



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

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

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

MÉMOIRE

Présenté par

Mlle BOUABDALLAH Meriem

Pour l'obtention du

Diplôme de MASTER

En Biochimie

Thème

Etude phytochimique et évaluation de l'effet inhibiteur des extraits bruts hydrométhanoliques et d'alcaloïdes totaux de *Berberis vulgaris* sur l'activité de l'alpha amylase *in vitro*

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

Année universitaire : 2018 – 2019

Dédicasse

Je dédie ce modeste travail ;

A ma mère :

*« Aucune dédicace ne saurait exprimer l'affection et l'amour que j'éprouve
envers toi ».*

*Puisse ce travail être la récompense de tes soutiens moraux et sacrifices. Que
Dieu t'accorde santé et bonheur pour que tu restes la splendeur de ma vie.*

A mon père :

*Puisse ce travail constitué une légère compensation pour tous les nobles
sacrifices que tu t'es imposé pour assurer notre bien-être et notre éducation.*

*Qu'il reçoit l'expression de ma profonde gratitude et ma grande
considération pour le plus dévoué des pères que tu es. Puisse Dieu te prêter
longue vie, santé et bonheur.*

A mes frères et sœurs,

A mon mari qui m'a soutenu durant mon cursus universitaire,

Ainsi au'à toute ma belle-famille.

Remerciements

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

*Je tiens à remercier Mademoiselle **MEZOUAR D**, Maître assistant-B au département de Biologie, faculté des sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre et de l'univers, université Abou Bekr Belkaid - Tlemcen-, pour avoir accepté de diriger ce travail, pour ses encouragements et ses conseils judicieux tout le long de la réalisation de ce mémoire. Qu'elle trouve ici le témoignage de ma profonde reconnaissance.*

*Je désire aussi remercier Monsieur **Lahfa F**, Professeur au département de biologie, faculté des sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre et de l'univers, université Abou Bekr Belkaid Tlemcen, de m'avoir fait l'honneur de présider ce jury et pour ses précieux conseils et ses encouragements.*

*Monsieur **Rahmoun M.N**, Maître de conférence A au département Biologie, faculté des sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre et de l'univers, université Abou Bekr Belkaid - Tlemcen- d'avoir accepté d'examiner et discuter ce mémoire, aussi pour la richesse et la qualité de son enseignement au cours de notre cursus universitaire.*

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

المخلص

يعد هذا العمل جزءاً من تقييم التأثير المثبط للمستخلصات الخامة الهدروميتانولية والقلويدات الكلية للحاء جذر الغريس على نشاط الأنزيم ألفا أميلاز من أجل تصحيح نسبة ارتفاع السكر في الدم.

تبدأ دراستنا بالتحليل الكيميائي النباتي ثم الكمي لهذه المستخلصات بهدف تحديد الكمية الإجمالية من البوليفينول والفلافونويدات.

يبين الفحص الكيميائي للنبذة عن وجود العفص المكثف، القلويدات والكومارين.

المستخلص المحضر بالنقع يحتوي على أكبر كمية من البوليفينول والفلافونويدات بتركيز 5,01 ملغ / حمض الغاليك لكل جرام و3,40 ملغ / كاتشين لكل جرام، على التوالي.

أظهرت الإختبارات التي أجريت أن مختلف مستخلصات شجيرة الغريس لها تأثير مثبط على نشاط إنزيم ألفا أميلاز, أكبر تأثير مثبط 50 % CI سجل للمستخلص المحضر بالنقع بقيمة 1,88 ملغ/مل, يتبعه مستخلص النقع المغلي ثم مستخلص القلويدات الكلية .

إعتقاداً على نتائج دراستنا، يمكننا أن نقترح بأن شجيرة الغريس لها دور في تنظيم نسبة السكر المرتفعة في الدم من خلال تثبيط عمل أنزيم ألفا أميلاز وبالتالي التقليل من إمتصاص الغلوكوز.

الكلمات المفتاحية: الغريس, المستخلص الميثانولي المائي, القلويدات الكلية, ألفا أميلاز, تثبيط.

Résumé

Ce travail s'inscrit dans le cadre d'évaluer l'effet inhibiteur des extraits bruts hydrométhanolique et d'alcaloïdes totaux de l'écorce de racine de *Berberis vulgaris* L sur l'activité de l' α -amylase dans le but de corriger l'état de l'hyperglycémie postprandiale.

Notre étude est initiée par un screening phytochimique de ces extraits et une analyse quantitative visant la détermination des taux de polyphénols totaux et de flavonoïdes.

Le screening phytochimique a révélé la présence des tanins, des alcaloïdes, et des coumarines dans les différentes préparations de la plante.

Les taux en polyphénols et en flavonoïdes les plus élevés sont enregistrés dans l'extrait hydrométhanolique préparé par macération (5,01 mg GAE/g et 3,40 mg CEQ/g, respectivement).

Les tests réalisés *in vitro* sur l'activité de l' α -amylase montrent que *Berberis vulgaris* L possède un effet inhibiteur avec des valeurs de CI₅₀ variables, cet effet est plus marqué avec l'extrait préparé par macération avec une CI₅₀ de l'ordre de 1,88 mg/ml, suivi l'extrait sous reflux, et enfin, l'extrait des alcaloïdes totaux.

En fonction des résultats obtenus de notre étude, nous suggérons que *Berberis.vulgaris* L peut exercer un effet sur la régulation de l'hyperglycémie en effectuant une inhibition de l'activité de l' α -amylase et par la suite une réduction de l'absorption du glucose, mais il reste largement faible comparativement à celui de l'acarbose (CI₅₀ de 0,72 mg/ml).

Mots clés : *Berberis vulgaris*, extrait hydrométhanolique, alcaloïdes totaux, α -amylase, inhibition, hyperglycémie.

Abstract

This work is part of assessing the inhibitory effect of crude hydromethanolic extracts and total alkaloids of the *Berberis vulgaris* L root bark on the activity of α -amylase in order to correct the state of postprandial hyperglycemia.

Our study is initiated by a phytochemical screening of these extracts and quantitative analysis for determining the rate of total polyphenols and flavonoids.

Phytochemical screening revealed the presence of tannins, alkaloids, and coumarins in the different preparations of the plant.

The highest levels of polyphenols and flavonoids are recorded in the hydromethanol extract prepared by maceration (5.01 mg GAE / g and 3.40 mg CE / g, respectively).

In vitro tests carried out on the activity of α -amylase show that *Berberis vulgaris* L has an inhibitory effect with variable IC_{50} values, this effect is more marked with the macerated extract with an IC_{50} of 1.88 mg / ml, followed by the under reflux extract, and finally, the total alkaloids extract.

Based on the results obtained from our study, we suggest that *Berberis.vulgaris* L may exert an effect on the regulation of hyperglycemia by effecting an inhibition of α -amylase activity and subsequently, a reduction in glucose uptake, but it remains largely low compared with acarbose ($IC_{50} = 0.72$ mg / ml).

Key words : *Berberis vulgaris*, hydromethanolic extract, total alkaloids, α -amylase, inhibition, hyperglycemia.

Table des matières

المخلص	4
Résumé	5
Abstract	6
Table des matières	7
Liste des figures	10
Liste des tableaux	11
Liste des abréviations	12
Introduction générale.....	14
Partie bibliographique	17
I. Diabète sucré.....	17
1. Définition.....	17
2. Classification du diabète sucré	17
3. Critères diagnostiques.....	18
4. Complication	18
5. Traitement du diabète sucré.....	19
5.1. Régime alimentaire	19
5.2. Activité physique	19
5.3. Traitement médicamenteux du diabète de type 2.....	19
6. Stratégies thérapeutiques de DT2	21
7. Alpha amylase	21
7.1. Définition	21
7.2. Structure.....	21
7.3. Inhibition de l' α -amylase	22
II. Plantes médicinales.....	23
1. Introduction	23
2. Plante antidiabétique	23
III. Plante étudiée : <i>Berberis vulgaris</i>	25
1. Classification	25
2. Description botanique.....	25
3. Répartition géographique	26
4. Utilisation traditionnelle	26
5. Composition chimique.....	27

6. La berbérine	28
7. Activité biologique	28
Matériel et méthodes	31
I. Étude phytochimique	31
1. Matériel végétal.....	31
2. Préparation des extraits hydrométhanoliques.....	31
3. Extraction des alcaloïdes totaux	31
4. Tests phytochimiques	32
4.1. Alcaloïdes	32
4.2. Flavonoïdes : Réaction à la cyanidine.....	32
4.3. Tanins.....	32
4.4. Coumarines	32
4.5. Stérols et triterpènes : Lieberman – Burchardt	32
4.6. Terpénoïdes : Test de Slakowski	33
4.7. Saponosides.....	33
4.8. Composés réducteurs	33
5. Dosage des polyphénols totaux	33
6. Dosage des flavonoïdes	33
II. Évaluation de l'effet inhibiteur des extraits de l'écorce de racine de <i>Berberis vulgaris</i> sur l'activité de l' α -amylase	34
1. Préparation des solutions :.....	34
1.1. Solution de tampon phosphate (0.02 M, pH 6.9) :.....	34
1.2. Solution d'amidon soluble (substrat) :.....	34
1.3. Réactif de l'acide 3,5-dinitrosalicylique DNSA	34
1.4. Solution d'extraits :.....	35
1.5. Solution échantillon d' α -amylase	35
1.6. Solution d'acarbose :.....	35
2. Mode opératoire.....	36
3. Analyses statistiques.....	36
Résultats et interprétation.....	39
I. Études phytochimique.....	39
1. Extraction.....	39
2. Tests phytochimiques	39
3. Dosage des composés phénoliques.....	40

II. Effet des extraits de <i>B. vulgaris</i> L sur l'activité de l' α - amylase <i>in vitro</i>	42
Discussion	47
Conclusion générale	52
Références bibliographiques	54

Liste des figures

Figure 1 : Classification du diabète sucré selon l'OMS.....	17
Figure 2 : Antidiabétiques et site d'action.....	20
Figure 3 : Structure de l' α -amylase.....	22
Figure 4 : Écorce de racine de <i>B. vulgaris</i>	26
Figure 5 : Feuilles de <i>B. vulgaris</i>	27
Figure 6 : Fruit de <i>B. vulgaris</i>	27
Figure 7 : Structure chimique de la berbérine.....	28
Figure 8 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique $\lambda = 700$ nm.....	41
Figure 9 : Courbe d'étalonnage de la catéchine $\lambda = 510$ nm.....	41
Figure 10 : Courbe de régression linéaire d'inhibition en fonction des différentes concentrations de l'extrait hydrométhanolique préparé par macération.....	42
Figure 11 : Courbe de régression linéaire d'inhibition en fonction des différentes concentrations de l'extrait hydrométhanolique sous reflux.....	43
Figure 12 : Courbe de régression linéaire d'inhibition en fonction des différentes concentrations de l'extrait d'alcaloïdes totaux.....	43
Figure 13 : Courbe de régression linéaire d'inhibition en fonction des différentes concentrations de l'acarbose.....	44

Liste des tableaux

Tableau 1 : Quelques plantes avec leurs composés actifs utilisées dans le traitement du diabète sucré.....	24
Tableau 02 : Quelques activités biologiques de <i>B. vulgaris</i> citées dans la littérature scientifique.....	29
Tableau 3 : Caractéristiques des extraits des écorces de racine de <i>B. vulgaris</i> L.....	39
Tableau 4 : résultats des tests phytochimique réalisés sur les écorce de racines de <i>B. vulgaris</i>	40
Tableau 5 : Teneurs en polyphénols, et en flavonoïdes des extraits bruts hydrométhanoliques des écorces de racine de <i>B. vulgaris</i> L.....	41
Tableau 6 : valeurs de la CI ₅₀ des extraits de <i>B. vulgaris</i> L et de l'acarbose.....	44

Liste des abréviations

ADA : Association Américaine du diabète

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

DNSA : Acide 3,5-dinitrosalicylique

DPP-4 : Dipeptidyl peptidase 4

FID : Fédération internationale du diabète

GLP-1 : Glucagon-like peptide 1

HbA1c : Hémoglobine glyquée A1c

Mg CEQ/g : Milligramme équivalent catéchine par gramme de la matière végétale sèche

Mg GAE/g : Milligramme équivalent acide gallique par gramme de la matière végétale sèche

OMS : Organisation mondiale de la santé

Introduction générale

Introduction générale

Le diabète sucré est une maladie métabolique courante que sa prévalence est de 6,4% dans le monde. Il est estimé que plus de 280 millions de personnes ont le diabète et il est prévu que plus de 330 millions de personnes seront touchées en 2025 [Rahimi-Madiseh et al, 2017].

Quelle que soit sa forme, le diabète engendre un coût humain, social et économique intolérablement élevé pour les pays de tous niveaux de revenu. Depuis sa première édition l'Atlas du diabète de la Fédération internationale du diabète (FID) présente les résultats et une analyse des taux en hausse continue de l'incidence et de la prévalence du diabète dans le monde [FID, 2017].

Une multitude d'herbes, d'épices et autres parties de la plante ont été décrites dans le traitement du diabète partout dans le monde. En effet, dans le contexte sanitaire actuel, il y a un besoin continu de nouvelles molécules pour soigner de nombreuses pathologies dont le diabète [Gbekley et al, 2017]. Cependant, pour diverses raisons, la médecine traditionnelle utilisant des plantes médicinales occupe toujours une place très importante dans la vie de nombreuses personnes dans le monde. En fait, plus de 25 000 plantes sont utilisées dans la pharmacopée et plus de 50% des produits pharmaceutiques disponibles sur le marché sont d'origine naturelle [Eddouks et al, 2016].

L'Afrique est connue pour sa riche diversité biologique et culturelle, caractérisée par des différences régionales dans les pratiques de guérison. On estime que ce continent contient entre 40 et 45 000 espèces de plantes à potentiel de développement et sur lesquelles 5 000 espèces sont utilisées en médecine traditionnelle [Miara et al, 2019].

En Algérie, la médecine traditionnelle et en particulier les traitements à base de plantes sont bien développés, mais l'utilisation de la médecine conventionnelle a conduit à négliger ces pratiques ancestrales, qui risquent d'être oubliées [Miara et al, 2019].

En outre, la phytothérapie semble être l'option privilégiée pour la prévention et le traitement de diverses pathologies en raison de l'accès insuffisant aux fournisseurs de services médicaux et aux traitements modernes, en plus du coût exorbitant de la plupart des produits pharmaceutiques classiques [Miara et al, 2019].

De nombreuses plantes médicinales sont actuellement utilisées pour traiter l'hyperglycémie, en effet, dérive de l'usage traditionnel, dont l'utilisation a été officiellement reconnue dans une ou plusieurs régions du monde. Parmi les mécanismes d'action possibles des produits naturels dans

le diabète : l'amélioration de la sécrétion d'insuline, l'inhibition de l' α -glucosidase et l' α -amylase, ...etc [Governa et al, 2018].

Des travaux réalisés au sein du laboratoire antibiotiques, antifongiques : physicochimie, synthèse et activité biologique, sur une plante médicinale appartenant à la famille des berberidacées (*Berberis.vulgaris* L), ont montré que cette plante présente des activités biologiques intéressantes, dont l'activité antidiabétique.

De ce fait, notre étude est portée pour évaluer l'effet inhibiteur des extraits bruts hydrométhanoliques de l'écorce de racine de *B. vulgaris* L sur l'activité de l' α - amylase.

Partie bibliographique

Partie bibliographique

I. Diabète sucré

1. Définition

Le diabète sucré est un trouble métabolique chronique suivi d'une élévation anormale de la glycémie, conséquence d'une production d'insuline non équilibrée et / ou d'une insensibilité à l'effet de cette hormone sur la transduction du signal des récepteurs cellulaires. Ces changements métaboliques s'accompagnent de modifications du métabolisme des glucides, des lipides et des protéines [Stojkovic et al, 2019].

2. Classification du diabète sucré

Quatre types de diabète sucré ont été défini par l'organisation mondiale de la santé OMS (figure 1).

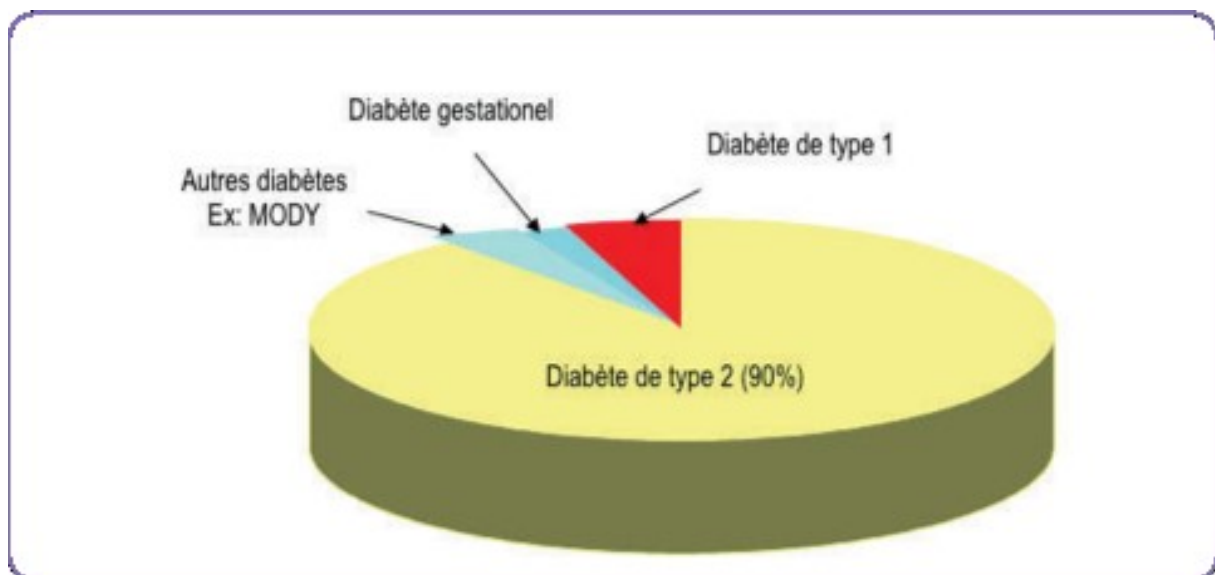


Figure 1 : Classification du diabète sucré selon l'OMS [Tenenbaum et al, 2018]

La physiopathologie du diabète sucré, caractérisée par une hyperglycémie permanente permet de distinguer différents types de ce diabète :

- ✓ Le diabète de type 1 (DT1) : résulte surtout de la destruction des cellules bêta du pancréas et prédispose à l'acidocétose. Cette forme de diabète comprend les cas attribuables à un processus auto-immun et les cas dont la cause de la destruction des cellules bêta est inconnue.

- ✓ Le diabète de type 2 (DT2) : peut être surtout attribuable à une insulino-résistance accompagnée d'une carence insulinique relative ou à une anomalie de la sécrétion accompagnée d'une insulino-résistance.
- ✓ Le diabète gestationnel est une intolérance au glucose qui se manifeste ou qu'on dépiste pour la première fois pendant la grossesse.
- ✓ Les autres types particuliers comprennent une grande variété de troubles relativement peu courants, surtout des formes de diabète définies génétiquement ou associées à d'autres maladies ou à des médicaments [Goldenberg et Punthakee, 2013].

3. Critères diagnostiques

Les critères diagnostiques du diabète sucré sont fondés sur des épreuves faites à partir de sang veineux et sur les méthodes utilisées en laboratoire.

- ✓ Une glycémie à jeun de 7,0 mmol/L correspond environ à une glycémie 2 heures après l'ingestion de 75 g de glucose de 11,1 mmol/L ou plus, et les deux mesures sont les meilleurs prédicteurs d'une rétinopathie.
- ✓ Une relation semblable à celle de la glycémie à jeun ou de la glycémie après 2 heures existe entre le taux d'hémoglobine glyquée HbA1c et la rétinopathie, à une valeur seuil d'environ 6,5 %. Bien que le diagnostic de diabète soit fondé sur le seuil d'HbA1c pour la survenue d'une maladie microvasculaire, le taux d'HbA1c est également un facteur de risque cardiovasculaire continu [Goldenberg et Punthakee, 2013].

4. Complication

L'hyperglycémie peut provoquer des lésions au niveau de divers organes et conduire au développement de complications de santé invalidantes, voire mortelles [FID, 2017].

On distingue deux types de complications du diabète sucré :

- ✓ Les complications aiguës :

Incluent l'acidocétose diabétique, le syndrome hyperglycémique hyperosmolaire, le coma diabétique hyperglycémique, les crises d'épilepsie ou la perte de connaissance et les infections.

- ✓ Les complications chroniques :

- Les complications microvasculaires chroniques sont : la néphropathie, la neuropathie et la rétinopathie.

- Les complications macrovasculaires chroniques comprennent : les coronaropathies conduisant à une angine de poitrine ou un infarctus du myocarde, les artériopathies périphériques, contribuant aux accidents vasculaires cérébraux, l'encéphalopathie diabétique et le pied diabétique [FID, 2017].

5. Traitement du diabète sucré

La gestion de l'hyperglycémie dans le DT2 est devenue extrêmement complexe avec le nombre de médicaments hypoglycémifiants disponibles. Une prise de décision et un soutien centrés sur le patient, ainsi que des efforts constants pour améliorer le régime alimentaire et les exercices restent le fondement de toute gestion de la glycémie.

Une auto-surveillance régulière de la glycémie peut aider à la gestion de soi et à l'adaptation des médicaments, en particulier chez les personnes prenant de l'insuline [ADA, 2018].

5.1. Régime alimentaire

Le patient doit suivre une alimentation équilibrée en glucides, protéines et lipides, notamment en cas de diabète déséquilibré. L'index glycémique (faible ou élevé) et les équivalences entre les aliments doivent être connus. Aucun aliment n'est interdit, mais il convient de se méfier des plus sucrés à index glycémique élevé (confiseries, soda, pain blanc, cerises...etc) [Pillon, 2018].

5.2. Activité physique

La pratique d'une activité physique régulière augmente la sensibilité des tissus périphériques à l'insuline. Elle améliore les anomalies de la glycorégulation, qu'il s'agisse d'un diabète, de la conversion intolérance au glucose-diabète ou de la survenue ultérieure d'un diabète [Drouin et al, 1999].

5.3. Traitement médicamenteux du diabète de type 2

La stratégie thérapeutique doit s'adapter en permanence à l'évolution de la maladie, aux comorbidités, à l'efficacité (variation de l'HbA1c notamment), aux effets secondaires et au coût de thérapie par voie orale et injectable prescrites [David, 2018].

Cinq classes des antidiabétiques oraux exerçant des effets hypoglycémifiants par des mécanismes d'action différents :

5.3.1. Antidiabétiques oraux

➤ **Biguanides (metformine)**

Réduction de la production hépatique du glucose, augmentation de la sensibilité à l'insuline des cellules.

➤ **Sulfamides hypoglycémiants (gliclazide, glimépiride...)**

Insulinosécréteur, amélioration de la sensibilité des tissus périphériques à l'insuline.

➤ **Inhibiteurs des alpha glucosidases (acarbose)**

Ralentissement de l'absorption des glucides alimentaires complexes.

➤ **Inhibiteurs des DPP-4 (dipeptidyl peptidase 4) (sitagliptine, vildagliptine...)**

Potentialisation de la sécrétion de l'insuline par inhibition de l'enzyme DPP-4 amplifiant les taux d'hormone GLP-1 (glucagon-like peptide 1) [David, 2018].

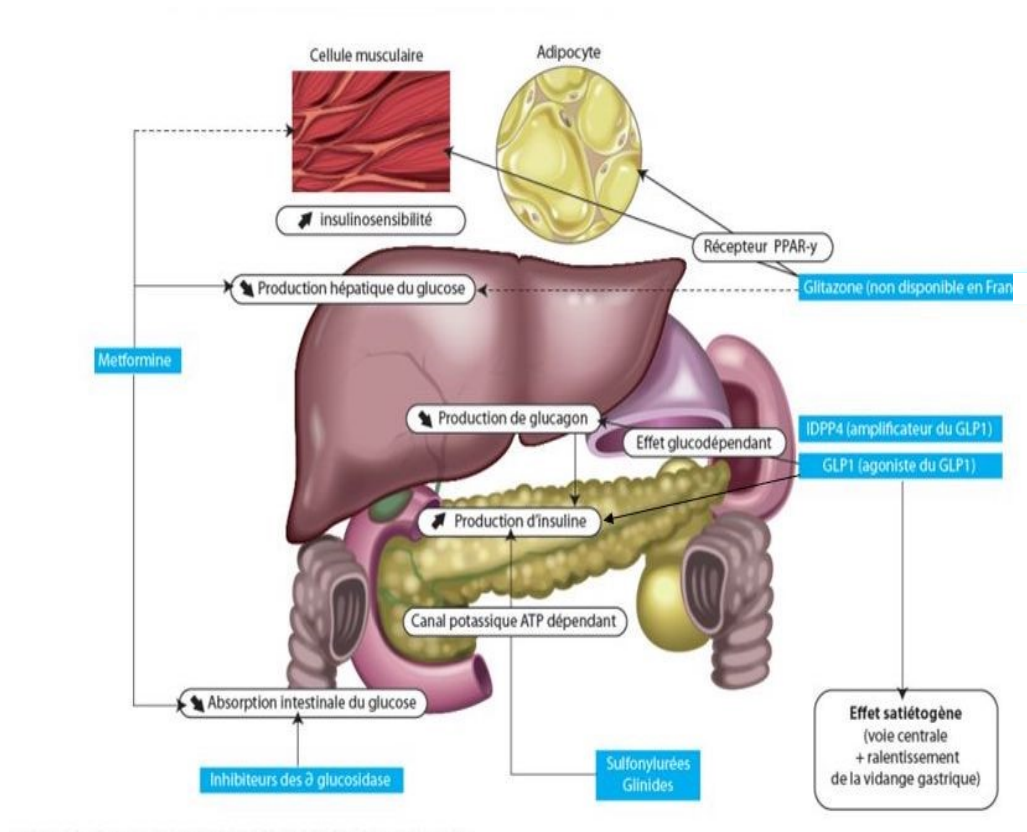


Figure 2 : Antidiabétiques et site d'action [Monnier, 2010]

5.3.2. Antidiabétiques injectables (sous cutanée)

➤ Analogue des GLP-1 (exénatide, liraglutide...)



Hormone endogène qui potentialise de façon glucose-dépendante la sécrétion d'insuline.

➤ Insulines et analogues de l'insuline



Remplacent l'insuline endogène en étant libérés de façon rapide ou lente [David, 2018].

L'insulinothérapie définitive devient bien évidemment nécessaire en cas de contre-indication à la poursuite des antidiabétiques oraux (insuffisance rénale, hépatique...) [Bosquet et Hartemann-Heurtier, 2004].

6. Stratégies thérapeutiques de DT2

Plusieurs approches thérapeutiques sont à l'étude pour réguler les niveaux de glucose postprandial en raison des effets secondaires graves des médicaments antidiabétiques disponibles dans le commerce. L'alpha-amylase étant responsable de la glycémie postprandiale, différents extraits de plantes dotés d'une activité inhibitrice de l'alpha-amylase sont à l'origine de la diminution de la glycémie postprandiale. Il s'agit donc, d'une cible thérapeutique intéressante et nouvelle pour le traitement du diabète sucré car elles ont moins d'effets secondaires que les médicaments synthétiques [Prashant Agarwal et Ritika Gupta, 2016].

7. Alpha amylase

7.1. Définition

Les alpha-amylases sont les métallo-enzymes du calcium qui ne peuvent pas fonctionner en l'absence de calcium. Il existe de nombreuses enzymes digestives chez l'homme, dont la plus importante est l'alpha-amylase pancréatique (EC 3.2.1.1), qui joue un rôle de catalyse dans la réaction qui implique l'hydrolyse des liaisons alpha-1,4 glycosidiques de l'amidon, l'amylopectine, l'amylose, le glycogène et de nombreuses maltodextrines et est responsable de la digestion de l'amidon [Agarwal et Gupta, 2016].

7.2. Structure

L'amylase a une structure tridimensionnelle capable de se lier au substrat et, par l'action de groupes catalytiques très spécifiques, de favoriser la rupture des liaisons glycosidiques. L'alpha amylase humaine est une enzyme classique contenant du calcium et composée de 512 acides

aminés dans une seule chaîne d'oligosaccharide d'un poids moléculaire de 57,6 kDa. La protéine contient trois domaines : A, B et C (Figure 3) [De Souza et De Oliveira, 2010].

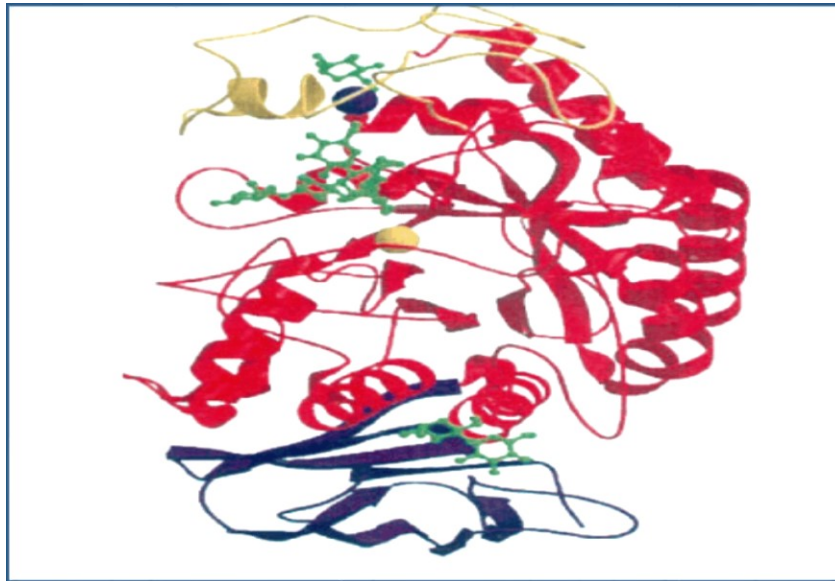


Figure 3 : Structure de l' α -amylase. Le domaine A est indiqué en rouge, le domaine B en jaune et le domaine C en violet. Dans le centre catalytique, l'ion calcium est indiqué dans la sphère bleue et l'ion chlorure dans la sphère jaune. Les structures vertes sont liées au site actif et aux sites de liaison de surface [De Souza et De Oliveira, 2010]

7.3. Inhibition de l' α -amylase

Il a été démontré que l'activité de l' α -amylase pancréatique humaine (HPA) dans l'intestin grêle est corrélée à une augmentation de la glycémie post-prandiale, dont le contrôle est donc un facteur important.

Par conséquent, le retard de la digestion de l'amidon par inhibition des enzymes telles que l' α -amylase jouerait un rôle clé dans le contrôle du diabète. Cependant, la découverte d'inhibiteurs spécifiques de l' α -amylase pancréatique de haute affinité pour le développement de produits thérapeutiques est restée secrète. Les inhibiteurs utilisés en clinique, tels que l'acarbose, le miglitol et le voglibose, sont connus pour inhiber un large éventail de glycosidases [Sudha et al, 2011].

Le rôle potentiel des plantes médicinales en tant qu'inhibiteurs de l' α -amylase ont été examinés par plusieurs auteurs. Une variété de plantes a été signalé pour l'activité inhibitrice de l' α -amylase et peut donc être pertinente pour le traitement du diabète de type 2. Environ 800 espèces de plantes ont été reporté de posséder des propriétés antidiabétiques. Une large gamme

de composés dérivés de plante, principalement des alcaloïdes, des glycosides, des polysaccharides, des hypoglycanes, des peptidoglycanes, des guanidines, des stéroïdes, des glycopeptides et des terpénoïdes, ont démontré une activité biologique vis-à-vis de l'hyperglycémie [De Sale et al, 2012].

II. Plantes médicinales

1. Introduction

Les médicaments traditionnels deviennent de plus en plus populaires dans le monde entier, et plusieurs preuves suggèrent que les plantes médicinales sont des réservoirs illimités de médicaments. L'étonnante diversité structurelle de leurs composants actifs en fait une source utile de nouvelles thérapies. Les chercheurs s'intéressant aux produits naturels ont intensifié leurs efforts en matière d'évaluation scientifique des médicaments traditionnels. L'Organisation mondiale de la santé OMS estime que la phytothérapie est encore la source la plus courante de soins de santé primaires pour environ 75 à 80 % de la population mondiale, principalement dans les pays en développement, en raison de sa meilleure acceptabilité culturelle et de sa compatibilité avec le corps humain et présenteraient moins d'effets secondaires [Abd El-Wahab et al, 2013].

2. Plante antidiabétique

Près de 1200 espèces de plantes sont utilisées en médecine populaire pour traiter le diabète sucré. Une multitude d'herbes, d'épices et autres parties de la plante ont été décrites dans le traitement du diabète partout dans le monde [Gbekley et al, 2017]. Plusieurs plantes sont reconnues traditionnellement pour leurs propriétés antidiabétiques qui peuvent dépendre de plusieurs mécanismes [Jarald, 2008] :

- Réduction de la résistance à l'insuline ;
- Stimulation de la sécrétion de l'insuline à partir des cellules bêta ou/et inhibition du processus de dégradation de l'insuline ;
- Apport de quelques éléments nécessaires comme le calcium, le zinc, le magnésium, le manganèse et le cuivre pour les cellules β ;
- Régénération ou/et réparation des cellules pancréatiques β ;
- Effet protecteur contre la destruction des cellules β ;
- Augmentation du volume et du nombre de cellules dans les îlots de Langerhans ;

- Inhibition de la réabsorption rénale du glucose ;
- Prévention du stress oxydatif, qui peut être impliqué dans le dysfonctionnement des cellules bêta remarqué dans le diabète ;
- Stimulation de la glycogénogenèse et de la glycolyse hépatique ;
- Prévention de la conversion de l'amidon en glucose ;
- Diminution des activités du cortisol ;
- Inhibition des β -galactosidases, des α -glucosidases et des α -amylases

[Sudha et al ,2011]

Le tableau suivant présente quelques plantes avec leurs effets antidiabétiques.

Tableau 1 : Quelques plantes avec leurs composés actifs utilisées dans le traitement du diabète sucré [Gbekley et al, 2017]

Plantes (famille)	Principes actifs	Parties utilisées
<i>Althaea officinalis</i> L. (Malvaceae)	Mucilages	Racine ,feuille
<i>Papaver somniferum</i> L. (Papaveraceae)	Alcaloïdes (morphine, papavérine)	Fruit
<i>Allium cepa</i> L. (Liliacées)	Alcaloïdes (Diphénylalamine)	Bulbe
<i>Camellia sinensis</i> L.Kuntze (Théacées)	Alcaloïdes (théophylline)	Feuille
<i>Lilium maculatum</i> Thunb. (Liliacées)	Mucilages	Bulbe
<i>Ephedra distachya</i> L. (Ephedraceae)	Glycanes et protéines	Écorce
<i>Momordica charantia</i> L. (Cucurbitaceae)	Protéines (Polypeptide p-insuline)	Fruit, graine
<i>Marus alba</i> L. (Moraceae)	Glycane et protéine	Écorce de racine
<i>Ficus bengalensis</i> L. (Moraceae)	Flavonoïdes (leucocyanidine)	Feuille
<i>Phénix dactylifera</i> L. (Palmacées)	Stéroïde et triterpénoïde (acétate lupéol)	Feuille

III. Plante étudiée : *Berberis vulgaris*

Le genre *Berberis* est bien connu pour sa diversité et ses utilisations pharmacologiques dans le système de médecine traditionnelle depuis l'Antiquité. L'exploration de cette plante médicinale avec plus d'importance est la nécessité du système médicinal actuel [Bhardwaj et Kaushik, 2012]

1. Classification

Règne : Plantae

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Ordre : Ranunculales

Famille : Berberidaceae

Genre : *Berberis*

Nom scientifique : *Berberis vulgaris* (L.)

Nom commun français : Epine vinette

Nom commun arabe : Ghriss [Schauenberg et Paris, 2005]

2. Description botanique

Berberis vulgaris est un arbuste de 1 à 3 mètres de haut, épineux, à bois jaune et à feuilles évidées, portant des fleurs disposées en grappes pendantes, petites, jaunes pâle et sessiles avec un large stigmate. Les pétales sont entiers et les étamines sont irritables.

Le fruit est une baie rouge oblongue (épine-vinette) de 7 à 10 mm de long et de 3 à 5 mm de large, mûrissant à la fin de l'été ou à l'automne. La tige est ramifiée, lisse, rainurée, atteignant 3 à 8 pieds de haut, elle est rougeâtre lorsqu'elle est jeune. Les racines sont à feuilles caduques et sont de couleur grise ou brune. L'écorce a un goût amer et une légère odeur. L'épine-vinette pousse dans une variété de sols, mais est principalement cultivé dans les régions plus froides [Arayne et al, 2007 ; Abd El-Wahab et al, 2013 ; Javadzadeh et Ebrahimi, 2013].

3. Répartition géographique

Berberis vulgaris est un arbuste de la famille des Berberidacées, originaire d'Europe centrale et méridionale, d'Afrique du Nord-Ouest et d'Asie occidentale. Il pousse dans une variété de sols, mais est principalement cultivé dans les régions plus froides [Abd El-Wahab et al, 2013].

4. Utilisation traditionnelle

L'épine-vinette joue un rôle de premier plan dans la guérison à base de plantes depuis plus de 2500 ans [Arayne et al, 2007].

Les différentes parties de *B. vulgaris*, y compris sa racine, son écorce, ses feuilles et ses fruits, sont utilisées depuis longtemps dans la médecine traditionnelle en Iran et dans d'autres pays [Javadzadeh et Ebrahimi, 2013].



Figure 4 : Écorce de racine de *B. vulgaris* [Boudjelthia et al, 2017]

Les composés amers de l'épine-vinette, y compris les alcaloïdes, qui se trouvent en grandes quantités dans l'écorce de la racine (figure 4), stimulent les fonctions digestives après les repas, réduisent les niveaux de cholestérol total et de triglycérides, bloquent les canaux calciques, de plus ces alcaloïdes peuvent exercer des effets protecteurs sur le système nerveux central
[Rahimi-Madiseh et al, 2017].



Figure 5 : Feuilles de *B. vulgaris*
[Javadzadeh et Ebrahimi, 2013]

Une feuille (figure5), seule ou mélangée à un autre médicament, est utilisée pour traiter les plaies à l'intestin et la diarrhée chronique causée par la faiblesse des viscères à l'intérieur de l'estomac [Javadzadeh et Ebrahimi, 2013].

*Le fruit de *B. vulgaris* (figure 6) est un médicament astringent, calme l'arthralgie (douleurs articulaires), les rhumatismes et l'inflammation. L'épine-vinette peut être efficace dans le traitement de certaines infections telles que la gorge, l'urètre, les infections gastro-intestinales, pulmonaires, à levures et la diarrhée. L'épine-vinette contient des acides organiques. Elle est donc diurétique et utile pour traiter les calculs rénaux et purifie également le sang [Javadzadeh et Ebrahimi, 2013].*



Figure 6 : Fruit de *B. vulgaris*
[Arayne et al, 2007]

5. Composition chimique

B. vulgaris est riche en métabolites secondaires. L'analyse phytochimique a révélé la présence d'alcaloïdes, de tanins, de caroténoïdes, de vitamines, de protéines, de lipides, d'anthocyanines et de composés phénoliques. Les plus grandes quantités de composés phénoliques et d'anthocyanines se trouvent dans le jus de *B. vulgaris* et les plus grandes quantités de composés flavonoïdes se trouvent dans les feuilles de *B. vulgaris*.

L'écorce de la racine de *B. vulgaris* est plus riche en alcaloïde (aromaline, berbamine, oxybebérine, berbérine ...) par rapport à d'autres organes de cette plante [Rahimi-Madiseh et al, 2017].

6. La berbérine

La berbérine (figure 7) est l'un des alcaloïdes les plus importants de cette plante. Cet alcaloïde peut exercer différents effets, notamment des activités antioxydantes, anti-inflammatoires, hypoglycémiques, hypotensives et hypolipidémiques [Rahimi-Madiseh et al, 2017].

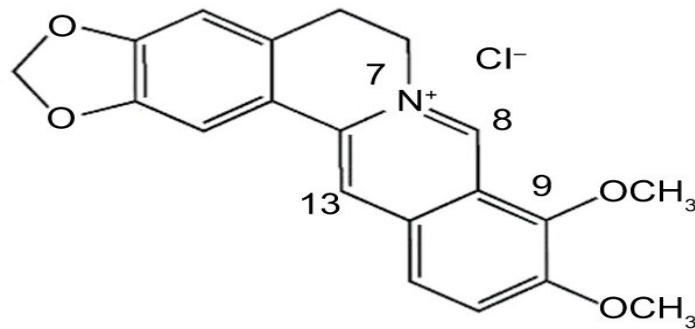


Figure 7 : Structure chimique de la berbérine [Firouzi et al, 2018]

De plus, la berbérine a eu un effet positif dans le traitement de la néphropathie diabétique de la neuropathie diabétique et de la cardiomyopathie diabétique [Bing et al, 2015].

7. Activité biologique

En ce qui concerne l'utilisation de *B. vulgaris* en médecine traditionnelle et leurs effets rapportés et confirmés dans les études récentes, il est possible d'utiliser différents organes de *B. vulgaris*, pour développer de nouveaux médicaments.

Cette plante est riche en substances phytochimique, ce qui lui confère des propriétés biologiques diverses. Par conséquent, *B. vulgaris* peut avoir des effets [Rahimi-Madiseh et al, 2017] :

- Anticancéreux,
- Anti-inflammatoires,
- Antioxydants,
- Antidiabétiques,
- Antibactériens,
- Analgésiques,
- Anti-nociceptifs,
- Hépto-protecteurs [Rahimi-Madiseh et al, 2017].

Le tableau 2 résume quelques activités biologiques de *Berberis vulgaris* citées dans la littérature scientifique.

Tableau 02 : Quelques activités biologiques de *B. vulgaris* citées dans la littérature scientifique [Rahimi-Madiseh et al, 2017]

Maladies	Partie étudiée de la plante
Cancer	Fruit
Épilepsie	Alcaloïde de la berbérine (isoquinoléine)
Diabète	Écorce de la racine
Cardiovasculaire	Fruit
Antihistaminique	Fruit
Hypertension	Fruit
Antibactérien	Écorce de la racine

Matériels et méthodes

Matériel et méthodes

I. Étude phytochimique

Ce travail a été réalisé au sein du laboratoire antibiotiques, antifongiques : physicochimie, synthèse et activité biologique LAPSAB, 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).

1. Matériel végétal

Berberis vulgaris (Berberidacée) a été obtenu auprès d'un herboriste de la région de Maghnia–Tlemcen en mars 2012. La partie utilisée dans cette étude est l'écorce de racines maintenues à l'abri de la lumière et à température ambiante.

2. Préparation des extraits hydrométhanoliques

Les écorces de racines de *B. vulgaris* sont broyées finement le jour même de l'extraction. La matière végétale (20 g) est mise en contact avec 200 ml du mélange méthanol/eau (70/30) (v/v).

Deux types d'extraction ont été réalisés : l'extraction sous reflux sous agitation pendant 3 h et l'extraction par macération sous agitation pendant 24 h, et ceci dans le but d'observer l'effet de la température sur les principes actifs de la plante.

Les extraits obtenus sont filtrés, puis, concentrés à sec ($T = 60\text{ }^{\circ}\text{C}$) par un rotavapeur (Heidolph). Les différents extraits sont conservés à $+4\text{ }^{\circ}\text{C}$.

3. Extraction des alcaloïdes totaux

L'extraction a été réalisé selon le protocole de Makkar et al, 2007, avec quelques modifications. Quarante grammes de la matière végétale broyée sont extraite par 400 ml d'acide acétique à 10 % dans le méthanol. L'extrait est macéré pendant 48 heures sous agitation et à l'abri de la lumière. Après filtration, l'extrait est concentré au rotavapeur, puis, précipité par l'addition d'hydroxyde d'ammonium concentré.

Le surnageant est récupéré, puis, extrait par le chloroforme jusqu'à épuisement total, et la phase chloroformique est évaporée à sec à $40\text{ }^{\circ}\text{C}$. Le résidu obtenu des alcaloïdes totaux est conservé à $+4\text{ }^{\circ}\text{C}$.

4. Tests phytochimiques

Les tests phytochimiques qualitatifs réalisés sur les extraits hydrométhanoliques sous reflux et macéré vont permettre de détecter la présence des différentes familles chimiques dans les écorces de racines de *B. vulgaris* par des réactions de coloration et de précipitation et des observations sous lumière ultra – violette UV.

4.1. Alcaloïdes

Le résidu de chaque extrait est repris dans 1.5 ml d'acide chlorhydrique HCl à 2 %. La solution obtenue est divisée en 2 volumes égaux : le premier tube est traité par le réactif de Mayer et le deuxième tube est traité par le réactif de Wagner. La formation des précipités blanc et marron, respectivement indiquent la présence des alcaloïdes [Majob, 2003].

4.2. Flavonoïdes : Réaction à la cyanidine

1 ml de chaque extrait hydrométhanolique est mélangé avec 1 ml d'alcool chlorhydrique et 1 ml d'alcool isoamylique, puis, quelques copeaux de magnésium sont ajoutés [N'Guessan et al, 2009]. L'obtention d'une coloration sur le surnageant rose orangé, rose violacé ou rouge indiquent la présence de flavones, flavonones ou flavonols, respectivement [N'Guessan et al, 2009].

4.3. Tanins

Chaque extrait 1ml est mélangé avec 200 µl de FeCl₃ à 1 %. La présence d'une coloration verdâtre ou bleu – noir, indique la présence des tanins catéchiqes ou tanins galliques, respectivement [Karumi et al, 2004].

4.4. Coumarines

Le résidu de chaque extrait est dissout dans 2 ml d'eau chaude. Le mélange est partagé dans deux tubes. À un des tubes, 500 µl de NH₄OH à 25 % sont ajouté, ensuite, une goutte de chaque tube est prélevée, puis, déposé sur un papier filtre et l'observation sous U.V. à 366 nm est réalisée. Une fluorescence intense est observée pour le tube contenant le NH₄OH [Bruneton, 1999].

4.5. Stérols et triterpènes : Lieberman – Burchardt

Le résidu de chaque extrait hydrométhanolique est dissout dans 1 ml d'anhydride acétique et 0.5 ml d'acide sulfurique concentré.

L'apparition à l'interphase d'un anneau pourpre ou violet, virant au bleu puis au vert indique la présence des stérols et des triterpènes [Edeoga et al, 2005].

4.6. Terpénoïdes : Test de Slakowski

Un volume de 2 ml de chloroforme et 3 ml de H₂SO₄ concentré sont mélangés avec les résidus des deux extraits. La formation d'un anneau marron - rouge à l'interphase indique la présence des terpénoïdes [Khan et al, 2011].

4.7. Saponosides

Un volume de dix ml d'eau distillée est ajouté à chaque résidu d'extrait. Les solutions obtenues sont agitées pendant 15 secondes, puis, laissé au repos pendant 15 min. Une hauteur de mousse persistante, supérieur à 1 cm indique la présence des saponosides [N'Guessan et al, 2009].

4.8. Composés réducteurs

Les résidus des extraits hydrométhanoliques sont dissout dans 1 ml de l'eau distillée, puis, chauffés dans un bain marie. Un volume de 200 µl de réactif de Fehling est ajouté ax deux soluions. Un test positif est obtenu par la présence d'un précipité rouge brique [Cai et al, 2011].

5. Dosage des polyphénols totaux

Le réactif utilisé est le réactif de Folin-Ciocalteu, c'est un mélange d'acide phosphotungstique (H₃PW₁₂O₄₀) et d'acide phosphomolybdique (H₃PMo₁₂O₄₀).

Les composés phénoliques totaux sont quantifiés de la manière suivante : 100 µl des extraits hydrométhanolique sous reflux et macéré sont mélangé avec 2 ml de la solution de carbonate de sodium à 2 %. Après agitation et incubation pendant cinq minutes, 100 µl du réactif Folin-Ciocalteu 1 N sont ajouté. 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 courbe étalon est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant l'acide gallique comme contrôle positif à différentes concentrations.

Les résultats sont exprimés en milligramme équivalent acide gallique par gramme de la matière végétale sèche (mg GAE/g) [Vermeris et Nicholson, 2006].

6. Dosage des flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes est réalisé par méthode colorimétrie selon le protocole de Zhishen et al, 1999.

Un volume de 500 µl des extraits hydrométhanoliques macéré et sous reflux ou de catéchine est mélangé avec 2 ml d'eau distillée, puis, 150 µl d'une solution de nitrite de sodium NaNO_2 à 15 % sont ajoutés.

Après 6 minutes d'incubation à température ambiante, 150 µl de chlorure d'aluminium AlCl_3 à 10 % sont ajoutés. Et, à 6 minutes, 2 ml d'hydroxyde de sodium 4 % sont ajoutés. Le volume total est complété à 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.

Les résultats obtenus sont exprimés en milligramme équivalent catéchine par gramme de la matière végétale sèche (mg CEQ/g) [Zhishen et al, 1999].

II. Évaluation de l'effet inhibiteur des extraits de l'écorce de racine de *Berberis vulgaris* sur l'activité de l' α -amylase

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.

1. Préparation des solutions :

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 2,4 mg/ml de phosphate de sodium monobasique (NaH_2PO_4), et une solution *B* (contenant 2.84 mg/ml de phosphate de sodium dibasique Na_2HPO_4), dans l'eau ultra pure.

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

1.2. Solution d'amidon soluble (substrat) :

La solution d'amidon soluble est préparée à 15 mg/ml dans le tampon phosphate comme suit :

L'amidon est solubilisé par chauffage à 50 – 70°C sur une plaque chauffante agitatrice pendant 15 minutes en mélangeant. Ensuite, la solution d'amidon est ajustée au volume final avec le tampon phosphate, puis, agitée jusqu'à son utilisation.

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 2 M dans l'eau ultra pure.

b. Solution de tartrate de potassium et de sodium :

La solution de tartrate de potassium et de sodium à une concentration de 5.3 M est préparée dans une solution 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. Réactif de DNSA :

Le réactif de DNSA 100 ml est préparé en mélangeant 20 ml de la solution de tartrate de sodium et de potassium, 50 ml de la solution de DNSA. La solution limpide obtenue est de couleur orange. Le volume final est ajusté à 100 ml avec de l'eau ultra pure.

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

1.4. Solution d'extraits :

Les extraits secs hydrométhanoliques et alcaloïdes totaux de *Berberis vulgaris* sont dissous dans la solution tampon phosphate. Une gamme de concentrations croissantes a été préparée variant de 0,375 à 4 mg/ml.

1.5. Solution échantillon d' α -amylase

L'enzyme utilisée est l'alpha amylase (E.C.3.2.1.1) d'*Aspergillus oryzae* sous forme lyophilisée (Fluka). Son poids moléculaire est de 51000 Da avec une activité spécifique de 26 UI/mg. L'enzyme est conservée à +4C°.

La solution de l'alpha amylase est préparée le jour même de l'expérimentation. L'enzyme α -amylase 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 1,3 unité / ml.

1.6. Solution d'acarbose :

L'acarbose « LARIMEL®50 » 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. L'acarbose est dissous dans le tampon phosphate et une gamme de concentrations croissantes sont préparées variant de 0,20 à 1,66 mg/ml.

2. Mode opératoire

Pour chaque concentration obtenue à partir des extraits, nous avons testé leurs effets sur l'activité de l'α-amylase.

Les extraits, l'acarbose, la solution de l'amidon et l'alpha amylase sont incubé pendant 30 minutes à une température de 25°C. Un volume de 200 µl de chaque extrait et de l'acarbose à différentes concentrations, sont mélangé avec 200 µl de la solution de l'α-amylase, puis, incubés pendant 10 minutes à 25°C. Après incubation, 200 µl de la solution de l'amidon sont ajouté dans chaque tube. Après agitation et incubation pendant 10 minutes, 200 µl de la solution de DNSA sont ajouté pour stopper la réaction.

Les différents tubes sont placés immédiatement dans un bain-marie bouillon pendant 10 minutes, puis, placés dans un bain d'eau glacée.

Après dilution avec 1 ml de l'eau ultra pure, les absorbances sont mesurées contre un blanc à 540 nm, à l'aide d'un spectrophotomètre.

Le test est réalisé en triplicata pour chaque extrait ainsi que l'acarbose et un quatrième tube, représentant le blanc pour chaque concentration de l'extrait à tester ou l'acarbose, est préparé par un mélange de 200 µl de la solution de tampon phosphate, 200 µl de l'extrait à tester / l'acarbose et 200 µl de la solution de l'amidon.

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

L'activité inhibitrice des extraits hydrométhanoliques macérés et sous reflux bruts, alcaloïdes totaux et de l'acarbose vis-à-vis de l'α-amylase est exprimée en pourcentage d'inhibition.

Le pourcentage d'inhibition (I%) est calculé par l'équation suivante :

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

Les CI₅₀ (concentration inhibitrice de 50 %) pour chaque extrait sont calculées à partir des régression des courbes linéaires d'inhibition.

3. Analyses statistiques

Les calculs statistiques sont souvent utiles aux biologistes pour la détermination des valeurs normales ou plus exactement des valeurs de référence. Comme pour l'évaluation de précision et l'exactitude d'analyse.

➤ **La moyenne (m)**

$$\bar{X} = \frac{1}{n} \sum_1 X_1$$

➤ **La variance (v)**

$$V_x = \frac{1}{n} \sum (X_1 - \bar{X})^2$$

➤ **L'écart type (σ)**

$$\sigma_x = \sqrt{V_x}$$

➤ **Test de student**

Pour comparer les moyennes des deux échantillons indépendants, nous avons appliqué le test de student « t_e » à un degré de liberté qui dépend de la taille de l'échantillon.

$$t_e = \frac{|\bar{X}_1 - \bar{X}_2|}{\sqrt{\sigma^2 \left[\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2} \right]}}$$

La valeur de « t_e » donne le degré de signification « p » lu sur la table de Student. La différence entre deux moyennes est :

- ✓ Peu significative si $p < 0,05$ (*)
- ✓ Significative si $p < 0,01$ (**)
- ✓ Très significative si $p < 0,001$ (***)
- ✓ Hautement significative si $p < 0,0001$ (****)

Résultats et interprétation

Résultats et interprétation

I. Études phytochimique

1. Extraction

Les extraits hydrométhanoliques bruts (l'extraction par macération pendant 24 heures et l'extraction sous-reflux pendant 3 heures) et d'alcaloïdes totaux préparés à partir des écorces de racine de *B. vulgaris* L par différentes méthodes présentent des aspects, des couleurs et des rendements variables (tableau 3).

Tableau 3 : Caractéristiques des extraits des écorces de racine de *B. vulgaris* L

Extrait	Aspect	Couleur	Rendement %
Macéré	Poudre	Marron	16,85
Sous reflux	Poudre	Marron	15,31
Alcaloïdes totaux	Cristallisé	Marron	3,05

D'après les résultats du tableau ci-dessus, nous avons constaté que les extraits sont récupérés sous forme de cristaux et poudre, et sont tous de couleur marron.

Le meilleur rendement est présenté par l'extrait brut hydrométhanolique obtenu par extraction par macération, suivi par l'extrait brut hydrométhanolique sous reflux. Tandis que l'extrait des alcaloïdes totaux a présenté le rendement le plus faible.

2. Tests phytochimiques

L'étude phytochimique effectuée sur nos échantillons a permis la détection des différentes familles de composés chimiques dans les extraits préparés.

Les tests de caractérisation réalisés sur l'extrait brut hydrométhanolique macéré et sous reflux ont donné les résultats reportés dans le tableau 4.

Les essais phytochimique effectués sur les extraits des écorces des racines de *B. vulgaris* ont révélés la présence des coumarines, des stérols et triterpènes. Les composés les plus abondants sont les alcaloïdes et les tanins.

Les tests de recherche des flavonoïdes, des terpénoïdes, des saponosides et des composés réducteurs sont révélés négatifs sur l'extrait macéré et sous reflux dans cette analyse.

Tableau 4 : résultats des tests phytochimique réalisés sur les écorce de racines de *B. vulgaris*

Familles chimiques		Extrait macéré	Extrait sous reflux
		Eau/MeOH	Eau/MeOH
Alcaloïdes	Mayer	++	+
	Wagner	+++	+++
Substances polyphénoliques	Flavonoïdes	-	-
	Tanins	++	+
Coumarines		+	+
Stéroïdes et triterpènes		-	+
Terpénoides		-	-
Saponosides		-	-
Composés réducteurs		-	-

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

3. Dosage des composés phénoliques

Les résultats obtenus pour le dosage des polyphénols et des flavonoïdes à partir des courbes d'étalonnage de l'acide gallique et de la catéchine (figures 8 et 9) sont exprimés en mg équivalent acide gallique par gramme de matière sèche (mg GAE/g), et mg équivalent catéchine par gramme de matière sèche (mg CEQ/g), respectivement.

Les résultats des teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes des extraits bruts hydrométhanolique de la plante étudiée, sont résumés dans le tableau n° 5.

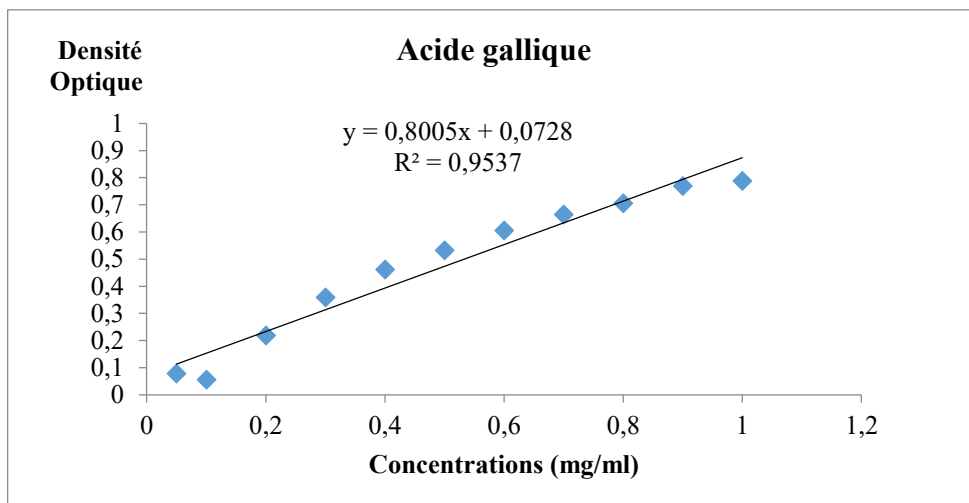


Figure 8 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique $\lambda = 700$ nm

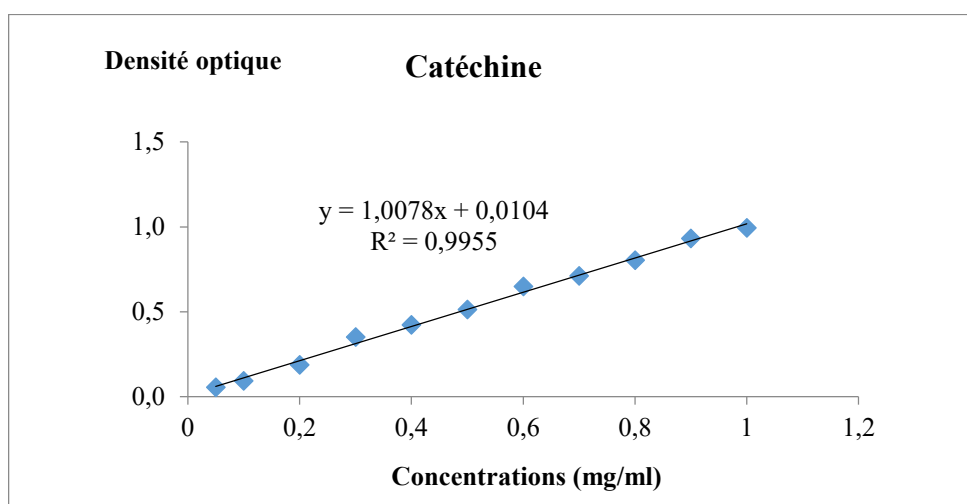


Figure 9 : Courbe d'étalonnage de la catéchine $\lambda = 510$ nm

Tableau 5 : Teneurs en polyphénols, et en flavonoïdes des extraits bruts hydrométhanoliques des écorces de racine de *B. vulgaris* L

	Polyphénols (mg CEQ/g)	Flavonoïdes (mg GAE/g)
Macération	5,01 ± 0,15	3,40 ± 0,07
Sous-reflux	4,58 ± 0,05	3,16 ± 0,02

L'extrait hydrométhanolique obtenu par macération, a montré des quantités légèrement supérieures comparativement à celui qui est obtenu par sous reflux, avec une concentration de 5,01 mg GAE/g en polyphénols totaux.

Les résultats de dosage des flavonoïdes révèlent des teneurs rapprochées. La teneur la plus élevée est celle de l'extrait préparé par macération avec une concentration de 3,40 mg CEQ/g, suivi par l'extrait sous reflux avec une concentration de 3,16 mg CEQ/g.

II. Effet des extraits de *B. vulgaris* L sur l'activité de l' α - amylase *in vitro*

Pour déterminer l'effet inhibiteur des extraits hydrométhanolique des écorces de racines de *B. vulgaris* L sur l'activité de l' α -amylase *in vitro*, nous avons testé l'effet des différentes concentrations de chaque extrait sur l'activité de l'enzyme avec une concentration finale de substrat (amidon) à 0,5 %.

De même, l'effet inhibiteur de l'acarbose sur l'activité de l'enzyme a été testé.

Les courbes de CI_{50} des extraits hydrométhanolique macéré, sous reflux, alcaloïdes totaux et acarbose sont présentées dans les figures 10, 11, 12 et 13, respectivement. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau n° 6.

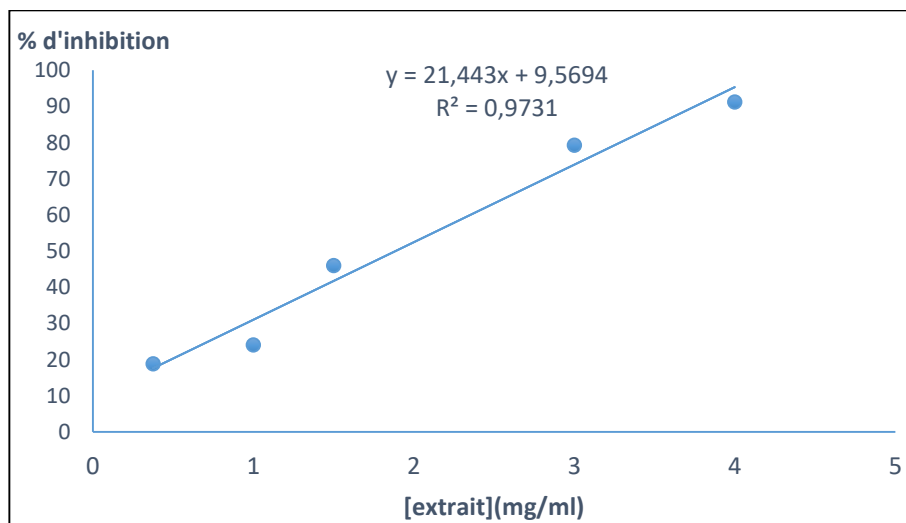


Figure 10 : Courbe de régression linéaire d'inhibition en fonction des différentes concentrations de l'extrait hydrométhanolique préparé par macération

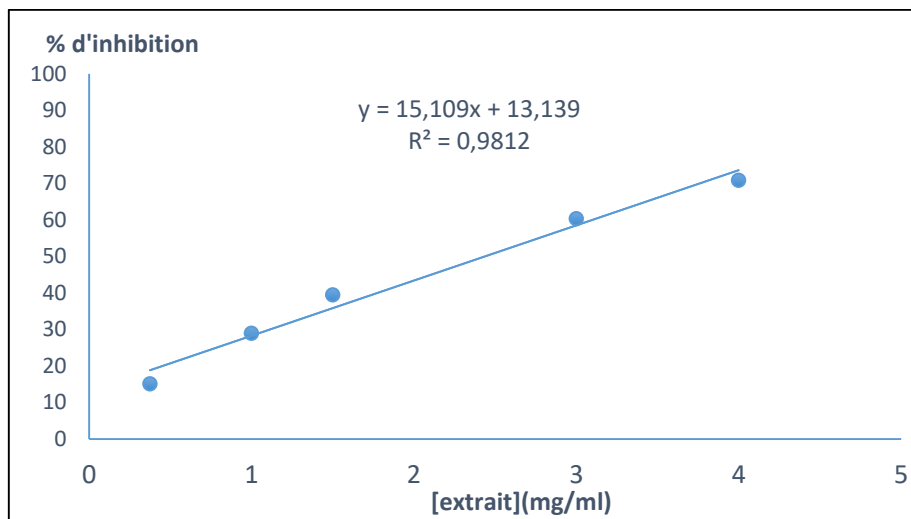


Figure 11 : Courbe de régression linéaire d'inhibition en fonction des différentes concentrations de l'extrait hydrométhanolique sous reflux

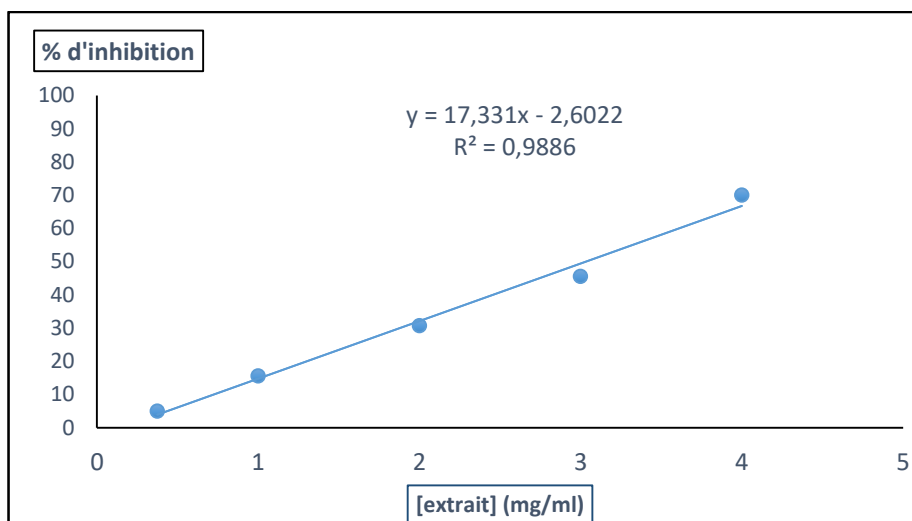


Figure 12 : Courbe de régression linéaire d'inhibition en fonction des différentes concentrations de l'extrait d'alkaloïdes totaux

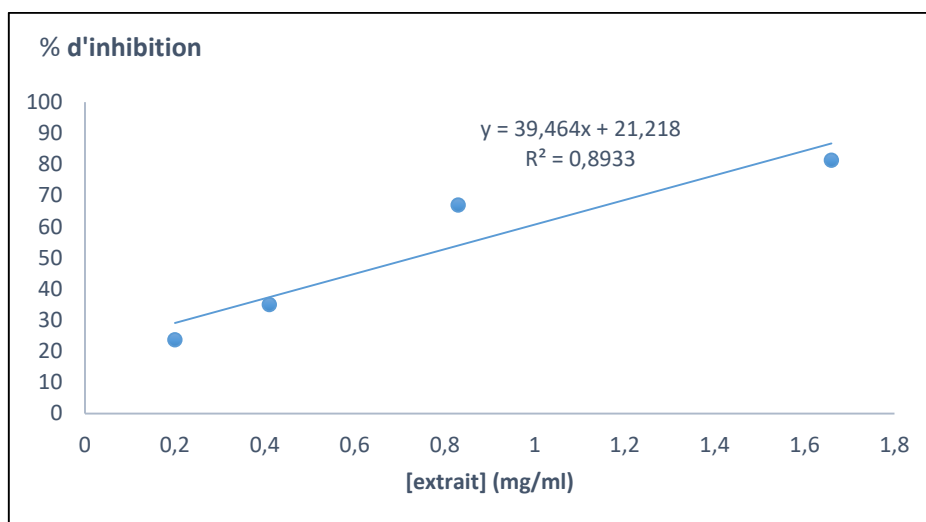


Figure 13 : Courbe de régression linéaire d'inhibition en fonction des différentes concentrations de l'acarbose

Tableau 6 : valeurs de la CI_{50} des extraits de *B. vulgaris* L et de l'acarbose

Échantillon	CI_{50} (mg/ml)
Extrait macéré	$1,88 \pm 0,07$
Extrait sous reflux	$2,44 \pm 0,06$
Alcaloïdes totaux	$2,73 \pm 0,06$
Acarbose	$0,72 \pm 0,01$

Selon les résultats de ce tableau, les extraits des écorces de racines de *B. vulgaris* L montrent une inhibition in vitro sur l'activité de l' α -amylase qui varie d'un extrait à un autre.

Nous remarquons la plus grande valeur d'inhibition est présenté par l'extrait obtenu par macération avec une valeur de CI_{50} de $1,88 \pm 0,07$ mg/ml, suivie par l'extrait sous reflux qui provoque une inhibition avec une CI_{50} de $2,44 \pm 0,06$ mg/ml et à la fin l'extrait des alcaloïdes totaux avec une CI_{50} de $2,73 \pm 0,06$ mg/ml

Résultats et interprétation

En comparant avec la CI₅₀ de l'acarbose, les extraits des écorces de racine de *B. vulgaris L* présentent un effet inhibiteur nettement inférieur sur l'activité de l' α -amylase *in vitro*.

Discussion

Discussion

Les plantes médicinales du genre *Berberis* jouent un rôle particulièrement important dans la médecine traditionnelle. Compte tenu de la diversité des plantes appartenant au genre *Berberis* et de leur statut économique, nutritionnel et médical. Les scientifiques s'intéressent de plus en plus à ce genre des plantes pour ses propriétés thérapeutiques présumées et vérifier leur efficacité [Rahimi-Madiseh et al, 2017]. *Berberis vulgaris*, appelé communément Ghriss, et utilisé traditionnellement par la population de Tlemcen – Algérie, pour traiter certaines affections dont le diabète sucré [Azzi et al, 2012].

Ceci nous a incité de vérifier l'activité antidiabétique de l'extrait brut hydrométhanolique et d'alcaloïdes totaux de l'écorce de racine de *B. vulgaris* tout en effectuant une étude phytochimique de cette partie de la plante.

➤ Étude phytochimique

Les extraits préparés à partir de notre échantillon ont donné des rendements d'ordre 16,85% pour la macération, 15,31 pour sous reflux, et 3,05 pour les alcaloïdes totaux

Ces résultats sont proche à celles de Boujelthia et al. (2017), qui ont noté un rendement de 17,2% dans un extrait méthanolique préparé par macération, suivi par l'extrait aqueux préparé par macération avec un rendement de 15,21% Cette faible différence est due probablement à la nature des solvants utilisés, mode d'extraction, la période et l'origine de la récolte.

Par contre, Mezouar et al. (2014), ont noté un rendement de 6,7% supérieur par rapport à celles que nous avons obtenu pour l'extrait d'alcaloïdes totaux. Ceci pourrait être expliqué par le temps d'extraction qui était de 48 h pour notre extraction alors que les auteurs ont réalisé une macération de 72 h.

L'étude phytochimique qualitative des extraits bruts hydrométhanolique de notre plante a révélé la présence d'un nombre important des groupements chimiques de nature variées, des coumarines, des stérols et triterpènes. Les plus abondants sont les alcaloïdes et les tanins.

Les tests de recherche des flavonoïdes, des terpénoïdes, des saponosides et des composés réducteurs sont révélés négatifs.

Ces résultats sont proches de ceux obtenus par Meliani et al. (2011) qui ont démontré la présence des tanins, des alcaloïdes, des stéroïdes, en plus, ils ont détecté la présence d'autres molécules bioactives telles que des saponosides, des sucres réducteurs et des anthraquinones dans l'écorce de racines de *B. vulgaris*.

L'étude quantitative de l'extrait hydrométhanolique de *B. vulgaris* obtenu par macération, a montré des quantités légèrement supérieures comparativement à celui qui est obtenu par sous reflux, avec une concentration de $5,01 \pm 0,15$ mg GAE/g en polyphénols totaux.

Les résultats de dosage des flavonoïdes révèlent des teneurs rapprochées. La teneur la plus élevée est celle de l'extrait préparé par macération avec une concentration de $3,40 \pm 0,07$ mg CEQ/g, suivi par l'extrait sous reflux avec une concentration de $3,16 \pm 0,02$ mg CEQ/g.

Ces valeurs sont proches de celles obtenues par Boudjelthia et al. (2017) qui ont obtenu des concentrations en polyphénols totaux et en flavonoïdes de l'ordre de 10,23 mg GAE/g et 2,14 mg CEQ/g respectivement pour l'extrait méthanolique, et pour l'extrait aqueux ils ont rapporté des teneurs de l'ordre de 9,15 mg GAE/g en polyphénols et 1,81 mg CEQ/g en flavonoïdes.

Pendant ce temps, Rahimi-Madiseh et al. (2017) ont mentionné des teneurs en flavonole, flavonoïdes et en phénol dans le fruit de *B. vulgaris* de l'ordre de 5.3 mg/g, 12.2 mg/g, et 0.54 mg/g, respectivement.

Les variations marquées dans la teneur totale en polyphénols peuvent résulter de la quantité initiale du matériel végétal traité mais aussi du type du solvant (méthanol, eau/méthanol, eau) utilisé pour réaliser l'extraction

➤ **Activité biologique**

D'après les résultats obtenus de l'examen phytochimique qualitatif et quantitatif, *Berberis vulgaris* est riche en alcaloïdes représenté par la berbérine, qui a suscité l'intérêt pour ses grandes activités hypolipidémiques et antihyperglycémiques [Bing Pong, 2015]. De plus ses effets anti-hyperglycémiques pourraient être dus à l'amélioration de la sensibilité à l'insuline ou en induisant l'expression des récepteurs de l'insuline. La berbérine pourrait également améliorer l'oxydation des acides gras De plus, six alcaloïdes du type protoberbérine quaternaire de la berbérine ont inhibé l'activité de l'aldose réductase *in vitro* avec une CI_{50} inférieure à $200 \mu M$ [Wang et al, 2013].

Une des stratégies efficaces pour la gestion du diabète de type 2 est l'inhibition de l'hydrolyse complexe de polysaccharides par l' α -amylase pancréatique et la limitation de l'absorption du glucose en inhibant l'enzyme intestinale α -glucosidase [Stojkovic et al, 2019]. Le rôle potentiel des plantes médicinales en tant qu'inhibiteurs de l' α -amylase et α -glucosidase ont été examinés par plusieurs auteurs : Belkacem, (2009) ; Xiao-Ping et al, (2010) ; Sudha et al, (2011) ; De sale et al, (2012) ; Agrawal et Gupta, (2016) ; Boudjelthia et al, (2017) ; Governa et al, (2018).

Dans cette étude, les tests biologiques réalisés *in vitro* sur l' α -amylase d'*Aspergillus oryzae* montrent que l'extrait hydrométhanolique et l'extrait d'alcaloïdes totaux de l'écorce de racine de *B. vulgaris* exercent une inhibition vis-à-vis de cette enzyme. En comparant les modes d'extraction réalisés au cours de l'étude, nous déduisons que l'extrait hydrométhanolique préparé par macération présente l'inhibition la plus importante de l'activité de l' α -amylase avec une valeur de CI₅₀ de $1,88 \pm 0,07$ mg/ml par rapport aux deux autres extraits qui ont des CI₅₀ de $2,44 \pm 0,06$ mg/ml pour l'extrait sous reflux et de $2,73 \pm 0,06$ mg/ml pour celui des alcaloïdes totaux

D'après ces résultats, nous suggérons que les extraits de l'écorce de racine de *B. vulgaris* agiraient au niveau digestif par l'inhibition de l' α -amylase, et par conséquent, le ralentissement de la libération de D-glucose, retardant ainsi l'absorption du glucose et en diminuant la glycémie postprandiale [Xiao-Ping et al, 2010]. Ce mécanisme d'action antidiabétique peut être expliqué par la richesse de l'écorce de racine de *B. vulgaris* en alcaloïdes dont la plus importante est la berbérine qui affecte le métabolisme du glucose en augmentant la glycolyse et en augmentant la sensibilité des tissus à l'insuline [Rahimi-Madiseh et al, 2017 ; Firouzi et al, 2018].

Cette activité inhibitrice a été aussi démontrée par Boudjelthia et al, (2017), qui ont mentionné que l'extrait méthanolique et l'extrait aqueux préparé par macération de l'écorce de racine de *B. vulgaris* ont un effet inhibiteur vis-à-vis de l' α -amylase avec une CI₅₀ de 0,68 mg/ml et 0,77 mg/ml, respectivement.

De même, Xiao-Ping et al. (2010) montrent que l'activité α -amylasique est inhibée à 75,4% par la berbérine extraite d'une plante chinoise à une dose de 80 μ g/mL. Ainsi que Shishehbor et al. (2016) ont trouvé que l'extrait hydroéthanolique de fruit de *B. vulgaris* qui est riche en polyphénols exerce un effet inhibiteur sur l' α -glucosidase et l' α -amylase avec une valeur de CI₅₀ de 34,00 mg/ml et de 2,38 mg/ml, respectivement.

L'acarbose utilisé dans cette étude comme témoin positif exerce une activité inhibitrice avec une valeur de $CI_{50} = 0,72 \pm 0,01$ mg/ml. Cette dernière est inférieure à celle de l'extrait brut hydrométhanolique ($1,88 \pm 0,07$ mg/ml), ce qui explique la pureté de l'acarbose, et donc la grande activité inhibitrice vis-à-vis de l'alpha amylase.

Globalement, l'activité biologique des extraits macérés s'est montrée bien meilleure que celle des extraits sous reflux, probablement parce que certaines substances thermolabiles qui sont conservés par une extraction sous macération interviendraient et auraient des activités biologiques importantes et synergiques avec les composés thermostables extraits par sous reflux. Des résultats similaires ont été obtenus par d'autres auteurs : Mezouar, (2017).

Conclusion générale

Conclusion générale

L'objectif de notre travail est l'évaluation de l'effet antidiabétique de l'écorce de racine de *B. vulgaris*, plante utilisée traditionnellement pour traiter le diabète sucré.

A la lumière des résultats obtenus, nous avons conclu que :

- *B. vulgaris* est une plante riche en métabolite secondaire : les alcaloïdes, les coumarines, les tanins, les stérols et les triterpènes.
- L'extrait hydrométhanolique de l'écorce de racine de *B. vulgaris* préparé par macération renferme les taux les plus élevés en polyphénols et en flavonoïdes (5.01 mg GAE/g et 3,40 mg CEQ/g respectivement)
- Les différents extraits de l'écorce de racine exercent un effet inhibiteur vis-à-vis l' α -amylase
- *B. vulgaris* est une plante antidiabétique qui a un pouvoir inhibiteur d' α -amylase *in vitro* remarquable intéressant avec une valeur de CI_{50} de $1,88 \pm 0,07$ mg/ml enregistré par l'extrait macéré.

L'ensemble de ces résultats obtenus *in vitro* ne constitue qu'une première étape dans la recherche des substances et sources naturelles biologiquement actives. Des études complémentaires, précises et approfondies restent nécessaires pour pouvoir confirmer les résultats mis en évidence et se résument dans les points suivants :

- ✓ L'identification et la caractérisation des composés actifs présents dans les extraits ;
- ✓ La recherche de type d'inhibition en étudiant la cinétique enzymatique de l' α -amylase de ces extraits ;
- ✓ Il serait intéressant de rechercher les effets synergiques, additifs ou autres effets de la combinaison des différentes molécules bioactives de *Berberis vulgaris* ;
- ✓ La recherche d'autres mécanismes d'actions antidiabétiques en présence d'extraits préparés de cette plante (insulino-sécrétion, captation du glucose ...).

*Références
bibliographiques*

Références bibliographiques

Abd El Wahab AE, Ghareeb DA, Sarhan EEM, Abu-Serie MM, El Demellawy MA. 2013. *In vitro* biological assessment of *Berberis vulgaris* and its active constituent, berberine : antioxidants, anti-acetylcholinesterase, antidiabetic and anticancer effects. BMC Complementary and Alternative Medicine, 13 : 218.

Association Américaine du diabète ADA. 2018. Management of hyperglycemia in type 2 diabetes, 2018. A consensus report by the American diabetes association (ADA) and the European association for the study of diabetes (EASD). Diabetes care, 41 : 2669-2701.

Azzi R, Djaziri R, Lahfa F, Sekkal FZ, Benmehdi H, Belkacem N. 2012. Ethnopharmacological survey of medicinal plants used in the traditional treatment of diabetes mellitus in the North Western and South Western Algeria. J. Med. Plants Res, 6 : 2041-2050.

Belkacem N. 2009. Contribution à l'étude des propriétés antidiabétiques de *Punica granatum* L. (grenadier) chez le rat diabétique. Mémoire de Magister, Département de Biologie. Faculté SNV-STU, Université de Tlemcen.

Bernfeld P. 1955. Amylase α and β . Methods in Enzymology, 1 : 149-158.

Bhardwaj D, Kaushik N. 2012. Phytochemical and pharmacological studies in genus *Berberis* Phytochem Rev, 11 : 523-542.

Bhardwaj D, Kaushik N. 2012. Phytochemical and pharmacological studies in genus *Berberis* Phytochemistry reviews, 11 (4) : 523–542.

Bosquet F, Hartemann-Heurtier A. 2004. Insulinothérapie dans le diabète de type 2. EMC-Endocrinologie, 1 : 55-65.

Bruneton J. 1999. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 3e éd. France : Tech & Doc – Lavoisier.

Cai L Y, Shi F X, Gao X. 2011. Preliminary phytochemical analysis of *Acanthopanax trifoliatum* (L.) Merr. J Med Plants Res, 5 (17) : 4059 – 4064.

De Sales PM, De Souza PM, Simeoni LA, De Oliveira P, Magalhães, Silveira D. 2012. α -amylase Inhibitors : A Review of Raw Material and Isolated Compounds from Plant Source. J Pharm Pharmaceut Sci, 15 (1) : 141 – 183.

De Souza PM, De Oliveira Magalhães P. 2010. Application of microbial α -amylase in industry - A review. Braz J Microbial, 41(4) : 850-61.

- Demir H. 2010. Screening of the antioxidative and antimicrobial properties of the various extracts *Berberis vulgaris* L (Barberry) leaves from Turkish flora. *J Chem Pharm Sci*, 3 (4) : 198–202.
- Drouin P, Blickle JF, Charbonnel B et al. 1999. Diagnostic et classification du diabète sucré : les nouveaux critères, 25 (1) : 72-83.
- Eddouks M, Ajbli M, Hebi M. 2016. Ethnopharmacological survey of medicinal plants used in Daraa-Tafilalet region (Province of Errachidia), Morocco. *Journal of Ethnopharmacology*, 198 : 516-530.
- Edeoga H O, Okwu D E, Mbaebie B O. 2005. Phytochemical constituents of some Nigerian medicinal plants. *Afric J Biotech*, 4 : 685 – 688.
- Fédération internationale du diabète FID. 2017. Atlas du diabète de la FID. 8^{ème} éd. International Diabetes Federation IDF, Bruxelles, Belgique. www.diabetesatlas.org.
- Firouzi L, Malekahmadi M, Ghayour-Mobarhan M, Ferns G, Rahimi HR. 2018. Barberry in the treatment of obesity and metabolic syndrome: possible mechanisms of action. *Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity : Targets and Therapy*, 8 (11) : 699-705.
- Gbekley EH, Agbodeka K, Karou SD et al. 2017. Composés bioactifs isolés des plantes à propriété antidiabétique. *Revue de littérature*, 19 : 839-849.
- Goldenberg R, Punthakee Z. 2013. Définition, classification et diagnostic du diabète, du prédiabète et du syndrome métabolique- *can J Diabetes*, 37 : s369es372.
- Governa P, Bainsi G, Borgonetti V, Cettolin G, Giachetti D, Magnano AR, Miraldi E, Biagi M. 2018. Phytotherapy in the Management of Diabetes: A Review. *Molecules*, 23 (1): Pii : E105.
- Jarald E, Joshi SB, Jain DC. 2008. Diabetes and herbal medicine. *Iranian Journal of pharmacologie and therapeutics*, 7 : 97-106.
- Javadzadeh SM, Ebrahimi A. 2013. The traditional uses and pharmacological effects of different parts *Berberis vulgaris* (berberine). *Iran. Sci. Agri*. 1 (2) : 61-66.
- Karumi Y, Onyeyili P A, Ogugb uaja V O. 2004. Identification of active principales of *M. balsamina* (Balsam apple) leaf extract. *J Med Scien*, 4 : 179 – 182.
- Khan A M, Qureshi R A, Ullah F, Gilani S A, Nosheen A, Sahreen S, et al. 2011. Phytochemical analysis of selected medicinal plants of Margalla Hills and surroundings. *J Med Plants Res*, 5 (25) : 6017 – 6023.

- Kouadri Boudjelthia W, 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.
- Majob F, Kamalinejab M, Ghaderi N, Vahidipour H R. 2003. Phytochemical screening of some species of Iranian plants. Iranian J Pharma Res, 77 – 82.
- Makkar H, Siddhuraju P, Becker K. 2007. Plant secondary metabolites. New Jersey : Humana Press.
- Mezouar D, Lahfa FB, Djaziri R, Boucherit-Otmani Z. 2014. Évaluation de l'activité antioxydante de *Berberis vulgaris* L. Phytothérapie, 12 : 297-301
- Mezouar D. 2017. Étude phytochimique et évaluation des activités biologiques : antioxydantes, antitumorales, antimicrobiennes et antiparasitaires de *Berberis vulgaris*. Thèse de doctorat en biologie. Département de Biologie. Faculté SNV-STU, Université de Tlemcen.
- Miara MD, Bendif H, Rebbas K, Rabah B, Hammou MA, Maggi F. 2019. Medicinal plants and their traditional uses in the highland region of Bordj Bou Arreridj (Northeast Algeria). Journal of Herbal Medicine, En ligne : 21 February 2019, 100262.
- Monnier L et al. 2010. Thérapeutique des désordres glycémiques. In Monnier L. 2010. Diabétologie, Ed Masson, pp 147-174.
- N'Guessan K, Kadja B, Zirihi G, Traoré D, Aké-Assi L. 2009. Screening phytochimique de quelques plantes médicinales ivoiriennes utilisées en pays Krobou (Agboville, Côte-d'Ivoire). Sci Nat, 6 (1) : 1 – 15.
- Okhber-Dezfuli N, Saeidnia S, Gohari AR, Kurepaz -Mahmoodabadi M. 2014. Phytochemistry and pharmacology of berberis species Pharmacogn Rev, 8 : 8.
- Pang B, Zhao LH, Zhou Q, Zhao TY, Wang H, Gu CJ, Tong XL. 2015. Application of berberine on treating type 2 diabetes mellitus. Int J Endocrinol, 2015 : 905749.
- Prashant A, Ritika G. 2016. Alpha-amylase inhibition can treat diabetes mellitus. RRJMHS, 5 (4) : 2322-0104
- Rahimi-Madiseh M, Lorigoini Z, Zamani-gharaghoshi H, Rafieian-Kopaei M. 2017. *Berberis vulgaris* : Specifications and traditional uses. Iran J Basic Med Sci, 20 : 569-587.
- Saeed Arayne MS, Sultana N, Bahadur SS. 2007. The berberis story : *Berberis vulgaris* in therapeutics. Pak J Pharm Sci, 20 : 83-92.
- Schauenberg P, Paris F. 2005. Guide des plantes médicinales. Edi. Delachaux et Niestlé.

Shishehbor F, Ebrahim Azemi M, Zamani D, Saki A. 2016. Inhibitory Effect of Hydroalcoholic extracts of Barberry, Sour cherry and Cornelian Cherry on α -amylase and α -Glucosidase activities. *Int. J. Pharm. Res. Allied Sci*, 5 (2) : 423-428.

Stojkovic D, Smiljkovic M, Ciric A et al. 2019. An insight into antidiabetic properties of six medicinal and edible mushrooms: Inhibition of α -amylase and α -glucosidase linked to type 2 diabetes. *South African Journal of Botany*, 120 : 100–103.

Sudha P, Ravindran R, Zinjarde S, Bhargava S, Ravi Kumar A. 2011. Evaluation of traditional Indian antidiabetic medicinal plants for human pancreatic amylase inhibitory effect in vitro. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 1- 10.

Vermerris W, Nicholson R. 2006. Isolation and Identification of Phenolic Compounds, Phenolic Compound Biochemistry. Dordrecht : Springer.

Ye XP, Song CQ, Yuan P, Mao RG. 2010. α -glucosidase and α -amylase inhibitory activity of common constituents from traditional chinese medicine used for diabetes mellitus. *Chinese Journal of Natural Medicines*, 8 (5) : 349–352.

Zhishen J, Mengcheng T, Jianming W. 1999. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chem*, 64 : 555 – 559. In : Ardestani A, Yazdanparast R. 2007. Inhibitory effects of ethyl acetate extract of *Teucrium polium* on in vitro protein glycoxidation. *Food Chem Toxicol*, 45 : 2402 – 2411.