Classification de diabète sucré

Tableau 03 : Compositions chimiques de *Berberis vulgaris*

Tableau 04 : Disposition des proportions de la combinaison des extraits de *B. vulgaris* avec l'acarbose

Tableau 05 : Résultats de l'extraction aqueuse et hydrométhanolique des écorces de racine de *Berberis vulgaris* L

Tableau 06 : Résultats des tests phytochimiques réalisés sur les écorces de racines de *B. vulgaris*

Tableau 07 : Résultats du dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes totaux dans les extraits de *Berberis vulgaris* L

Tableau 08 : Valeurs de la CI_{50} des extraits de *B. vulgaris* L et de l'acarbose

Tableau 09 : Indices de combinaison des extraits bruts de *Berberis vulgaris* et de l'acarbose

Liste des abréviations

ADA : Association Américaine du diabète

BaY g 5421 : Bayer glucobay 5421

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

DNSA : Acide 3,5-dinitrosalicylique

DSG : Diabète gestational

HbA1c : Hémoglobine glyquée A1c

MET : Équivalent métabolique

OGTT : oral glucose tolerance test

µgEC/g : Microgramme équivalent catéchine par milligramme de la matière végétale sèche

µgEAG/g : Microgramme équivalent acide gallique par milligramme de la matière végétale sèche

Introduction générale

Le diabète est un problème de santé publique majeur touchant plus de 400 millions de personnes dans le monde. Les tentatives pour le traiter efficacement ont évolué avec le temps, combinant les approches pharmacologiques et non pharmacologiques. La gestion du diabète repose sur l'autogestion, incluant régime alimentaire et l'exercice, ainsi que des traitements pharmacologiques tels que les antihyperglycémiantes oraux, les phytoconstituants et les produits combinés (**Khursheed et al 2019**).

Pour réduire l'hyperglycémie, une approche thérapeutique consiste à ralentir la digestion et l'absorption des enzymes qui décomposent les glucides dans le système digestif, comme l' α -amylase et l' α -glucosidase. En inhibant ces enzymes, on peut limiter l'augmentation de la glycémie après les repas riches en glucides en retardant le processus de décomposition et d'absorption des glucides. Des inhibiteurs naturels de l'amylase et de la glucosidase, provenant de sources végétales, ont été identifiés comme des options plus sûres pour atteindre cet objectif (**khacheba et al 2014**).

Les plantes ont été utilisées depuis l'Antiquité pour leurs propriétés médicinales, notamment grâce à des métabolites secondaires comme les polyphénols végétaux, tels que les flavonoïdes, reconnus pour leurs effets anti-inflammatoires, inhibiteurs d'enzymes et antioxydants. Les plantes médicinales traditionnellement utilisées pour traiter l'hyperglycémie suscitent un intérêt croissant en raison de leurs propriétés thérapeutiques, de leur efficacité, de leurs effets secondaires limités et de leur coût abordable. Les recherches actuelles explorent ces plantes pour découvrir de nouveaux médicaments thérapeutiques (**khacheba et al 2014**).

Plusieurs recherches montrent que *B. vulgaris* est riche en diverses substances phytochimiques tels que l'acide ascorbique, la vitamine K, des triterpénoïdes, des composés phénoliques et des alcaloïdes, ce qui lui confère des propriétés biologiques notamment antidiabétiques (**Rahimi-Madiseh et al 2017**).

Notre étude est portée à évaluer l'effet inhibiteur des extraits bruts de l'écorce de racine de *B. vulgaris* L sur l'activité inhibitrice de l' α -amylase.

Cette étude vise à investiguer le potentiel des plantes médicinales, seules, et en combinaison avec les médicaments antidiabétiques existants, pour améliorer le traitement du diabète en ciblant l'enzyme alpha-amylase :

- Rechercher les composés phytochimiques des extraits de la plante médicinale qui pourraient être responsable de leur activité anti- α -amylase ;
- Déterminer l'effet inhibiteur individuel des extraits de la plante et du médicament antidiabétique synthétique sur l' α -amylase ;
- Evaluer l'effet synergique ou antagoniste de la combinaison des extraits de la plante et du médicament antidiabétique synthétique sur l'inhibition de l' α -amylase.

Partie bibliographique

Chapitre 1 : Diabète sucré

1. Introduction

Le diabète sucré est un problème de santé mondial croissant, qui touche des millions de personnes. Il survient lorsque le corps ne peut pas contrôler le taux de sucre dans le sang en raison d'une production insuffisante d'insuline ou d'une résistance. Cela peut entraîner de graves complications comme la cécité, les maladies cardiaques et les amputations. Il en existe trois types principaux : type 1 (destruction auto-immune des cellules productrices d'insuline), type 2 (le plus fréquent, lié à la génétique et au mode de vie) et gestationnel (pendant la grossesse). Un diagnostic précoce est crucial pour prévenir les complications. Les symptômes comprennent des mictions fréquentes, la soif, la faim, la fatigue et la perte de poids. Une intervention précoce avec un régime alimentaire, de l'exercice et des médicaments peut aider à gérer la maladie et à améliorer la qualité de vie (**Suryasa et al 2021**).

2. Définition de diabète :

Le diabète sucré est une maladie métabolique grave caractérisée par un excès de sucre dans le sang, causé par une insuffisance en insuline ou une résistance à celle-ci. Cette maladie chronique peut entraîner des complications microvasculaires touchant la rétine, les reins et les nerfs périphériques. Bien que ces complications soient caractéristiques du diabète, elles ne suffisent pas à définir la maladie en raison de leur délai d'apparition. Le diabète est devenu un problème de santé publique majeur et l'une des quatre principales maladies non transmissibles ciblées par les dirigeants mondiaux. Sa prévalence et le nombre de cas ne cessent d'augmenter, posant un défi croissant à l'échelle mondiale (**ADA, 1998 ; World Health Organization, 2016 ; Egan et Dinneen, 2019**).

Le diabète est diagnostiqué en examinant la glycémie à jeun ou à l'apparition des symptômes (glycémie postprandiale). Il peut également être diagnostiqué en mesurant l'hémoglobine glycosylée ou glyquée (HbA1c), qui indique la valeur du taux de sucre dans le sang au cours des 5 à 12 dernières semaines en l'absence de conditions modifiant le métabolisme ou la fonction des érythrocytes, ou en effectuant un examen oral. Le test de glycémie oral (test de tolérance au glucose– OGTT), glycémie mesurée 2 heures après l'ingestion orale de 75 g de glucose (tableau 01). S'il n'y a pas de diagnostic définitif de diabète, deux paramètres de la maladie testés dans le même test ou dans 2 tests différents doivent être obtenus pour confirmer le diagnostic de diabète (**Braillard et dos Santos Bragança, 2017**).

Tableau 01 : Critères de diagnostics du diabète (Brailard et dos Santos Bragança, 2017)

HbAc 1	≥ 4.75%
Glycémie à jeun	≥ 7.0 mmol/L
Glycémie 120 min après ingestion de 75g de glucose (OGTT)	≥ 11.1 mmol/L

3. Classification de diabète :

L'identification du type de diabète chez un individu peut être complexe (Tableau 02), car de nombreuses personnes ne correspondent pas strictement à une seule catégorie. Par exemple, le diabète gestationnel peut évoluer vers un diabète de type 2 après l'accouchement. De plus, des facteurs tels que l'utilisation de stéroïdes ou de médicaments peuvent influencer le développement du diabète. Il est essentiel que le médecin et le patient comprennent la maladie hyperglycémique et adaptent le traitement en conséquence, plutôt que de se focaliser uniquement sur la classification du type de diabète (ADA, 2010).

Tableau 02 : Classification de diabète sucré (ADA, 2010)

Types du diabète sucré	Caractéristiques
Diabète de type 1	Destruction des cellules β , conduisant généralement à un déficit absolu en insuline <ul style="list-style-type: none"> a. Médiation Immunitaire b. Idiopathique
Diabète de type 2	<ul style="list-style-type: none"> ○ Peut aller d'une résistance à l'insuline ○ Prédominante avec déficit relatif en insuline à un défaut de sécrétion ○ Prédominante avec résistance à l'insuline
Diabète gestationnel	
Autres types spécifiques	<p>A. Défauts génétiques de la fonction des cellules β :</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ Chromosome 12, HNF-1α (MODY3) ○ Chromosome 7, Glucokinase (MODY2) ○ Chromosome 20, HNF-4α (MODY1) ○ Chromosome 13, Facteur promoteur de l'insuline 1 (IPF-1 ; MODY4) ○ Chromosome 17, HNF-1β (MODY5) ○ Chromosome 2, Neurod1 (MODY6) ○ ADN Mitochondrial ○ Autres

- B. Défauts génétiques dans l'action de l'insuline :
 - Résistance à l'insuline de Type A
 - Lepréchaunisme
 - Syndrome de Rabson-Mendenhall
 - Diabète Lipoatrophique
 - Autres
- C. Maladies du Pancréas exocrine :
 - Pancréatite
 - Traumatisme/Pancréatectomie
 - Néoplasie
 - Fibrose kystique
 - Hémochromatose
 - Pancréatopathie fibrocalculeuse
 - Autres
- D. Endocrinopathies :
 - Acromégalie
 - Syndrome De Cushing
 - Glucagonome
 - Phéochromocytome
 - Hyperthyroïdie
 - Somatostatine
 - Aldostéronome
 - Autres
- E. Médicament ou produit chimique induit :
 - Vacor
 - Pentamidine
 - Acide nicotinique
 - Glucocorticoïdes
 - Hormone thyroïdienne
 - Diazoxyde
 - Agonistes β -adrénergiques
 - Thiazidiques
 - Dilantine
 - Interféron
 - Autres
- F. Infections :
 - Rubéole congénitale
 - Cytomégalovirus
 - Autres
- G. Formes rares de diabète à médiation immunitaire :
 - Syndrome de « l'homme raide »
 - Anticorps anti-récepteurs de l'insuline
 - Autres
- H. Syndromes génétiques, associés parfois au diabète :
 - Syndrome de Down
 - Syndrome de Klinefelter
 - Syndrome de Turner
 - Syndrome de Wolfram
 - Ataxie de Friedreich
 - Chorée de Huntington

- | | |
|--|--|
| | <ul style="list-style-type: none">○ Syndrome de Laurence-Moon-Biedl○ Dystrophie myotonique○ Porphyrine○ Syndrome de Prader-Willi○ Autres |
|--|--|

Les trois grands types de diabète sont :

3.1. Diabète de type 1 (destruction des cellules β , conduisant généralement à un déficit absolu en insuline).

Le diabète de type 1 est causé par la destruction des cellules bêta du pancréas, généralement due à une réaction auto-immune. Cela entraîne un déficit absolu en insuline. Les symptômes et l'évolution de la maladie peuvent varier d'une personne à l'autre. Certains patients peuvent présenter une cétoacidose en premier symptôme, tandis que d'autres peuvent maintenir une fonction résiduelle des cellules bêta pendant un certain temps. Le diabète de type 1 peut se manifester à tout âge et est influencé par des facteurs génétiques et environnementaux (ADA, 2010).

3.2. Diabète de type 2 (allant d'une résistance à l'insuline prédominante avec déficit relatif en insuline à un défaut de sécrétion d'insuline prédominant avec résistance à l'insuline)

Le diabète de type 2 est la forme la plus courante de diabète, principalement liée à une résistance à l'insuline. Il est souvent associé à l'obésité et peut rester non diagnostiqué pendant longtemps en raison de son développement progressif. Les patients atteints de diabète de type 2 n'ont généralement pas besoin d'insuline pour survivre, mais peuvent nécessiter un traitement pharmacologique pour contrôler leur taux de glucose sanguin. Des facteurs tels que l'âge, l'obésité, le manque d'activité physique et une prédisposition génétique peuvent augmenter le risque de développer cette forme de diabète (ADA, 2010).

3.3. Diabète gestationnel

Le diabète gestationnel (DSG) est défini comme tout degré d'intolérance au glucose apparaissant pendant la grossesse. Bien que la plupart des cas se résolvent après l'accouchement, la définition inclut les cas persistants et ceux non détectés avant la grossesse.

L'augmentation du diabète de type 2 chez les femmes enceintes a conduit à une recommandation de diagnostic précoce pour les femmes à haut risque. Environ 7 % des grossesses sont touchées par le DSG chaque année (ADA, 2010).

4. Signes préliminaires et symptômes classiques du diabète

Plusieurs signes peuvent atteindre les patients diabétiques, on retrouve :

- Perte de poids inexplicée ;
- Fatigue fréquente ;
- Irritabilité ;
- Infections répétées surtout dans les zones génitales, les voies urinaires, la peau, la cavité buccale et la cicatrisation retardée des plaies ;
- Bouche sèche ;
- Brûlure, douleur, engourdissement des pieds ;
- Démangeaisons ;
- Hypoglycémie réactive ;
- Acanthosis nigricans : présence de taches sombres et veloutées sur le cou, les aisselles et l'aîne, qui sont un indicateur de la résistance à l'insuline ;
- Diminution de la vision ;
- Impuissance ou dysfonction érectile (**Ramachandran, 2014**).

Les signes classiques retrouvés chez les patients diabétiques sont :

- **Polyurie** : miction fréquente ;
- **Polydipsie** : soif intense ;
- **Polyphagie** : faim constante (**Ramachandran, 2014**).

Ces symptômes surviennent généralement dans les deux types de diabète, mais surtout avec une hyperglycémie sévère (**Ramachandran, 2014**).

5. Complications du diabète :

Le diabète mal géré peut entraîner des complications graves telles que l'acidocétose diabétique, un coma hyperosmolaire, des convulsions, des lésions cardiaques, des problèmes oculaires, rénaux et nerveux, des ulcères du pied, une cécité, des risques accrus pendant la grossesse et des malformations congénitales. La prévalence croissante du diabète et l'augmentation de l'espérance de vie peuvent entraîner de nouveaux types de morbidité associés au diabète (**World Health Organization, 2016**).

6. Traitement du diabète sucré :

6.1. Traitement non médicamenteux :

6.1.1. Régime alimentaire :

Pour améliorer le contrôle de la glycémie chez les diabétiques de type 1 et 2, il est essentiel de modifier et surveiller leur alimentation. Aujourd'hui, il est recommandé de suivre un régime normo-glucidique, modérément hypocalorique, en réduisant la consommation d'alcool et de graisses (pour favoriser la perte de poids) (**Hartmann et al, 2013**).

En fin de compte, le régime alimentaire adapté aux diabétiques est similaire aux recommandations générales des nutritionnistes et diététiciens pour l'ensemble de la population, L'activité physique, mesurée en MET (équivalent métabolique), englobe les sports et les activités quotidiennes comme la marche. Pour être bénéfique, elle doit être régulière et suffisamment longue, ce qui aide à réduire les besoins en insuline, l'insulino-résistance, les triglycérides et à augmenter la dépense énergétique. Cependant, les patients diabétiques de type 1 doivent éviter les exercices physiques intenses pour limiter le risque d'hypoglycémie (**Hartmann et al, 2013**).

6.1.2. Activité physique :

L'activité physique régulière améliore la santé en réduisant les décès ainsi que le risque de diabète, améliore la sensibilité à l'insuline et la régulation du glucose. Il est recommandé de faire de l'exercice pendant au moins trente minutes trois fois par semaine à 70 % de la fréquence cardiaque maximale (**Gautier et al, 2006**).

Les activités doivent être adaptées aux besoins et aux capacités de chaque patient. La reprise progressive de l'activité physique chez les patients diabétiques de type 2, est indiquée avec un traitement si nécessaire. Le contrôle de la glycémie doit être maintenu pour gérer l'activité et modifier les médicaments si nécessaire (**Gautier et al, 2006**).

6.1.3. Traitements traditionnels :

L'étude des plantes médicinales antidiabétiques dans l'Ouest et l'Est Algérien a récemment attiré beaucoup d'attention, mettant en avant l'importance de ce patrimoine végétal dans la pharmacopée traditionnelle pour le traitement du diabète. Plusieurs plantes sont utilisées, parmi eux :

a. *Olea europaea* L :

L'olivier est un arbre aux feuilles résistantes et aux fruits verts qui deviennent noirs à maturité. Les parties utilisées sont les feuilles, riches en composés actifs, tels que l'oleuropéine, l'oleuroposide, les tannins, les huiles essentielles et les flavonoïdes (**Ybert, 2001 ; Fournier et al., 2010**).

Les feuilles d'olivier montrent une activité hypoglycémiant optimale en hiver, surtout en Février, grâce à l'oleuropéine. Cette substance a démontré une activité hypoglycémiant à 16 mg/kg et une activité antidiabétique chez des animaux diabétiques. Le mécanisme d'action inclut un renforcement du largage d'insuline et une augmentation de l'absorption périphérique du glucose (**Gonzalez et al., 1996**).

b. *Trigonella foenum-graecum* L :

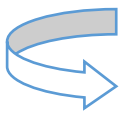
Le fenugrec est une plante annuelle aromatique, de petite taille, avec des feuilles lisses et des fleurs blanches ou bleu violacé. Ses fruits sont des gousses longues et fines contenant 10 à 20 graines (**Maurice et Iwu, 2014**).


Il est considéré comme un antidiabétique oral. Ses graines sont comestibles et ont été utilisées dans les remèdes pour les rhumatismes. Les extraits bruts de fenugrec ont montré des effets bénéfiques, tels que la diminution de la glycémie post-prandiale, du taux de glucagon, de somatostatine, d'insuline, de cholestérol total et de triglycérides, ainsi qu'une augmentation du taux de HDL cholestérol. De plus, le fenugrec aide à désensibiliser les cellules à l'action de l'insuline. Aucune toxicité n'a été signalée (**Dey-lucey et al., 2002**).

6.2. Traitement médicamenteux :

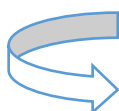
Le traitement médicamenteux du diabète de type 2 vise à diminuer l'hémoglobine glycosylée (HbA1c) afin de prévenir les maladies microvasculaires et macrovasculaires. Les agents antidiabétiques oraux ciblent les anomalies métaboliques à l'origine du diabète. Les deux grandes familles d'antidiabétiques oraux (sensibilisateurs à l'insuline et inhibiteurs de l'insuline) peuvent être combiné (**Tielmans et al, 2007**).

6.2.1. Les insulino-sécrétagogues :

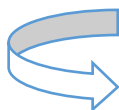
 **Sulfamides :** C'est l'une des substances qui régulent la sécrétion d'insuline. Ils ont un effet hypoglycémiant en stimulant la sécrétion de l'insuline, sans avoir d'effet spécifique sur l'insuline (**Scheen et al, 1985 ; Radermecker et al, 2005**).

 **Glinides :** Ces médicaments stimulent la sécrétion d'insuline. L'absorption entérale permet un meilleur contrôle de l'hyperglycémie postprandiale, tandis que leurs effets à court terme offrent l'avantage de réduire l'hypoglycémie postprandiale (**Scheen et al, 2005**).

6.2.2. Les insulino-sensibilisateurs :



Thiazolidinediones ou glitazones : Améliorent la sécrétion d'insuline des tissus périphériques (dans les muscles, en stimulant l'utilisation du glucose et dans le foie, en réduisant la graisse viscérale) (Scheen et al, 2007).



Metformine : Ne stimule pas l'action de l'insuline, mais joue un rôle insulino-protecteur, en diminuant la production hépatique de glucose et en augmentant la sensibilité à l'insuline (Scheen et al, 2007).

7. Alpha amylase :

7.1. Définition :

L'enzyme alpha-amylase (1,4- -D-glucane-glucohydrolase, EC 3.2.1.1), est une métalloprotéine qui nécessite la présence de calcium pour son activité catalytique. Il appartient à la famille des glycosides hydrolases (Agarwal, etGupta , 2016) et catalyse l'hydrolyse des liaisons -1,4-glucane dans l'amidon, les maltodextrines et les malto-oligosaccharides. Cette enzyme est présente chez les animaux, les plantes, les bactéries et les champignons (Tundis et al, 2010). Elle est largement utilisée dans divers secteurs tels que l'industrie textile, la boulangerie, la pharmacie et les détergents (Nouadri, 2011).

7.2. Structure de l'alpha amylase :

L' α -amylase pancréatique humaine (HPA) est une protéine de 57 KDa, comprenant 512 acides aminés dans une seule chaîne polypeptidique, avec une région de site actif bien définie (Whitcomb et Lowe, 2007).

Cette enzyme est composée de trois domaines globulaires (Figure 01). Le plus grand est le domaine A (résidus 1 à 99, 169 à 404), qui forme un tonneau bêta parallèle central à huit brins, à une extrémité duquel se trouvent les résidus du site actif Asp 197, Glu 233 et Asp 300. Le domaine B est le plus petit (résidus 100 à 168) et sert à former un site de liaison du calcium contre la paroi du tonneau bêta du domaine A. Les groupes protéiques effectuant des interactions de ligands avec ce calcium comprennent Asn 100, Arg 158, Asp 167 et His 201. Le domaine C (résidus 405 à 496) est constitué d'une structure bêta antiparallèle et n'est que faiblement associé avec les domaines A et B (Brayer et al, 1995).



Figure 01 : structure de alpha amylase (De Souza, 2010)

7.3. Inhibition de l'enzyme alpha amylase :

Une approche thérapeutique bien connue pour la prévention et la gestion du diabète consiste à réduire l'augmentation de la glycémie liée à l'alimentation. Ceci peut être réalisé en ralentissant la digestion des glucides alimentaires dans l'intestin grâce à l'inhibition des enzymes digestives, notamment l'alpha-amylase et l'alpha-glucosidase (Kim et al, 2005 ; Ogunyemi et al, 2022).

L'inhibition de l'alpha-amylase pancréatique est l'une des cibles thérapeutiques pour retarder la digestion des oligosaccharides en monosaccharides absorbables dans la bordure en brosse intestinale, entraînant une réduction de l'hyperglycémie postprandiale (Elya et al, 2015).

Les trois médicaments antidiabétiques les plus courants qui agissent principalement en inhibant la digestion et l'absorption des glucides sont :

Acarbose (BAY g 5421) : Cet inhibiteur est d'origine microbienne et a été le premier inhibiteur de l'alpha-glucosidase disponible dans le commerce pour le traitement du diabète. Il inhibe les activités de l'alpha-amylase, de la sucrase et la maltase (Agarwal et al, 2016).

Miglitol : Étant un dérivé de la 1-désoxynojirimycine. Il inhibe fortement l'activité de la saccharase, la glucoamylase et l'isomaltase (Agarwal et al, 2016).

Voglibose : Il est d'origine bactérienne et inhibe les activités de l'alpha-glucosidase, de la saccharase, de l'isomaltase et de la maltase (Agarwal et al, 2016).

Plusieurs inhibiteurs de l'amylase ont également été identifiés à partir de sources naturelles (Ogunyemi et al, 2020 ; Lankatillake et al, 2021 ; Ogunyemi et al, 2022). Les différents extraits de plantes ayant une activité inhibitrice de l'alpha amylase sont étudiés et pourraient diminuer les niveaux de glucose postprandiaux dans le sang, constituant ainsi une cible

thérapeutique intéressante et nouvelle pour le traitement du diabète sucré. Les plantes représentent une stratégie possible pour bloquer l'absorption des glucides alimentaires en les utilisant comme des inhibiteurs des enzymes digestives des glucides, car elles ont moins d'effets secondaires que les médicaments synthétiques (**Agarwal et Gupta, 2016**).

Chapitre 2 : Plante étudiée : *Berberis vulgaris*

1. Situation botanique de l'espèce *Berberis vulgaris* L.

Règne : Plantae (végétal)

Division : Magnoliophyta.

Classe : Magnoliopsida

Ordre : Ranunculales

Famille : Berberidaceae

Genre : *Berberis* L

Genre espèce : *Berberis vulgaris* L (Ghedira et Goetz, 2019).

2. Description botanique

Berberis vulgaris, appelée communément Ghriss (à Tlemcen - Algérie), est une plante médicinale appartenant à la famille des Berbéridées, mesure 2 à 3 mètres de hauteur, et porte fréquemment des feuilles transformées en épine dorsale d'où l'appellation « Epine-Vinette ».

L'écorce a un goût amer et une légère odeur. Les feuilles sont ovales et finement dentées vers le bas, avec des pétioles. Il est nu, vert clair dessus et glauque dessous. Les tiges, nombreuses et ramifiées, à dressées ligneuses très fortement épineuses. Les fleurs, jaune clair, sont disposées en grappes latérales pendantes. Elles possèdent des pétales de petite taille (Ghedira et Goetz, 2019).

Les fruits de *Berberis* (Figure 02) sont des baies longues et sucrées qui deviennent rouges à maturité. La floraison a lieu de mi-mai à mi -juin et la récolte des fruits se fait en automne (Mezouar et al, 2014).



Figure 02 : Fruits de *Berberis vulgaris* (Zarei et al, 2015)

3. Répartition géographique

L'épine-vinette se situe principalement dans la zone de l'hémisphère Nord (régions tempérées et subtropicales), se situant dans la plupart des régions d'Europe centrale et d'Europe du Sud et dans les régions du Nord-Est des États-Unis, de l'Afrique du Nord et de l'Asie-Pacifique (**Boudjelthia et al, 2017**). La plante est largement répandue dans les sols légers, moyens et lourds et peut pousser dans des sols lourds et riches en nutriments. Cette plante préfère les sols acides, mais peut également pousser dans un sol neutre et basique (alcalin). Elle peut pousser à mi-ombre (arbres clairs) ou sans ombre, et préfère un sol sec ou humide (**Saeed Arayne et al, 2007**).

En Algérie, *Berberis* se retrouve sur les plateaux, au-dessus de 1500 mètres, dans le Djurdjura-Babors, l'Atlas de Blida, les monts Aurès, les monts Hodna et le Sahara et les monts Salas de l'Atlas (**Boudjelthia et al, 2017**).

4. Composition chimique

L'épine-vinette est bien connue dans certains pays comme l'Iran, et diverses parties de cette plante, notamment sa racine, son écorce, sa feuille et son fruit contiennent les alcaloïdes isoquinoléiques tels que : berbérine, berbamine et palmatine. La berbérine représente l'un des alcaloïdes Protoberbérine au goût amer et de couleur jaune présente dans de nombreuses autres plantes, et est utilisée pour le traitement de différentes maladies (**Imanshahidi et Hosseinzadeh, 2008**). Autres constituants de *Berberis* sont l'oxyacanthine, et la columbamine (**tableau 03**).

Tandis que les fruits sont riches en anthocyanes, β -carotène et les acides organiques tel que : l'acide malique et l'acide ascorbique (**Ozgen et al, 2012**).

Tableau 03 : Compositions chimiques de *Berberis vulgaris* (**Abd El-Wahab et al, 2013**)

Composés chimiques	Nature des composés chimiques
Acide malique	Acide dicarboxylique
Acide ascorbique	Vitamine
Berbérine	Alcaloïde
Berlambine	Alcaloïde
Bervulcinc	Alcaloïde
β -Carotène	Alcaloïde
Columbamine	Alcaloïde

Hydroxycyanthine	Alcaloïde
Isocorydine	Alcaloïde
Oxycanthine	Alcaloïde
Oxyberbérine	Alcaloïde
Palmatine	Alcaloïde
Quercétine	Flavonoïde
Rutine	Flavonoïde
(-)- Tejedine	Alcaloïde
Yatronizine	Alcaloïde

5. Utilisations traditionnelles

Dans la médecine ayurvédique indienne, l'épine-vinette est utilisée pour traiter la dysenterie, l'indigestion, les contractions utérines, et comme antidote aux piqûres de scorpion (**Rahimi-Madiseh et al, 2017**).

Ses graines sont utilisées comme médicament dans la médecine traditionnelle iranienne (**Abd El-Wahab et al, 2013**). *B. vulgaris* est également utilisé pour traiter les ulcères, la maladie d'Alzheimer, la dépression, le diabète sucré et les calculs rénaux (**Rahimi-Madiseh et al, 2017**).

En Europe du Nord, l'épine-vinette était utilisée pour traiter les maladies du foie, ainsi que pour traiter des maladies rares (**Abd El-Wahab et al, 2013**).

6. Effets pharmacologiques de *Berberis vulgaris*

Les propriétés médicinales pour les différentes parties de la plante ont été rapportées, notamment tonique, antimicrobienne, antiémétique, antipyrétique, antiprurigineuse, antioxydante, anti-inflammatoire, hypotenseur, antiarythmique, sédative, actions antinociceptives, anticholinergiques et cholagogue. Elle a été utilisée dans certains cas comme la cholécystite, la lithiase biliaire, la jaunisse, la dysenterie, la leishmaniose, le paludisme et les calculs biliaires. En plus, la berbérine, un alcaloïde isoquinoléinique, représente l'ingrédient majeur de cette plante, qui a été utilisé pour traiter la diarrhée et les troubles gastro-intestinaux pendant longtemps. Cet alcaloïde a de multiples effets pharmacologiques, notamment : une activité antimicrobienne vis-à-vis de cinquante-quatre microorganismes, une inhibition de la sécrétion ionique intestinale et une contraction des muscles lisses, une inhibition de l'arythmie tachy-ventriculaire, une réduction de l'inflammation, une stimulation la sécrétion de la bile et

une décharge de la bilirubine (**Abd El-Wahab et al, 2013**). La berbérine, s'est révélée comme molécule prometteuse pour le traitement de stress oxydatif hépatique, la maladie d'Alzheimer et l'infertilité masculine idiopathique (**Hosseinihashemi et al, 2015**).

Matériel et méthodes

Ce étude a été réalisée au niveau du laboratoire de recherche LAPSAB * Antibiotique, Antifongique : Physico-chimie, synthèse et activité biologique *, département de biologie , Faculté des sciences de la nature et de la vie et sciences de la terre et de l'univers - Université Abou Bekr Belkaïd- Tlemcen.

L'objectif de cette étude est d'évaluer les effets inhibiteurs de l'alpha amylase par les extraits *B. vulgaris* et de l'acarbose, ainsi que de déterminer si la combinaison des extraits préparés à partir des écorces de racines de *B. vulgaris* avec l'acarbose inhibe l'activité de l'alpha-amylase, l'une des enzymes responsables de l'absorption des hydrates de carbones dans l'intestin.

1. Étude phytochimique

1.1. Matériel végétal

L'espèce sélectionnée, *Berberis vulgaris* (Berberidacée), a été obtenue auprès des herboristes de la région de Maghnia – Tlemcen en Février 2024.

L'écorce des racines de Ghriss (Figure 03) est conservée dans endroit aéré et à l'abri de la lumière. Le matériel végétal est broyé afin de procéder à l'extraction.



Figure 03 : Ecorces des racines de *Berberis vulgaris* (Mezouar, 2017)

1.2. Préparation des extraits

L'extraction solide / liquide de cette plante a été réalisée selon un seul mode de préparation : macération sous agitation pendant 48 heures.

1.2.1. Préparation des extraits aqueux

La poudre des écorces de racines de *B. vulgaris* (20 g) ont été mises en contact avec 200 ml d'eau distillée. Le mélange a été laissé macérer pendant 48 h. Après filtration avec un papier filtre, l'extrait a été séché dans une étuve à 37 °C. Le résidu obtenu a été conservé à +4 °C.

1.2.2. Préparation des extraits hydrométhanolique

La poudre des écorces de racines de *B. vulgaris* (20 g) ont été mises en contact avec 200 ml du système eau-méthanol (30 : 70) (v : v). Le mélange a été laissé macérer pendant 48 h. Après filtration avec un papier filtre, le macérat a été concentré à l'aide d'un évaporateur rotatif à une température de 55°C (Pizzal et al., 2002).

La phase aqueuse obtenu a été séchée dans une étuve à 37°C. Le résidu obtenu a été conservé à +4 °C.

1.2.3. Détermination du rendement des extraits

Le rendement de différents extraits a été déterminé par apport à 20 g de matériel végétal sec selon la formule suivante :

$$\text{Rdt (\%)} = (M_1 / M_0) \times 100$$

Où,

- Rdt (%) : rendement ;
- M_1 : masse en gramme de l'extrait sec obtenu après extraction ;
- M_0 : masse en gramme de la matière végétale sèche.

1.3. Tests phytochimiques

Cette analyse est basée sur des réactions de coloration et/ou précipitations par l'utilisation des réactifs spécifiques (Harborne, 1998 ; Bruneton, 1999).

a. Flavonoïdes : Réaction à la cyanidine

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

b. Tanins

À 1 ml de l'extrait est ajouté 200 µl de FeCl_3 à 1 %. La présence des tanins est indiquée par une coloration verdâtre ou bleu- noir.

c. Quinones libres

Dans un tube à essai, 0,1 ml hydroxyde de sodium (NaOH à 1 %) a été ajouté à 1 ml de chaque extrait à analyser. L'apparition d'une couleur jaune, rouge ou violet indique la présence des quinones libres.

d. Terpénoïdes

Les terpénoïdes ont été recherchés à l'aide du test de Slakowski en ajoutant 0,4 ml de chloroforme et 0,6 ml d'acide sulfurique concentré à 1 ml d'extrait. L'apparition de deux phases et une couleur marron à l'interface indiquent la présence de terpénoïdes.

e. Saponosides

Les saponosides ont été recherchés par le test de mousses, après agitation de 10 ml de chaque extrait, un mousses supérieur à 1cm et qui persiste entre 10 et 20 minutes, confirme la présence des saponosides.

f. Alcaloïdes

Les tests ont été réalisés par des réactions de précipitation avec le réactif de Mayer et Wagner. Dans deux tubes contenant 0,5 ml d'extrait, 0,5ml de réactif de Mayer a été ajouté dans le premier tube et 0,5 ml de réactif de Wagner dans le deuxième. L'apparition d'un précipité blanc et marron, respectivement, indique la présence des alcaloïdes.

g. Sucres réducteurs

La détection des composés réducteurs consiste à introduire 1 ml d'extrait dans un tube à essai, et l'ajout de 2 ml de liqueur de Fehling (1 ml de réactif A et 1 ml de réactif B). Ensuite, l'ensemble a été porté au bain-marie bouillant durant 8 minutes. L'apparition d'un précipité rouge brique indique la présence des composés réducteurs.

1.4. Dosages quantitatifs :

1.4.1. Dosage des polyphénols totaux

Le réactif de Folin-Ciocalteu a été utilisé. C'est un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$).

Les composés phénoliques totaux ont été quantifiés de la manière suivante : 100 μ l des extraits sont mélangés avec 2 ml de la solution de carbonate de sodium à 2 %. Après agitation et incubation pendant cinq minutes, 100 μ l du réactif Folin-Ciocalteu 1 N sont ajoutés. Le mélange

obtenu est incubé à la température ambiante et à l'abri de la lumière pendant 30 minutes. L'absorbance est ensuite mesurée au spectrophotomètre à 700 nm contre un blanc.

Une gamme d'étalonnage est réalisée en parallèle, dans les mêmes conditions expérimentales, en utilisant l'acide gallique à différentes concentrations.

Les résultats sont exprimés en microgramme équivalent acide gallique par milligramme d'extrait ($\mu\text{g EAG/mg E}$) (Vermeris et Nicholson, 2006).

1.4.2. Dosage des flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé par une méthode colorimétrique, selon le protocole de (Zhishen et al, 1999).

Un volume de 250 μl des extraits ont été mélangé avec 1 ml d'eau distillée, puis, 75 μl d'une solution de nitrite de sodium à 15 % sont ajoutés. Après 6 minutes d'incubation à température ambiante, 75 μl de chlorure d'aluminium à 10 % sont ajoutés. Après une deuxième incubation de 6 minutes, 1 ml d'hydroxyde de sodium à 4 % sont ajoutés. Le volume total est complété à 2,5 ml avec de l'eau distillée. Après agitation et incubation pendant 15 minutes, l'absorbance est mesurée au spectrophotomètre à 510 nm contre un blanc.

Une gamme d'étalonnage est réalisée en parallèle, dans les mêmes conditions expérimentales, en utilisant la catéchine à différentes concentrations.

Les résultats obtenus sont exprimés en microgramme équivalent catéchine par milligramme d'extrait ($\mu\text{g EC/mg E}$) (Zhishen et al, 1999).

2. Etude de l'activité antidiabétique

Le test d'inhibition de l' α -amylase a été réalisé d'après la méthode utilisant l'acide 3,5-dinitrosalicylique (DNSA) de Bernfeld, 1955 avec quelques modifications.

2.1. Préparation des solutions :

2.1.1. Solution de tampon phosphate (0,02 M, pH 6,9) :

La solution de tampon phosphate est préparée à partir d'une solution A contenant 0,6 g de phosphate de sodium monobasique (NaH_2PO_4) qui est solubilisée dans 250 ml de l'eau physiologique 0,9 %, et une solution B contenant 0,71g de phosphate de sodium dibasique (Na_2HPO_4) dans 250 ml de l'eau physiologique 0,9 %.

Ensuite, les deux solutions mélangées, et le pH est ajusté à 6,9 en utilisant le NaOH 1 M ou HCl 1M.

2.1.2. Solution d'amidon soluble (substrat) :

La solution d'amidon est préparée à 1% dans le tampon phosphate salin comme suit :

L'amidon est solubilisé par chauffage à 70 – 80°C sur une plaque chauffante agitatrice en mélangeant. Par la suite, la solution d'amidon est ajustée au volume final avec la solution de tampon, puis, agitée jusqu'à la réalisation de la procédure de dosage.

2.1.3. Réactif de l'acide 3,5-dinitrosalicylique (DNSA) :

a. Solution d'hydroxyde de sodium (NaOH à 2M)

La solution d'hydroxyde de sodium est préparée à une concentration de 2 M dans de l'eau ultra pure.

b. Solution de tartrate de potassium et de sodium :

La solution de tartrate de potassium et de sodium est préparée à une concentration de 5,3 M dans la solution préparée précédemment d'hydroxyde de sodium NaOH à 2 M.

c. Solution d'acide 3,5-dinitrosalicylique (DNSA) :

L'acide 3,5-dinitrosalicylique (DNSA) est préparé à une concentration de 96 mM dans de l'eau ultra pure. Le DNSA est dissous sous agitation par chauffage sur une plaque chauffante agitatrice.

d. Solution de réactif de DNSA (Selon Sigma Aldrich) :

Pour préparer 100 ml de réactif de DNSA, nous avons ajouté 30 ml d'eau ultra pure tiède (50 – 70°C) dans un bécher, en mélangeant avec 20 ml de la solution de tartrate de sodium et de potassium 5,3M et 50 ml de la solution de l'acide 3,5-dinitrosalicylique DNSA à 96 mM. La solution limpide obtenue est de couleur orange.

Cette solution est stable pendant 6 mois à la température ambiante (+ 4° C), si elle est protégée de la lumière.

2.1.4. Solution d'extraits :

Les extraits aqueux et hydrométhanoliques de *Berberis vulgaris* ont été dissous dans la solution de tampon phosphate 0,02 M et pH 6,9. Une gamme de concentrations croissantes a été préparée variant de 0,1875 à 3 mg/ml.

2.1.5. Solution de l'enzyme α -amylase :

L'enzyme utilisée est l'alpha amylase (E.C.3.2.1.1) de *Bacillus* sp sous forme lyophilisée. Son poids moléculaire varie entre 50 et 55 kDa (sur SDS-PAGE) avec une activité spécifique de 1500 UI/mg de protéines. L'enzyme est conservée à -20 °C.

La solution de l'alpha amylase est préparée le jour même de l'expérimentation. L'enzyme α -amylase est solubilisée dans le tampon phosphate 0,02 M à pH 6,9 et à une température de 25 °C. L'activité enzymatique finale de l'enzyme dans le milieu réactionnel est de 1,5 unité / ml.

2.1.6. Solution de l'acarbose :

L'acarbose « Corect® » est un pseudo-tétra-saccharide d'origine microbienne. Il est utilisé dans cette expérience comme contrôle positif (molécule de référence), afin de comparer son activité vis-à-vis de l'alpha amylase par rapport à celle des extraits de la sauge. L'acarbose est dissous dans le tampon phosphate et une gamme de concentrations croissantes sont préparées variant de 20,8333 à 333,333 μ g/ml.

2.2. Évaluation de l'effet inhibiteur des extraits et acarbose vis-à-vis de l'alpha amylase

Les extraits de *B. vulgaris*, l'acarbose, la solution de l'amidon et l'enzyme alpha-amylase ont été pré-incubés pendant 30 minutes à 25°C.

Ensuite, un volume de 200 μ L de chaque extrait et de l'acarbose (contrôle positif) à différentes concentrations a été mélangé avec 200 μ L de la solution de l' α -amylase (1,5 U/ml), puis incubé pendant 10 minutes à 25°C. Ensuite, 200 μ L de la solution d'amidon à 1 % ont été ajoutés dans chaque tube à essai. Après agitation et incubation pendant 10 minutes, 200 μ L de la solution de DNSA ont été ajoutés aux tubes pour arrêter la réaction. Les différents tubes à essai ont été immédiatement placés dans un bain d'eau bouillant pendant 10 minutes. Après refroidissement des tubes et dilution des mélanges avec 1 ml d'eau ultrapure, les absorbances ont été mesurées par rapport à un blanc à 540 nm.

Cette méthode a été réalisée trois fois pour chaque extrait, ainsi que pour l'acarbose. Pour chaque concentration testée, un blanc a été préparé en mélangeant 200 μ L de solution de tampon phosphate, 200 μ L de solution d'extrait/acarbose et 200 μ L de solution d'amidon. Le test en tube de contrôle contient l'enzyme et la solution d'amidon.

L'activité inhibitrice des extraits hydrométhanoliques et aqueux et de l'acarbose vis-à-vis de l' α -amylase est exprimée en pourcentage d'inhibition et calculée par l'équation suivante :

$$\text{Inhibition de l'alpha amylase} = (D_{O_{\text{contrôle}}} - D_{O_{\text{échantillon}}} / D_{O_{\text{contrôle}}}) \times 100$$

Le pourcentage d'inhibition de l'alpha amylase a été tracé en fonction des concentrations en extraits ou en acarbose. Les CI_{50} (concentration inhibitrice de 50 % de l'activité enzymatique) pour chaque extrait / acarbose sont calculées à partir des équations des régressions des linéaires des courbes d'inhibition.

2.3. Evaluation de la combinaison des extraits de *Berberis vulgaris* et de l'acarbose vis-à-vis de l'alpha amylase

La combinaison des extraits de *Berberis vulgaris* avec l'acarbose (médicament antidiabétique), a été évaluée vis-à-vis l'activité enzymatique de l'alpha amylase. Le protocole expérimental de l'inhibition de l' α -amylase a été réalisé selon la section (2.2).

Une solution stock des extraits à tester et de l'acarbose a été préparée à la concentration des CI_{50} obtenues lors du test précédent d'inhibition de l' α -amylase. Quatre concentrations des extraits de la plante combinées avec l'acarbose ont été testées en triplicate (Tableau 04).

Tableau 04 : Disposition des proportions (v/v) de la combinaison des extraits de *B. vulgaris* avec l'acarbose

Combinaison	Acarbose			
	4	3	2	1
Extrait aqueux	1	2	3	4
Extrait hydrométhanolique	1	2	3	4

Les concentrations fractionnaires inhibitrices (CFI) ont été calculées pour chaque concentration de chaque combinaison des extraits avec l'acarbose. L'indice de combinaison ou indice de combinaison (IC) de la combinaison a été calculé comme suit :

$$IC = d1/D1 + d2/D2$$

Où,

d1 et d2: Concentrations de l'extrait et de l'acarbose dans la combinaison ;

D1 et D2 : CI_{50} de l'extrait et de l'acarbose seuls (Fratini et al, 2017).

L'effet de combinaison des extraits de *Berberis vulgaris* avec le médicament antidiabétique commercialisé, acarbose, est interprété selon l'indice de combinaison de l'additivité de Loewe, selon les critères suivants :

$IC < 1$ indique un effet synergique de la combinaison ;

$IC = 1$ indique un effet additif de la combinaison ;

$IC > 1$ indique un effet antagoniste de la combinaison (**Chou et Talalay, 1984 ; Fouquier et Guedj, 2015**).

Résultats et discussion

I. Études phytochimiques

1. Rendements d'extraction

Dans cette étude, un seul mode d'extraction a été réalisé à partir des écorces de racine de *Berberis vulgaris* : l'extraction par macération pendant 48h. Les rendements obtenus sont présentés dans la figure 04.

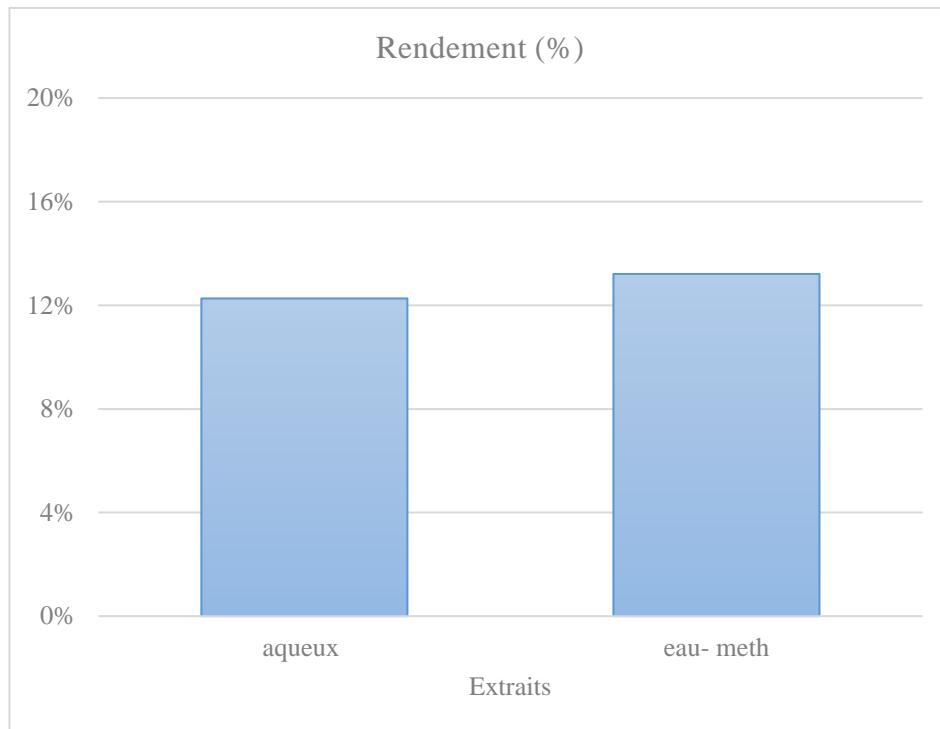


Figure 04 : Rendement en extrait brut aqueux et hydrométhanolique de *Berberis vulgaris*

Les pourcentages en rendement des extraits, leur aspect et couleurs sont mentionnés dans le tableau 05. Le rendement a été déterminé par rapport au poids de la poudre du matériel végétal sec. Les résultats ont été exprimés en pourcentage (P/P).

Tableau 05 : Résultats de l'extraction aqueuse et hydrométhanolique des écorces de racine de *Berberis vulgaris* L

Extraits	Rendement (%)	Couleurs	Aspects
E _{Aq}	12,27	Jaune pâle	Poudre
E _{MeOH}	13,21	Marron	Cristallisé

E_{Aq} : Extrait aqueux ; E_{MeOH} : Extrait hydrométhanolique.

D'après les résultats du tableau ci-dessus, nous avons enregistré un rendement légèrement élevé pour l'extrait (E_{MeOH}), soit de 13,1 %. Tandis que l'extrait (E_{Aq}), a donné un rendement de l'ordre de 12,27 %. De plus les extraits obtenus sont de couleur et d'aspect différents.

D'après les résultats notés par Boudjelthia et ses collaborateurs en 2017, les rendements pour l'extrait méthanolique et aqueux préparés par macération de l'écorce de racine de *Berberis vulgaris*, de l'ordre de 17,2 % et 15,21%, respectivement (**Boudjelthia et al, 2017**). Ces valeurs sont supérieures par rapport à celles que nous avons obtenues.

Les variations des rendements observées peuvent être attribués à plusieurs facteurs, tels que : les conditions dans lesquelles l'extraction a été effectuée, les solvants choisis pour l'extraction, ainsi qu'à l'origine géographique de la plante étudiée.

2. Tests phytochimiques

Les résultats des tests phytochimiques réalisées sur l'extrait aqueux et l'extrait hydrométhanolique des écorces de racine de la plante *Berberis vulgaris* sont présentés dans le Tableau 06.

Tableau 06 : Résultats des tests phytochimiques réalisés sur les écorces de racines de *B. vulgaris*

Classes chimiques recherchées		Résultats	
		Extrait aqueux	Extrait hydrométhanolique
Alcaloïdes	Mayer	+	+
	Wagner	++	+++
Tanins		+++	+++
Flavonoïdes		-	+++
Quinones libres		-	-
Terpénoïdes		+++	+++
Saponosides		-	-
Composés réducteurs		+++	+++

(+++): Fortement présent ; (++) : Moyennement présent ; (+) : Faiblement présent ; (-) : Test négatif

L'étude phytochimique qualitative permet de détecter les différentes classes des composés chimiques présentes dans la plante étudiée. Elle est basée sur des réactions de colorations, de précipitations, de formation d'une mousse (mesurer sa hauteur) et par un examen sous lumière ultra violette.

Les tests phytochimiques réalisées sur les extraits des écorces des racines de *B. vulgaris* ont révélés que les composés les plus abondants sont les alcaloïdes, les tanins, les terpénoïdes et les composés réducteurs. Les flavonoïdes sont détectés seulement dans l'extrait hydrométhanolique de *B. vulgaris*. Cependant, nous avons observé l'absence des quinones libres et des saponosides dans l'ensemble des extraits.

Ces résultats sont proches de ceux obtenus par Meliani et ses collaborateurs en 2003, qui ont révélé la présence des alcaloïdes, des tanins, des composés réducteurs dans les extraits bruts des écorces de racine de *Berberis vulgaris* (Meliani et al, 2003). Par contre, Elalaoui a observé l'absence des flavonoïdes dans l'extrait aqueux (Elalaoui, 2015).

3. Dosage des composées phénoliques et des flavonoïdes :

Les résultats obtenus pour la quantification des polyphénols et des flavonoïdes à partir des courbes d'étalonnage de l'acide gallique et de la catéchine (figures 05 et 06), sont exprimés en microgrammes équivalent acide gallique par milligrammes d'extrait ($\mu\text{g EAG}/\text{mg E}$), et microgrammes équivalent catéchine par milligrammes d'extrait ($\mu\text{g EC}/\text{mg E}$), respectivement (Tableau 07 ; Figure 07).

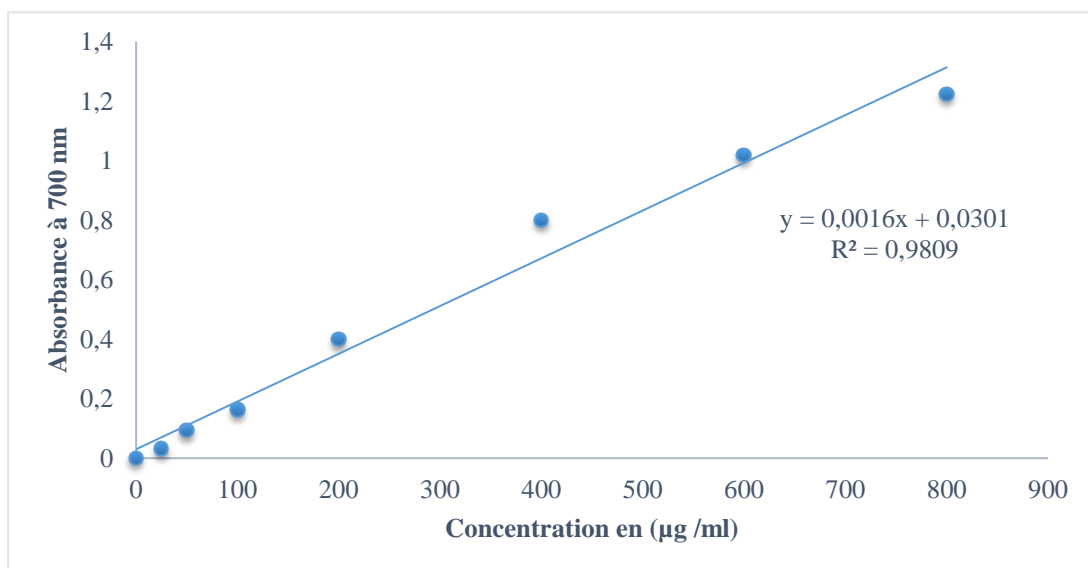


Figure 05 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols

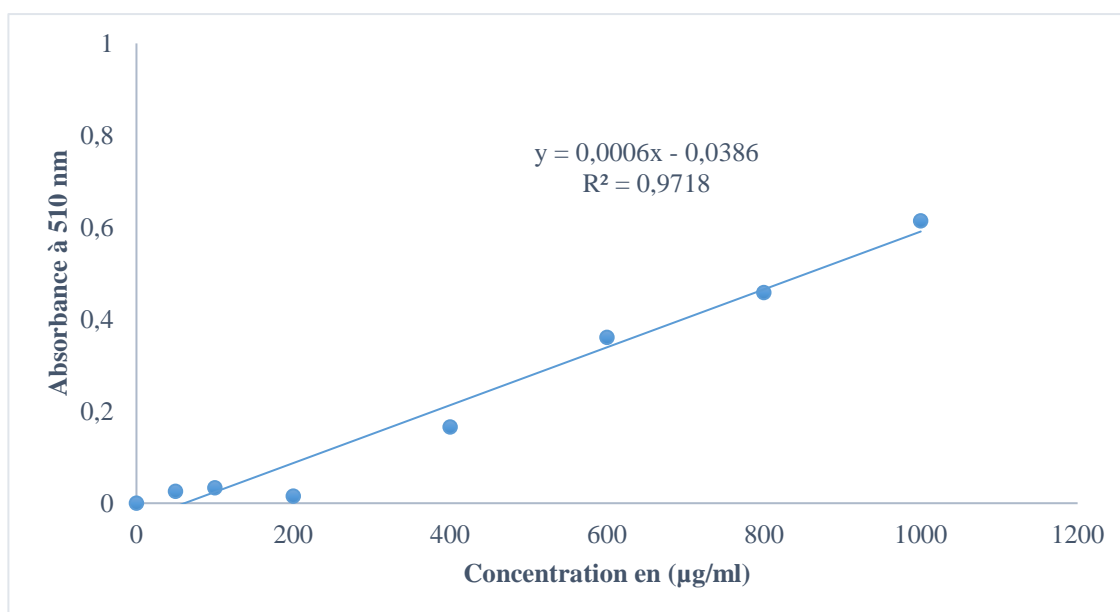


Figure 06 : Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des flavonoïdes

Tableau 07 : Résultats du dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes totaux dans les extraits de *Berberis vulgaris* L

Extraits	Polyphénols	Flavonoïdes
	(µg EAG/mg E)	(µg EC/mg E)
E_{Aq}	162,41 ± 0	169,75 ± 0
EMeOH	463,35 ± 0	106,25 ± 0

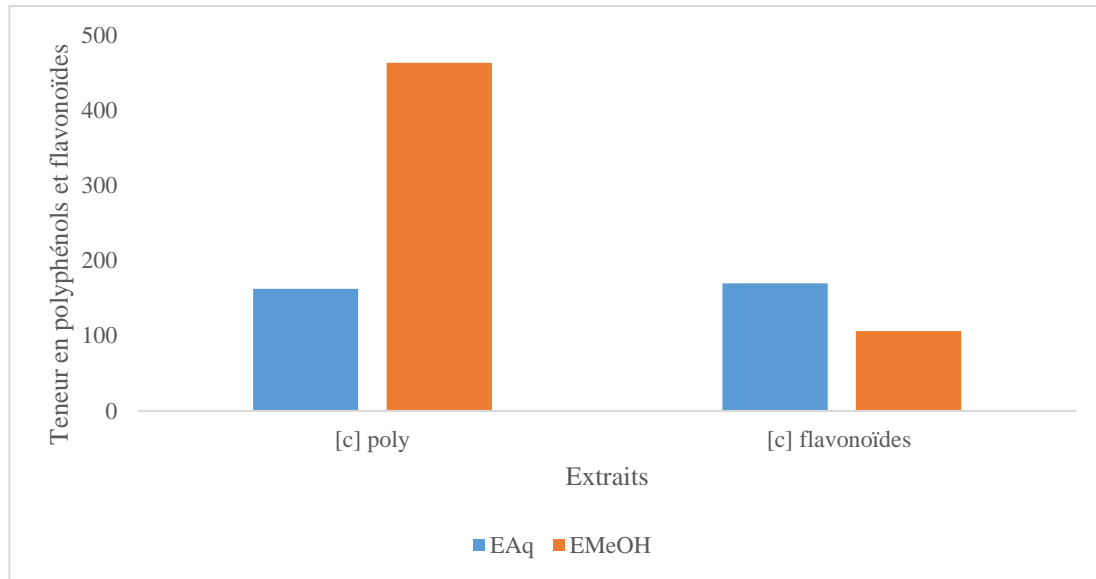


Figure 07 : Estimation des concentrations en polyphénols et en flavonoïdes des deux extraits aqueux et hydrométhanolique

Les résultats présentés ci-dessus, montrent que l'extrait hydrométhanolique a une teneur élevée en polyphénols totaux par rapport à celle de l'extrait aqueux. Elles sont respectivement de l'ordre de 463,35 µg EAG/mg E et 162,41 µg EAG/mg E.

Les résultats des teneurs en flavonoïdes révèlent que l'extrait aqueux a présenté un taux élevé, par rapport à l'extrait hydrométhanolique. Elles sont respectivement de l'ordre de 169,75 µg EAG/mg E et 106,25 µg EAG/mg E.

Boudjelthia et ses collaborateurs en 2017, ont noté des teneurs en polyphénols et en flavonoïdes totaux de l'ordre de 9,25 mg EAG /g et 1,81 mg EC / g, respectivement pour l'extrait aqueux. L'extrait méthanolique de cette même étude, a révélé des concentrations de 10,23 mg EAG/ g en polyphénols totaux et 2,14 mg EC/ g en flavonoïdes (Boudjelthia et al, 2017).

II. Etude de l'activité antidiabétique

1. Evaluation de l'activité inhibitrice des extraits de *B. vulgaris* et de l'acarbose vis-à-vis de l'alpha amylase

Pour déterminer l'effet des extraits des écorces de racine de *Berberis vulgaris* sur l'inhibition *in vitro* de l'activité de l' α -amylase d'origine bactérienne (*Bacillus* sp), nous avons testé l'effet de différentes concentrations de chaque extrait sur l'activité de l'enzyme avec fixation de la concentration du substrat, l'amidon, à 1%.

Les résultats de l'effet inhibiteur des extraits sont présentés dans les figures 08 et 09. De même, l'effet inhibiteur de l'acarbose est présenté dans la figure 10.

D'après les résultats obtenus, l'extrait hydrométhanolique montre un pourcentage d'inhibition le plus élevée (76,96%) avec une concentration de 3 mg/ml. A cette même concentration, l'extrait aqueux produit un pourcentage d'inhibition égale à 73,9 %.

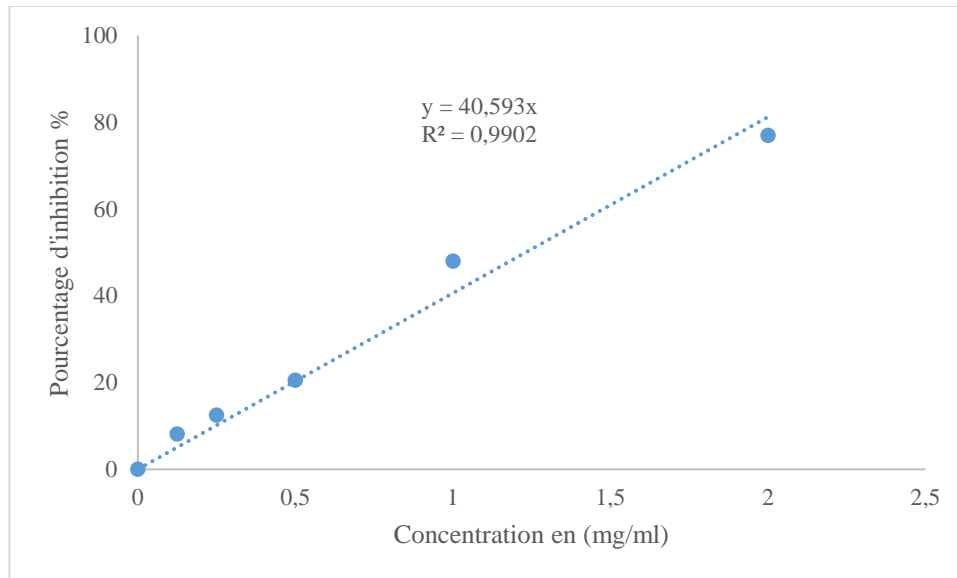


Figure 08 : Courbe du pourcentage d'inhibition en fonction des différentes concentrations de l'extrait hydrométhanolique macéré

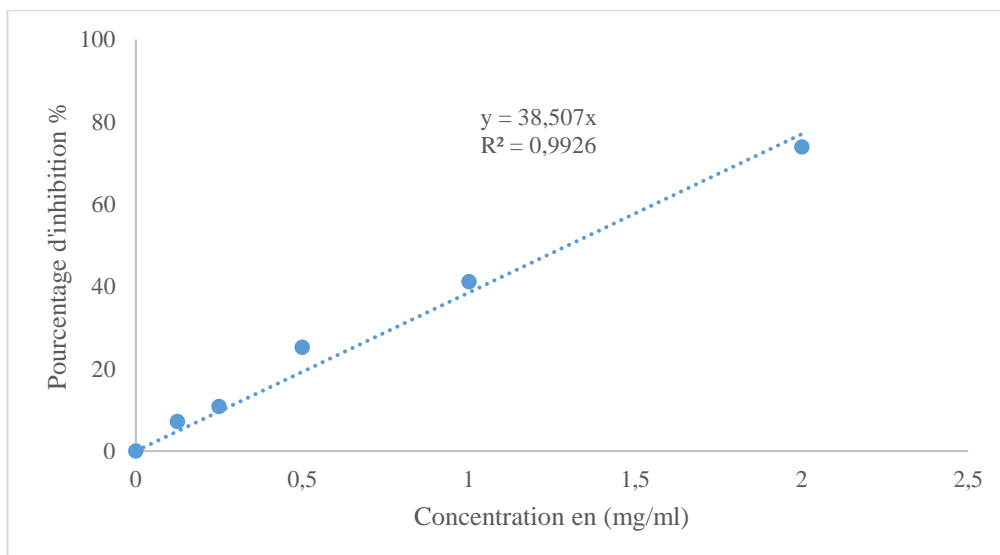


Figure 09 : Courbe du pourcentage d'inhibition en fonction des différentes concentrations de l'extrait aqueux macéré

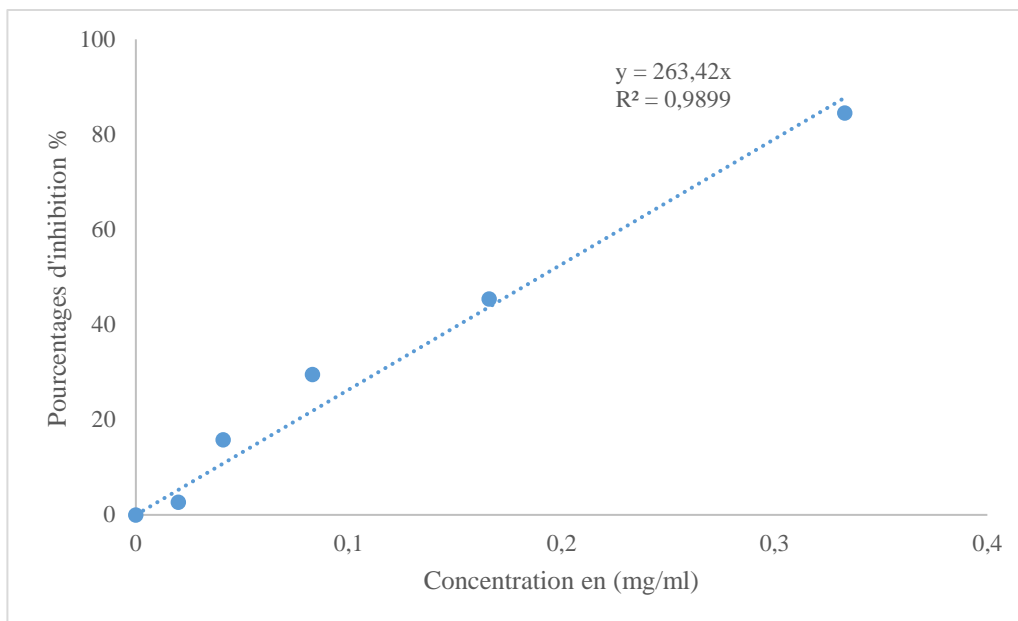


Figure 10 : Courbe du pourcentage d’inhibition en fonction des différentes concentrations de l’acarbose

Ensuite, nous avons déterminé les CI_{50} , concentrations inhibitrices de 50 % de l’activité enzymatique de l’alpha amylase, pour chaque extrait et l’acarbose, qui sont calculées à partir des courbes de régression linéaire d’inhibition. Les valeurs de CI_{50} sont présentées dans le tableau 08.

D’après nos résultats (Tableau 08), l’extrait eau – méthanol a présenté un bon effet inhibiteur avec une CI_{50} égale à 1,23 mg/ml, suivi par l’extrait aqueux macéré qui a induit une inhibition de 50 % à la concentration de 1,29 mg/ml.

La CI_{50} de l’acarbose est bien inférieure à celle des extraits eau-MeOH et aqueux. L’acarbose, molécule de référence pure, est un médicament utilisé en thérapeutique antidiabétique. Ceci explique sa meilleure activité inhibitrice de l’alpha-amylase.

Tableau 08 : Valeurs de la CI_{50} des extraits de *B. vulgaris* L et de l’acarbose

Échantillons	Extrait Aqueux	Extrait Eau-MeOH	Acarbose
CI_{50} (mg/ml)	1,29	1,23	0,18

D’autres auteurs ont obtenu des résultats différents, avec des valeurs de CI_{50} qui varient entre 0,77 mg/ml pour l’extrait aqueux et 0,68 mg/ml pour l’extrait méthanolique, selon l’étude de Boudjelthia et ses collaborateurs (Boudjelthia et al, 2017).

L'activité antidiabétique comprenant l'ensemble des résultats obtenus soutiennent le potentiel thérapeutique de la plante *Berberis vulgaris* et de ses composants actifs dans la prévention et le traitement du diabète ou il a été révélé un effet inhibiteur intéressant sur l'activité de l' α -amylase.

2. Evaluation de l'activité inhibitrice de la combinaison des extraits de *B. vulgaris* avec l'acarbose vis-à-vis de l'alpha amylase

Dans cette dernière partie expérimentale de notre mémoire, nous avons testé la combinaison de chacun des extraits bruts de *B. vulgaris* avec le médicament antidiabétique, acarbose (Figures 11 et 12).

L'association des deux extraits de *B. vulgaris* avec l'acarbose a été réalisée à partir des concentrations inhibitrices de 50 % de l'activité enzymatique de l'alpha amylase (CI₅₀).

D'après les résultats obtenus dans la figure 11, la combinaison de l'extrait aqueux avec l'acarbose a permis d'atteindre un pourcentage d'inhibition de l'ordre de 69,18 %.

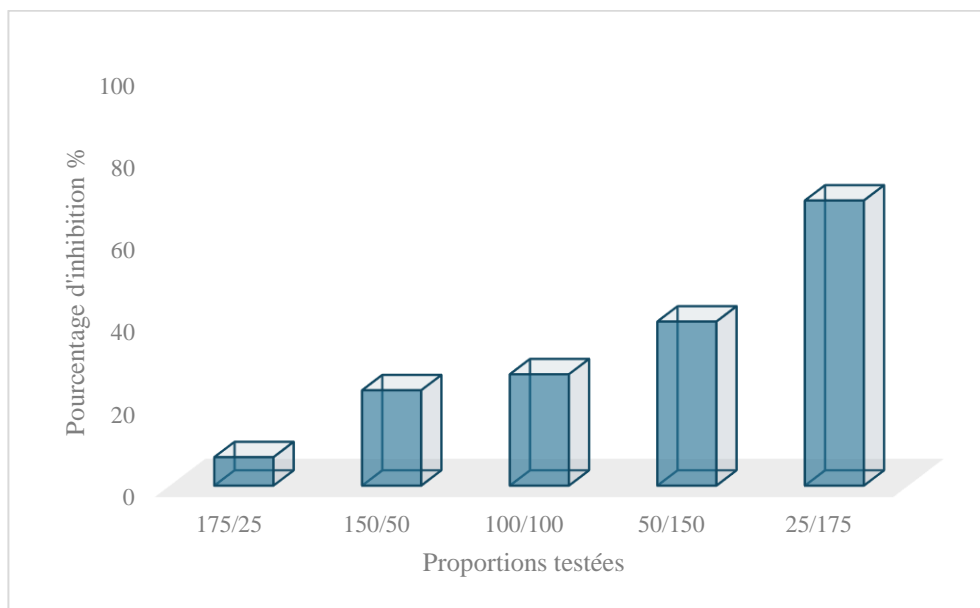


Figure 11 : Effet de la combinaison de l'extrait aqueux avec l'acarbose sur l'inhibition de l'activité de l' α -amylase

Pour la deuxième combinaison testée, l'extrait hydrométhanolique – acarbose a montré des résultats similaires, avec un pourcentage d'inhibition maximal de l'ordre de 70,88 % (Figure 12).

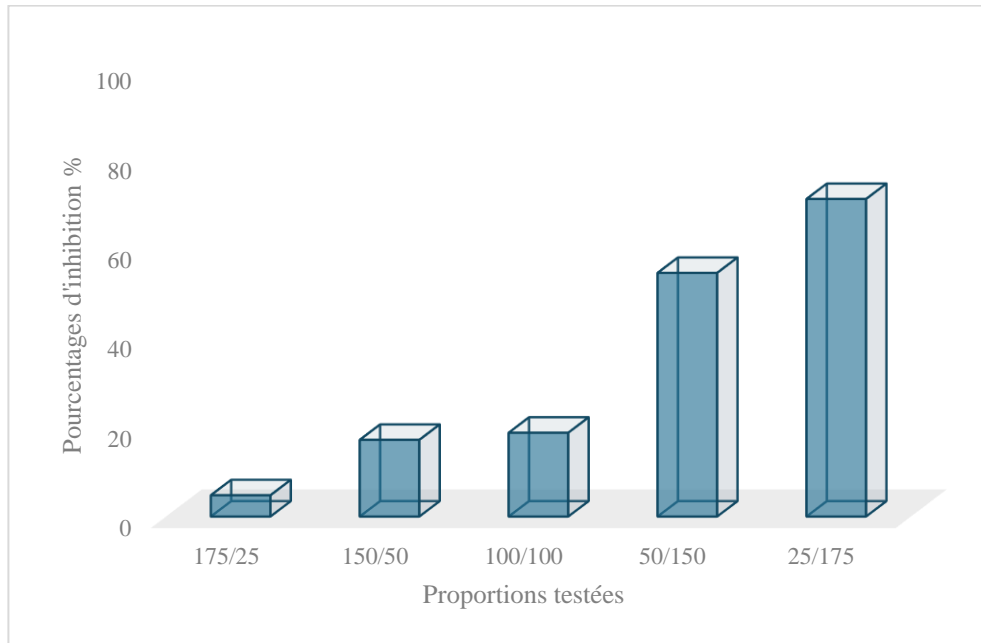


Figure 12 : Effet de la combinaison de l'extrait hydrométhanolique avec l'acarbose sur l'inhibition de l'activité de l' α -amylase

L'indice de combinaison est utilisé pour déterminer le type d'interaction entre deux médicaments. Sa formule est la somme du rapport entre la dose de chaque médicament dans la combinaison et la dose du médicament utilisée seule qui produit une efficacité de 50 % (Huang et al., 2019).

L'indice de combinaison (IC) a été calculé à partir des CFI (concentrations fractionnaires inhibitrices), pour analyser le type d'interaction entre les extraits de *Berberis vulgaris* et l'acarbose. Les résultats des deux combinaisons réalisées avec les IC calculés sont représentés dans le tableau 09.

Tableau 09 : Indices de combinaison des extraits bruts de *Berberis vulgaris* et de l'acarbose

Combinaison	Indices de combinaison		
	30	50	60
E_{aq} – acarbose	1,201	0,762	0,616
E_{EMeOH} – acarbose	1,192	0,728	0,576

E_{aq} : Extrait aqueux ; E_{EMeOH} : Extrait hydrométhanolique.

Nous remarquons que les deux combinaisons, E_{aq} – acarbose et E_{EMeOH} – acarbose, montrent des résultats similaires pour les trois indices (IC) obtenus.

L'IC₃₀ pour les deux combinaisons montre un effet antagoniste ($IC > 1$). Cet effet devient synergique ($IC < 1$) aux points des indices de combinaison IC₅₀ et IC₆₀.

La combinaison des médicaments est considérée par de nombreux chercheurs comme une approche prometteuse pour des maladies complexes telles que le cancer, l'inflammation et le diabète de type 2 (**Keith et al, 2005 ; Feala et al, 2010**). Cependant, lorsqu'ils sont utilisés en combinaison, les médicaments interagissent de manière inattendue et produisent plusieurs résultats différents (**Yeh et al, 2009**). Parmi ces interactions, la synergie et l'antagonisme des médicaments ont fait l'objet d'une attention particulière. La synergie, qui représente l'augmentation combinée de l'efficacité d'un médicament, est un objectif très recherché dans le cadre du développement de médicaments combinés. Il a été démontré que les combinaisons de médicaments synergiques sont très efficaces et plus spécifiques d'un point de vue thérapeutique. L'antagonisme, en revanche, est souvent indésirable (**Yin et al, 2014**).

L'avantage d'une thérapie combinée de deux médicaments (molécules ou autres), n'est pas seulement dû à la propriété des médicaments, mais pourrait également dépendre du rapport de dose testée. Comme les cellules ne font pas la différence entre un médicament seule ou une combinaison, deux médicaments combinés à un ratio donné pourraient être considérés comme un troisième médicament avec sa propre relation dose-effet (**Chou, 2010**). Par conséquent, plutôt que de simplement se demander si une combinaison particulière est synergique, il vaudrait mieux d'examiner quel ratio de dose optimise la synergie (**Keith et al, 2005**).

En examinant nos résultats, nous remarquons qu'à partir du ratio 100 : 100 nous obtenons un effet synergique de la combinaison. Plus la concentration en extraits est faible par rapport à l'acarbose, plus l'effet obtenu est meilleur : synergie.

Conclusion générale

L'étude de l'utilisation combinée de plantes médicinales et de médicaments antidiabétiques synthétiques pour améliorer l'effet inhibiteur de l'alpha-amylase et la gestion du diabète, est un domaine de recherche prometteur avec un potentiel important pour améliorer la santé des patients diabétiques. Cette recherche vise à rechercher les composés chimiques des écorces de racines de *Berberis vulgaris*, quantifier les polyphénols totaux et les flavonoïdes, et à évaluer l'effet des extraits seuls et en combinaison avec l'acarbose, médicament antidiabétique.

Les résultats de cette étude pourraient ouvrir la voie à de nouvelles approches thérapeutiques plus efficaces et plus sûres pour le diabète sucré, nous pouvons conclure notre étude, comme suit :

- L'extrait hydrométhanolique de *B. vulgaris* a un rendement plus élevé que l'extrait aqueux ;
- Les tests phytochimiques ont révélé la présence d'alcaloïdes, de tanins, de terpénoïdes et de composés réducteurs, avec des quinones libres et des saponosides absents ;
- L'extrait hydrométhanolique présente une forte teneur en polyphénols totaux par rapport à l'extrait aqueux ;
- Dans l'activité antidiabétique, l'extrait hydrométhanolique montre une inhibition légèrement élevée que l'extrait aqueux, avec des CI_{50} de 1,23 mg/ml et 1,29 mg/ml, respectivement. L'acarbose présente une CI_{50} inférieure, expliquant son activité inhibitrice de l'alpha-amylase supérieure.
- La combinaison de l'acarbose, utilisé en thérapeutique antidiabétique, avec les extraits de *Berberis vulgaris*, a montré des taux d'inhibition atteignant 70 %.
- Les indices de combinaison ont été calculés et les deux combinaisons montrent un effet synergique aux IC_{50} et IC_{60} .

Il est nécessaire de mener des études complémentaires pour confirmer les résultats obtenus *in vitro*, notamment en identifiant les composés actifs, en étudiant la cinétique enzymatique, et en recherchant d'autres mécanismes d'actions antidiabétiques des extraits de *Berberis vulgaris*.

Références bibliographique

- Abd El-Wahab, A. E., Ghareeb, D. A., Sarhan, E. E., Abu-Serie, M. M., & El Demellawy, M. A. (2013). In vitro biological assessment of *Berberis vulgaris* and its active constituent, berberine : antioxidants, anti-acetylcholinesterase, anti-diabetic and anticancer effects. BMC complementary and alternative medicine, 13, 1-12.
- Agarwal, P., & Gupta, R. (2016). Alpha-amylase inhibition can treat diabetes mellitus. Res. Rev. J. Med. Health Sci, 5(4), 1-8.
- American Diabetes Association. (2010). Diagnosis and classification of diabetes mellitus. Diabetes care, 33(Supplement_1), S62-S69
- American Diabetes Association. Report of the expert committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. Diabetes Care 1998 ; 21 (Suppl.) : S5-S19
- Arayne, M. S., Sultana, N., & Bahadur, S. S. (2007). The berberis story : *Berberis vulgaris* in therapeutics. Pakistan journal of pharmaceutical sciences, 20(1), 83-92
- Bosquet F, Hartemann-heurtier A. (2004). Insulinothérapie dans le diabète de type 2. Emc Endocrinologie. 1, 1, 55-65.
- Boudjelthia, K., Hammadi, K., Kouidri, M., & Djebli, N. (2017). Evaluation of antidiabetic activity of two plants *Berberis vulgaris* and *Zygophyllum geslini*. J. Phys. Chem. Biophys, 7(1), 1-7.
- Braillard, O., & dos Santos Bragança, A. (2017). Le diabète de type 2. Service de médecine de premier recours–DMCPRU-HUG, 8(02).
- Brayer GD, Luo Y, Withers SG. The structure of human pancreatic alpha-amylase at 1.8 Å resolution and comparisons with related enzymes. Protein Sci. 1995 Sep ; 4(9) : 1730-42
- Cefalu W. T, Buse J.B, Tuomilehto J, Fleming G.A, Ferrannini E, Gerstein H.C, Kahn S.E. (2016). Update and next steps for real world translation of interventions for type 2 diabetes prevention : reflections from a diabetes care editors expert eorum. Diabetes Care. 39, 7, 1186–1201
- Chou TC, Talalay P (1984). Quantitative analysis of dose-effect relationships: the combined effects of multiple drugs or enzyme inhibitors. Advances in enzyme Regulation, 22:27–55.
- 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.
- Dey-lucey M. D, Anoja S, Attele D.D. S, Chun-su yuan M.D. (2002). Alternative therapies for type 2 diabetes. Alternative Medicine Review. 7, 1, 45-58.
- Egan, A. M., & Dinneen, S. F. (2019). What is diabetes ?. Medicine, 47(1), 1-4.

- Elya, B., Handayani, R., Sauriasari, R., Hasyiyati, U. S., Permana, I. T., & Permatasari, Y. I. (2015). Antidiabetic activity and phytochemical screening of extracts from Indonesian plants by inhibition of alpha amylase, alpha glucosidase and dipeptidyl peptidase IV. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 18(6), 279.
- Feala JD, Cortes J, Duxbury PM, Piermarocchi C, McCulloch AD, et al, (2010). Systems approaches and algorithms for discovery of combinatorial therapies. *Wiley Interdisciplinary Reviews. Systems Biology and Medicine*, 2: 181–193.
- Fratini F, Mancini S, Turchi B, Friscia E, Pistelli L, Giusti G, Cerri D (2017). A novel interpretation of the Fractional Inhibitory Concentration Index: The case *Origanum vulgare* L. and *Leptospermum scoparium* J. R. et G. Forst essential oils against *Staphylococcus aureus* strains. *Microbiological research*, 195:11-17.
- Fouquier J, Guedj M (2015). Analysis of drug combinations: current methodological landscape. *Pharmacology research and perspectives*, 3 (3) :e00149.
- Gautier J.F., Mauvais-Jarvis F., Sobngwi E. L'activité physique : de la théorie à la pratique *Traité de diabétologie Paris : Médecine-Sciences Flammarion* (2006).
- Ghedira, K., & Goetz, P. (2019). *Berberis vulgaris* L.(Berberidaceae) Épine-vinette. *Phytothérapie*, 17(3), 159.
- Gonzalez M. V, Coque M, Herrerro M.(1996).Pollen-pistil inter action in kiwi fruit(*Actinidia deliciosa* ,*Actinidiaceae*).*Amer J Bot.*83,148-154.
- Halimi S. (2005). Nouvelles stratégies thérapeutiques dans le diabète de type 2.*La presse Médicale*.34,18,1287-1292.
- Hartemann A, Grimaldi A, Andreoli F, Bosquet F, Bourron O, Ciangura C, Halbron M, Jacqueminet S, Masseboeuf N, Sarchon C.(2013).*Guide pratique du diabète .5ème Edition. Elsevier Masson.*294,978.
- Hosseinihashemi, S. K., Anoshei, H., Aghajani, H., & Salem, M. Z. (2015). Chemical composition and antioxidant activity of extracts from the inner bark of *Berberis vulgaris* stem. *BioResources*, 10(4), 7958-7969.
- Huang RY, Pei L, Liu Q, Chen S, Dou H, Shu G, Yuan ZX, Lin J, Peng G, Zhang W, Fu H. isobologram analysis: A comprehensive review of methodology and current research. *Frontiers in pharmacology*, 10:1222.
- Imanshahidi, M., & Hosseinzadeh, H. (2008). Pharmacological and therapeutic effects of *Berberis vulgaris* and its active constituent, berberine. *Phytotherapy research*, 22(8), 999-1012.
- Keith CT, Borisy AA, Stockwell BR, (2005). Multicomponent therapeutics for networked systems. *Nature Reviews. Drug Discovery*, 4: 71–78.

- Kim, Y. M., Jeong, Y. K., Wang, M. H., Lee, W. Y., and Rhee, H. I. (2005). Inhibitory effect of pine extract on alpha-glucosidase activity and postprandial hyperglycemia. *Nutrition* 21, 756–761. Doi :10.1016/j.nut.2004.10.014
- Maurice M, Iwu. (2014). Pharmacognostical profile of selected medicinal plants. *Handbook of African Medicinal Plants* CRC Press.10,3,93-98.
- Merabti R., 2006. – Isolement et caractérisation de souches levuriennes amylolytiques à partir de sol saharien algérien. Université Mentouri, Constantine. P. 85.
- Mezouar D. 2017. Etude phytochimique et évaluation des activités biologiques : antioxydantes, antitumorales, antimicrobiennes et antiparasitaires de *Berberis vulgaris*. [Thèse de Doctorat, Université de Tlemcen].
- Mezouar D, Lahfa FB, Djaziri R, Boucherit-Otmani Z. 2014. Évaluation de l'activité antioxydante de *Berberis vulgaris* L. *Phytothérapie*, 12 : 297-301.
- Mustafa Özgen ; Onur Saraçoğlu and Esma Nur Geçer. (2012) Antioxidant Capacity and Chemical Properties of Selected Barberry (*Berberis vulgaris* L.) Fruits . *Hort. Environ. Biotechnol* ; 53(6) :447-451.
- Nouadri T., 2011. – L' α -amylase de *Penicillium camemberti* PL21 : Production, Purification, Caractérisation et Immobilisation. Université Mentouri, Constantine. P. 160.
- Ogunyemi, O. M., Gyebi, A. G., Adebayo, J. O., Oguntola, J. A., and Olaiya, C. O. (2020). Marsectohexol and other pregnane phytochemicals derived from *Gongronema latifolium* as α -amylase and α -glucosidase inhibitors : In vitro and molecular docking studies. *SN Appl. Sci.* 2, 2119. Doi :10.1007/s42452-020-03951-0
- Ogunyemi, O. M., Gyebi, G. A., Ibrahim, I. M., Esan, A. M., Olaiya, C. O., Soliman, M. M., et al. (2022). Identification of promising multi-targeting inhibitors of obesity from *Vernonia amygdalina* through computational analysis. *Mol. Divers.* Doi :10.1007/s11030-022-10397-6
- Radermecker RP. — Place des insulinosécrétagogues dans le traitement du diabète de type 2. *Rev Med Liège* 2005, 60, 402-408.
- Rahimi-Madiseh, M., Lorigoini, Z., Zamani-Gharaghoshi, H., & Rafieian-Kopaei, M. (2017). *Berberis vulgaris* : specifications and traditional uses. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 20(5), 569.
- Ramachandran, A. (2014). Apprenez-en davantage ya les signes et symptômes du diabète. *Journal indien de recherche médicale*, 140(5), 579-581.
- Scheen A, Luyckx A, Castillo M, Lefèbvre P.— Rôle thérapeutique des effets extra pancréatiques des sulfamidés hypoglycémians. *Med Hyg*, 1985, 43, 3816-3820.
- Scheen AJ, Paquot N.— Les insulinosensibilisateurs. *Rev Med Liège*, 2005, 60, 409-413.

- Scheen, A., Radermecker, R., Philips, J. C., Rorive, M., De Flines, J., Ernest, P., & Paquot, N. (2007). Le traitement du diabète de type 2 : entre insulinosensibilisateurs et insulinosécrétagogues. *Revue Médicale de Liège*, 62.
- Suryasa, I. W., Rodríguez-Gámez, M., & Koldoris, T. (2021). Health and treatment of diabetes mellitus. *International Journal of Health Sciences*, 5(1), 1-5
- Tielmans, A., Laloi-Michelin, M., Coupaye, M., Virally, M., Meas, T., & Guillausseau, P. J. (2007). Traitement médicamenteux du diabète de type 2 (première partie). *La Presse Médicale*, 36(2), 269-278.
- Tundis, R., Loizzo, M. R., & Menichini, F. (2010). Natural products as α -amylase and α -glucosidase inhibitors and their hypoglycaemic potential in the treatment of diabetes : an update. *Mini reviews in medicinal chemistry*, 10(4), 315-331.
- World Health Organization. (2016). Global report on diabetes : executive summary (No. WHO/NMH/NVI/16.3). World Health Organization
- World Health Organization. (2016). Global report on diabetes : executive summary (No. WHO/NMH/NVI/16.3). World Health Organization
- Ybert E.D. (2001). Larousse Encyclopédie des plantes médicinales identification, préparation, soin. 2^{ème} édition. Larousse Ed. 335.263.
- Yeh PJ, Hegreness MJ, Aiden AP, Kishony R, (2009). Drug interactions and the evolution of antibiotic resistance. *Nature Reviews. Microbiology*, 7: 460–466.
- Yin N, Ma W, Pei J, Ouyang Q, Tang C, Lai L (2014). Synergistic and antagonistic drug combinations depend on network topology. *PLoS One*, 9(4):e93960.
- Zarei, A., Changizi-Ashtiyani, S., Taheri, S., & Ramezani, M. (2015). A quick overview on some aspects of endocrinological and therapeutic effects of *Berberis vulgaris* L. *Avicenna journal of phytomedicine*, 5(6), 485.