



République Algérienne Démocratique et populaire  
Ministère d'enseignement supérieur et de la recherche scientifique  
Université Abou Bekr Belkaid –Tlemcen-



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

Laboratoire Antibiotiques, Antifongiques : Physico-chimie, Synthèse et Activité Biologique

## Thèse

En vue de l'obtention du diplôme de DOCTORAT 3<sup>ème</sup> cycle en Sciences Biologiques

Option : Biochimie

Présentée par : Mlle FEKHIKHER Zohra

### Sous le thème

Analyse phytochimique et évaluation *in vitro* de l'activité antioxydante, antidiabétique et anti-inflammatoire des extraits des racines de *Bryonia dioica* et des fruits de *Citrullus colocynthis*.

### Le jury de soutenance;

<b>Présidente :</b>	Mme Boucherit-Otmani Zahia	Professeur	Université Abou Bekr Belkaid-Tlemcen
<b>Examineurs :</b>	M. Yazit Sidi Mohammed	MCA	Université Belhadj Bouchaib- Ain Temouchent
	M. Hariri Ahmed	Professeur	Université Mustapha Stambouli- Mascara
	Mme Medjdoub Houria	MCA	Université Abou Bekr Belkaid-Tlemcen
<b>Directrice de thèse :</b>	Mme Benariba Nabila	Professeur	Université Abou Bekr Belkaid-Tlemcen

Année universitaire : 2025-2026

## Remerciements

*Tout d'abord je remercie ALLAH le miséricordieux, le tout puissant de m'avoir donné la patience, la santé, la force et la volonté pour pouvoir réaliser ce travail de thèse de doctorat.*

*Je tiens à remercier chaleureusement ma directrice de thèse Melle Benariba Nabila Professeur au département de biologie, faculté des sciences de la nature et de la vie et sciences de la terre et de l'univers, université de Tlemcen Abou Bekr Belkaid, pour avoir accepté la charge d'être rapporteur de ce travail scientifique, pour sa disponibilité, ses pertinents conseils, son soutien indéfectible et sa patience durant la réalisation de ce travail. Cette thèse est le fruit de votre expertise, bienveillance, accompagnement et de votre confiance en moi. Veuillez trouver dans cette thèse, chère directrice de thèse, l'expression de mon profond respect.*

*Je tiens aussi à exprimer ma profonde gratitude à Mme Boucherit Otmani Zahia professeur au département de biologie, faculté des sciences de la nature et de la vie et sciences de la terre et de l'univers, université de Tlemcen "Abou Bekr Belkaid" et responsable de la formation doctorale « Biochimie » qui m'a fait l'honneur de sa présence en qualité de présidente de jury et d'avoir contribuer à l'évaluation de ce travail et de l'enrichir de sa grande expertise scientifique. Veuillez recevoir ici, chère professeur, ma sincère reconnaissance.*

*Mes sincères considérations et remerciements sont également exprimés à Mme Medjdoub Houria maître de conférences classe «A» au département de biologie, faculté des sciences de la nature et de la vie et sciences de la terre et de l'univers, université de Tlemcen "Abou Bekr Belkaid" d'avoir accepté d'examiner cette thèse de doctorat et de l'améliorer de son savoir scientifique. Veuillez recevoir ici, Ma dame, ma profonde gratitude.*

*Mes vifs remerciements s'adressent également à Mr Hariri Ahmed professeur à l'université de Mascara "Mustafa Stambouli" d'avoir accepté d'examiner ce travail de thèse et d'y apporter des améliorations et des enrichissements de son expertise scientifique. Veuillez recevoir ici, Monsieur, mes sincères considérations.*

*Je tiens aussi à exprimer mes chaleureux remerciements à Mr. Yazit Sidi Mohammed maître de conférences classe «A» à l'université de Ain Temouchent "Belhadj Bouchaib" d'avoir accepté d'évaluer et d'examiner ce travail de thèse et de l'intérêt et l'importance qu'il lui a accordés. Veuillez trouver dans cette thèse, Monsieur, ma profonde gratitude.*

*Mes remerciements vont également à Mme Abdelli Imen et son équipe au Laboratoire des substances naturelles et bioactives, Faculté des sciences, université de Tlemcen, pour leur collaboration et contribution à la réalisation de la partie docking moléculaire dans ce travail de thèse, à Mr Hassain Reda chercheur au centre de recherche scientifique et technique sur l'analyse physico-chimique (CRAPC) de Tipaza de sa contribution à ce travail et de m'avoir permis l'utilisation du fluorimètre.*

*Mes chaleureux remerciements et ma profonde gratitude sont exprimés également à Diana Pinto professeur au Département de chimie, Université d'Aveiro, Portugal, d'avoir accepté et autorisé ma collègue Mlle Benramdane Hanane, doctorante en biochimie, au cours de son stage de formation ERASMUS+ de réaliser l'analyse chromatographique LC-MS de mes échantillons au sein du laboratoire LAQV-REQUIMTE, au Portugal.*

*Mes remerciements les plus cordiaux sont adressés également à Mme Mokfitari-Soulimane Nassima doyenne de la faculté SNV-STU, université de Tlemcen "Abou Bekr Belkaid" qui m'a facilité et autorisé l'accès au laboratoire de pédagogie de biochimie. Veuillez recevoir ici, chère professeur, ma sincère reconnaissance.*

*Je tiens à exprimer mes vifs remerciements à tous les enseignants qui m'ont enseigné tout au long de mon parcours universitaire et qui n'ont pas lésiné leurs efforts pour améliorer mes connaissances, à l'équipe de bibliothèque de la faculté SNV-STU, à Mme Zazoua Lila et Mr Ferouani Miloud, ingénieurs de laboratoire de Biochimie à la faculté SNV-STU, pour leur soutien et leur disponibilité, à Mr Bouafia Miloud et Mme Amamou-Bouafia Fouzia enseignants chercheurs à l'université de Naâma pour la récolte de la coloquinte. Qu'ils trouvent dans cette thèse le témoignage de mon profond respect et de ma sincère gratitude.*

*Mes remerciements s'adressent également à tout le personnel du Laboratoire de recherche « Antibiotiques, Antifongiques, Physico-chimie, Synthèse et Activité Biologique », Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen. A Mme Adjdir Sara et Melle Abbou Fayza maîtres de conférences de classe «B» au département de Biologie, Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen, à mes copines Laouedj Nadia, Brixj Gormat Radia et Benramdanne Hanane et à tous ceux qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail de thèse.*

## *Dédicaces*

*À mes très chers parents, pour leur amour inconditionnel, leur soutien moral, financier et inestimable, leur confiance en moi et leurs efforts fournis jour et nuit pour mon bien être et mon éducation. Vous êtes la source de motivation et de la vie pour moi. Que Dieu le tout puissant vous préserve et vous donne la bonne santé et la longue vie. Cette thèse vous est dédiée.*

*À mes chers frères et sœurs, puisse ce travail être la récompense de votre présence, vos encouragements continus, vos soutiens moraux et sacrifices. J'espère que Dieu vous préserve.*

*À mes chers neveux et mes chères nièces. Que Dieu le miséricordieux vous garde et vous facilite le chemin pour réaliser vous-même vos rêves.*

*À mes chères amies. Merci d'être une partie de ma vie, de m'avoir supporté et m'encouragé tout au long de mon parcours. Merci infiniment pour les bons moments qu'on a passés ensemble et qui m'ont vraiment surmonté le moral. Puisse Allah vous préserve et vous aide à réaliser vos vœux.*

*À toute personne qui a collaboré et contribué de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail*

## ملخص

تعد دراسة التأثيرات البيولوجية لمستخلصات النباتات الطبية والعطرية مجالاً واعداً للغاية في مجال البحث. ومن هذا المنطلق يتمحور هدف هذه الدراسة حول التحليل الكيميائي النباتي والبحث المختبري عن النشاط المضاد للأكسدة، المضاد للسكري والمضاد للإلتهاب للمستخلصات المائية والعضوية المحضرة من جذور نبتة عنب الديب *Bryonia dioica* وثمار الحنظل *Citrullus colocynthis*. أظهرت نتائج التحليل النباتي الكيميائي للمستخلصات المختلفة لـ *B. dioica* مستويات عالية من البوليفينول (82.06 إلى 299.51 مكغ معادل لحمض غاليك/مغ المستخلص) ومعدلة من الفلافونويد (3.76 إلى 49.09 مكغ معادل كاتشين/مغ المستخلص). تتراوح هذه المعدلات في *C. colocynthis* بين 81.98 و 266.32 مكغ معادل لحمض غاليك/مغ المستخلص و 4.75 إلى 99.82 معادل كاتشين/مغ المستخلص. في حين سُجلت مستويات منخفضة من الفلافونول والصبونين في جميع المستخلصات. وقد سمح التحليل الكروماتوغرافي LC-MS بتحديد بعض الفلافونويدات ومشتقات الكومارين في مستخلص أسيتات الإيثيل ومستخلص الكلوروفورم-ميثانول من نبتة عنب الديب، على غرار الكريسين O-7-نيوهيسبيريدوسيد، البينوسيمبرين O-7-نيوهيسبيريدوسيد والإيزور هوفولين. بينما تم تحديد كامفيرول غلوكوزيد وأبيجينين غلوكوزيد ومشتقات الكومارين في مستخلصات الحنظل. من جهة أخرى، أظهرت نتائج النشاط المضاد للأكسدة قدرة المستخلصات المحضرة من *B. dioica* و *C. colocynthis* على: التقاط الجذور الحرة (DPPH)  $IC_{50} \geq 293$  (867.08 مكغ/مل)، إرجاع الحديد (FRAP)  $EC_{50} \geq 535.91$  (1668 مكغ/مل)، تثبيط تبييض  $\beta$ -كاروتين  $IC_{50} \geq 22.05$  (175.19 مكغ/مل) وحماية أغشية خلايا الدم الحمراء من هجوم الجذور الحرة الناتجة عن التفكك الحراري لجذر AAPH  $IC_{50} \geq 8.78$  (119.90 مكغ/مل). كما أظهر النشاط المضاد للسكري الذي تم تقييمه في المختبر تثبيطاً يعتمد على الجرعة لنشاط  $\alpha$  أميلاز بواسطة مستخلصات *B. dioica*  $IC_{50} \geq 145.95$  (963.06 مكغ/مل) و *C. colocynthis*  $IC_{50} \geq 63.75$  (594 مكغ/مل)، خاصة مستخلصات أسيتات الإيثيل من مستخلصات ماء-أسيتون ومستخلصات الكلوروفورم-ميثانول لكلا النوعين، والتي ضمننت تثبيطاً مختلطاً لحركية  $\alpha$ -أميلاز. وبالمثل، تم تثبيط نشاط  $\alpha$ -جلوكوزيداز بواسطة مستخلصات *B. dioica*  $IC_{50} \geq 449.80$  (583.90 مكغ/مل) و *C. colocynthis*  $IC_{50} \geq 287.65$  (575.22 مكغ/مل). فيما يتعلق بالتأثير المثبط للغلكتة غير الإنزيمية للألبومين، أظهرت المستخلصات المختبرة تأثيراً مثبطاً مرتفعاً بشكل ملحوظ ( $p \leq 0.0001$ ) لمستخلصات *colocynthis*  $IC_{50} \geq 84.36$  (220.78 مكغ/مل) و *B. dioica*  $IC_{50} \geq 228.12$  (3545.27 مكغ/مل). كما حفزت مستخلصات الكلوروفورم-ميثانول ومستخلصات أسيتات الإيثيل بشكل يعتمد على الجرعة (2.5 و 5 مغ/مل) امتصاص الجلوكوز بواسطة الحجاب الحاجز (11.33 إلى 46.17٪)، وهذا التأثير مهم مقارنة بتأثير الأنسولين (0.4 وحدة دولية/مل؛ 29.27٪) والكاتشين (5 مغ/مل؛ 19.60٪). كما سُجل تأثير مضاد للإلتهابات بنحو مرتفع في مستخلص أسيتات الإيثيل من *B. dioica* الذي أدى إلى تثبيط كبير ( $p \leq 0.0001$ ) لنشاط الليبوكسيجيناز ( $IC_{50} = 20.48$  مكغ/مل) مقارنة بتأثير مستخلص الكلوروفورم-ميثانول من *C. colocynthis* ( $IC_{50} = 205.70$  مكغ/مل)، وهو ما يماثل تأثير حمض الغاليك ( $IC_{50} = 19.35$  مكغ/مل) وحمض النورديهيدروغواياريتيك ( $IC_{50} = 36.49$  مكغ/مل). كشف تحليل الخرائط الحرارية عن وجود ارتباط قوي بين البوليفينول والفلافونويد ومعظم الأنشطة البيولوجية في النبتتين المدروستين. وقد تأكدت هذه النتائج من خلال تحليل الالتحام الجزيئي الذي كشف عن تفاعل الفلافونويدات مع الموقع التحفيزي وخارج الموقع التحفيزي لـ  $\alpha$ -أميلاز ( $Asp^{300}$ ،  $Ile^{235}$ ،  $Ala^{198}$ ) و  $\alpha$ -جلوكوزيداز ( $Asp^{39}$ ،  $Gly^{10}$ ،  $Met^{86}$ ،  $Arg^{44}$ ،  $Ser^{13}$ ) و  $Tyr^{131}$ ). وبالمثل، أظهرت نتائج تحليل شبكة التفاعل (Network) بين المكونات الفيتوكيميائية للنوعين المدروسين والإنزيمات والبروتينات الرئيسية المشاركة في المسارات الأيضية والإشارات الخاصة بمرض السكري والإجهاد التأكسدي والإلتهابات، تفاعلاً مع  $\alpha$ -أميلاز و  $\alpha$ -جلوكوزيداز، انتقال GLUT 4، IL-6، TNF، MAPK و STAT3. في الختام، أكدت جميع النتائج التي تم الحصول عليها في المختبر وحاسوبياً الخصائص المضادة لمرض السكري والمضادة للأكسدة والمضادة للإلتهابات لـ *B. dioica* و *C. colocynthis*، مما يمنح هذين النوعين إمكانية أن يشكلوا مصدرًا للجزيئات العلاجية البديلة.

**الكلمات المفتاحية:** *Citrullus colocynthis*، *Bryonia dioica*، التحليل الكروماتوغرافي LC-MS، مضاد للأكسدة، مضاد للسكري، مضاد للإلتهابات.

## Résumé

La mise en valeur des effets biologiques des extraits de plantes médicinales et aromatiques constitue une voie de recherche très prometteuse. Dans cette optique s'articule l'objectif de la présente étude, qui porte sur l'analyse phytochimique et la recherche *in vitro* de l'activité antioxydante, antidiabétique et anti-inflammatoire des extraits aqueux, chloroforme-méthanol ainsi que les extraits hydro-acétone et leurs fractions acétate d'éthyle et n-butanol, préparés à partir des racines de *Bryonia dioïca* et des fruits de *Citrullus colocynthis*. Les résultats de l'analyse phytochimique des différents extraits et fractions de *B. dioïca* ont révélé des taux élevés en polyphénols (82,06 à 299,51 µg Eq AG/mgE), et modérés en flavonoïdes (3,76 à 49,09 µg Eq C/mgE). Dans *C. colocynthis* ces taux varient entre 81,98 et 266,32 µg Eq AG/mgE ; et de 4,75 à 99,82 µg Eq C/mgE. Cependant, les différents extraits des plantes étudiées ont enregistré de faibles teneurs en flavonols et en saponines. L'analyse chromatographique LC-MS a permis d'identifier dans la fraction acétate d'éthyle et l'extrait chloroforme-méthanol de la bryone certains flavonoïdes et dérivés de coumarines, la chryisine 7-*O*-néohespéridoside ; la pinocembrine 7-*O*-néohespéridoside et l'isorhoifolin. Tandis que, le kaempférol glucoside, l'apigénine glucoside et les dérivés de coumarines ont été identifiés dans les extraits de la coloquinte. Les résultats de l'activité antioxydante, ont montré la capacité des extraits et fractions de *B. dioïca* et de *C. colocynthis* à piéger le radical libre le DPPH ( $293 \leq IC_{50} \leq 867,08$  µg/mL), réduire le fer ferrique ( $535,91 \leq EC_{50} \leq 1668$  µg/mL), inhiber le blanchiment de la β-carotène ( $22,05 \leq IC_{50} \leq 175,19$  µg/mL), et à protéger les membranes des globules rouges contre l'attaque radicalaire induite par le radical APPH ( $8,78 \leq IC_{50} \leq 119,90$  µg/mL). L'activité antidiabétique évaluée *in vitro* a révélé une inhibition dose-dépendante de l'activité de l'α-amylase par les extraits de *B. dioïca* ( $145,95 \leq IC_{50} \leq 963,06$  µg/mL) et *C. colocynthis* ( $63,75 \leq IC_{50} \leq 594$  µg/mL), en particulier les fractions acétate d'éthyle des extraits eau-acétone et les extraits chloroforme-méthanol des deux espèces, qui ont assuré une inhibition mixte de la cinétique de l'α-amylase. De même, l'activité de l'α-glucosidase a été inhibée par les extraits de *B. dioïca* ( $449,80 \leq IC_{50} \leq 583,90$  µg/mL) et *C. colocynthis* ( $287,65 \leq IC_{50} \leq 575,22$  µg/mL). En ce qui concerne l'effet inhibiteur de la glycation non enzymatique de BSA, les extraits testés ont révélé un effet inhibiteur significativement élevé ( $p \leq 0,0001$ ) des extraits de *C. colocynthis* ( $84,36 \leq IC_{50} \leq 220,78$  µg/mL) et de *B. dioïca* ( $228,12 \leq IC_{50} \leq 3545,27$  µg/mL). Les extraits chloroforme-méthanol et les fractions acétate d'éthyle ont stimulé de manière dose dépendante (2,5 et 5mg/mL) la captation du glucose par l'hémi-diaphragme (11,33 à 46,17%), cet effet est intéressant par rapport à l'effet de l'insuline (0,4 UI/mL; 29,27%) et de la catéchine (5mg/mL; 19,60 %). Un effet anti-inflammatoire significatif a été également enregistré dans la fraction acétate d'éthyle de *B. dioïca* qui a inhibé ( $p \leq 0,0001$ ) l'activité de la lipoxigénase ( $IC_{50} = 20,48$  µg/mL), ce dernier a été meilleur que l'effet de l'extrait chloroforme-méthanol de *C. colocynthis* ( $IC_{50} = 205,70$  µg/mL), et comparable à l'effet de l'acide gallique ( $IC_{50} = 19,35$  µg/mL) et l'acide nordihydroguaiarétique ( $IC_{50} = 36,49$  µg/mL). L'analyse des cartes thermiques a mis en évidence au niveau des deux plantes étudiées une forte corrélation entre les polyphénols et les flavonoïdes et la majorité des activités biologiques. Cette analyse a été confirmée par l'analyse du docking moléculaire qui a révélé une interaction des flavonoïdes avec les résidus du site catalytique et hors le site catalytique de l'α-amylase (Asp<sup>300</sup>, Ile<sup>235</sup> et Ala<sup>198</sup>) et de l'α-glucosidase (Ser<sup>13</sup>, Arg<sup>44</sup>, Met<sup>86</sup>, Gly<sup>10</sup>, Asp<sup>39</sup>, et Tyr<sup>131</sup>). De même, l'analyse des résultats du réseau d'interaction (Network) des phytoconstituants des espèces étudiées avec les enzymes et les protéines clés impliquées dans les voies métaboliques et de signalisations du diabète sucré, du stress oxydatif, et de l'inflammation, a enregistré une interaction avec l'α-amylase, l'α-glucosidase, la translocation des GLUT 4, IL-6 et TNF, MAPK et STAT3. En conclusion l'ensemble des résultats obtenus *in vitro* et *in silico* ont potentiellement confirmé les propriétés antidiabétique, antioxydante, et anti-inflammatoire de *B. dioïca* et *C. colocynthis*, ce qui confère à ces espèces l'éventualité de constituer une source de molécules thérapeutiques alternatives.

**Mots clés :** *Bryonia dioïca*, *Citrullus colocynthis*, analyse LC-MS, antioxydant, antidiabétique, anti-inflammatoire.

## Abstract

Enhancing the biological effects of medicinal and aromatic plant extracts is a highly promising area of research. The aim of the present study is to investigate the phytochemical and *in vitro* antioxidant, antidiabetic and anti-inflammatory activity of aqueous, chloroform-methanol, hydro-acetone extracts and the ethyl acetate and n-butanol fractions prepared from the roots of *Bryonia dioica* and the fruits of *Citrullus colocynthis*. Phytochemical analysis of the various *B. dioica* extracts and fractions revealed high levels of polyphenols (82.06 to 299.51  $\mu\text{g Eq GA/mgE}$ ) and moderate levels of flavonoids (3.76 to 49.09  $\mu\text{g Eq C/mgE}$ ). In *C. colocynthis*, these levels range from 81.98 to 266.32  $\mu\text{g Eq AG/mgE}$ ; and from 4.75 to 99.82  $\mu\text{g Eq C/mgE}$ . However, the various extracts studied showed low levels of flavonols and saponins. LC-MS chromatographic analysis identified certain flavonoids and coumarin derivatives such as chrysin 7-O-neohesperidoside, pinocembrin 7-O-neohesperidoside and isorhoifolin in the ethyl acetate fraction and the chloroform-methanol extract of bryony. Kaempferol glucoside, apigenin glucoside and coumarin derivatives have been identified in the extracts of colocynth. The results of the antioxidant activity showed the ability of extracts and fractions of *B. dioica* and *C. colocynthis* to; scavenge the free radical DPPH ( $293 \leq \text{IC}_{50} \leq 867.08 \mu\text{g/mL}$ ), reduce ferric iron ( $535.91 \leq \text{EC}_{50} \leq 1668 \mu\text{g/mL}$ ), inhibit  $\beta$ -carotene bleaching ( $22.05 \leq \text{IC}_{50} \leq 175.19 \mu\text{g/mL}$ ), and protect red blood cell membranes against APPH radical-induced free radical attack ( $8.78 \leq \text{IC}_{50} \leq 119.90 \mu\text{g/mL}$ ). Antidiabetic activity assessed *in vitro* revealed dose-dependent inhibition of  $\alpha$ -amylase activity by the extracts of *B. dioica* ( $145.95 \leq \text{IC}_{50} \leq 963.06 \mu\text{g/mL}$ ) and *C. colocynthis* ( $63.75 \leq \text{IC}_{50} \leq 594 \mu\text{g/mL}$ ), in particular the ethyl acetate fractions of the water-acetone extracts and the chloroform-methanol extracts of both species, which provided mixed inhibition of  $\alpha$ -amylase kinetics. Similarly,  $\alpha$ -glucosidase activity was inhibited by *B. dioica* extracts ( $449.80 \leq \text{IC}_{50} \leq 583.90 \mu\text{g/mL}$ ) and *C. colocynthis* extracts ( $287.65 \leq \text{IC}_{50} \leq 575.22 \mu\text{g/mL}$ ). With regard to the non-enzymatic glycation inhibitory effect of BSA, the extracts tested revealed a significantly high inhibitory effect ( $p \leq 0.0001$ ) of extracts from *C. colocynthis* ( $84.36 \leq \text{IC}_{50} \leq 220.78 \mu\text{g/mL}$ ) and *B. dioica* ( $228.12 \leq \text{IC}_{50} \leq 3545.27 \mu\text{g/mL}$ ). The chloroform-methanol extracts and the ethyl acetate fractions stimulated glucose uptake by the hemi-diaphragm in a dose-dependent manner (2.5 and 5mg/mL) (11.33 to 46.17%), this effect being significant compared to the insulin (0.4 IU/mL; 29.27%) and catechin (5mg/mL; 19.60%). A significant anti-inflammatory effect was also recorded in the ethyl acetate fraction of *B. dioica*, which inhibited ( $p \leq 0.0001$ ) lipoxygenase activity ( $\text{IC}_{50} = 20.48 \mu\text{g/mL}$ ), this latter was important than the effect of the chloroform-methanol extract of *C. colocynthis* ( $\text{IC}_{50} = 205.70 \mu\text{g/mL}$ ), and comparable to the effect of gallic acid ( $\text{IC}_{50} = 19.35 \mu\text{g/mL}$ ) and nordihydroguaiaretic acid ( $\text{IC}_{50} = 36.49 \mu\text{g/mL}$ ). Heat map analysis revealed a strong correlation between polyphenols and flavonoids with the majority of biological activities. This analysis was confirmed by molecular docking study, which revealed flavonoid interaction with the catalytic and non-catalytic residues of  $\alpha$ -amylase (Asp<sup>300</sup>, Ile<sup>235</sup> and Ala<sup>198</sup>) and  $\alpha$ -glucosidase (Ser<sup>13</sup>, Arg<sup>44</sup>, Met<sup>86</sup>, Gly<sup>10</sup>, Asp<sup>39</sup>, and Tyr<sup>131</sup>). Similarly, the network analysis, which examined the interaction of phytoconstituents from the species studied interact with the key enzymes and proteins involved in the metabolic and signalling pathways of diabetes mellitus, oxidative stress, and inflammation, recorded interaction with  $\alpha$ -amylase,  $\alpha$ -glucosidase, translocation of GLUT 4, IL-6 and TNF, MAPK and STAT3. In conclusion, all the *in vitro* and *in silico* results potentially confirmed the antidiabetic, antioxidant and anti-inflammatory properties of *B. dioica* and *C. colocynthis*, making these species a potential source of alternative therapeutic molecules.

**Key words:** *Bryonia dioica*, *Citrullus colocynthis*, LC-MS analysis, antioxidant, antidiabetic, anti-inflammatory.

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1:</b> Relations entre le stress oxydatif et certaines pathologies .....	<b>14</b>
<b>Tableau 2:</b> Caractéristiques de quelques antidiabétiques oraux .....	<b>17</b>
<b>Tableau 3:</b> Quelques composés phytochimiques à propriété antidiabétique .....	<b>22</b>
<b>Tableau 4 :</b> Caractéristiques des extraits et fractions préparés des racines de <i>Bryonia dioïca</i> .....	<b>74</b>
<b>Tableau 5 :</b> Caractéristiques des extraits et fractions préparés des fruits de <i>Citrullus colocynthis</i> .....	<b>75</b>
<b>Tableau 6 :</b> Screening phytochimiques des différents extraits des racines de <i>Bryonia dioïca</i> .....	<b>76</b>
<b>Tableau 7 :</b> Screening phytochimiques des différents extraits des fruits de <i>Citrullus colocynthis</i> .....	<b>77</b>
<b>Tableau 8 :</b> Teneurs en polyphénols totaux, flavonoïdes, flavonols et en saponines dans les extraits et les fractions préparés des racines de <i>Bryonia dioïca</i> .....	<b>79</b>
<b>Tableau 9:</b> Teneurs en polyphénols totaux, flavonoïdes, flavonols et en saponines dans les extraits et les fractions préparés des fruits de <i>Citrullus colocynthis</i> .....	<b>80</b>
<b>Tableau 10:</b> Les composés déterminés dans la fraction <b>BEA</b> <sub>Acét</sub> et l'extrait <b>BChM</b> des racines de <i>Bryonia dioïca</i> par analyse LC-MS.....	<b>81</b>
<b>Tableau 11 :</b> Les composés déterminés dans la fraction <b>CEA</b> <sub>Acét</sub> et l'extrait <b>CChM</b> des fruits de <i>Citrullus colocynthis</i> par analyse LC-MS.....	<b>83</b>
<b>Tableau 12:</b> Pourcentages de réduction du radical DPPH et les valeurs d'IC <sub>50</sub> des extraits des racines de <i>Bryonia dioïca</i> .....	<b>85</b>
<b>Tableau 13:</b> Pourcentages de réduction du radical libre DPPH et les IC <sub>50</sub> des extraits des fruits de <i>Citrullus colocynthis</i> .....	<b>87</b>
<b>Tableau 14:</b> Pourcentages de réduction du radical DPPH et la valeur d'IC <sub>50</sub> de l'acide ascorbique.....	<b>87</b>
<b>Tableau 15 :</b> Les absorbances du pouvoir réducteur du fer des extraits des racines de <i>B. dioïca</i> .....	<b>89</b>
<b>Tableau 16:</b> Les absorbances du pouvoir réducteur du fer des extraits des fruits de <i>C. colocynthis</i> et du BHA.....	<b>90</b>
<b>Tableau 17:</b> Effet des extraits des racines de <i>B. dioïca</i> sur l'inhibition de la peroxydation lipidique exprimé en pourcentage .....	<b>92</b>
<b>Tableau 18:</b> Effet des extraits des fruits de <i>C. colocynthis</i> sur l'inhibition de la peroxydation lipidique exprimé en pourcentage .....	<b>94</b>
<b>Tableau 19 :</b> Effet cytoprotecteur des extraits des racines de <i>Bryonia dioïca</i> des globules rouges contre l'hémolyse induite par l'AAPH exprimé en pourcentage d'inhibition.....	<b>96</b>
<b>Tableau 20:</b> Effet cytoprotecteur de l'acide ascorbique et des extraits des fruits de <i>Citrullus colocynthis</i> des globules rouges contre l'hémolyse induite par l'AAPH exprimé en pourcentage d'inhibition .....	<b>98</b>
<b>Tableau 21:</b> Les valeurs de IC <sub>50</sub> (µg/mL) de l'activité antioxydante déterminées pour les extraits de <i>B. dioïca</i> .....	<b>100</b>
<b>Tableau 22:</b> Les valeurs de IC <sub>50</sub> (µg/mL) de l'activité antioxydante déterminées pour les extraits de <i>C. colocynthis</i> .....	<b>101</b>
<b>Tableau 23:</b> Effet des extraits des racines de <i>Bryonia dioïca</i> sur l'inhibition de l'activité de l'α-amylase ..	<b>104</b>
<b>Tableau 24:</b> Effet des extraits des fruits de <i>Citrullus colocynthis</i> sur l'inhibition de l'activité de l'α-amylase.....	<b>106</b>
<b>Tableau 25:</b> Les vitesses initiales de la cinétique enzymatique de l'α-amylase à différentes concentrations de l'acarbose et du substrat.....	<b>109</b>
<b>Tableau 26:</b> Les vitesses initiales de la cinétique enzymatique de l'α-amylase à différentes concentrations des extraits de <i>B. dioïca</i> et du substrat.....	<b>110</b>
<b>Tableau 27:</b> Les vitesses initiales de la cinétique enzymatique de l'α-amylase à différentes concentrations des extraits de <i>C. colocynthis</i> et du substrat.....	<b>110</b>
<b>Tableau 28:</b> Les paramètres cinétiques (V <sub>max</sub> et K <sub>m</sub> ) de l'α-amylase déterminés en présence et en absence (CN) des extraits de <i>B. dioïca</i> , <i>C. colocynthis</i> et l'acarbose.....	<b>116</b>
<b>Tableau 29:</b> Effet des extraits des racines de <i>Bryonia dioïca</i> sur l'activité de l'α-glucosidase exprimé en pourcentage d'inhibition.....	<b>120</b>
<b>Tableau 30:</b> Effet des extraits des fruits de <i>Citrullus colocynthis</i> sur l'activité de l'α-glucosidase exprimé en pourcentage d'inhibition .....	<b>122</b>
<b>Tableau 31:</b> Effet des extraits des racines de <i>Bryonia dioïca</i> sur l'inhibition de la glycation de BSA exprimé en pourcentage.....	<b>124</b>
<b>Tableau 32:</b> Effet des extraits des fruits de <i>Citrullus colocynthis</i> sur l'inhibition de la glycation de BSA exprimé en pourcentage.....	<b>126</b>
<b>Tableau 33:</b> Effet des extraits de <i>Bryonia dioïca</i> sur la captation du glucose par hémi-diaphragme exprimé en pourcentage de captation.....	<b>130</b>
<b>Tableau 34:</b> Effet des extraits de <i>Citrullus colocynthis</i> sur la captation du glucose par hémi-diaphragme .....	<b>132</b>

exprimé en pourcentage de captation.....  
**Tableau 35:** Effet des extraits des racines de *Bryonia dioïca* et des fruits de *C. colocynthis* sur l'inhibition de l'activité de la lipoxigénase exprimé en pourcentage .....

## Liste des figures

<b>Figure 1</b> : Origine des radicaux libres oxygénés et des espèces réactives de l'oxygène (ROS) impliquées en biologie .....	08
<b>Figure 2</b> : Facteurs exogènes impliqués dans la génération des ROS.....	09
<b>Figure 3</b> : Altération de l'ADN par les oxydants.....	10
<b>Figure 4</b> : Altération de l'ADN par le radical hydroxyle OH <sup>•</sup> par abstraction d'hydrogène à différents carbone de désoxyribose.....	11
<b>Figure 5</b> : Etapes de la peroxydation lipidique.....	11
<b>Figure 6</b> : Quelques altérations oxydatives des protéines .....	12
<b>Figure 7</b> : Structure chimique de quelques antioxydants de synthèse .....	13
<b>Figure 8</b> : Sites d'action de quelques médicaments utilisés dans le traitement du diabète de type 2 .....	18
<b>Figure 9</b> : Mode d'action des sulfamides hypoglycémiant.....	19
<b>Figure 10</b> : Mécanisme d'action de l'acarbose sur les $\alpha$ -glucosidase.....	21
<b>Figure 11</b> : Relations entre le stress oxydatif et l'hyperglycémie chronique.....	23
<b>Figure 12</b> : Les étapes de formation des AGEs.....	24
<b>Figure 13</b> : Structure chimique de quelques AGE les plus caractérisés.....	25
<b>Figure 14</b> : Les pathologies associées à la réaction inflammatoire.....	27
<b>Figure 15</b> : Les étapes de la réaction inflammatoire.....	28
<b>Figure 16</b> : Les médiateurs lipidiques de l'inflammation .....	29
<b>Figure 17</b> : Voie de synthèse des lipoxines.....	30
<b>Figure 18</b> : Le métabolisme de l'acide arachidonique via la voie des leucotriènes par intervention de la 5-lipoxygénase.....	31
<b>Figure 19</b> : Certaines molécules anti-inflammatoire, (a) : Antagonistes des récepteurs des leucotriènes; (b) : Inhibiteurs non redox; (c) : Inhibiteurs redox; (d) : Inhibiteurs de chélateurs du fer; (e) : Inhibiteur de FLAP.....	32
<b>Figure 20</b> : Structure chimique de quelques phytoconstituants inhibiteurs de la cyclooxygénase (A) et la lipoxygénase (B).....	33
<b>Figure 21</b> : Différentes parties de <i>Bryonia dioïca</i> ; Feuilles (A), Fleurs (B), Fruits (C) et Racines (D) .....	36
<b>Figure 22</b> : Certains flavonoïdes, saponines et stéroïdes isolés de <i>Bryonia dioïca</i> .....	37
<b>Figure 23</b> : Structures chimiques de certains cucurbitacines.....	38
<b>Figure 24</b> : Différentes parties de <i>Citrullus colocynthis</i> ; Fruits sec et graines (A), Racines (B), Partie aérienne (C), Feuilles (D), Fleurs (E) et Fruits (F).....	40
<b>Figure 25</b> : Quelques composés phytochimiques isolés de <i>Citrullus colocynthis</i> ; Cucurbitacine J (A), Cucurbitacine L (B), Isovitexine (C), Colocynthoside A (D), Colocynthoside B (E), Isosaponarine (F), Isoorientine 30-éther méthylque O (G).....	42
<b>Figure 26</b> : Fruits de <i>Citrullus colocynthis</i> coupés en petits morceaux au laboratoire (a); Racines de <i>Bryonia dioïca</i> broyées en poudre au laboratoire (b).....	47
<b>Figure 27</b> : Schéma récapitulatif de la préparation des extraits et leurs fractions à partir des racines de <i>Bryonia dioïca</i> .....	49
<b>Figure 28</b> : Schéma récapitulatif de la préparation des extraits et leurs fractions à partir des fruits de <i>Citrullus colocynthis</i> .....	50
<b>Figure 29</b> : Mécanisme réactionnel de réduction du DPPH <sup>•</sup> en DPPH-H.....	56
<b>Figure 30</b> : Mécanisme réactionnel de réduction du fer ferrique en fer ferreux.....	58
<b>Figure 31</b> : Réaction de l'oxydation de l'acide linoléique.....	59
<b>Figure 32</b> : Réaction de l'oxydation de $\beta$ -carotène (orange) par l'acide linoléique oxydé.....	59
<b>Figure 33</b> : Réaction d'inhibition de blanchiment de $\beta$ -carotène en présence d'antioxydant.....	59
<b>Figure 34</b> : Réaction de la décomposition thermique de l'AAPH.....	61
<b>Figure 35</b> : Réaction de réduction du DNSA par les sucres réducteurs.....	63
<b>Figure 36</b> : Principe de la réaction d'hydrolyse de pNPG par l' $\alpha$ -glucosidase.....	65
<b>Figure 37</b> : Réaction de Maillard.....	67
<b>Figure 38</b> : Diaphragme isolé de rat Wistar (Photo de laboratoire).....	69
<b>Figure 39</b> : Le cycle redox de la lipoxygénase et l'effet de l'acide nordihydroguaiarétique (NOGA) .....	70
<b>Figure 40</b> : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux (A); De la catéchine pour le dosage des flavonoïdes (B); De l'acide oléanolique pour le dosage de saponines (C) et de la quercétine pour le dosage des flavonols (D) .....	78
<b>Figure 41</b> : Spectre de l'analyse LC-MS de la fraction acétate d'éthyle <b>BEA</b> <sub>Acét</sub> des racines de <i>Bryonia dioïca</i> .....	81
<b>Figure 42</b> : Spectre de l'analyse LC-MS de l'extrait <b>BChM</b> des racines de <i>Bryonia dioïca</i> .....	82
<b>Figure 43</b> : Spectre de l'analyse LC-MS de la fraction acétate d'éthyle <b>CEA</b> <sub>Acét</sub> des fruits de <i>Citrullus</i> .....	83

<i>colocynthis</i> .....	
<b>Figure 44:</b> Spectre de l'analyse LC-MS de l'extrait CChM des fruits de <i>Citrullus colocynthis</i> .....	84
<b>Figure 45:</b> Pourcentages de réduction du radical libre DPPH en fonction des concentrations des extraits des racines de <i>B. dioïca</i> .....	86
<b>Figure 46:</b> Pourcentages de réduction du radical libre DPPH en fonction des concentrations des extraits des fruits de <i>C. colocynthis</i> .....	88
<b>Figure 47:</b> Pouvoir réducteur du fer en fonction des concentrations des extraits des racines de <i>B. dioïca</i> ..	90
<b>Figure 48:</b> Pouvoir réducteur du fer en fonction des concentrations de la molécule standard BHA .....	91
<b>Figure 49:</b> Pouvoir réducteur du fer en fonction des concentrations des extraits des fruits de <i>C. colocynthis</i> .....	91
<b>Figure 50:</b> Effet des extraits des racines de <i>B. dioïca</i> sur l'inhibition de la peroxydation lipidique exprimé en pourcentage .....	93
<b>Figure 51:</b> Effet des extraits des fruits de <i>C. colocynthis</i> sur l'inhibition de la peroxydation lipidique exprimé en pourcentage .....	95
<b>Figure 52 :</b> Effet des molécules antioxydantes sur l'inhibition de la peroxydation lipidique exprimé en pourcentage .....	95
<b>Figure 53:</b> Effet cytoprotecteur des extraits des racines de <i>Bryonia dioïca</i> des globules rouges contre l'hémolyse induite par l'AAPH.....	97
<b>Figure 54:</b> Effet cytoprotecteur de l'acide ascorbique et des extraits des fruits de <i>Citrullus colocynthis</i> des globules rouges contre l'hémolyse induite par l'AAPH.....	99
<b>Figure 55:</b> Les valeurs de IC <sub>50</sub> (µg/mL) de l'activité antioxydante déterminées pour les extraits de <i>B. dioïca</i> .....	102
<b>Figure 56:</b> Les valeurs de IC <sub>50</sub> (µg/mL) de l'activité antioxydante déterminées pour les extraits de <i>C. colocynthis</i> .....	103
<b>Figure 57:</b> Effet des extraits des racines de <i>Bryonia dioïca</i> sur l'inhibition de l'activité de l'α-amylase ...	105
<b>Figure 58:</b> Effet des extraits des fruits de <i>Citrullus colocynthis</i> et de l'acarbose sur l'inhibition de l'activité de l'α-amylase .....	107
<b>Figure 59:</b> Courbe d'étalonnage du maltose.....	108
<b>Figure 60:</b> Courbes d'apparition du produit de l'α-amylase (maltose) en fonction du temps et en présence de trois concentrations de l'amidon (0,33 ; 1,66 et 2,33 mg/mL) .....	108
<b>Figure 61:</b> Courbes d'apparition du produit de l'α-amylase (maltose) en fonction du temps et en présence des trois concentrations de l'amidon et de l'acarbose (2 ; 13 et 15µg/mL).....	111
<b>Figure 62:</b> Courbes d'apparition du produit de l'α-amylase (maltose) en fonction du temps et en présence des trois concentrations de l'amidon et de la fraction BEA <sub>Acét</sub> de <i>B. dioïca</i> (100 ; 146 et 167µg/mL).....	112
<b>Figure 63:</b> Courbes d'apparition du produit de l'α-amylase (maltose) en fonction du temps et en présence des trois concentrations de l'amidon et de l'extrait BChM de <i>B. dioïca</i> (267 ; 301 et 333µg/mL)	113
<b>Figure 64:</b> Courbes d'apparition du produit de l'α-amylase (maltose) en fonction du temps et en présence des trois concentrations de l'amidon et de la fraction CEA <sub>Acét</sub> de <i>C. colocynthis</i> (33 ; 63 et 83µg/mL) .....	114
<b>Figure 65 :</b> Courbes d'apparition du produit de l'α-amylase (maltose) en fonction du temps et en présence des trois concentrations de l'amidon et de l'extrait CChM de <i>C. colocynthis</i> (100 ; 108 et 113µg/mL) .....	115
<b>Figure 66:</b> Représentation en double inverse <i>Lineweaver et Burck</i> ( $1/V_{in} = f(1/[S])$ ) de la réaction de l'α-amylase en présence et en absence (CN) des extraits de <i>B. dioïca</i> et en présence de l'acarbose ; BEA <sub>Acét</sub> (A), BChM (B) et acarbose (C).....	118
<b>Figure 67:</b> Représentation en double inverse <i>Lineweaver et Burck</i> ( $1/V_{in} = f(1/[S])$ ) de la réaction de l'α-amylase en présence et en absence (CN) des extraits de <i>C. colocynthis</i> et en présence de l'acarbose ; CEA <sub>Acét</sub> (A), CChM (B) et acarbose (C).....	119
<b>Figure 68:</b> Effet des extraits des racines de <i>Bryonia dioïca</i> sur l'activité de l'α-glucosidase exprimé en pourcentage d'inhibition.....	121
<b>Figure 69:</b> Effet des extraits des fruits de <i>Citrullus colocynthis</i> sur l'activité de l'α-glucosidase exprimé en pourcentage d'inhibition.....	122
<b>Figure 70:</b> Effet des extraits bruts aqueux des racines de <i>Bryonia dioïca</i> et des fruits de <i>Citrullus colocynthis</i> et de l'acarbose sur l'activité de l'α-glucosidase exprimé en pourcentage d'inhibition .....	123
<b>Figure 71:</b> Effet des extraits des racines de <i>Bryonia dioïca</i> sur l'inhibition de la glycation de BSA exprimé en pourcentage .....	125
<b>Figure 72:</b> Effet des extraits des fruits de <i>Citrullus colocynthis</i> et des molécules standards sur l'inhibition de la glycation de BSA exprimé en pourcentage.....	127
<b>Figure 73:</b> Les valeurs d'IC <sub>50</sub> déterminées au cours de l'évaluation <i>in vitro</i> de l'activité antidiabétique	128

des extraits de <i>Bryonia dioïca</i> .....	
<b>Figure 74:</b> Les valeurs d'IC <sub>50</sub> déterminées au cours de l'évaluation <i>in vitro</i> de l'activité antidiabétique des extraits de <i>Citrullus colocynthis</i> .....	<b>129</b>
<b>Figure 75:</b> Effet de la fraction BEA <sub>Acét</sub> et l'extrait BChM de <i>Bryonia dioïca</i> sur la captation du glucose par hémi-diaphragme exprimé en pourcentage de captation.....	<b>131</b>
<b>Figure 76:</b> Effet de la fraction CEA <sub>Acét</sub> et l'extrait CChM de <i>Citrullus colocynthis</i> sur la captation du glucose par hémi-diaphragme exprimé en pourcentage de captation.....	<b>132</b>
<b>Figure 77:</b> Effet de la catéchine, l'insuline et l'association fraction CEA <sub>Acét</sub> - insuline sur la captation du glucose par hémi-diaphragme exprimé en pourcentage de captation.....	<b>133</b>
<b>Figure 78:</b> Effet des extraits des racines de <i>B. dioïca</i> et des fruits de <i>C. colocynthis</i> sur l'inhibition de l'activité de la lipoxigénase exprimé en pourcentage.....	<b>136</b>
<b>Figure 79 :</b> Les valeurs d'IC <sub>50</sub> déterminées au cours de l'évaluation <i>in vitro</i> de l'activité anti-inflammatoire des extraits de <i>Bryonia dioïca</i> et de <i>Citrullus colocynthis</i> .....	<b>137</b>
<b>Figure 80:</b> Carte thermique de corrélation entre les activités biologiques et les composés phytochimiques de <i>Bryonia dioïca</i> .....	<b>138</b>
<b>Figure 81:</b> Carte thermique de corrélation entre les activités biologiques et les composés phytochimiques de <i>Citrullus colocynthis</i> .....	<b>139</b>
<b>Figure 82:</b> Modes de liaison prédits en 3D de la cucurbitacine B (a), de la bryogénine (b), de la vitexine (c) et de l'isovitexine (d) de <i>B. dioïca</i> , de l'acarbose (e), et de colocynthoside A (f) ; cucurbitacine C (g) ; colocynthoside B (h) ; cucurbitacine E (i) de <i>C. colocynthis</i> avec l' $\alpha$ -amylase (3BAJ).....	<b>142</b>
<b>Figure 83:</b> Modes de liaison prédits en 3D de la cucurbitacine B (a), de la bryogénine (b), de la vitexine (c) et de l'isovitexine (d) de <i>B. dioïca</i> , de l'acarbose (e), et de colocynthoside A (f), cucurbitacine C (g), colocynthoside B (h) et cucurbitacine E (i) de <i>C. colocynthis</i> avec l' $\alpha$ -glucosidase (1OBB).....	<b>143</b>
<b>Figure 84:</b> Réseau d'interaction (Network) entre certains composés phytochimiques de <i>Bryonia dioïca</i> et leur cibles biologiques liées au diabète sucré et à l'inflammation.....	<b>145</b>
<b>Figure 85:</b> Réseau d'interaction (Network) entre certains composés phytochimiques de <i>Citrullus colocynthis</i> et leur cibles biologiques liées au diabète sucré et à l'inflammation.....	<b>147</b>

## Liste des abréviations

<b>AAPH :</b>	2,2'-azobis (2-aminodipropane) dihydrochloride
<b>AGE :</b>	Advanced Glycation End products
<b>BAQ :</b>	Extrait aqueux brut de <i>B. dioica</i>
<b>BAQ<sub>Acét</sub> :</b>	Fraction acétate d'éthyle de l'extrait aqueux de <i>B. dioica</i>
<b>BAQ<sub>nB</sub> :</b>	Fraction n-butanol de l'extrait aqueux de <i>B. dioica</i>
<b>BChM :</b>	Extrait chloroforme-méthanol de <i>B. dioica</i>
<b>BEA :</b>	Extrait eau-acétone brut de <i>B. dioica</i>
<b>BEA<sub>Acét</sub> :</b>	Fraction acétate d'éthyle de l'extrait eau-acétone de <i>B. dioica</i>
<b>BEA<sub>nB</sub> :</b>	Fraction n-butanol de l'extrait eau-acétone de <i>B. dioica</i>
<b>BHA :</b>	Butylated hydroxyanisole
<b>CAQ :</b>	Extrait aqueux brut de <i>C. colocynthis</i>
<b>CAQ<sub>Acét</sub> :</b>	Fraction acétate d'éthyle de l'extrait aqueux de <i>C. colocynthis</i>
<b>CAQ<sub>nB</sub> :</b>	Fraction n-butanol de l'extrait aqueux de <i>C. colocynthis</i>
<b>CChM :</b>	Extrait chloroforme-méthanol de <i>C. colocynthis</i> .
<b>CEA :</b>	Extrait eau-acétone brut de <i>C. colocynthis</i>
<b>CEA<sub>Acét</sub> :</b>	Fraction acétate d'éthyle de l'extrait eau-acétone de <i>C. colocynthis</i>
<b>CEA<sub>nB</sub> :</b>	Fraction n-butanol de l'extrait eau-acétone de <i>C. colocynthis</i>
<b>CTD :</b>	Comparative Toxicogenomics Database
<b>DPPH :</b>	2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl
<b>ES :</b>	Extrait sec
<b>ESM :</b>	Erreur standard de la moyenne
<b>FID :</b>	Fédération internationale du diabète
<b>Fln :</b>	Flavonols
<b>Flv :</b>	Flavonoïdes
<b>Km :</b>	Constante de Michaelis (constante d'affinité)
<b>LC-MS :</b>	UHPLC-DAD-ESI/MS (Ultra-Haute Performance Liquid Chromatography- Diode Array Detector- Electrospray Ionization / Mass Spectrometry)
<b>LOX :</b>	Lipoxygénase
<b>malt :</b>	Maltose
<b>NOGA :</b>	Acide nordihydroguaiarétique
<b>OMIM :</b>	Online Mendelian Inheritance in Man
<b>Pt :</b>	Polyphénols totaux
<b>RLs :</b>	Radicaux libres
<b>ROS :</b>	Espèces réactives de l'oxygène
<b>S :</b>	Substrat (Amidon)
<b>Sap :</b>	Saponines
<b>SMILES :</b>	Simplified Molecular Input Line Entry System

## Table des matières

<b>Introduction</b> .....	<b>01</b>
<b>Synthèse bibliographique</b> .....	<b>06</b>
<b>Matériel et Méthodes</b>	
<b>Partie 1 : Etude phytochimique de <i>Bryonia dioïca</i> et <i>Citrullus colocynthis</i></b> .....	<b>46</b>
1. Matériel végétal.....	46
2. Extractions .....	47
2.1. Préparation des extraits aqueux.....	47
2.2. Préparation des extraits chloroforme-méthanol.....	47
2.3. Préparation des extraits eau-acétone.....	48
2.4. Préparation des fractions acétate d'éthyle et n-butanol.....	48
3. Screening phytochimique.....	51
4. Dosage des composés phytochimiques.....	52
4.1. Dosage des polyphénols totaux.....	52
4.2. Dosage des flavonoïdes .....	53
4.3. Dosage des flavonols .....	54
4.4. Dosage des saponines.....	54
5. Identification des composés phytochimiques par LC-MS.....	55
<b>Partie 2 : Etude des activités biologiques de <i>Bryonia dioïca</i> et <i>Citrullus colocynthis</i></b> .....	<b>56</b>
1. Evaluation de l'activité antioxydante.....	56
1.1. Evaluation de l'effet des extraits sur le piégeage du radical libre DPPH.....	56
1.2. Evaluation de l'effet des extraits sur la réduction du fer (FRAP).....	57
1.3. Evaluation de l'effet des extraits sur le blanchiment de $\beta$ -carotène.....	58
1.4. Evaluation de l'effet cytoprotecteur des extraits sur les hématies contre l'attaque radicalaire du AAPH [2,2-azobis (2 amidinopropane) dihydrochloride].....	60
2. Evaluation <i>in vitro</i> de l'activité antidiabétique .....	62
2.1. Evaluation de l'effet des extraits sur l'activité de l' $\alpha$ -amylase .....	62
2.1.1. Méthode en point terminal.....	62
2.1.2. Méthode en cinétique enzymatique.....	64
2.2. Evaluation de l'effet des extraits sur l'activité de l' $\alpha$ -glucosidase.....	65
2.3. Evaluation de l'effet des extraits sur la glycation non enzymatique de sérum albumine bovine (BSA) .....	67
2.4. Evaluation de l'effet des extraits sur la captation du glucose par hémi-diaphragme.....	68
3. Evaluation <i>in vitro</i> de l'activité anti-inflammatoire.....	70
<b>Partie 3: Etude statistique</b> .....	<b>71</b>
<b>Partie 4 : Docking moléculaire et analyse du réseau d'interaction biologique (Network)</b> .....	<b>71</b>

1. Docking moléculaire.....	72
2. Analyse du réseau d'interaction biologique (Network).....	72
<b>Résultats et interprétation</b>	
<b>Partie 1 : Etude phytochimique de <i>Bryonia dioïca</i> et <i>Citrullus colocynthis</i>.....</b>	<b>74</b>
1. Rendements et caractéristiques des extraits.....	74
2. Screening phytochimique.....	75
3. Teneurs des extraits en composés phytochimiques.....	77
4. Identification des composés phytochimiques par LC-MS.....	80
<b>Partie 2 : Activités biologiques des extraits de <i>Bryonia dioïca</i> et <i>Citrullus colocynthis</i>.....</b>	<b>84</b>
1. Effet des extraits de <i>B. dioïca</i> et <i>C. colocynthis</i> sur l'activité antioxydante.....	84
1.1. Effet sur le piégeage du radical libre DPPH.....	84
1.2. Effet des extraits sur la réduction du fer (FRAP).....	88
1.3. Effet sur le blanchiment de $\beta$ -carotène.....	91
1.4. Effet cytoprotecteur des extraits sur les hématies contre l'attaque radicalaire de l'AAPH...	96
2. Effet des extraits de <i>B. dioïca</i> et <i>C. colocynthis</i> sur l'activité antidiabétique .....	103
2.1. Effet des extraits sur l'activité de l' $\alpha$ -amylase : Etude en point terminal.....	103
2.2. Effet des extraits sur l'activité de l' $\alpha$ -amylase : Etude de la cinétique enzymatique.....	107
2.3. Effet des extraits sur l'activité de l' $\alpha$ -glucosidase .....	119
2.4. Effet des extraits sur la glycation non enzymatique de BSA .....	123
2.5. Effet des extraits sur la captation du glucose par héli-diaphragme.....	129
3. Effet des extraits de <i>B. dioïca</i> et <i>C. colocynthis</i> sur l'activité anti-inflammatoire <i>in vitro</i> .....	133
<b>Partie 3: Docking moléculaire et Network.....</b>	<b>139</b>
1. Docking moléculaire.....	139
2. Réseau d'interactions biologiques (Network).....	144
<b>Discussion.....</b>	<b>148</b>
<b>Conclusion et perspectives.....</b>	<b>174</b>
<b>Références bibliographiques.....</b>	<b>177</b>

# **Introduction**

Un stress oxydatif persistant et non contrôlé est susceptible d'endommager divers composants moléculaires comme les protéines, les lipides et les acides nucléiques, ce qui se traduit cliniquement par l'apparition et le développement de diverses maladies chroniques, telles que les cancers, les maladies neurodégénératives, cardiovasculaires, inflammatoires, et métaboliques (**Sies et al., 2017; Aramouni et al., 2023**).

Le stress oxydatif via la formation des radicaux libres constitue la cause principale de l'installation et la progression des complications du diabète sucré (**Favier, 2006**). Ce dernier est l'une des maladies métaboliques non transmissibles alarmantes qui se manifeste par une hyperglycémie chronique associée à une altération des métabolismes lipidiques, protéiques et glucidiques. Il constitue un problème majeur de santé publique à l'échelle mondiale, près de 589 millions de diabétiques âgés de 20 à 79 ans ont été estimés en 2024, ce nombre est prévu d'atteindre 853 millions en 2050 (**FID, 2021; FID, 2025**). L'acuité du diabète sucré est liée principalement à la sévérité de ses complications. Plus de 3,4 millions de décès dans le monde ont été enregistrés en 2024 chez les personnes âgées de 20 à 79 ans suite à des causes liées au diabète, l'accident cérébro-vasculaire et les complications rénales sont les principales causes de mortalité chez les personnes atteintes (**FID, 2025**). Pour cette raison, la prise en charge thérapeutique des diabétiques demeure indispensable, elle regroupe les antidiabétiques oraux et/ou l'insulinothérapie (**Berdi et al., 2020**). Néanmoins, ces traitements souvent associés à des effets secondaires inévitables, sont coûteux pour les diabétiques (**Aba et al., 2018**). Face à cette situation, l'intérêt scientifique actuelle s'est porté sur l'exploitation des substances naturelles pour le développement de nouvelles molécules antidiabétiques alternatives.

Les maladies inflammatoires souvent consécutives du stress oxydatif, constituent un autre risque de santé publique. Ces maladies qui se manifestent par la fièvre, la rougeur, les douleurs articulaires, musculaires et abdominales correspondent à une réaction non spécifique et transitoire impliquée par l'organisme pour se défendre contre des agressions, des infections ou un traumatisme. Les étapes de la réaction inflammatoire se déroulent sous le contrôle de certains médiateurs notamment les cytokines, les leukotriènes, les prostanoïdes, les facteurs de coagulation (**Henrotin et al., 2001 ; Raymondjean, 2007**). La persistance de l'inflammation constitue un état pathologique associé à de nombreuses maladies dont l'asthme bronchique, l'athérosclérose, l'arthrite, les maladies auto-immunes, et les cancers (**Hu et Ma, 2018 ; Shahid et al., 2021**). De nombreux médicaments anti-inflammatoires sont utilisés pour

traiter un grand nombre de pathologies. Ce sont des traitements symptomatiques qui regroupent deux catégories les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) et stéroïdien (les corticoïdes) qui inhibent la synthèse des prostaglandines suite à l'inhibition de la cyclooxygénase (COX), les immunosuppresseurs comme anti-TNF $\alpha$ , ou les agents ciblant les interleukines pro-inflammatoires. En revanche, l'utilisation de ces classes thérapeutiques nécessite certaines précautions en raison des effets secondaires potentiels, notamment en cas d'utilisation prolongée, comme les troubles gastro-intestinaux, cardiovasculaires et rénaux, ainsi que les réactions allergiques (**Czubowicz et al., 2010 ; Banoglu et al., 2016 ; Hu et Ma, 2018 ; Shahid et al., 2021**).

Les échecs thérapeutiques et l'accroissement de l'incidence des effets indésirables des traitements pharmaceutiques, ainsi que les coûts élevés de ces traitements dans certains pays, ont promu l'utilisation des plantes médicinales et aromatiques comme une approche alternative.

La phytothérapie reconnue comme l'un des fondements de la médecine traditionnelle, est une médecine alternative pour se soigner naturellement avec les plantes médicinales. Ces dernières constituent pour le domaine pharmaceutique une source inépuisable de composés actifs qui sont à l'origine de leur efficacité thérapeutique, et qui trouvent leur application dans le domaine pharmaceutique comme traitement alternatif ou complémentaire de certaines maladies chroniques cancer, Alzheimer, diabète sucré, hypertension artérielle... (**Abbou et al., 2022 ; Abel et al., 2023 ; Terki et al., 2023 ; Benramdane et al., 2024**).

Environ 80% de la population mondiale ont recours à la médecine traditionnelle, dont les pays en voie de développement ont largement intégré l'utilisation des plantes dans leur soins primaires de santé. Les enquêtes ethnobotaniques ont permis le recensement des plantes médicinales et les mettre à la disposition des personnes intéressées (**OMS, 2022**).

L'Algérie est caractérisée par la biodiversité et la richesse de sa flore végétale, environ 3744 espèces végétales dont 125 à usage traditionnelle ne sont pas encore scientifiquement valorisées par la pharmacologie et la phytochimie (**Chatelain et al., 2018 ; Hamel et al., 2023**). Un nombre important de ces espèces a fait l'objet de plusieurs recherches scientifiques qui ont accordé un grand intérêt à la valorisation de leurs propriétés thérapeutiques. Dans ce contexte, s'intègre l'objectif principal des recherches scientifiques de notre laboratoire de recherche Antibiotiques, Antifongiques : Physico-chimie, Synthèse et Activité Biologique

(LAPSAB), qui s'intéresse à la recherche d'éventuels effets biologiques des plantes médicinales et aromatiques de la flore locale, ainsi que la recherche de nouvelles molécules bioactives.

Dans le présent travail de thèse, notre objectif porte éventuellement sur l'étude phytochimique et l'évaluation *in vitro* de l'activité antioxydante, antidiabétique et anti-inflammatoire des extraits de deux plantes de la famille des cucurbitacées du Sud-Ouest de l'Algérie, *Citrullus colocynthis* (coloquinte, Handel) et *Bryonia dioïca* (Bryone, Aneb dib ou Fachira). Ces deux espèces végétales sont largement utilisées en médecine traditionnelle en Algérie pour traiter divers maladies notamment le diabète sucré et le cancer (**Thimothy, 1993 ; Duke et al., 2002 ; Sallam et al., 2010 ; Hammiche et al., 2013**).

La démarche expérimentale de ce travail réunie deux grandes parties, la première s'intéresse à l'étude phytochimique des extraits des deux plantes étudiées, et la seconde consiste à l'étude des activités biologiques des extraits préparés. La partie phytochimique, inclue les extractions à partir des racines de *Bryonia dioïca* et les fruits de *Citrullus colocynthis*, il s'agit des extraits aqueux, chloroforme-méthanol, eau- acétone et les fractions acétate d'éthyle et n-butanol. Les extraits préparés font l'objet d'un screening phytochimique ; un dosage quantitatif de polyphénols totaux, flavonoïdes, flavonols et de saponines ; et une caractérisation de certains extraits par une analyse LC-MS.

Concernant la deuxième partie, elle est consacrée à la recherche *in vitro* d'éventuels effets biologiques notamment l'effet antioxydant en utilisant la méthode de piégeage de radical libre DPPH ; le test de pouvoir réducteur du fer (FRAP), le test de blanchiment de  $\beta$ -carotène et le test cytoprotecteur des globules rouges contre l'attaque radicalaire induite par AAPH.

L'activité antidiabétique est évaluée par la mesure de l'effet des extraits des plantes sur l'activité de l' $\alpha$ -amylase et de l' $\alpha$ -glucosidase tout en déterminant l'influence de certains extraits sur la cinétique enzymatique de l' $\alpha$ -amylase. Nous avons également testé l'impact des extraits sur l'inhibition de la glycation non enzymatique de l'albumine du sérum bovin (BSA) et sur la captation du glucose par le diaphragme isolé de rats Wistar. En outre, le pouvoir anti-inflammatoire de certains extraits est mesuré par le test d'inhibition de l'activité de la lipoxigénase (LOX). En dernier lieu, nous avons intégré le docking moléculaire et l'analyse de réseau d'interaction (Network) des phytoconstituants et les cibles biologiques

(enzyme, protéine, voie de signalisation) pour prédire les types d'interactions et les voies de signalisation qui peuvent argumenter le mécanisme d'action des extraits des plantes étudiées.

Le présent manuscrit est initié par une introduction qui définit la problématique et l'objectif de ce travail de thèse ; ensuite la synthèse bibliographique présente des rappels sur le stress oxydatif et les maladies associées, notamment le diabète sucré et l'inflammation, et une présentation des deux espèces étudiées *Bryonia dioica* et *Citrullus colocynthis*. Dans matériel et méthodes, les différentes méthodes et techniques utilisées sont détaillées, suivies par l'illustration et l'interprétation des résultats obtenus ; et finalement le manuscrit se termine par une discussion, une conclusion, et des perspectives.

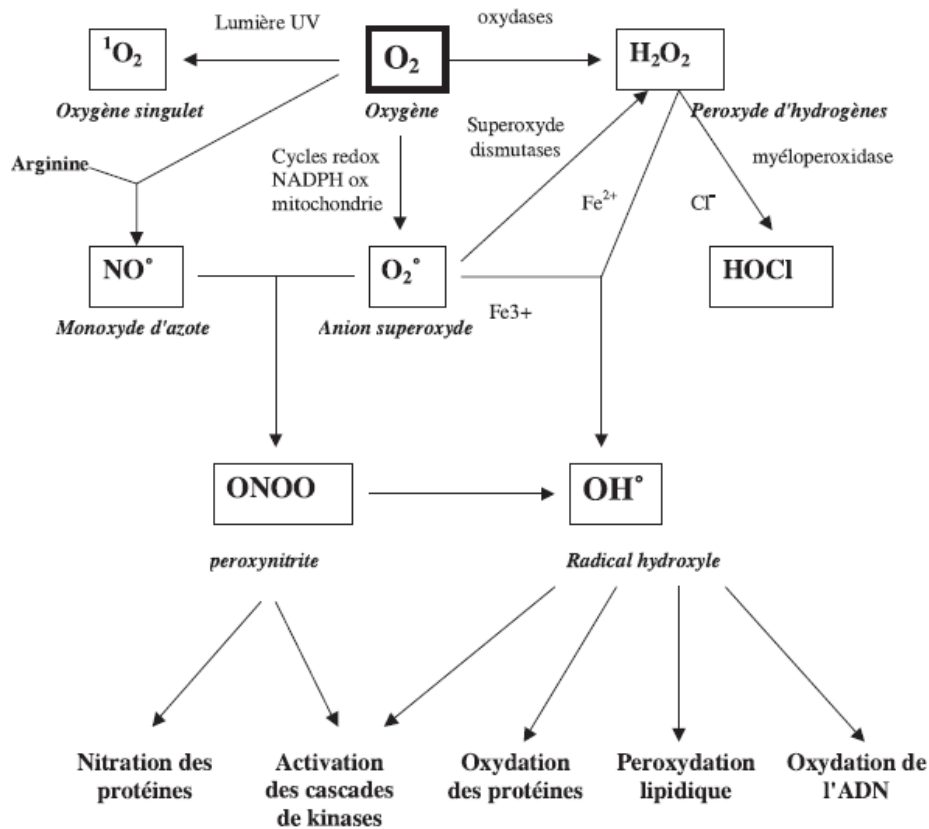
# **Synthèse bibliographique**

Dans des conditions physiologiques équilibrées le système d'oxydo-réduction (redox) fait partie intégrante pratiquement de tous les processus cellulaires fondamentaux, de la bioénergétique au métabolisme et aux fonctions vitales. Ce processus redox implique deux classes de molécules ; les pro-oxydants (Radicaux libres), et les antioxydants dont leurs concentrations dépendent de leur localisation cellulaire, du métabolisme mitochondrial, de l'expression génétique des protéines impliquées dans les réactions redox, ainsi que de certains facteurs exogènes, comme le niveau d'oxygène moléculaire ( $O_2$ ) ambiants (**Migdal et Serres, 2011 ; Sies et al., 2017**).

En physiopathologie, un déséquilibre entre la production des radicaux libres et les défenses antioxydantes aboutit au stress oxydatif. Ce dernier est le résultat d'une surabondance des radicaux libres ou d'un manque de pouvoir antioxydant qui se manifeste par une production excessive ou une suppression insuffisante des radicaux libres. Ces derniers sont caractérisés par la présence d'un ou plusieurs électrons non appariés qui leur confère une réactivité élevée en raison de leur configuration électronique incomplète (**Burton et Jauniaux, 2011 ; Pisoschi et Pop, 2015**).

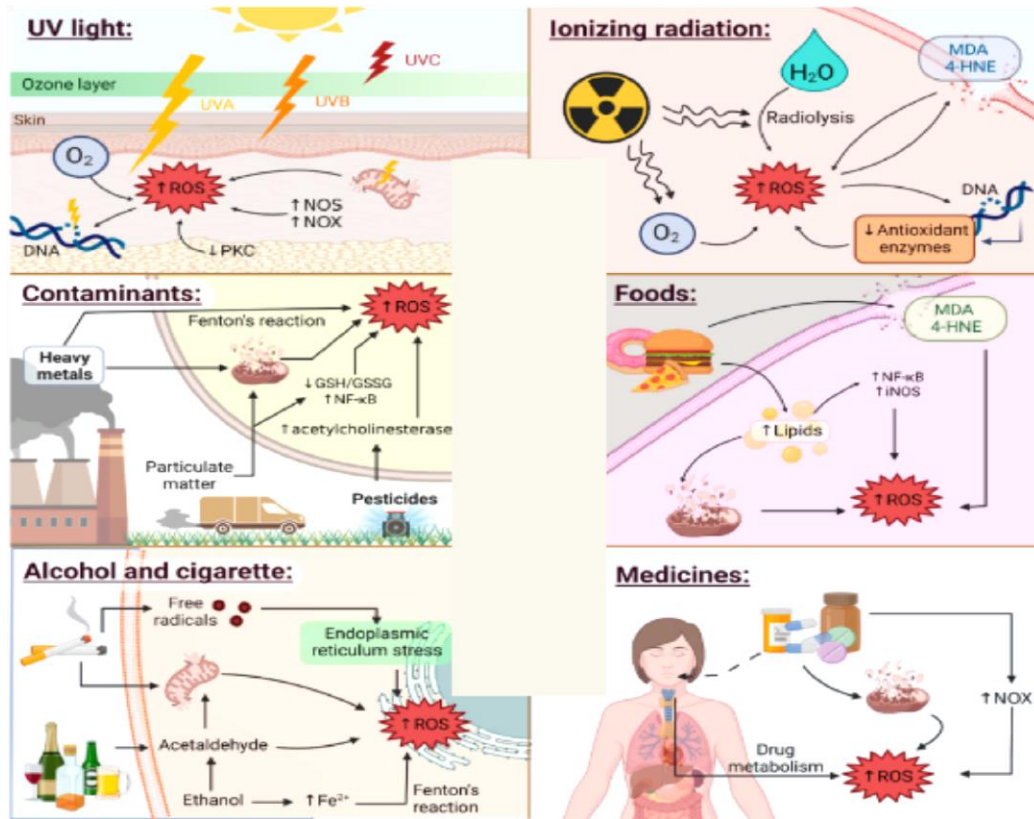
Parmi les diverses espèces radicalaires susceptibles de se former au sein des cellules, les radicaux libres (Entités radicalaires) et leurs intermédiaires non radicalaires (entités moléculaires). Il est essentiel de distinguer un groupe restreint de composés radicalaires qui exercent un rôle physiologique appelés radicaux primaires. Les autres radicaux libres, qualifiés de radicaux secondaires, résultent des réactions entre les radicaux primaires et les composés biochimiques de la cellule.

Les radicaux primaires se forment soit de l'oxygène par réduction d'un électron, tels que l'anion superoxyde  $O_2^{\cdot-}$  et le radical hydroxyle  $OH^{\cdot}$  ; soit de l'azote, comme le monoxyde d'azote  $NO^{\cdot}$ . D'autres espèces dérivées de l'oxygène notamment l'oxygène singulet  $^1O_2$ , le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) ou le nitroperoxyde (ONOOH), ne sont pas considérées comme des radicaux libres, mais elles présentent également une grande réactivité et peuvent servir de précurseurs des radicaux libres (**Figure 1**). L'ensemble des radicaux libres et de leurs précurseurs est fréquemment désigné sous le terme d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) (**Favier, 2003 ; Burton et Jauniaux, 2011 ; Pisoschi et Pop, 2015**).



**Figure 1** : Origine des radicaux libres oxygénés et des espèces réactives de l'oxygène (ROS) impliquées en biologie (Favier, 2003)

Le déséquilibre de l'homéostasie redox peut être transitoire dans le cas d'une activation des systèmes de production des ROS, où les systèmes de défense antioxydante ont la capacité de compenser une telle production. Cependant, la rupture de l'équilibre pro-oxydants-antioxydants peut être durable et prolongée en raison d'une surproduction de ROS accompagnée d'une insuffisance de la capacité antioxydante. Différents facteurs sont impliqués dans cette perturbation, soit des facteurs exogènes tels que les irradiations, l'intoxication aux métaux lourds, exposition au soleil (UV), consommation massive de médicaments, exposition aux réactifs chimiques et le tabagisme (Figure 2) ; soit endogènes notamment la respiration cellulaire, les réactions de la nitrique synthase, les réactions de Fenton, les infections microbiennes impliquant l'activation des phagocytoses et les conditions inflammatoires chroniques ou aiguës (Migdal et Serres, 2011 ; Poljsak et al., 2013 ; Pisoschi et Pop, 2015).

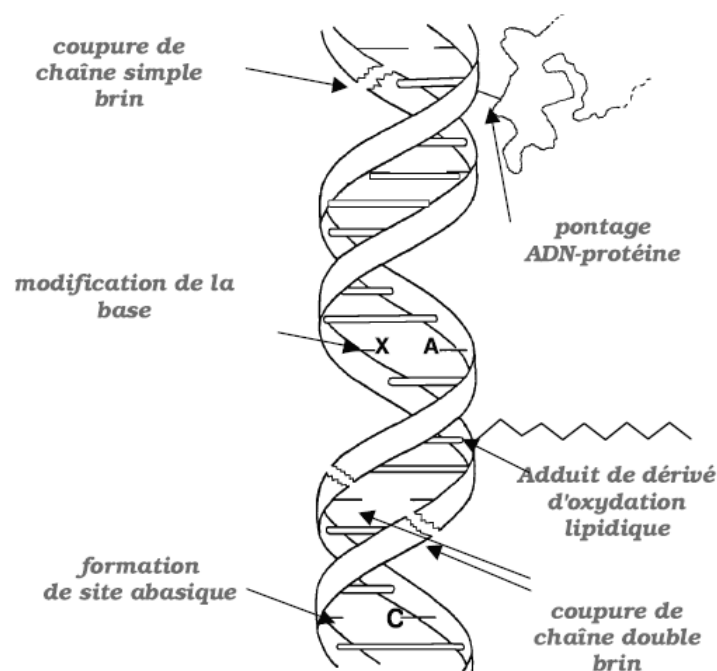


**Figure 2:** Facteurs exogènes impliqués dans la génération des ROS (Aranda-Rivera *et al.*, 2022)

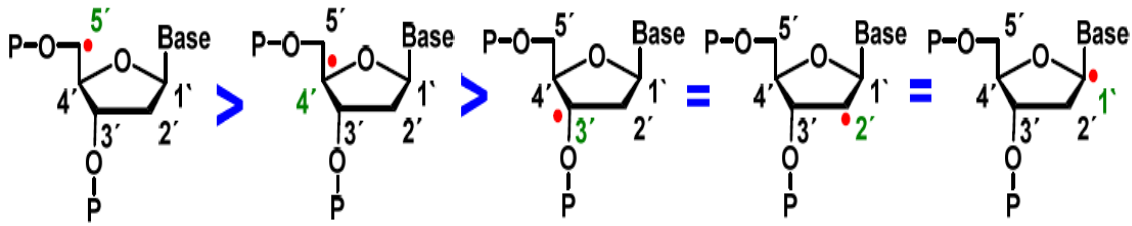
Les espèces réactives de l'oxygène (ROS) ont un double effet à de faibles concentrations régulées et contrôlées, ils jouent un rôle essentiel dans divers processus physiologiques. Ils sont indispensables à la prolifération et la différenciation cellulaire, l'expression génique, la transduction du signal, l'apoptose, les modifications post-traductionnelles des protéines, ainsi que l'homéostasie et l'adaptation à l'hypoxie (Zhang *et al.*, 2022). En revanche, les concentrations élevées en ROS mal contrôlées par les systèmes antioxydants sont responsables de l'apparition et l'évolution de nombreuses maladies au sein de l'organisme en provoquant des dommages et des altérations moléculaires et cellulaires (Favier, 2003 ; Poljsak *et al.*, 2013).

Généralement, les divers effets délétères au sein de la cellule engendrés par les ROS impliquent des dommages irréversibles à l'ADN ou l'ARN; la peroxydation des lipides en particulier des acides gras polyinsaturés tels que les phospholipides membranaires et l'oxydation des protéines ce qui entrave leur capacité à exercer leurs fonctions d'origine (Migdal et Serres, 2011 ; Juan *et al.*, 2021). L'oxydation de l'ADN conduit à des

modifications des bases pyrimidiques et puriques ainsi que des ruptures de la double hélice voire d'autres types d'altérations mutagènes. Le stress engendré par les radicaux libres principalement les radicaux hydroxyles  $\text{OH}^\bullet$  entraîne des dommages directs à l'ADN par l'excision de brins, des lésions oxydatives sur les bases et des pontages ADN-protéines, dégradation de liaison entre la base et le désoxyribose en formant un site abasique, ou en éliminant le sucre lui-même (**Figure 3**). Cette altération est initiée par un transfert d'atome d'hydrogène à partir de n'importe quelle position du désoxyribose générant ainsi une multitude de produits et fragments de ribose (**Figure 4**) (**Favier, 2003 ; Juan et al., 2021**). Étant situé plus près des sites de génération des ROS, l'ARN peut facilement subir une oxydation qui conduit à la rupture du brin de nucléotide, ainsi que le dysfonctionnement des ribosomes (**Pisoschi et Pop, 2015**). Les lésions portées aux acides nucléiques ont un impact négatif sur la réplication, la transcription et l'instabilité du génome ce qui est à l'origine des mutations, des processus de cancérogénèse et de multiples maladies héréditaires (**Favier, 2003 ; Juan et al., 2021**).

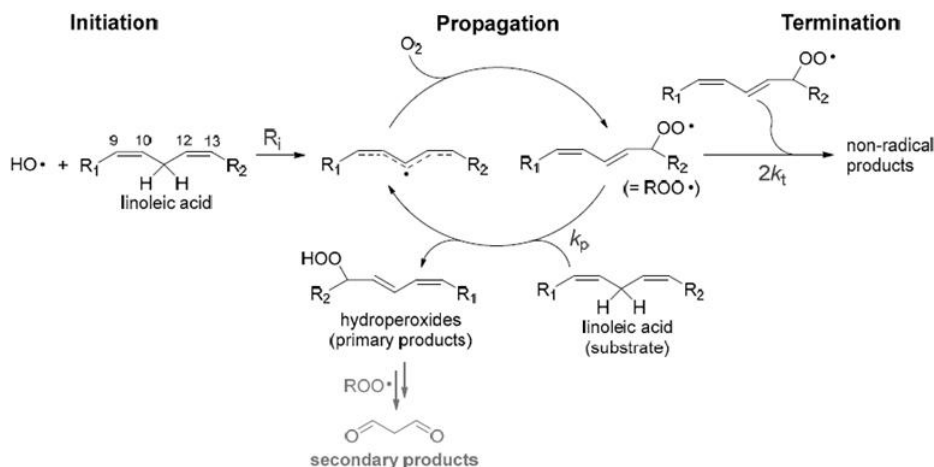


**Figure 3** : Altération de l'ADN par les oxydants (**Favier, 2003**)



**Figure 4:** Altération de l'ADN par le radical hydroxyle  $\text{OH}^\bullet$  par abstraction d'hydrogène à différents carbones de désoxyribose (Juan *et al.*, 2021)

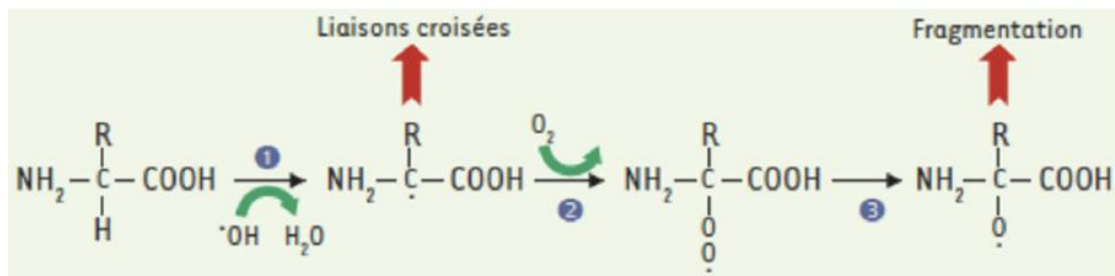
La seconde cible privilégiée des espèces réactives de l'oxygène sont les lipides en particulier les phospholipides membranaires et les acides gras polyinsaturés (Acide arachidonique, acide linoléique). Le mécanisme de peroxydation lipidique médié par l'attaque radicalaire, essentiellement par le radical  $\text{OH}^\bullet$ , se divise en trois phases distinctes : l'initiation, la propagation et la terminaison. La première phase se manifeste par l'élimination d'un hydrogène du groupe méthylène ( $-\text{CH}_2-$ ) lié à un carbone adjacent ayant des doubles liaisons dans l'acide gras polyinsaturé, ce qui donne naissance à des espèces radicalaires. Au cours de la phase de propagation, une réaction en chaîne se met en place entraînant une extension des dommages et la production d'autres espèces radicalaires, dont le radical ainsi généré durant la première phase interagit avec l'oxygène pour former un radical peroxyde ( $\text{LOO}^\bullet$ ). Par la suite, ce dernier peut réagir avec d'autres acides gras polyinsaturés produisant ainsi un hydroperoxyde et un radical alkyle c'est la phase de terminaison (**Figure 5**). Ceci engendre des perturbations irréversibles de la fluidité et de la plasticité membranaires menant à des dommages irréparables de l'intégrité cellulaire (Praticò, 2002 ; Juan *et al.*, 2021 ; Endale *et al.*, 2023 ; Valgimigli, 2023).



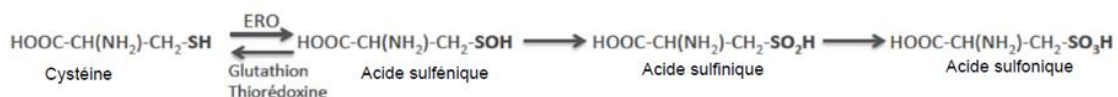
**Figure 5 :** Etapes de la peroxydation lipidique (Valgimigli, 2023)

Autres cibles potentielles des ROS sont les protéines et les acides aminés, molécules clés de nombreux processus vitaux au sein de l'organisme. Différentes formes d'altération oxydative de ces composés peuvent avoir lieu, notamment des modifications oxydatives de la chaîne polypeptidique associées à une fragmentation et/ou une création de liaisons croisées intra-, ou inter chaînes ; une altération des chaînes latérales des acides aminés majoritairement les acides aminés aromatiques (Tryptophane, phénylalanine, tyrosine), soufrés (cystéine, méthionine) et basiques (Lysine, arginine, histidine) ; et une génération des composés protéiques carbonylés via, le clivage des liaisons peptidiques, l'oxydation de certains acides aminés, ou l'interaction de leurs chaînes latérales avec des produits de la peroxydation lipidique (**Figure 06**). Les protéines ainsi oxydées acquièrent un caractère hydrophobe suite à la perte de groupements amines ionisables ou à l'exposition de régions hydrophobes internes, ceci conduit à la formation d'agrégats anormaux à l'intérieur ou autour des cellules, leur interaction avec des lipides constituent les dépôts de lipofuschines (Composés typiques des tissus des personnes âgées). De plus, l'élimination des ions hydrogène du groupement thiol de la cystéine conduit à la formation des liaisons disulfures et provoque un repliement anormal des protéines. Ce repliement anormal peut non seulement entraîner une perte de la fonction d'origine, mais également favoriser l'agrégation des protéines et induire la mort cellulaire (**Favier, 2003 ; Burton et Jauniaux, 2011; Migdal et Serres, 2011**).

Modification oxydatine d'une chaîne polypeptidique



Modification oxydative d'un résidu cystéine

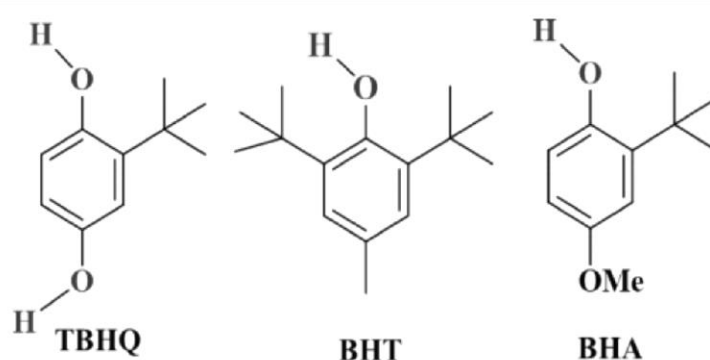


**Figure 6** : Quelques altérations oxydatives des protéines (**Ouznadj et Desmons, 2020**)

Pour faire face au stress oxydatif, il existe deux systèmes antioxydants naturels de protection contre les radicaux libres. Le système endogène de nature enzymatique, constitué de la superoxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT) et la glutathion peroxydase (GPx). La SOD

permet la dismutation du radical superoxyde en peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ), une espèce réactive de l'oxygène plus stable, qui par la suite se transforme en molécules d'eau ( $H_2O$ ) sous l'action de la catalase ou de la GPx. Ces enzymes s'associent aux cofacteurs comme le zinc, le sélénium, le cuivre ou encore le manganèse, qui leur permettent d'exercer leur activité vis-à-vis du substrat. Outre, les antioxydants enzymatiques, notre organisme possède de puissants antioxydants comme le glutathion (GSH), la bilirubine, la mélatonine l'acide urique, certaines protéines à l'égard de la ferritine, la lactoferrine et la céruléoplasmine qui inhibent la génération des espèces réactives en séquestrant les pro-oxydants, tels que les ions métalliques ou le groupe hème. En revanche, le système exogène non-enzymatique souvent issus de l'alimentation, est constitué principalement de vitamines (A, C, et E), glutathion réduit, caroténoïdes, polyphénols, flavonoïdes, et certains métaux (Zn, Se) (Pisoschi et Pop, 2015 ; Ighodaro et Akinloye, 2018 ; Neha et al., 2019 ; Aranda-Rivera et al., 2022).

Entre autre, il existe certains antioxydants de synthèse notamment l'hydroxyanisole butylé (BHA), l'hydroxytoluène butylé (BHT), le gallate d'octyle (OG), le gallate de propyle (PG), la tert-butylhydroquinone (TBHQ) et autres (Figure 07). Ces antioxydants très puissants sont utilisés dans l'industrie agro-alimentaire et dans les produits cosmétiques pour maintenir la fraîcheur, la valeur nutritionnelle, le goût et la texture des préparations. Néanmoins, leur utilisation à des doses élevées et à long terme peut engendrer divers effets indésirables y compris le développement de tumeurs (Bouterfase et al., 2016 ; Neha et al., 2019 ; Thbayh et Fiser, 2022).



**Figure 7:** Structure chimique de quelques antioxydants de synthèse (Thbayh et Fiser, 2022)

Les défaillances des systèmes antioxydants conduisent aux altérations délétères des macromolécules induites par le stress oxydatif, et présentent des facteurs déclenchant ou associés à des complications de l'évolution de nombreuses pathologies notamment la sclérose

latérale amyotrophique, la cataracte, le syndrome de détresse pulmonaire aigu et le cancer. Ce dernier est étroitement lié aux radicaux libres étant donné qu'ils sont impliqués dans l'activation des pro-carcinogènes en carcinogènes ce qui endommage l'ADN, améliore les signaux de prolifération et inhibe ainsi les anti-oncogènes à l'égard de la protéine p53. Le stress oxydatif augmente également l'incidence de maladies multifactorielles telles que les maladies neuro-dégénératives comme l'Alzheimer, les rhumatismes, les maladies cardiovasculaires, les maladies inflammatoires, et les maladies métaboliques (**Favier, 2003 ; Favier, 2006 ; Ouznadj et Desmons, 2020**). Le **tableau** ci-dessous résume les pathologies liées au stress oxydatif :

**Tableau 1:** Relations entre le stress oxydatif et certaines pathologies (**Favier, 2006**)

<b>Radicaux libres insuffisants</b>	<b>Stress oxydatif (primordial)</b>	<b>Stress oxydatif (facteur déclencheur)</b>	<b>Stress oxydatif (secondaire)</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>•Agranulomatose septique</li> <li>• Psoriasis</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Cancers</li> <li>• Auto-immunité</li> <li>• Cataracte</li> <li>• Dégénérescence maculaire</li> <li>• Sclérose latérale amyotrophique</li> <li>•Hémochromatose</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Maladie d'Alzheimer</li> <li>• Stérilités masculines</li> <li>• Maladies virales</li> <li>• Rhumatismes</li> <li>• Asthme</li> <li>• Insuffisance respiratoire</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Diabète</li> <li>• Insuffisance rénale</li> <li>• Mucoviscidose</li> <li>• Sida</li> <li>• Infarctus du myocarde</li> <li>•Ischémies/reperfusion</li> <li>• Parkinson</li> </ul>

Le diabète mellitus ou diabète sucré, est considéré aujourd'hui comme un véritable problème de santé publique. Il s'agit d'un trouble métabolique caractérisé par une hyperglycémie chronique résultant d'une déficience de sécrétion et/ou d'anomalies de l'action de l'insuline. (**OMS, 1999 ; DeFronzo et al., 2015**).

En diagnostique, la personne est considérée comme atteinte de diabète si elle présente l'un des symptômes adoptés par l'OMS et l'ADA à savoir la polyurie, polydipsie, amaigrissement et le paramètre le plus important le taux de la glycémie. Glycémie à jeun supérieur à 1,26g/L (7 mM); glycémie mesurée 2 heures après l'ingestion de glucose (75g/70Kg)  $\geq$  2g/L (11,1 mM); taux d'hémoglobine glyquée (HbA1c) dépasse 6,5% (environ 48 mmol/mol) ; et une

glycémie supérieur ou égale à 2g/L (11,1 mM) mesurée à n'importe quel moment de la journée (OMS, 1997 ; ADA, 2005 ; FID, 2021 ; FID, 2025).

Au cours de ces dernières décennies, le diabète n'a cessé de progresser et il a atteint des niveaux alarmants avec plus de 6 million de décès dans le monde en 2021. La fédération internationale du diabète (FID) a estimé un nombre de 85 millions de personnes diabétiques âgées de 20 à 79 ans en Afrique du nord. Ce nombre est présumé atteindre 163 millions en 2050 (FID, 2021 ; FID, 2025).

En Algérie, des études épidémiologiques ont reporté, chez des enfants et des adolescents atteint de diabète de type 1, un nombre de prévalence de plus de 50 milles et d'incidence égal à 6 milles 500 de personnes (FID, 2017 ; FID, 2021). Entre autre, le nombre de personnes diabétiques âgées de 20 à 79 ans a été estimé à 4,8 millions en 2024, atteignant 7,9 millions de personnes en 2050 (FID, 2025).

En étiologie, le diabète sucré est classé en deux grands types majoritaires le diabète de type 1 et le diabète de type 2, il existe d'autres types comme le diabète gestationnel, MODY, et le diabète secondaires. Le diabète de type 1 représente un taux de 5 à 10% de l'ensemble des diabétiques en particulier les enfants et les jeunes adultes, c'est une atteinte auto-immune des cellules  $\beta$  des îlots de Langerhans qui conduit à leur destruction et par conséquence une diminution dans la production de l'insuline (Spinas et Lehmann, 2001 ; Pirot *et al.*, 2008). Ce type de diabète se manifeste par certains symptômes typiques, notamment une polydipsie, une polyurie, une acidocétose diabétique, un trouble de la vision, une faim constante, une perte de poids soudaine et la fatigue. Les personnes atteintes de diabète de type 1 dépendent principalement de l'insulinothérapie d'où l'ancienne appellation de ce type DID, diabète insulindépendant (FID, 2021).

Le diabète de type 2, représente 90 à 95% de l'ensemble des diabétiques à l'échelle mondiale, c'est une maladie asymptomatique non auto-immune, qui se caractérise par une hyperglycémie résultante d'une insulino-résistance et/ou d'une insulino-déficience (FID, 2021). Cette forme de diabète n'est diagnostiquée qu'après l'installation des complications en raison de l'absence des symptômes qui ne se manifestent pas de manière dramatique comme ceux de diabète de type 1. Plusieurs facteurs conduisent à l'épidémie de la maladie comme, l'âge, l'hérédité, l'obésité, la sédentarité et l'état de stress (Rigalleau *et al.*, 2007 ; OMS, 2016 ; FID, 2021). Il est connu que le diabète de type 2 s'établie chez les adultes en surpoids en

particulier, cependant selon la fédération internationale du diabète, même les enfants et les jeunes adultes peuvent être désormais affectés en vue de l'augmentation excessive de l'obésité. Les personnes atteintes de ce type de diabète dépendent principalement des antidiabétiques oraux et non l'insulinothérapie d'où l'ancienne appellation de ce type DNID, diabète non insulino-dépendant (**Lascar et al., 2018 ; FID, 2021**).

Le diabète gestationnel est une autre forme de diabète qui peut survenir chez certaines femmes enceintes, généralement, c'est un trouble résultant de la résistance à l'insuline et/ou un déficit de sa sécrétion pendant la grossesse et qui disparaît après l'accouchement. Toutefois, les femmes enceintes atteintes d'une hyperglycémie présentent un risque plus élevé de développer un diabète gestationnel au cours de leurs grossesses ultérieures. De plus, après trois à six ans d'atteinte de ce type de diabète, le risque relatif de développer un diabète de type 2 est plus élevé et peut se manifester avant l'âge de 40 ans (**FID, 2021**). Il existe d'autres types de diabète sucré qui regroupent le diabète secondaire et le diabète monogénique, ayant un large spectre allant du diabète sucré néonatal appelé diabète monogénique de l'enfance, au diabète de la maturité chez les jeunes (**MODY**), ainsi que les maladies syndromiques rares associées au diabète (**FID, 2021**).

Quel qu'en soit le type du diabète, l'hyperglycémie chronique conduit à des complications macro- et micro-angipathiques. L'infarctus du myocarde, l'insuffisance rénale, la cécité, les plaies du pied des diabétiques, l'accident vasculaire cérébral et les lésions nerveuses sont les complications les plus fréquentes, et qui conduisent à un taux de mortalité élevé (**Schlienger, 2013; OMS, 2016**). Selon l'OMS, cette maladie non transmissible provoque 1,5 millions de décès dans le monde chaque année (**OMS, 1999 ; DeFronzo et al., 2015**). Pour cela le traitement du diabète sucré est indispensable, il consiste à maintenir l'équilibre de la glycémie et la prévention des complications accompagnantes. Ce traitement médical représenté majoritairement par l'insulinothérapie et les antidiabétiques oraux, est associé aux mesures hygiéno-diététiques dont l'activité physique régulière et l'alimentation saine (**Pillon et al., 2014**).

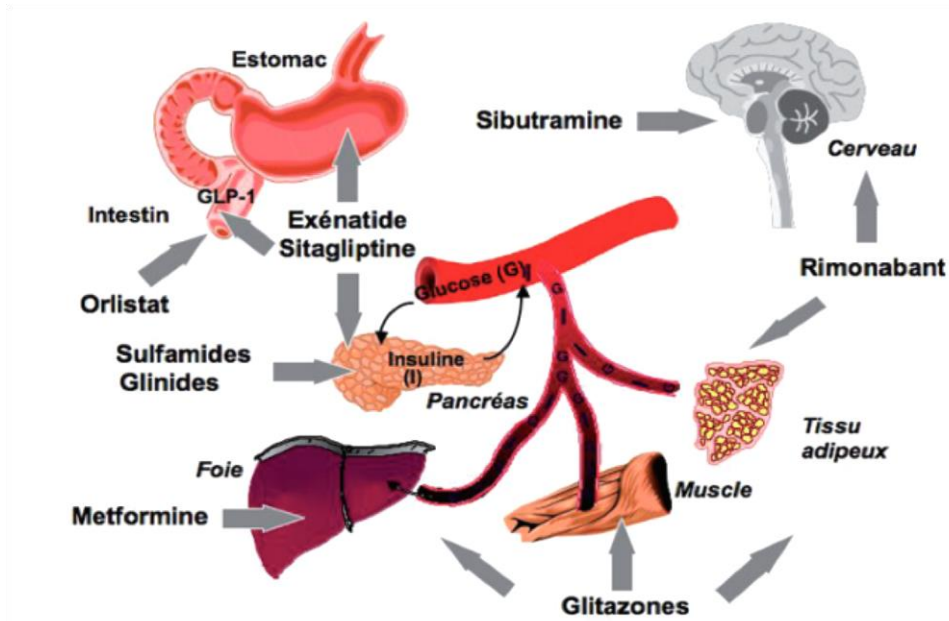
Chez les sujets atteints de diabète de type 1, l'insulinothérapie demeure le traitement primordial, tandis que, les antidiabétiques oraux chez les diabétiques de type 2 sont les plus recommandés. Ils agissent par différents mode d'action, ils ont la capacité de diminuer l'insulinorésistance par leur effet insulinosensibilisateur au niveau des tissus périphériques, et améliorer l'insulinosécrétion par stimulation de la production et la sécrétion de l'insuline au

niveau des cellules  $\beta$  pancréatiques. Ils ont également la capacité de réduire l'absorption intestinale de glucose, c'est le cas des inhibiteurs des  $\alpha$ -glucosidases (Barau et al., 2016). Le tableau n°2 et la figure 8 résument les caractéristiques de quelques antidiabétiques oraux ainsi que leurs sites d'action.

**Tableau 2:** Caractéristiques de quelques antidiabétiques oraux (Scheen, 2015a)

Classe	Cible moléculaire	Effets	Avantages	Inconvénients
<b>Biguanides (Metformine)</b>	AMPK (foie)	Diminution de la production hépatique de glucose	Longue expérience Pas d'hypoglycémie Pas de prise de poids Faible coût	Intolérance digestive Risque d'acidose lactique
<b>Sulfamides hypoglycémiant (Gliclazide; Glimépiride ; Glipizide)</b>	Canaux potassiques (pancréas)	Augmentation de l'insulinosécrétion	Longue expérience Faible coût	Risque d'hypoglycémie Prise de poids
<b>Inhibiteurs des <math>\alpha</math>-glucosidases (Acarbose ; Voglibose ; Miglitol)</b>	$\alpha$ -glucosidases (intestin)	Ralentissement de l'absorption intestinale des glucides	Pas d'hypoglycémie Pas de prise de poids	Intolérance digestive Efficacité plus faible
<b>Thiazolidinediones</b>	PPAR-a (tissu adipeux)	Augmentation de la sensibilité à l'insuline	Pas d'hypoglycémie Meilleure durabilité	Prise de poids Risque d'insuffisance cardiaque Fractures osseuses
<b>Glinides (Répaglinide Natéglinide)</b>	Canaux potassiques (pancréas)	Augmentation de l'insulinosécrétion	Action rapide et courte	Risque d'hypoglycémie (moins que sulfamides hypoglycémiant)
<b>Inhibiteurs de la DPP-4 (gliptines) (Sitagliptine Saxagliptine Vildagliptine Linagliptine Alogliptine)</b>	Enzyme DPP-4 (ubiquitaire)	Potentialisation de l'insulinosécrétion Inhibition de la sécrétion de glucagon	Pas d'hypoglycémie Pas de prise de poids Maniabilité Bonne tolérance	Coût plus élevé
<b>Inhibiteurs des SGLT2 (gliflozines) (Canagliflozine Dapagliflozine Empagliflozine)</b>	Cotransporteurs SGLT2 (rein)	Inhibition de la réabsorption du glucose (glucosurie)	Pas d'hypoglycémie Perte de poids Baisse de pression artérielle	Coût plus élevé Infections urogénitales Déplétion volémique

DPP-4 : Dipeptidylpeptidase 4 ; SGLT2 : Co-transporteurs sodium-glucose de type 2 ; AMPK : AMP-activated protein kinase ; PPAR-a : Peroxisome proliferator activated receptor gamma.

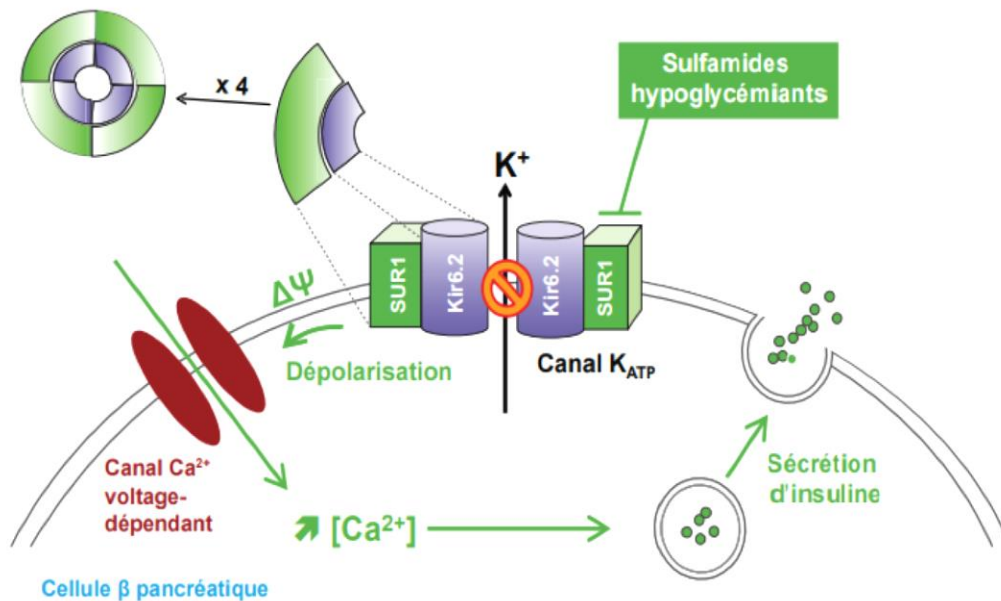


**Figure 8:** Sites d'action de quelques médicaments utilisés dans le traitement du diabète de type 2 (Scheen et al., 2007).

L'arsenal des insulinosensibilisateurs comprend les biguanides qui sont représentés par la metformine capable de stimuler la glycogène synthétase et inhiber la néoglucogenèse et la glycogénolyse hépatique, comme elle augmente la sensibilité à l'insuline ce qui conduit à une meilleure captation de glucose par les tissus périphériques (Scheen et Paquot, 2005 ; Scheen et al., 2007). À l'échelle moléculaire, la metformine peut augmenter la phosphorylation et l'activation de l'AMP-activated protein kinase (AMPK) ; toute situation de stress qui épuise la cellule en ATP entraîne l'activation de l'AMPK, ce qui conduit à une augmentation du rapport AMP/ATP. Les processus cellulaires consommateurs d'ATP sont déviés donc vers les processus cellulaires régénérateurs d'ATP lorsque l'AMPK est activée par l'exercice musculaire, mais également par la metformine. Les transporteurs de glucose Glut 4 s'insèrent dans la membrane plasmique des cellules musculaires et hépatiques pour stimuler la captation du glucose, l'oxydation des acides gras, et réduire la production hépatique de glucose et des triglycérides (Zhou et al., 2001 ; Scheen et Paquot, 2005).

Les sulfamides hypoglycémiantes appartenant à la famille des sulfonyles sont représentés essentiellement par le glibenclamide, le gliclazide, le glipizide et le glimépiride (Scheen, 2015a). Les sulfamides insulinoscrétagogues exercent leur effet après fixation sur les récepteurs SUR1 (Sulfonylurea receptor) au niveau des membranes plasmiques des cellules  $\beta$  pancréatiques, ils inhibent l'efflux des ions  $K^+$  par la fermeture des canaux potassiques

adénosine triphosphate (ATP)-dépendant ce qui induit une augmentation de la concentration en potassium intracellulaire et par la suite une dépolarisation membranaire. Ce processus conduit à son tour à une entrée massive des ions  $\text{Ca}^{2+}$  suite à l'ouverture des canaux calciques voltage-dépendants stimulant ainsi l'exocytose des vésicules de l'insuline vers la membrane cytoplasmique (**Figure 9**) (**Gribble et Reimann, 2003 ; Buysschaert, 2018**).



**Figure 9** : Mode d'action des sulfamides hypoglycémifiants (**Faure, 2017a**)

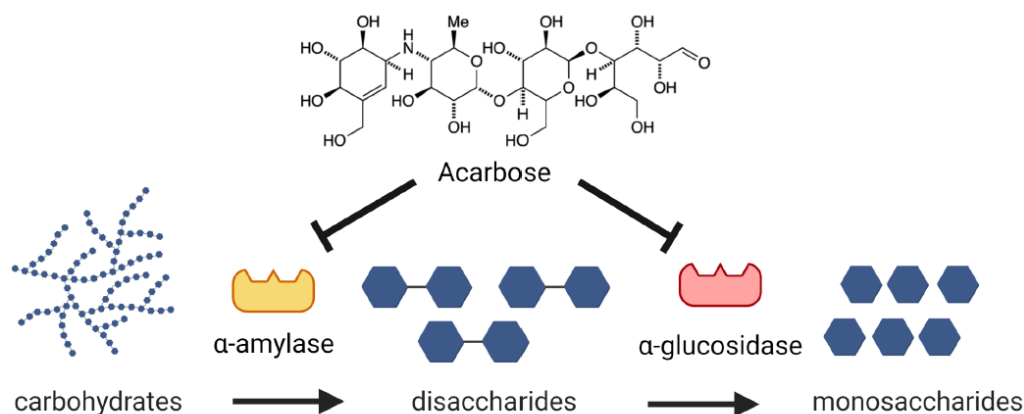
Les glinides (répaglinide, natéglinide) sont de nouveaux agents insulinosécrétagogues qui stimulent l'insulinosécrétion avec un mode d'action similaire à celui des sulfamides en présentant des propriétés pharmacocinétiques particulières intéressantes (**Scheen et al., 2007**). En raison de leur structure chimique, les glinides se fixent sur les récepteurs SUR1 uniquement via le groupement benzamidique ce qui permet une action hypoglycémifiante moins intense et moins longue que celle des sulfonylurées (**Barau et al., 2016**).

Deux autres stratégies thérapeutiques qui agissent sur la voie des incrétines ont été mises en évidence. La première concerne les hormones gastro-intestinales qui stimulent l'insulinosécrétion lors d'une hyperglycémie, il s'agit des incrétino-mimétiques qui sont des analogues du glucagon-like peptide 1 (GLP-1) hormone insulinothéropique glucodépendante sécrétée au niveau du tube digestif dans les minutes qui suivent l'ingestion d'un repas mais très vite dégradée par la dipeptidylpeptidase 4 (DPP-4). L'exénatide (Byetta®) est un médicament incrétino-mimétique à structure proche du GLP-1 mais résistant à la DPP-4. En

revanche, La deuxième stratégie repose sur les incrétino-modulateurs qui consistent à inhiber la DPP-4, ce qui entraîne une augmentation du taux circulant du GLP-1 dans des limites physiologiques (Scheen *et al.*, 2007 ; Burcelin et Bertolini, 2013 ).

Les inhibiteurs des co-transporteurs Sodium-Glucose-2 (SGLT2) est une classe des antidiabétiques oraux les plus récemment commercialisés. Ils présentent un effet glucorétique via l'inhibition de la réabsorption du glucose dans le néphron. Ce mécanisme simple, indépendant de l'insuline, permet de diminuer l'hyperglycémie et de réduire les taux d'HbA1c sans augmenter le risque d'hypoglycémie. Par ailleurs, ils offrent l'avantage de réduire le poids corporel chez les patients en surpoids ou obèses et diminuer la pression artérielle chez les personnes diabétiques hypertendus (Scheen, 2015a ; Scheen, 2015b).

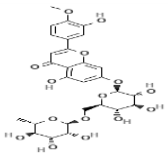
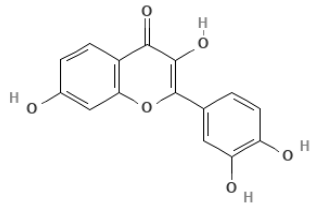
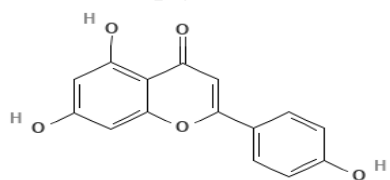
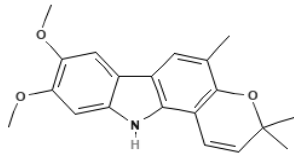
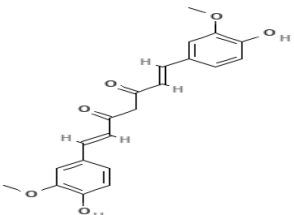
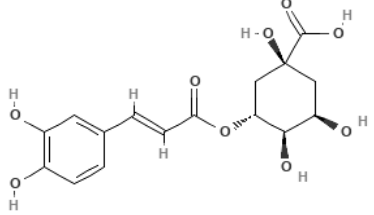
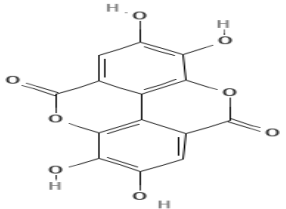
Les inhibiteurs des  $\alpha$ -glucosidases intestinales constituent une autre classe d'antidiabétiques oraux qui agissent spécifiquement dans le tractus intestinal en inhibant de manière compétitive les  $\alpha$ -glucosidases intestinales ( $\alpha$ -amylase et  $\alpha$ -glucosidases). Ces enzymes sont présentes à la surface de la bordure en brosse des entérocytes et sont responsables de l'hydrolyse des sucres complexes comme l'amidon et les dextrines en monosaccharides assimilables. Les inhibiteurs de ces enzymes diminuent l'hyperglycémie postprandiale tout en épargnant la sécrétion insulinaire en réponse au repas. L'acarbose, le voglibose et le miglitol sont les médicaments inhibiteurs des  $\alpha$ -glucosidases intestinales les plus prescrits pour traiter le diabète de type 2 (Scheen, 2015a ; Berdi *et al.*, 2020). L'acarbose est un pseudo-tétrasaccharide d'origine microbienne qui agit en inhibant de manière compétitive et réversible la liaison des oligosaccharides aux  $\alpha$ -glucosidases intestinales (**Figure 10**). Ce processus conduit au ralentissement de la digestion et donc de l'absorption des glucides permettant ainsi une diminution de l'hyperglycémie postprandiale sans entraîner l'hyperinsulinisme ni de modification de poids (Chiasson *et al.*, 2002 ; Faure, 2017b).



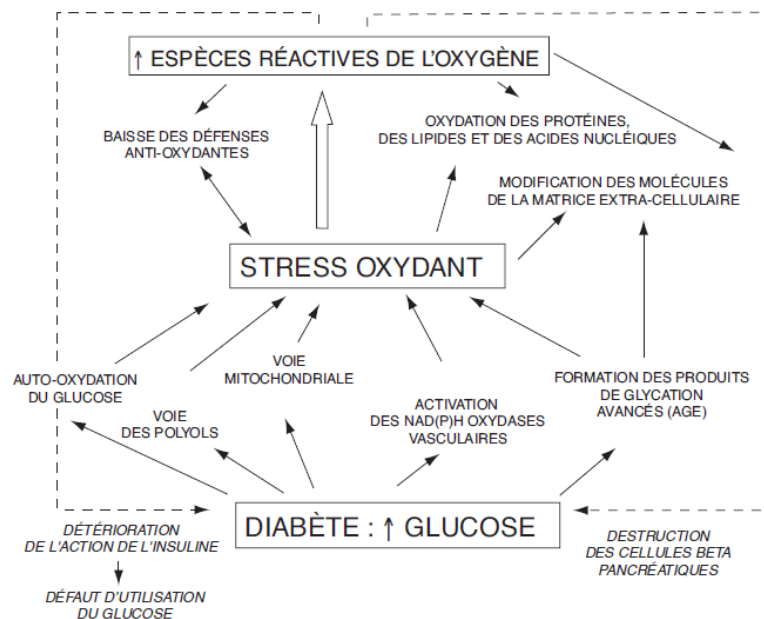
**Figure 10:** Mécanisme d'action de l'acarbose sur les  $\alpha$ -glucosidase (Narvaez et Campos, 2022)

Malgré les progrès significatifs réalisés dans le traitement du diabète à l'aide d'agents antidiabétiques oraux au cours des trois dernières décennies, les résultats du traitement des patients diabétiques sont encore loin d'être parfaits. Plusieurs inconvénients liés à l'utilisation de ces agents ont été signalés, notamment la résistance aux médicaments (réduction de l'efficacité), les effets indésirables et même la toxicité. Par exemple, les sulfonylurées perdent leur efficacité après 6 ans de traitement chez environ 44 % des patients. En raison de ces nombreuses limitations associées à l'utilisation des antidiabétiques existants, la recherche et le développement de nouveaux antidiabétiques d'origine naturelle constituent une voie alternative pour le traitement du diabète sucré (Dey *et al.*, 2002 ; Salehi *et al.*, 2019). De nombreuses molécules phytochimiques ont été rapportées pour leurs propriétés antidiabétiques en effectuant différents modes d'actions (Tableau n°3).

**Tableau 3:** Quelques composés phytochimiques à propriété antidiabétique (Aba *et al.*, 2018 ; Ahangarpour *et al.*, 2019)

Composés phytochimiques	Mécanisme d'action
 <p><b>Diosmine</b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>*Diminution du niveau d'hémoglobine glyquée</li> <li>*Stimulation des hexokinases hépatiques et des glucose-6- phosphate déshydrogénases</li> <li>*Stimulation de la production de l'insuline</li> </ul>
 <p><b>Fisetine</b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>* Inhibition de la glycogénolyse</li> <li>*Diminution de l'hémoglobine glyquée</li> <li>* Diminution de l'expression de l'ARNm et des protéines des gènes de gluconogènes</li> <li>* Augmentation de l'insuline plasmatique</li> </ul>
 <p><b>Apigénine</b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>* Amélioration des paramètres antioxydants</li> <li>*Stimulaion de la translocation des GLUT4</li> <li>*Préservation des cellules <math>\beta</math></li> </ul>
 <p><b>Koenidine</b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>* Augmentation de la sensibilité à l'insuline,</li> <li>*Stimulation de l'absorption du glucose et la translocation des GLUT 4</li> </ul>
 <p><b>Curcumine</b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>*Stimulation directe de la sécrétion de l'insuline par les cellules <math>\beta</math> pancréatiques.</li> <li>*Inhibition de la formation des AGE.</li> <li>*Empêchement de l'apparition de la cataracte.</li> </ul>
 <p><b>Acide chlorogénique</b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>*Amélioration de l'action de l'insuline sur les cellules cible</li> <li>*Diminution de l'hyperglycémie postprandiale en inhibant l'<math>\alpha</math>-glucosidase</li> <li>*Inhibition de la glucose-6-phosphatase</li> <li>*Stimulation de l'absorption du glucose dans les myotubes et les adipocytes par activation de la voie Kinase dépendante (AMPK)</li> </ul>
 <p><b>Acide ellagique</b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>*Stimulation de la sécrétion de l'insuline</li> <li>*Augmentation de la captation du glucose sanguin par les tissus périphériques</li> <li>*Inhibition de la formation de l'hémoglobine glyquée</li> </ul>

L'hyperglycémie chronique non traitée favorise la génération d'un stress oxydatif consécutif de plusieurs mécanismes notamment l'auto-oxydation du glucose, la glycation non enzymatique des protéines, la surproduction des radicaux superoxydes dans la mitochondrie et la voie des polyols (**Figure 11**). Ce stress oxydatif est impliqué dans la physiopathologie des complications du diabète et expose les macromolécules comme les molécules de la matrice extracellulaire, les lipoprotéines et l'acide désoxyribonucléique à des altérations de leurs propriétés structurales et fonctionnelles (**Bonnefont-Rousselot et al., 2004**).



**Figure 11:** Relations entre le stress oxydatif et l'hyperglycémie chronique (**Bonnefont-Rousselot et al., 2004**)

Les réactions de glycation non enzymatique favorisées par l'état d'hyperglycémie chronique, décrites par Maillard en 1912 pour la première fois, consistent en une série de réactions chimiques entre les groupes carbonyles actifs des sucres réducteurs et les amines libres des acides nucléiques, des protéines et des lipides (**Figure 12**). Dans les premières heures de la réaction se forment des produits dits bases de Schiff instables, au bout de quelques semaines, les adduits de base de Schiff subissent des réarrangements intramoléculaires spontanés qui les convertissent en produits d'Amadori relativement stables et liés de manière covalente, également connus sous le nom de produits de glycation précoce. Une petite proportion des produits d'Amadori peut être directement transformée en produits finaux de glycation avancée (AGE) par oxydation ou hydrolyse irréversible par une série de réactions connues sous le nom de voie de Hodge. Cependant, les autres produits d'Amadori peuvent être convertis en

composés précurseurs d'AGE tels que le glyoxal, le méthylglyoxal et le 3-désoxyglucosone par déshydratation, craquage oxydatif ou cyclisation. Les composés  $\alpha$ -dicarbonylés actifs se lient de manière covalente aux protéines à longue durée de vie et aux composants structurels de la matrice du tissu conjonctif ou de la membrane basale, tels que le collagène, pour former des composés AGE stables (Bonnefont-Rousselot et al., 2004 ; Ott et al., 2014 ; Song et al., 2021).

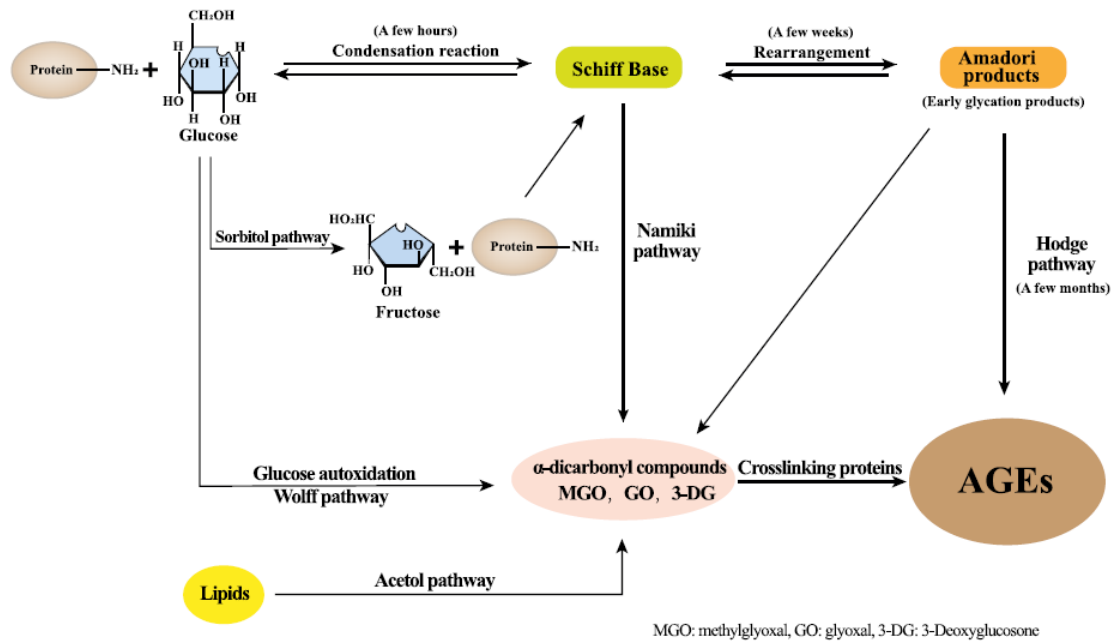
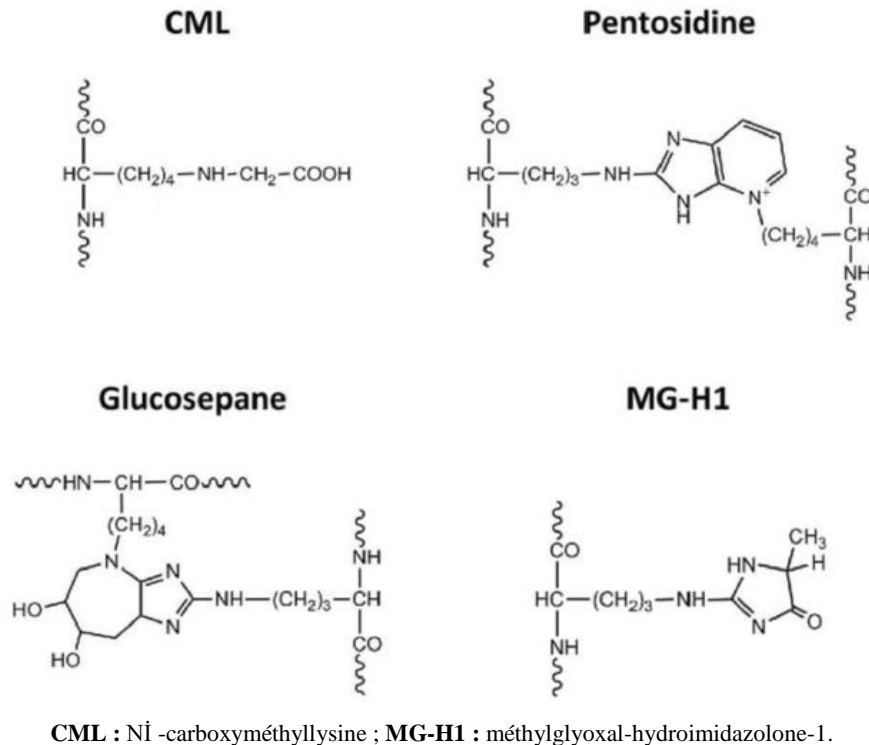


Figure 12: Les étapes de formation des AGEs (Song et al., 2021)

Outre la voie d'auto-oxydation du glucose (voie de Wolff), la voie d'oxydation des lipides (voie de l'acétol), la conversion du glucose en fructose (voie du sorbitol) et le clivage oxydatif des bases de Schiff (voie de Namiki) génèrent aussi des composés précurseurs d'AGE et aboutissent à la formation d'AGE stables (Song et al., 2021), la figure 13 représente quelques AGE :



**Figure 13:** Structure chimique de quelques AGE les plus caractérisés (Jaisson et Gillery, 2019)

L'accumulation des AGE au sein de notre organisme entraîne l'activation de diverses voies de signalisation par l'intermédiaire de récepteurs membranaires spécifiques principalement les récepteurs RAGE. La liaison AGE-RAGE active une cascade intracellulaire dans laquelle elle inhibe la translocation de GLUT-4 induite par l'insuline et entraîne une insulino-résistance, déclenche la voie de la NADPH oxydase et génère des ROS, et elle déclenche également la voie de la protéine kinase activée par le signal extracellulaire/mitogène (ERK/MAPK) et la voie Janus kinase/transducteur et activateur de transcription (JAK/STAT) (Sergi *et al.*, 2020). Comme elle active également le facteur de transcription activating protein-1 (AP-1) et le facteur nucléaire kappa B (NF-κB) qui sont tous liés au stress et à l'inflammation (Palanissami et Paul, 2018). L'activation des RAGE entraîne un stress du réticulum endoplasmique provoquant l'inflammation ou l'apoptose. De même, les AGE peuvent induire la réticulation des protéines mitochondriales dans la chaîne respiratoire réduisant ainsi la synthèse de l'ATP et favorisant la production de radicaux libres (Wang *et al.*, 2020).

Ces voies aboutissent à des dommages et des altérations intracellulaires qui finissent par la mort des cellules, ce qui mène au vieillissement et au développement de diverses maladies chroniques notamment les maladies cardiovasculaires, la maladie d'Alzheimer, le cancer, le diabète et d'autres maladies chroniques. En effet, les AGE sont impliqués dans la progression

et le développement des complications diabétiques en piégeant certaines molécules tels que l'albumine, le collagène, les lipoprotéines de basse densité (LDL) et les immunoglobulines G. En outre, l'opacification progressive et la cataracte au niveau oculaire chez les diabétiques peuvent être expliquées par les modifications apportées au cristallin par les AGE (**Bonnefont-Rousselot et al., 2004 ; Song et al., 2021**).

Différentes approches thérapeutiques pour restreindre la production et l'accumulation des produits de glycation avancée, ou pour bloquer la voie de signalisation via les RAGE, sont en cours de recherche pour traiter et prévenir les complications du diabète. L'aminoguanidine, connue sous le nom de pimagedine, est l'un des médicaments pharmaceutiques utilisé cliniquement pour atténuer les complications associées au diabète. Il a la capacité de piéger le nucléophile des dicarbonyles réactifs, et empêcher la réticulation des protéines entre eux entravant ainsi leur conversion en AGE (**Vatier et Fève, 2010 ; Nagai et al., 2012 ; Xie et Chen, 2013**).

Entre autre, certaines molécules phytochimiques purifiées ainsi que des extraits de plantes ont montré *in vitro* et *in vivo* des capacités inhibitrices de la glycation des protéines. L'acide oléanolique s'est avéré un agent antiglycant puissant en inhibant la formation de fructosamine et de composés  $\alpha$ -dicarbonylés ; prévenant la BSA via la liaison avec la lysine et l'arginine ; piégeant le méthylglyoxal et diminuant ainsi la production de dityrosine, de N'-formylkynurénine et de kynurénine (**Ding et al., 2020**). De même, la sinigrine (un glucosinolate des légumes crucifères) par son potentiel de piéger des carbonyles et par sa fonction de chaperon exerce son effet antiglycant par inhibition des produits finaux de glycation précoce et avancée, par neutralisation des carbonyles ainsi que par inhibition de la glycation de la protéine du cristallin (**Awasthi et al., 2016**). La lutéoline, l'apigénine, la chrysin, la mirycétine, la quercétine, le kaempférol et la rutine sont des flavones et flavonols qui sont responsables de l'inhibition de formation des AGE, dont la rutine inhibe le processus de glycation au stade précoce et intermédiaire comme elle réduit les modifications des protéines induites par le méthylglyoxal (**Ronsisvalle et al., 2020 ; in Anwar et al., 2021**).

Outre le diabète sucré, l'inflammation demeure un problème majeur de santé publique dans le monde entier, tant dans les hôpitaux que dans les collectivités. L'inflammation est un mécanisme d'autoprotection contre les lésions cellulaires causées par différents facteurs tels que l'infection pathogène (virus, bactéries), le dommage physique, les espèces radicales d'oxygène ou le stress métabolique (hypoxie). Cependant, des conditions inflammatoires

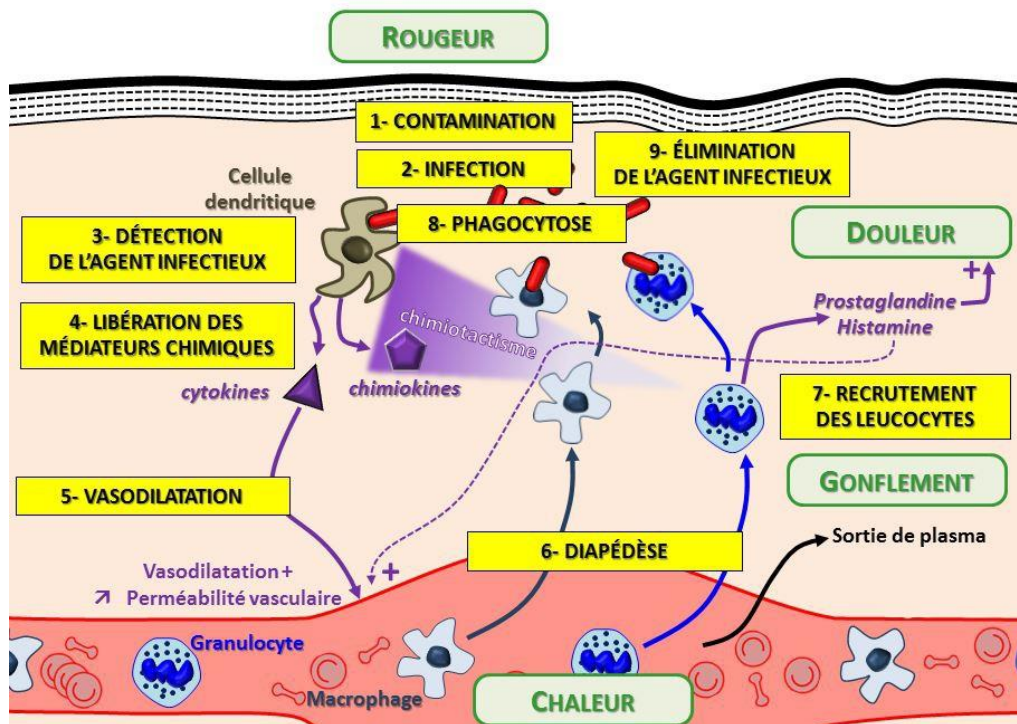
persistantes et prolongées peuvent favoriser le développement d'un état physiopathologique et conduit à l'installation de certaines pathologies (**Figure 14**) notamment l'athérosclérose, les maladies inflammatoires de l'intestin, l'arthrite, l'asthme bronchique et le cancer (**Hu et Ma, 2018 ; Shahid et al., 2021**). Dans la majorité des cas, l'origine de la maladie inflammatoire ou auto-immune n'est pas connue. Souvent, la personne atteinte présente une susceptibilité génétique à un dérèglement du système immunitaire à laquelle s'ajoutent divers facteurs environnementaux. L'inflammation aiguë représente la réponse immédiate à un agent agresseur, de courte durée (quelques jours ou semaines), caractérisée par des phénomènes vasculo-exsudatifs intenses et se guérissent spontanément ou avec un traitement. Tandis que, l'inflammation chronique correspond à une inflammation qui évolue pendant plusieurs mois ou plusieurs années, c'est le cas des maladies auto-immunes et des maladies où les mécanismes dysimmunitaires sont prédominants (**Bennett et al., 2018 ; Yacine et al., 2025**).



**Figure 14:** Les pathologies associées à la réaction inflammatoire (<https://www.qcm-svt.fr/QCM/public-QCM-verification.php?niveau=1ere-Spe-SVT&idQCM=966>)

La réaction inflammatoire comporte plusieurs étapes successives (**Figure 15**) et inclut, la réaction vasculo-exsudative caractérisée par la rougeur, la chaleur, la douleur, les œdèmes inflammatoires, et une diapédèse leucocytaire ; La réaction cellulaire définie par une charge rapide du foyer inflammatoire en cellules provenant du sang ou du tissu conjonctif local (polynucléaires, monocytes et lymphocytes) ; La détersion qui correspond au nettoyage du foyer inflammatoire des tissus nécrosés et des agents pathogènes ; Et en fin la réparation et cicatrisation qui implique de nombreux facteurs de croissance et des interactions complexes entre les cellules et la matrice extracellulaire pour réguler les proliférations et biosynthèses cellulaires (**Henrotin et al., 2001 ; Zeghal et Sahnoun, 2013**). Ces réactions sont associées à

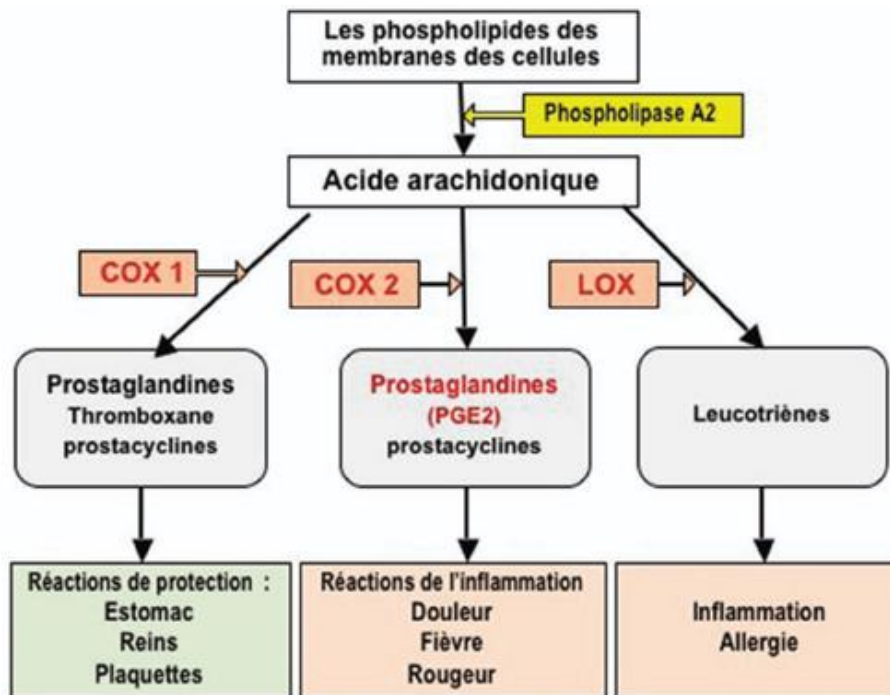
des médiateurs pro-inflammatoires sécrétés dans le milieu extracellulaire, les amines actives (Histamine et sérotonine), les médiateurs lipidiques (Prostaglandines, leucotriènes et lipoxines) et les cytokines pro-inflammatoires (TNF $\alpha$  et interleukines IL-1, IL-3, IL-4, IL-6...) (Barnig, 2016).



**Figure 15:** Les étapes de la réaction inflammatoire (<https://www.qcm-svt.fr/QCM/public-QCM-verification.php?niveau=1ere-Spe-SVT&idQCM=966>)

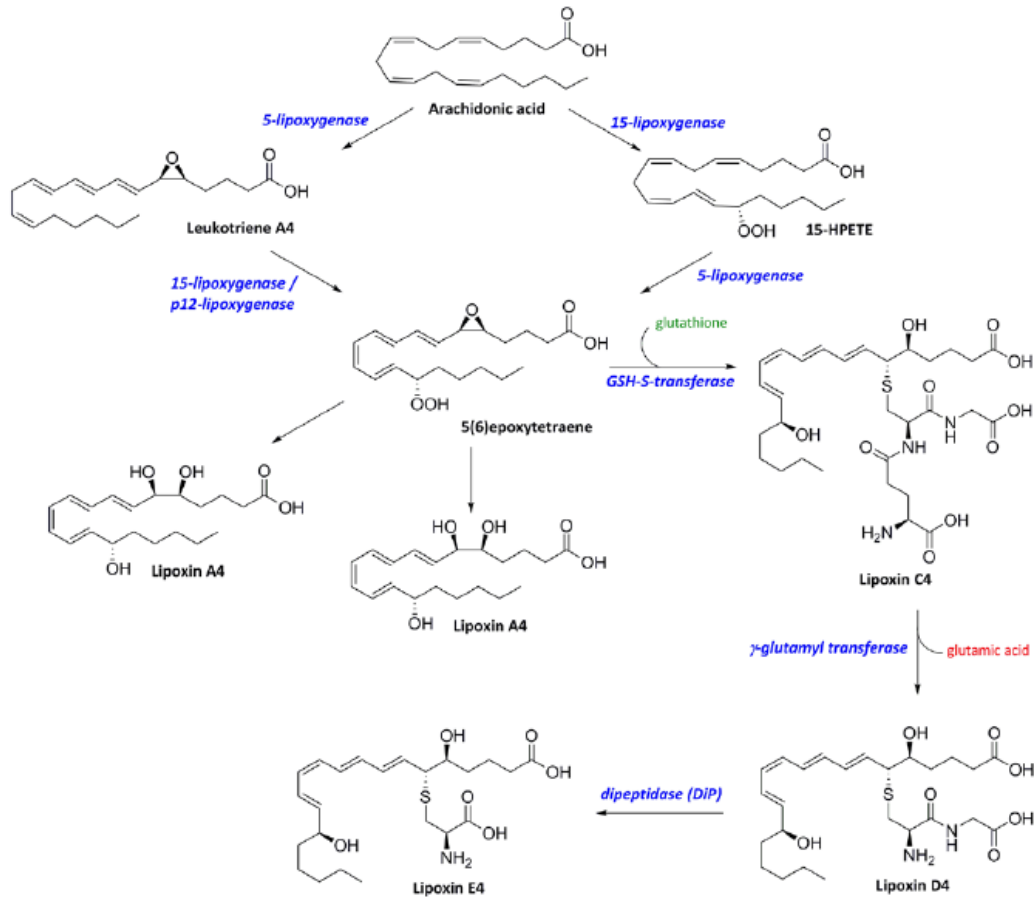
Parmi les enzymes clés impliquées dans la production des médiateurs lipidiques, on cite les cyclooxygénases (COX) et les lipoxygénases (LOX) (Figure 16). La cyclooxygénase catalyse la transformation de l'acide arachidonique en prostaglandine (PG) qui est ensuite transformée en une série de produits actifs finaux dans différents types de cellules. Deux isoformes ont été identifiées, COX-1 et COX-2. La COX-1 est présente dans les plaquettes, l'estomac, l'endothélium et d'autres tissus tels que le système nerveux. La COX-2 est présente dans les cellules inflammatoires, le rein et d'autres tissus. La COX-1 est liée aux fonctions hémostatiques, tandis que, la COX-2 est principalement responsable des réponses inflammatoires néfastes. Les deux isoformes sont inhibés par les anti-inflammatoires non stéroïdiens. Les conséquences d'une inhibition de COX-1 sont la toxicité gastrique et l'effet antithrombotique, tandis que, les conséquences de l'inhibition de COX-2 sont l'élévation de

la tension artérielle, la rétention hydrosodée et une tendance prothrombotique (Jouzeau *et al.*, 2004 ; Hermans, 2017)



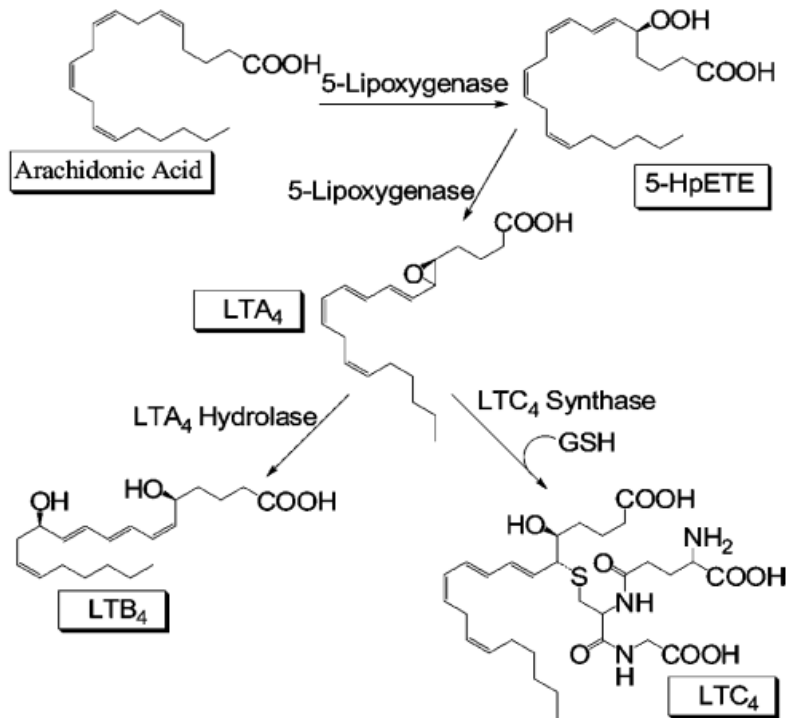
**Figure 16:** Les médiateurs lipidiques de l'inflammation (Roussel, 2016)

Les lipoxygénases, la classe la plus importante d'enzymes à fer non hémérique qui sont exprimées dans différents types de cellules, notamment les cellules endothéliales, épithéliales et immunitaires. Ces enzymes sont impliquées dans la régulation des réponses inflammatoires en générant des médiateurs pro-inflammatoires appelés leucotriènes ou des médiateurs anti-inflammatoires appelés lipoxines. Elles catalysent l'insertion de l'oxygène dans les acides gras polyinsaturés tels que l'acide arachidonique et l'acide linoléique. En fonction de la position de l'oxygénation de leurs substrats, les lipoxygénases (LOX) sont classées en plusieurs sous-types, notamment la 5-LOX qui est responsable de la formation des leucotriènes, la 12-lipoxygénase et la 15-lipoxygénase enzymes assurant la production de lipoxines, dont les plus importantes sont la lipoxine A<sub>4</sub>, la lipoxine B<sub>4</sub> et la 15-épi lipoxine (Figure 17). Les lipoxines permettent de réduire la capacité des neutrophiles à répondre aux chimioattractants et à adhérer aux cellules endothéliales, ce qui contrecarre les effets pro-inflammatoires des leucotriènes (Naveau, 2005 ; Wisastra et Dekker, 2014).



**Figure 17:** Voie de synthèse des lipoxines (Wisastra et Dekker, 2014).

Un stimulus inflammatoire ou allergique des leucocytes déclenche le métabolisme de l'acide arachidonique (AA) via la voie des leucotriènes, dont une protéine phospholipase A<sub>2</sub>-a cytosolique (cPLA<sub>2</sub>a) se déplace vers la membrane et libère l'AA des phospholipides vers la protéine activatrice de la 5-lipoxygénase intégrée à la membrane (FLAP) ; cette dernière présente l'AA à la 5-lipoxygénase (5-LOX) qui catalyse la réaction d'oxygénation et de déshydratation en deux étapes pour former le leucotriène A<sub>4</sub> (LTA<sub>4</sub>) (**Figure 18**). Le LTA<sub>4</sub> ainsi produit peut être exporté de la cellule ou converti soit en LTB<sub>4</sub> qui déclenche l'activation des neutrophiles et des éosinophiles, soit en l'un des cystéinyl-leucotriènes (CysLT), dont l'activation du récepteur CysLT<sub>1</sub> induit la contraction des muscles lisses et l'activation des leucocytes. Cependant, l'activation de la CysLT<sub>2</sub> favorise la production de cytokines par les cellules endothéliales (**Funk, 2005 ; Murphy et Gijón, 2007 ; Evans et al., 2008**).



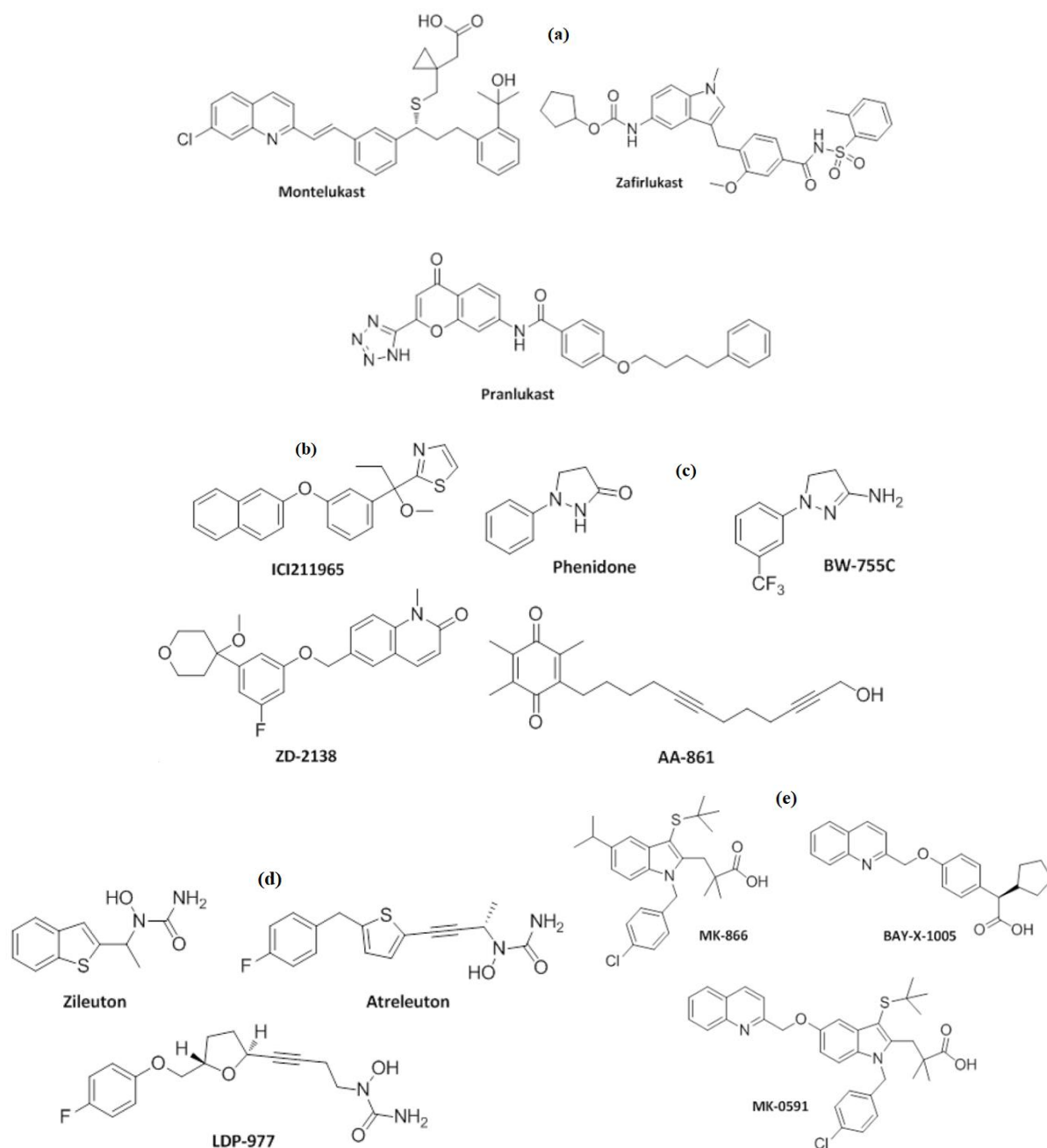
5-HpETE : Acide 5-hydroperoxyeicosatétraénoïque; LTA<sub>4</sub> et LTB<sub>4</sub>: leucotriène A<sub>4</sub> et B<sub>4</sub> ; LTC<sub>4</sub>: leucotriènes C<sub>4</sub>

**Figure 18:** Le métabolisme de l'acide arachidonique via la voie des leucotriènes par intervention de la 5-lipoxygénase (Murphy et Gijón, 2007).

En raison de leurs puissants pouvoirs médiateurs pro-inflammatoires et promoteurs de la réaction allergique, les lipoxygénases (LOX) et les leucotriènes représentent les principales cibles thérapeutiques dans le domaine de la découverte de médicaments anti-inflammatoires. De nombreux inhibiteurs de LOX ont été développés et considérés comme des agents prometteurs dans le traitement des maladies inflammatoires. La majorité de ces inhibiteurs sont connus pour leur puissant rôle antioxydant ou de piégeage de radicaux libres (Funk, 2005 ; Naveau, 2005 ; Czubowicz et al., 2010).

Plusieurs anti-inflammatoires de synthèse ont été mis en évidence, le BWA4C (un dérivé de l'acide hydroxamique) et le zileuton (un dérivé de la N-hydroxyurée) sont des inhibiteurs puissants de la 5-LOX (Figure 19). Le Zileuton améliore les fonctions des voies respiratoires et réduit également le besoin de β-agonistes ou de glucocorticoïdes (Werz et Steinhilber, 2006 ; Masferrer et al., 2010 ; Filosa et al., 2013 ; Orafaie et al., 2020). Selon leur mode d'action, les inhibiteurs de la lipoxygénase sont classés en : Inhibiteurs de la protéine FLAP ; Inhibiteurs redox qui sont des inhibiteurs d'oxydoréduction agissant essentiellement comme des antioxydants ; Inhibiteurs non redox sont des composés qui n'interfèrent pas avec la

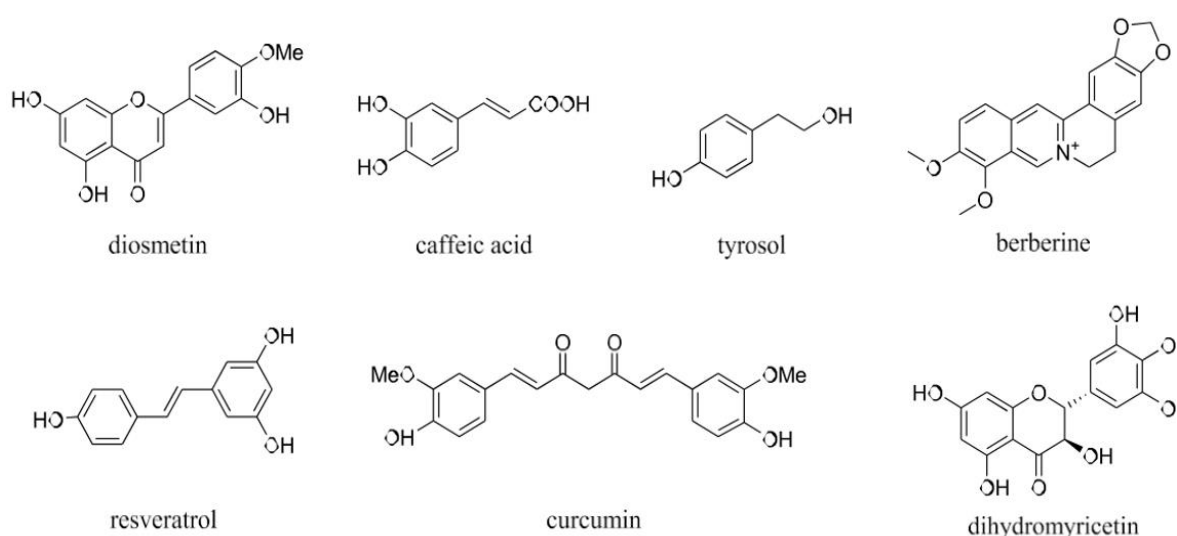
réaction d'oxydation des lipoxygénases et n'ont pas de propriétés apparentes de liaison au fer, leur action peut s'effectuer par liaison compétitive au site actif ou par liaison à un site allostérique qui régule l'activité de l'enzyme ; et enfin, Inhibiteurs de chélateurs du fer qui sont de petites molécules capables de remplacer l'un des ligands du fer pour créer un complexe (Figure 19) (Wisastra et Dekker, 2014).



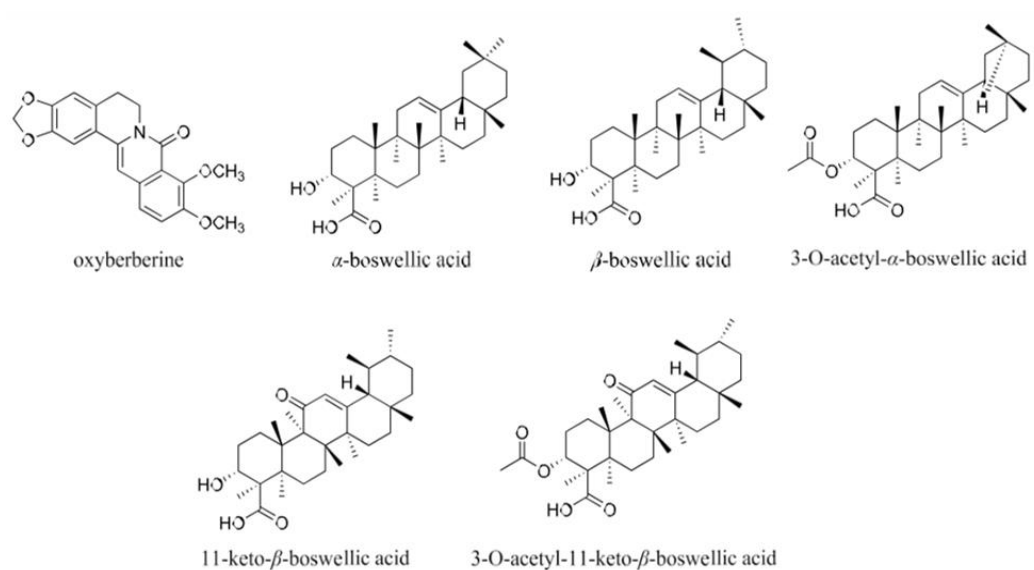
**Figure 19:** Certaines molécules anti-inflammatoire, (a): Antagonistes des récepteurs des leucotriènes; (b) : Inhibiteurs non redox; (c): Inhibiteurs redox; (d): Inhibiteurs de chélateurs du fer; (e) : Inhibiteur de FLAP (Wisastra et Dekker, 2014)

Outre les composés anti-inflammatoires non stéroïdiens, qui traitent l'inflammation en inhibant les enzymes cyclooxygénase (COX) et lipoxygénase (LOX) et qui sont associés aux effets indésirables qui en limitent leur utilisation, de nouveaux agents anti-inflammatoires efficaces et non toxiques pour inhiber les voies COX-LOX sont indispensables. De nombreux travaux scientifiques ont été réalisés et ils ont mis en évidence le pouvoir anti-inflammatoire de différentes classes de phytoconstituants tels que les tanins, les stéroïdes, les flavonoïdes, les alcaloïdes, et les terpénoïdes tout en inhibant la COX et LOX (**Figure 20**) (**Mukhopadhyay et al., 2023**).

### A) Inhibiteurs de COX



### B) Inhibiteurs de LOX



**Figure 20:** Structure chimique de quelques phytoconstituants inhibiteurs de la cyclooxygénase (A) et la lipoxygénase (B) (**Mukhopadhyay et al., 2023**)

De même, les extraits de plantes de différentes familles botaniques ont montré une inhibition de la LOX, dont les extraits éthanoliques de *Cnicus benedictus* et *Sophora tokinensis* ont été les meilleurs inhibiteurs avec des valeurs d'IC<sub>50</sub> de 52,7 et 1,61 µg/mL, respectivement (Lončarić et al., 2021). La lipoxygénase du soja est fortement inhibée par les extraits aqueux de feuilles et de fleurs de *Lavatera cretica* avec une valeur IC<sub>50</sub> de 0,01 µg/mL (Lončarić et al., 2021). L'acide cinnamique, l'acide férulique et l'acide syringique assurent un effet anti-inflammatoire en inhibant de façon in-compétitive la 1-lipoxygénase du soja via une interaction entre les groupements carboxyliques et les atomes de la chaîne latérale des Arg<sup>102</sup> et Arg<sup>139</sup> dans le site allostérique de la LOX (Habza-Kowalska et al., 2021). De plus, l'acide caféique et l'acide sinapique ont été les inhibiteurs les plus efficaces dans l'étude réalisée par landberg et al., (2020) qui suggèrent que la chélation du fer ferrique Fe<sup>3+</sup> dans le site actif de la lipoxygénase représente une étape importante dans le processus anti-inflammatoire.

Entre autre, l'acide nordihydroguaiarétique (NDGA), un lignane phénolique obtenu à partir de *Larrea tridentata*, est rapporté dans plusieurs travaux antérieurs comme agent anti-inflammatoire. Manda et al., (2020) ont résumé les différents effets biologiques de cette molécule, dont l'effet inhibiteur des lipoxygénases. Cet effet est assuré par le maintien du fer dans la forme ferreux Fe<sup>2+</sup>, ce qui bloque le cycle redox des LOX et entraîne leur inactivation.

La tendance à la recherche des alternatives aux traitements pharmaceutiques s'explique en partie par une prise de conscience des effets secondaires potentiels de certains médicaments et par un désir croissant de se soigner avec des produits issus de la nature. La phytothérapie représente une approche intéressante pour prendre soin de la santé. Elle est destinée à traiter certains états pathologiques au moyen de plantes, de parties de plantes et de préparations à base de plantes. C'est une thérapeutique inspirée de la médecine traditionnelle qui est grandement utilisée dans certains pays.

A l'échelle mondiale, la valorisation des plantes médicinales représente une préoccupation de la recherche scientifique dans différents secteurs pharmacologiques, agro-alimentaires voire cosmétiques. Le criblage de substances chimiques provenant d'extraits végétaux a permis d'isoler de nombreuses molécules thérapeutiques utilisées aujourd'hui en médecine humaine.

Les pays méditerranéens, entre autre l'Algérie, se caractérisent par une biodiversité climatique et floristique, ce qui les rend une véritable source de plantes médicinales qui suscitent l'intérêt de nombreuses études scientifiques pour l'évaluation de leurs propriétés

thérapeutiques. Les travaux scientifiques antérieurs réalisés dans notre laboratoire de recherche Antibiotiques, Antifongiques : Physico-chimie, Synthèse et Activité Biologique (LAPSAB) portent sur la recherche et l'évaluation des propriétés biologiques (activité antidiabétique, antioxydante, antimicrobienne...) des extraits de plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-Ouest de l'Algérie. Dans ce contexte, nous nous sommes intéressés dans la présente étude à la recherche d'éventuelles activités biologiques de deux espèces de la famille des cucurbitacées de la région de Tlemcen et Naâma, *Bryonia dioïca* et *Citrullus colocynthis*, qui sont très utilisées dans la médecine traditionnelle locale.

*Bryonia dioïca* Jacq (**Figure 21**) plante vivace grimpante poussant dans les haies, les broussailles et les buissons en Afrique du Nord, en Asie occidentale et en Europe (**Sallam et al., 2010**). Cette cucurbitacée porte plusieurs noms vernaculaires, notamment Fachira, Aneb dib, Queriouaa, Karma beida, Louwaya en arabe ; Zenzou, Tiferdoudi, Tayloulou, en berbère ; White wild vine, Snake bryony en anglais et Navet du diable, La bryone en français (**Boustié et al., 2002 ; Aït Youcef et Brette, 2006 ; Hammiche et al., 2013**).

La bryone est une espèce végétale herbacée dioïque caractérisée par sa racine tubérisée qui ressemble à un gros navet blanc jaunâtre, charnu à stries transversales, de goût amer et âcre. Elle possède des tiges cannelées, sarmenteuses, grêles, très longues qui peuvent atteindre jusqu'à 5 m de longueur. Ses feuilles sont en forme de cœur, palmatilobées, alternes, pétiolées et rudes au toucher. La plante a de petites fleurs femelles et mâles portées sur des pieds différents, de couleur blanc-jaunâtre ou jaune verdâtre, groupées au sommet de rameaux florifères. Le fruit (bacciforme) est une baie globuleuse mesurant 7 à 8 mm de diamètre, de couleur verte, orange puis rouge à maturité durant l'automne, contenant des graines brunes aplaties, elliptiques et lisses. (**Roques, 1959 ; Garnier et al., 1961 ; Aït-Youcef et Brette, 2006 ; Hammiche et al., 2013**).



**Figure 21:** Différentes parties de *Bryonia dioica* ; Feuilles (A), Fleurs (B), Fruits (C) et Racines (D) (Gadoum et Didier, 2008)

Selon la littérature, *Bryonia dioica* Jacq renferme de multiples composés phytochimiques variant au sein de la même plante d'une partie à une autre. Le fruit contient différents flavonoles (**Figure 22**) tels que le kaempférol-3,4'-*O*-dirhamnoside, la quercétine 3-*O*-néohespéridose, la quercétine *O*-rhamnosyl-pentoside, le kaempférol *O*-diglycosides, le kaempférol 3-*O*-néohespéridose, le kaempférol *O*-pentosyl-rhamnosides, et le kaempférol-*O*-rhamnosyl-hexoside-*O*-rhamnoside ; des flavones comme l'apigénine-6-*C*-glucoside, l'apigénine-6-*C*-glucoside-8-*C*-glucoside, et l'apigénine-6-*C*-glucoside-7-*O*glucoside (saponarin) (Barreira et al., 2013).

De même, certaines vitamines ont été enregistrées dans les fruits immatures et matures, ils contiennent, respectivement, de l' $\alpha$ -tocophérol (30,11 et 96,14 mg/100g de poids sec) ; du  $\gamma$ -tocophérol (21,63 et 10,44 mg/100g de poids sec) ; de la  $\beta$ -carotène (69,82 et 155,28 mg/100g de poids sec) ; et de l'acide ascorbique (63,61 et 217,10 mg/100g de poids sec) (Rafael et al.,

2011). Ils contiennent également des glucosides triterpéniques et des cristaux d'oxalate de calcium (Oobayashi K *et al.*, 1992).

Les feuilles renferment des flavonoïdes (lutéoline, kaempférol), des alcaloïdes, des terpénoïdes, des phénols, des anthraquinones, des glycosides et des carbohydrates (Kokate *et al.*, 2009 ; Benarba *et al.*, 2012 ; Gholivand *et al.*, 2012). La racine a été montrée riche en polyphénols, terpénoïdes, flavonoïdes (Kaempférol 3, 7-di-O-rhamnoside, apigénine, lutéoline), tanins, quinones, coumarins, alkaloïdes, stéroïdes, saponines, sucres réducteurs et en carbohydrates (Pohlmann, 1975; Matsuda *et al.*, 2010; Barros *et al.*, 2011 ; Narendra *et al.*, 2015). Cette partie est également riche en cucurbitacines B, D, E, I (Figure 23); en bryosigénine, bryogénine, bryodulcosigénine, acide bryonolique et quelques cucurbitacines glycosides (Cattel *et al.*, 1981). De plus, des protéines inactivatrices du ribosome ont été identifiées dans les racines et les feuilles, la brodyne 1 et la bryodine 2, utilisées comme immunotoxines antivirales (Gawlak *et al.*, 1997). Les figures suivantes représentent certains composés phytochimiques de *Bryonia dioïca*.

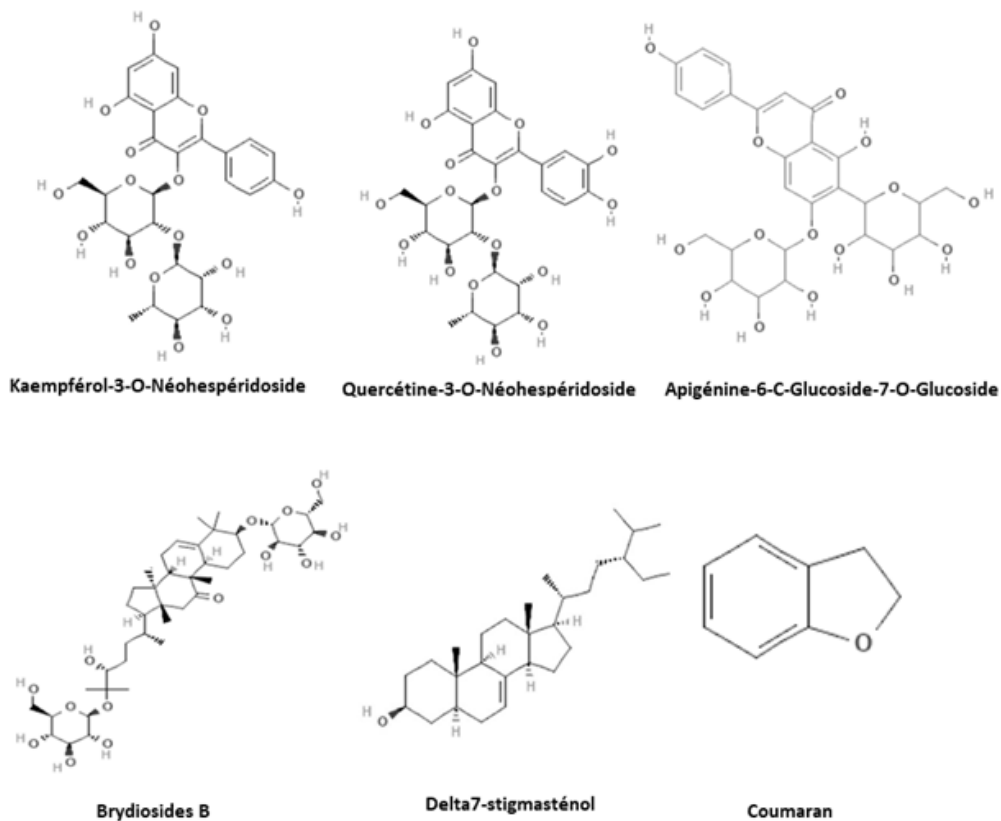
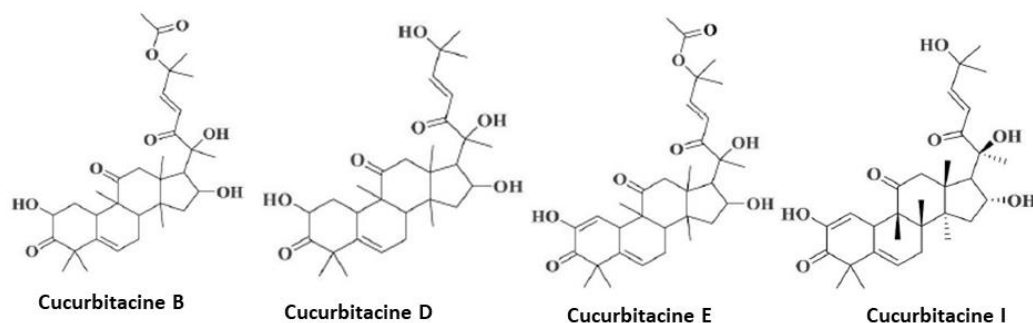


Figure 22: Certains flavonoïdes, saponines et stéroïdes isolés de *Bryonia dioïca* (Benarba *et al.*, 2024).



**Figure 23:** Structures chimiques de certains cucurbitacines (**Rashid et al., 2023**)

La bryone présente diverses vertus thérapeutiques, elle est recommandée traditionnellement dans le traitement des complications bronchiques, des ulcères intestinaux, des inflammations, de l'hypertension, de la pneumonie, de la laryngite, de la goutte et de l'asthme (**Benarba et al., 2012 ; Saboo et al., 2013 ; Kadhim, 2014**). Elle est, notamment, utilisée comme purgatif drastique et rubéfiant des douleurs articulaires et musculaires (**Benarba et al., 2012 ; Saboo et al., 2013**).

Au Maroc, différentes parties de la bryone sont employées comme un remède populaire. Le suc de la plante est utilisé comme un traitement de la lèpre et la gale, tandis que, les baies sont employés comme un vermifuge et purgatif (**Hammiche et al., 2013**). Elle est notamment préconisée pour traiter les maux de l'estomac, l'insuffisance hépatique, les douleurs rhumatismales et l'ulcère (**Chekroun et al., 2015**). En Algérie, la racine de cette cucurbitacée est la partie la plus utilisée. Sous forme d'infusion, cette espèce est traditionnellement utilisée pour traiter de nombreux cancers (colon, peau, sein, abdomen) ainsi que le diabète. Le cataplasme de la partie aérienne ou les décoctés de la plante entière sont recommandés en usage externe pour soigner les affections rhumatismales (**Hammiche et al., 2013**).

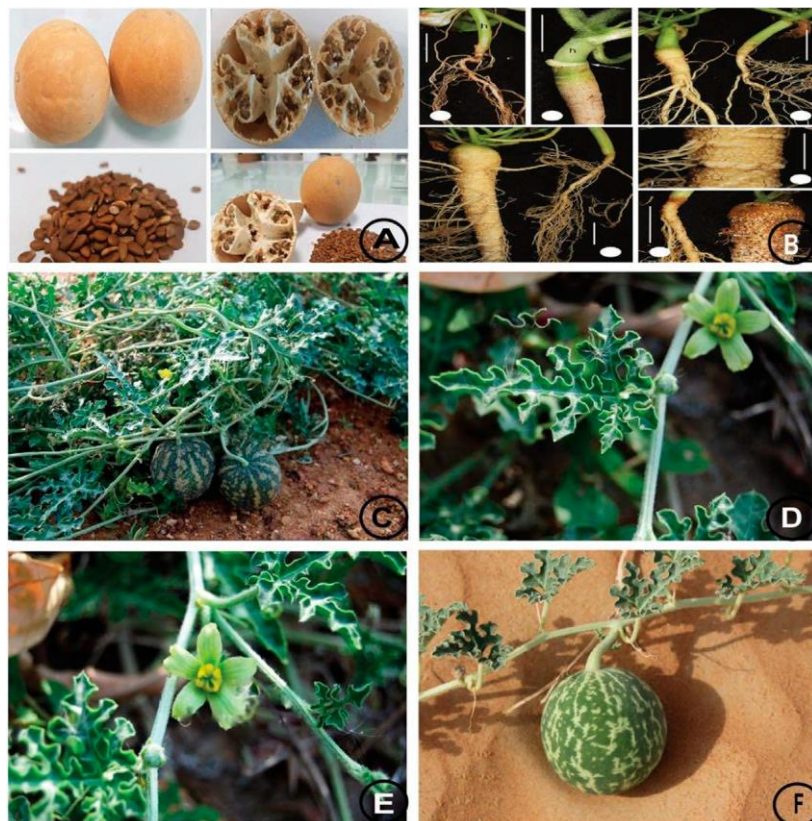
De nombreuses études scientifiques antérieures ont confirmé l'usage traditionnel de la bryone en étudiant l'effet de différents extraits préparés à partir de différentes parties de *Bryonia dioïca*, et qui ont montré un large spectre de propriétés biologiques y compris l'activité antioxydante (**Rafael et al., 2011 ; Chekroun et al., 2015**), anticancéreuse (**Benarba, 2015**), anti-hémolytique (**Terki et al., 2023**) et l'activité anti-inflammatoire (**Ukiya et al., 2002**). Selon l'étude menée par **Wachinger et al., (1993)**, la bryodine présente une propriété anti-VIH. Tandis que, l'acide bryonolique possède un effet anti-allergique et antitumoral (**Barker et al., 2010**). Les travaux de **Kadhim, (2014)**, ont démontré que l'extrait des feuilles de cette plante présente une propriété hépato-protectrice.

De plus, **Agustini et al., (2023)** ont suggéré que *Bryonia dioïca* contient des métabolites secondaires phytoestrogéniques ayant un effet agoniste au récepteur d'œstrogène et cytotoxiques ; selon l'analyse du docking moléculaire, la cucurbitacine-E a présenté une meilleure affinité de liaison avec le récepteur des œstrogènes sur les résidus His<sup>524</sup>, Gly<sup>521</sup>, Arg<sup>394</sup>, Glu<sup>353</sup> et Leu<sup>391</sup> ; de même, l'extrait méthanolique a montré une activité cytotoxique sur les cellules MCF-7 avec une IC<sub>50</sub> = 185 µg/mL (dans un milieu sans estradiol) et une IC<sub>50</sub> = 125 µg/mL (dans un milieu avec estradiol) avec stimulation de l'expression du gène pS2 (un marqueur de l'activité œstrogénique) à une concentration de 50 µg/mL. De leur part, **Benarba et al., (2019)** ont confirmé l'effet anticancéreux de l'extrait aqueux des racines de la bryone (250 µg/ml) qui induit l'apoptose des cellules MDA-MB-231(64,61%). Cette apoptose a été accompagnée d'un arrêt du cycle cellulaire en phase G2/M avec un pourcentage de 59,13 % (50 µg/ml) et 58,51 % (250 µg/ml) par rapport aux cellules non traitées (15,7%).

*Bryonia dioïca* présente également une activité antimicrobienne, des résultats significatifs ont été montré par l'extrait de feuilles sur des souches bactériennes à Gram négatif, notamment *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* et *Proteus vulgaris* (**Khamees et al., 2017**) ; cependant, une meilleure inhibition de croissance de certaines bactéries à Gram positif, principalement *Enterococcus faecium*, par rapport aux bactéries à Gram négatif a été constatée dans l'extrait lipidique des racines qui arrive à un diamètre de zone d'inhibition de 20,83mm (**Dhouioui et al., 2016**). Parallèlement, le travail de **Chekroun et al., (2017)** a mis en évidence l'effet antidiabétique des extraits de la bryone *in vivo* chez les rats rendus diabétiques par la streptozotocine. L'administration intrapéritonéale de l'extrait aqueux à court terme (21 jours) chez des rats diabétiques diminue significativement l'hyperglycémie jusqu'à - 64%, ainsi que le taux des paramètres lipidiques cholestérol totale et triglycérides, avec une amélioration du poids corporel et sans provoquer une toxicité rénale ou hépatique.

La deuxième cucurbitacée qui a fait l'objet de notre étude est *Citrullus colocynthis* L. schard (**Figure 24**), une plante herbacée largement répandue dans les régions steppiques (arides), les régions tropicales et sub-tropicales, les régions tempérées et la région de la méditerranée (**Timothy, 1993**). Cette plante commune au sahara est connue sous plusieurs noms vernaculaires, notamment el handhal, Hadja, Alquam, Dellaa el Wed en arabe; Taferzizt, Tifersit, Alkat, Tijjeltl et Tabarka en berbère ; bitter cucumber, bitter apple, colocynth et wild gourd en anglais et coloquinte, coqueret, chicotin en français. C'est une plante vivace (annuelle) caractérisée par des rhizomes charnus et tubéreux. Ses tiges sont ramifiées,

rampantes, rudes et munies de vrilles sur les quelles sont portées des feuilles longues (5 à 10 cm), alternes et rugueuses à limbe étalé et découpé en 3 à 7 lobes. La coloquinte fleurit entre Avril et Mai, ces fleurs de couleur jaune pâle sont solitaires, auxiliaires et bisexuées. Elle se distingue ainsi par ces fruits sphériques qui ressemblent à de petites pastèques de 8 à 10 cm de diamètre, vertes puis jaunes à maturité ; la pulpe est spongieuse, légère, amère et blanchâtre, elle renferme des graines ovoïdes et aplaties de couleur brune (**Hammouda et al., 2005 ; Hammiche et al., 2013**) .



**Figure 24:** Différentes parties de *Citrullus colocynthis* ; Fruits sec et graines (A), Racines (B), Partie aérienne (C), Feuilles (D), Fleurs (E) et Fruits (F) (**Li et al., 2022**)

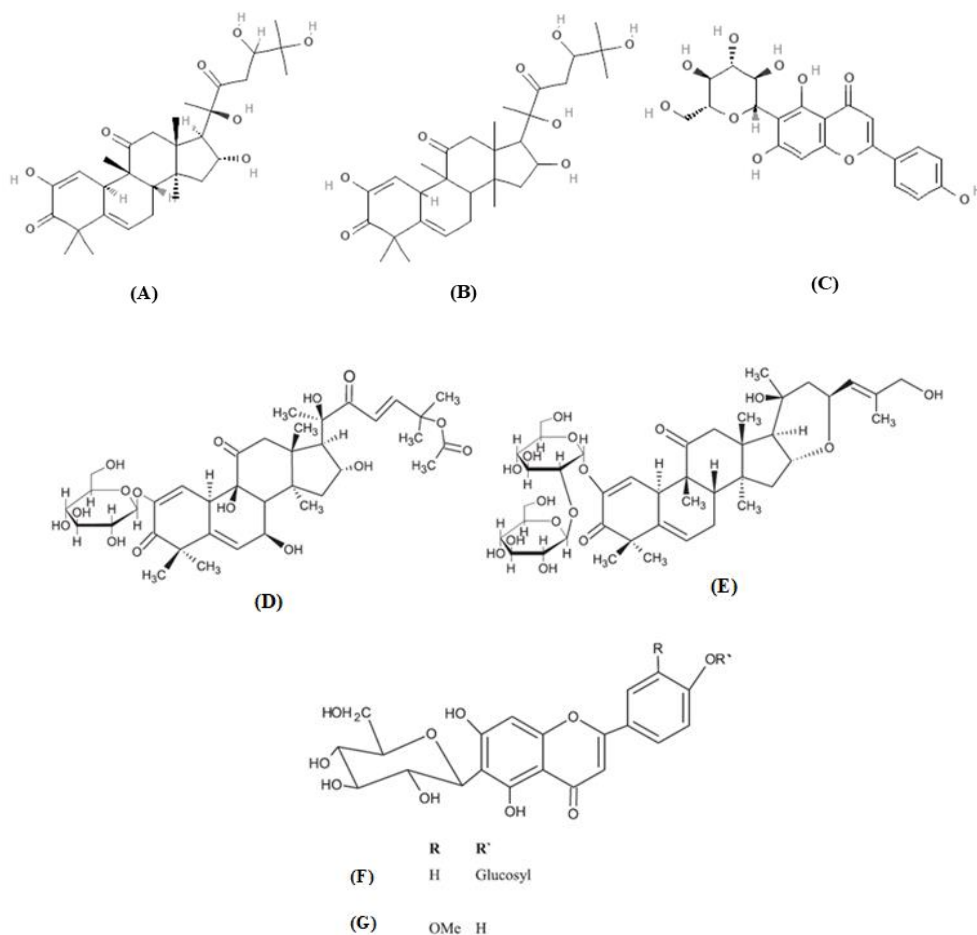
Selon la bibliographie, la coloquinte renferme de multiples composés phytochimiques. Les graines sont riches en sels minéraux comme le potassium, le calcium, le fer, le magnésium, le sodium, le zinc, le cuivre, et le phosphore. Elles contiennent également 4,91% d'eau, 18,59 % de lipides, 13,19% de protéines, et 2% de cendres (**Sadou et al., 2007**). Les travaux de **Ramakrishna et al., (2019)** ont révélé la présence de flavonoïdes, tanins, stéroïdes, alcaloïdes, et glycosides dans les différentes parties de la plante. Elle est riche en acides gras

y compris l'acide linoléique, l'acide myristique, l'acide linoléique, l'acide palmitique, et l'acide stéarique (**Gurudeeban et al. 2010**).

De même, les études de **Parveen et al., (2020)** ont déterminé de nombreux composés chimiques dans *C. colocynthis* qui inclut les flavonoïdes (isosaponarin, catéchine, quercétine, isovitexine), les stéroles ( $\beta$ -sitostérol,  $\alpha$ -spinastérol 3-glucoside,  $\alpha$ -spinasterone), les acides phénoliques (acide gallique, acide  $p$ -coumarique, acide sinapinique, acide chlorogénique, acide vanillique), les cucurbitacines (cucurbitacine A, C, E, J ; colocynthoside B), et les vitamines (choline,  $\beta$ -carotène).

Le fruit de coloquinte est riche en cucurbitacines, la cucurbitacine E, L, I, J et T, ainsi que des cucurbitacines glucosides, comme le 2,25-di-O- $\beta$ -D-glucopyranosyle cucurbitacine L; le 2-O- $\beta$ -D-glucopyranosyle-cucurbitacine B; et la colocynthine A, B et C (**Sturm et Stuppner, 2000 ; Seger et al., 2005 ; Nayab et al., 2006 ; Nayab et al., 2010**).

Le screening phytochimique de différents extraits des graines et des fruits a révélé la présence des coumarines, des tanins catéchiques, des terpénoïdes, des alcaloïdes, des quinones, des saponines, des stéroïdes, et des glycosides cardiotoniques (**Benariba et al., 2013 ; Soufane, 2018**). Les racines de la coloquinte ont montré leurs richesses en certains acides phénoliques, comme l'acide  $p$ -coumarique, l'acide  $p$ -hydroxyphenylacétique, l'acide hydrocinnamique, l'acide benzoïque, l'acide ferulique, l'acide protocatéchique et l'acide hexadécanoïque (**Ben Hsouna et Alayed, 2012**). La figure 25 illustre la structure chimique de certains composés phytochimiques isolés de différentes parties de *Citrullus colocynthis*.



**Figure 25:** Quelques composés phytochimiques isolés de *Citrullus colocynthis*; Cucurbitacine J (A), Cucurbitacine L (B), Isovitexine (C), Colocynthoside A (D), Colocynthoside B (E), Isosaponarine (F), Isoorientine 30-éther méthylique O (G) (Hussain et al., 2014; Benarba et Belhouala, 2024)

La colquinte est utilisée depuis longtemps dans la médecine traditionnelle par différentes populations à travers le monde. En effet, ce purgatif drastique est recommandé pour le traitement du diabète sucré, l'hypertension artérielle, les troubles intestinaux, la jaunisse, l'asthme, le rhumatisme, la lèpre, les désordres biliaires, l'ictère, les atteintes urogénitales, les douleurs articulaires, les piqures de scorpions, et aussi contre certains type de cancer (Duke et al., 2002). Elle est également utilisée dans le cas des infections urinaires, pulmonaires et contre les problèmes dermatologiques (Marzouk et al., 2009; Marzouk et al., 2010).

L'usage traditionnel de la coloquinte à des fins médicinales a été inspiré pour des investigations pharmacologiques. En effet, de nombreuses expérimentations scientifiques ont été effectuées pour mettre en valeur ces propriétés biologiques. Selon la bibliographie, l'extrait hydro-éthanol de la pulpe et des graines de *Citrullus colocynthis* a montré un effet antidiabétique chez les rats en diminuant l'hyperglycémie, le taux des triglycérides et du

cholestérol (**Ghauri et al., 2020**). De même, l'extrait aqueux et les fractions acétate d'éthyle et n-butanol du fruit de *C. colocynthis* ont significativement corrigé l'hyperglycémie et les paramètres lipidiques chez les rats rendus diabétiques par la streptozotocine (**Chekroun et al., 2017**). Les extraits : aqueux, saponines et alcaloïdes préparés des graines de *C. colocynthis* ont également montré un effet antihyperglycémiant chez les rats Wistar diabétiques et une stabilisation du taux de glucose sanguin à des valeurs normales chez les rats normaux (**Lahfa et al., 2017**). Par ailleurs, le travail d'**Agarwal et al., (2012)** a révélé l'effet antidiabétique des extraits des racines de la coloquinte *in vivo* chez les rats rendus diabétiques par l'alloxane. L'administration intrapéritonéale de l'extrait aqueux, chloroforme ou éthanol à court terme (7 jours) chez les rats diabétiques diminue significativement ( $p < 0,01$ ) l'hyperglycémie jusqu'à 58,70 % ; 34,72 % et 36,60 % ; respectivement, avec une amélioration des paramètres tels que le poids corporel, la créatinine sérique, l'urée sérique, et les protéines sériques. De plus, les études cliniques réalisées sur des patients traités par des capsules de fruits de *C. colocynthis* ont montré une diminution importante de l'HbA1c et de la glycémie à jeun sans enregistrer un effet indésirable gastro-intestinal (**Huseini et al., 2009 ; Barghamdi et al., 2016**).

*In vitro*, les extraits de graines de *C. colocynthis* ont stimulé la sécrétion de l'insuline, l'absorption cellulaire du glucose, la translocation du GLUT4 induite par l'insuline et ont présenté un effet insulinomimétique en favorisant le transport basolatéral du Na<sup>+</sup> dans les cellules rénales monocouches de *Xenopus laevis* (A6) en culture (**Nmila et al., 2000; Drissi et al., 2021; Benariba et al., 2023**).

D'autres études ont révélé le potentiel anticancéreux de la coloquinte. Les travaux réalisés par **Perveen et al., (2021)** sur une lignée cellulaire de cancer du sein humain (MCF-7) ont montré un ralentissement significatif de la prolifération et du cycle cellulaires des cellules traitées par l'extrait méthanolique et ses fractions chloroforme et acétate d'éthyle par rapport aux cellules non traitées. De même, **Tannin-Spitz et al., (2007)** ont indiqué que la combinaison entre la cucurbitacine glucoside B et E (1:1), isolés des feuilles de *C. colocynthis*, inhibe la croissance des lignées cellulaires de cancer du sein ER MDA-MB-231 et ER+MCF-7 en intervenant à la phase G2/M du cycle cellulaire (réduction du complexe protéique p34CDC2/cycline B1 nécessaire à la régulation de la terminaison de la phase G2 et à l'initiation de la mitose), le complexe cucurbitacine glucoside B/E a également provoqué des changements morphologiques des cellules cancéreuses traitées par altération de l'organisation du filament d'actine.

Par ailleurs, plusieurs études ont mis en évidence le pouvoir antioxydant de la coloquinte. Selon **Kumar et al., (2008)**, l'extrait des fruits de *C. colocynthis* a montré à une concentration de 2500 µg/mL un effet anti-radicalaire significatif ( $p < 0,005$ ) sur le radical DPPH (88 %), sur le radical hydroxyl (71,4 %), sur le peroxyde d'hydrogène (62,7%) et sur l'oxyde nitrique (61,4 %) ; de même, l'isosaponarine, l'isovitexine et l'éther isoorientine 3-O-méthyl isolés des fruits ont présenté une activité antiradicalaire importante avec de faibles valeurs de  $IC_{50}$  variant de 0,5 à 70 µg/mL. **Benariba et al., (2013)** ont enregistré l'effet piègeur du radical libre le DPPH dans les extraits acétate d'éthyle ( $IC_{50} = 350$  µg/mL), hydrométhanol ( $IC_{50} = 580$  µg/mL) et aqueux ( $IC_{50} = 500$  µg/mL) de graines de la coloquinte. Les extraits aqueux et organiques des fruits ont également présenté une activité antioxydante en utilisant le test du DPPH (65,09 µg/mL  $<IC_{50}>$  89,29 µg/mL), FRAP (99,7 µg/mL  $<A_{0,5}>$  119,37 µg/mL), CUPRAC (19,41µg/mL  $<IC_{50}>$  26,63 µg/mL) et ABTS (77,43 µg/mL  $<IC_{50}>$  86,87 µg/mL), avec un meilleur pouvoir protecteur de l'extrait n-butanol ( $IC_{50}=19,11$  µg/mL) des globules rouges contre l'hémolyse induite par l'AAPH (**Terki et al., 2023**).

En revanche, **Najafi et al., (2010)** ont révélé un effet antimicrobien de l'extrait éthanolique des fruits de *Citrullus colocynthis* (5mg/mL) sur *Staphylococcus aureus*, tandis que, l'extrait méthanolique de l'épicarpe du fruit a assuré une inhibition de *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv (CMI = 62,5µg/mL) (**Mehta et al., 2013**). En outre, certaines bactéries Gram-positives et négatives, principalement *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 et *Micrococcus luteus* ATCC9341, ont montré une forte sensibilité aux extraits n-butanol et acétate d'éthyle du fruit avec des diamètres de zone d'inhibition variables entre 11 et 13 mm, et des valeurs de CMI comprises entre 0,312 et 0,625 mg/mL ; ces extraits ont également présenté un effet antibiofilm en inhibant l'adhésion bactérienne aux surfaces (35%-58%) des souches *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* et *Escherichia coli* (**Terki et al., 2023**).

# **Matériel et Méthodes**

La partie expérimentale de ce travail de thèse a été réalisée au sein de laboratoire de recherche « Antibiotiques, Antifongiques : 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 (SNV – STU), Université Abou Bekr Belkaid, Tlemcen.

La première partie est l'étude phytochimique, qui consiste à la préparation des extraits et leurs fractions à partir des racines de *Bryonia dioïca* et des fruits de *Citrullus colocynthis*, le screening phytochimique, le dosage de certains composés phytochimiques et leur identification par chromatographie UHPLC-DAD-ESI/MS (LC-MS).

La deuxième partie est consacrée à l'étude des activités biologiques des différents extraits et fractions préparés. Elle porte sur l'évaluation de trois activités : L'activité antioxydante en utilisant le test de DPPH, FRAP,  $\beta$ -carotène et AAPH ; L'activité antidiabétique évaluée *in vitro* en étudiant l'effet des extraits sur l'activité des enzymes intestinales  $\alpha$ -amylase et  $\alpha$ -glucosidase, sur la glycation non enzymatique de la BSA, et sur la captation du glucose par les hémidiaphragmes isolés de rats wistar ; et enfin l'activité anti-inflammatoire en testant l'effet des extraits sur l'activité de la lipoxygénase.

Une partie supplémentaire est consacrée à l'exploitation des résultats des deux parties précédentes afin de déterminer d'éventuelles interactions entre les phytoconstituants des plantes étudiées et les cibles biologiques. Le docking moléculaire est utilisé pour déterminer les types d'interaction entre les composants de *B. dioïca* et *C. colocynthis* et les résidus de l' $\alpha$ -amylase, l' $\alpha$ -glucosidase. Le réseau d'interactions biologiques (network) est utilisé pour visualiser les interactions et les voies de signalisation possibles entre les phytoconstituants de ces deux cucurbitacées et les cibles liées principalement au diabète sucré et à l'inflammation.

## **Partie 1 : Etude phytochimique de *Bryonia dioïca* et *Citrullus colocynthis***

### **1. Matériel végétal**

La récolte des racines de *Bryonia dioïca* a été effectuée dans la région de Beni Snous, Wilaya de Tlemcen, Nord-Ouest Algérien en automne 2019 (Entre Septembre-Octobre) ; cependant, la récolte des fruits de *Citrullus colocynthis* a été faite dans la région d'Assela, Wilaya de Naâma, Sud-Ouest Algérien en automne 2018 (Entre Septembre-Octobre). L'identification botanique des plantes a été effectuée par M. Baba Ali Ibrahim maître de conférences au niveau du département d'écologie et environnement à l'université de Tlemcen. Au laboratoire,

les racines de *Bryonia dioïca* et les fruits de *Citrullus colocynthis* ont été nettoyés et séchés à température ambiante. En suite, les racines séchées sont broyées en poudre fine et les fruits sont coupés en petits morceaux et conservés jusqu'au jour de leur utilisation (**Figure 26**).



**Figure 26 :** Fruits de *Citrullus colocynthis* coupés en petits morceaux au laboratoire (**a**); Racines de *Bryonia dioïca* broyées en poudre au laboratoire (**b**)

## **2. Extractions**

Différentes extractions ont été préparées à partir du matériel végétal en utilisant différents solvants. De ce fait, nous avons préparé des extraits chloroforme-méthanol, aqueux, et eau-acétone. Ces deux derniers ont fait l'objet d'un fractionnement successif de l'extrait par l'acétate d'éthyle et le n-butanol, respectivement. **Les figures 27 et 28** résument les étapes de la préparation des extraits et leurs fractions, dont 14 extraits ont été préparés dans cette étude.

### **2.1. Préparation des extraits aqueux**

La poudre des racines de *B. dioïca* (50g), ou les fruits de *C. colocynthis* découpés en petits morceaux (50g) ont été portés à une extraction par décoction pendant 1h à 80°C dans l'eau distillée (500mL). Après filtration et évaporation à sec, les extraits aqueux de la bryone (BAQ) et de la coloquinte (CAQ) sont récupérés sous forme solide.

### **2.2. Préparation des extraits chloroforme-méthanol**

100 g de la poudre des racines ou des fruits découpés en petits morceaux, ont été mis en extraction par macération dans 500mL pour *B. dioïca*, ou 900 mL pour *C. colocynthis* du mélange chloroforme-méthanol (V/V) pendant 48h à température ambiante. Les extraits récupérés ont été filtrés, et évaporés à sec, pour récupérer des produits solides **BChM** extrait de *B. dioïca*, et **CChM** extrait de *C. colocynthis*.

### **2.3. Préparation des extraits eau-acétone**

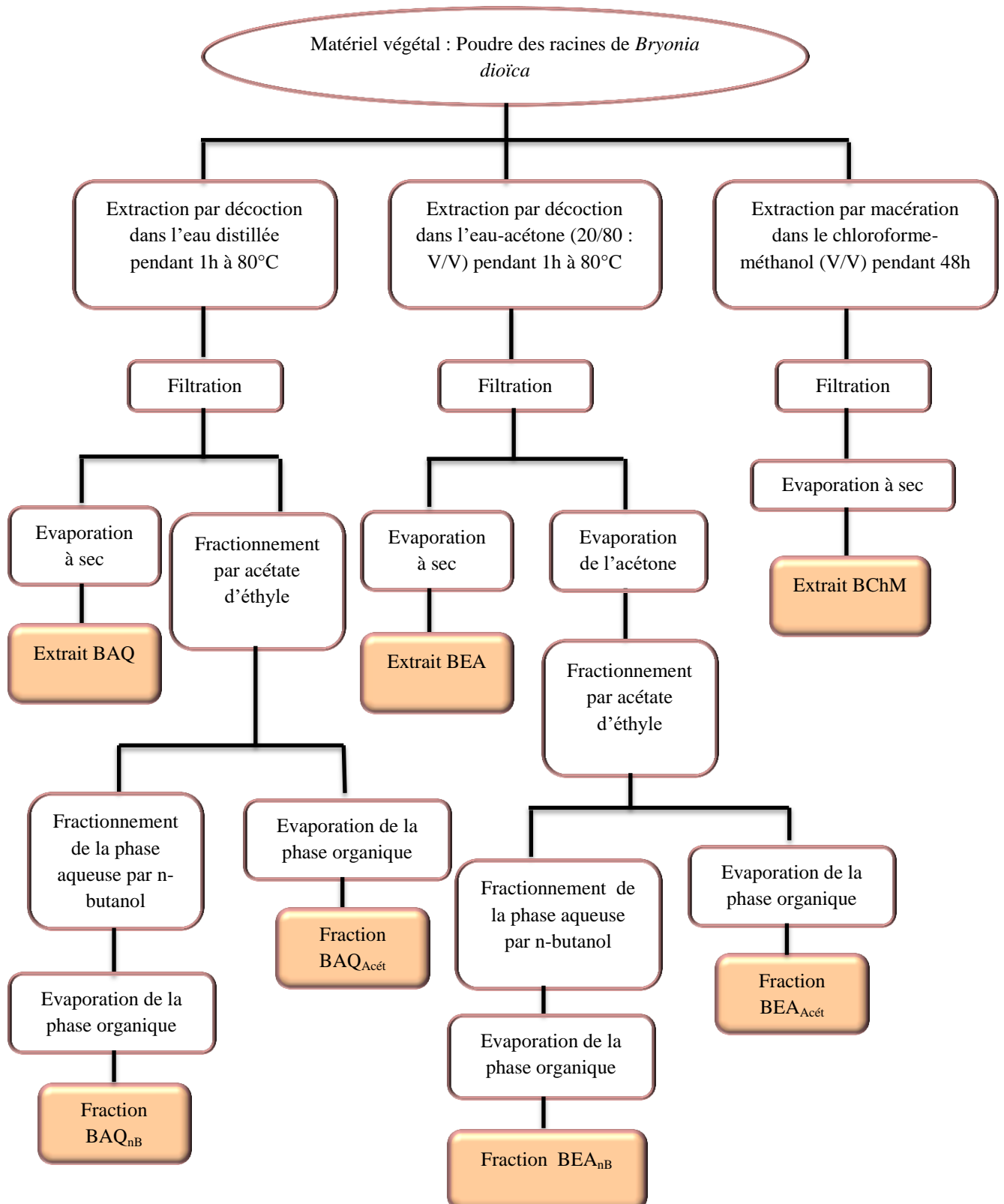
50 g de chaque échantillon, la poudre des racines ou des fruits découpés en petits morceaux, et 500mL du mélange eau-acétone (20/80 : v/v) sont utilisés en décoction pendant 1h à 80°C. Ensuite, les extraits ainsi récupérés ont été filtrés et évaporés à sec, et les extraits **BEA** pour *B. dioïca*, et **CEA** pour *C. colocynthis* sont récupérés sous forme solide.

### **2.4. Préparation des fractions acétate d'éthyle et n-butanol**

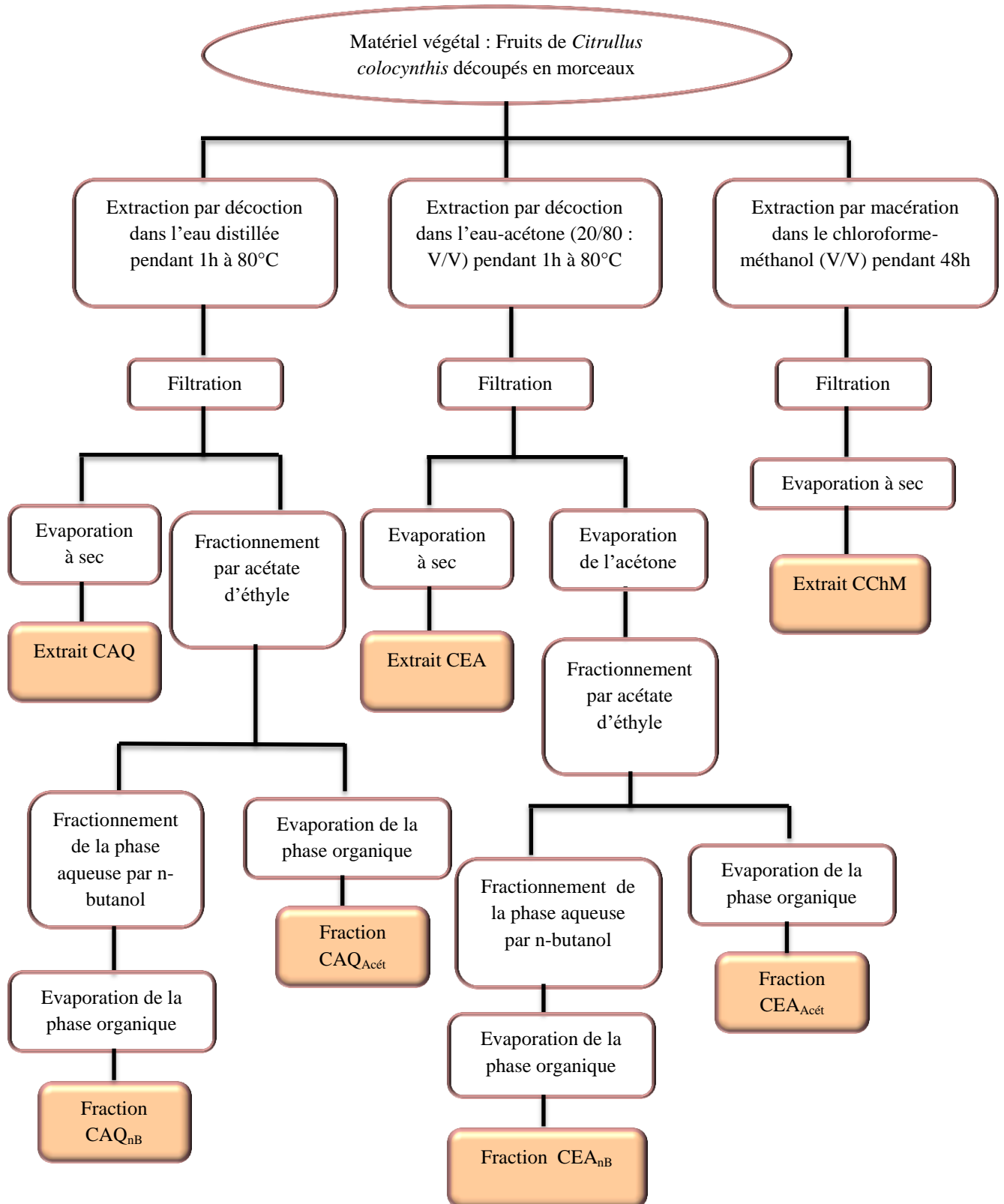
Seuls les extraits aqueux et eau-acétone qui ont subis un fractionnement par extraction liquide-liquide en utilisant l'acétate d'éthyle et le n-butanol successivement. Pour ce type d'extraction, on procède à la préparation, à partir des deux échantillons, des extraits aqueux et eau-acétone comme précédemment cité. Ensuite, après filtration chaque extrait récupéré est transvasé dans une ampoule à décanter et traité trois fois par l'acétate d'éthyle (v/v). Les phases organiques récupérés sont évaporées à sec pour récupérer les fractions acétate d'éthyle, cependant les phases aqueuses ont été de nouveau traité 3 fois par le n-butanol (v/v). Les phases organiques sont évaporées à sec pour récupérer les fractions n-butanol.

Les fractions sont récupérées sous forme solides et sont comme suit ; A partir de l'extrait aqueux de *B. dioïca*, nous avons récupéré **BAQ<sub>Acét</sub>** pour la fraction acétate d'éthyle et **BAQ<sub>nB</sub>** pour la fraction n-butanol. Depuis l'extrait aqueux de *C. colocynthis*, **CAQ<sub>Acét</sub>** est récupéré pour la fraction acétate d'éthyle et **CAQ<sub>nB</sub>** pour la fraction n-butanol.

Pour l'extrait eau-acétone de *B. dioïca*, nous avons récupéré **BEA<sub>Acét</sub>** pour la fraction acétate d'éthyle et **BEA<sub>nB</sub>** pour la fraction n-butanol ; tandis que pour l'extrait eau-acétone de *C. colocynthis*, nous avons récupéré **CEA<sub>Acét</sub>** pour la fraction acétate d'éthyle et **CEA<sub>nB</sub>** pour la fraction n-butanol.



**Figure 27:** Schéma récapitulatif de la préparation des extraits et leurs fractions à partir des racines de *Bryonia dioica*



**Figure 28:** Schéma récapitulatif de la préparation des extraits et leurs fractions à partir des fruits de *Citrullus colocynthis*

### **3. Screening phytochimique**

Dans le but de vérifier la présence de certains métabolites dans les extraits des racines et des fruits des deux plantes étudiées, un screening phytochimique a été effectué en utilisant des réactifs spécifiques. Ces tests représentent une analyse qualitative basée sur des réactions de coloration et de précipitation décrites par **Bruneton, (1999)** et **Harbone, (1998)**.

- **Les alcaloïdes**

Dans deux tubes à essai, introduire 0,5 ml de l'extrait à analyser. Acidifier le milieu par quelques gouttes de HCl (1%) et ajouter 0,5 ml de réactif de Mayer dans le premier tube et 0,5ml de réactif de Wagner dans le second tube. L'apparition d'un précipité blanc ou brun, respectivement, révèle la présence d'alcaloïdes.

- **Les tanins**

Dans un tube à essai, introduire 1 ml d'extrait à analyser et ajouter 0,25 ml d'une solution aqueuse de FeCl<sub>3</sub> (1%), le mélange est incubé pendant 15 min à température ambiante. La présence des tanins est indiquée par une coloration verdâtre ou bleu noirâtre.

- **Les flavonoïdes**

Dans un tube à essai, introduire 1 ml d'extrait à analyser et ajouter 1 ml de HCl concentré et quelques copeaux de magnésium. L'apparition d'une coloration rose, rouge ou jaune révèle la présence de flavonoïdes.

- **Les quinones**

Dans un tube à essai, introduire 1 ml d'extrait à analyser et ajouter 0,1 ml d'hydroxyde de sodium (NaOH à 1%). L'apparition d'une couleur qui vire au jaune, rouge ou violet indique la présence des quinones libres.

- **Anthraquinones**

Dans un tube à essai, introduire 1 ml d'extrait à analyser et ajouter 1ml de NH<sub>4</sub>OH (10%) puis agiter. L'apparition d'une coloration violette signifie la présence des anthraquinones.

- **Les saponines : test de mousse**

Dans un tube à essai, introduire 10 ml de l'extrait à analyser, agiter pendant 15 secondes et laisser le mélange au repos pendant 15min. Une hauteur supérieure à 1 cm de mousse indique la présence de saponines.

- **Terpénoïdes** : Deux tests sont utilisés pour cette famille de métabolite ;

**Test de Slakowski** : Dans un tube à essai, introduire 1 ml de l'extrait à analyser, ajouter 0,4 ml de chloroforme et 0,6 ml d'acide sulfurique concentré. La formation de deux phases et une couleur marron à l'interphase indique la présence des terpénoïdes.

**Test de Librman-Burchard** : Dans un tube à essai, mélanger 1 ml d'extrait à analyser ; 0,1 ml d'anhydride acétique et 0,1 ml d'acide sulfurique. Le mélange est incubé pendant 15 min. L'apparition d'une couleur mauve ou violette signifie la présence des terpénoïdes.

- **Les composés réducteurs**

Dans un tube à essai, ajouter 1 ml de liqueur de Fehling (0,5 ml réactif A et 0,5 ml réactif B) à 1 ml d'extrait à analyser et incubé l'ensemble 08 min dans un bain marie bouillant. L'apparition d'un précipité rouge brique indique la présence des composés réducteurs.

#### **4. Dosage des composés phytochimiques**

Pour ces dosages nous avons choisis le dosage des polyphénols totaux, de flavonoïdes, de flavonols et de saponines dans les extraits et les fractions AQ, AQ<sub>Acét</sub>, AQ<sub>nB</sub>, EA, EA<sub>Acét</sub>, EA<sub>nB</sub> et ChM, préparés aux concentrations de 1mg/ml.

##### **4.1. Dosage des polyphénols totaux**

La détermination du taux de polyphénols totaux dans les extraits testés a été effectuée par la méthode au réactif de Folin Ciocalteu. Ce réactif est un mélange d'acide phosphotungstique (H<sub>3</sub>PW<sub>12</sub>O<sub>40</sub>) et d'acide phosphomolybdique (H<sub>3</sub>PMo<sub>12</sub>O<sub>40</sub>), dont l'oxydation des phénols conduit à la réduction de ce réactif en un complexe tungstène (W<sub>8</sub>O<sub>23</sub>) – molybdène (Mo<sub>8</sub>O<sub>23</sub>) de couleur bleu. La coloration produite est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits étudiés (**Bonnaillie et al., 2012**).

Le dosage a été réalisé selon le protocole décrit par **Vermerris et Nicholson (2006)** ;

- Mélanger 0,1 mL d'extrait avec 2 mL de la solution de carbonate de sodium Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (2%) ;
- Agiter et incuber les tubes pendant 5 min à température ambiante ;
- Ajouter 0,1 mL du réactif Folin Ciocalteu (0,2 N) et incuber pendant 30 min à l'abri de la lumière et à température ambiante ;
- Mesurer l'absorbance à 700 nm contre un tube blanc.

Dans les mêmes conditions opératoires, une gamme étalon a été réalisée en utilisant l'acide gallique comme contrôle positif à différentes concentrations variant de 50 à 900 µg/ml. Les résultats exprimés en µg équivalent acide gallique par mg extrait sec (µg E AG/ mg ES) ont été calculés selon la formule suivante :

$$[\text{Polyphénols}] = (a * f) / C$$

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

f : Facteur de dilution.

C : Concentration initiale de l'extrait

#### **4.2. Dosage des flavonoïdes**

La détermination du contenu en flavonoïdes dans les différents extraits a été réalisée par la méthode colorimétrique de trichlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>) et la soude (NaOH), dont le principe repose sur l'oxydation des flavonoïdes par le réactif AlCl<sub>3</sub> ce qui induit la formation d'un complexe rose -orange qui absorbe à 510nm (**Basli et al., 2012**).

#### **Mode opératoire**

Ce dosage a été réalisé selon le protocole décrit par **Zhishen et al., (1999)** ;

- Mélanger 500µl de l'extrait avec 2ml d'eau distillée et 150µl du réactif NaNO<sub>2</sub> (15%) ;
- Incuber les tubes pendant 6 min à température ambiante puis ajouter 150 µl du réactif chlorure d'aluminium AlCl<sub>3</sub> (10%) ;
- Ajouter 2 ml d'hydroxyde de sodium NaOH (4%) et compléter le volume total à 5 ml avec de l'eau distillée ;
- Agiter et incuber les tubes à température ambiante et à l'abri de la lumière pendant 30 min ;

- Mesurer l'absorbance à 510 nm contre le tube blanc.

Une gamme d'étalonnage a été préparée dans les mêmes conditions opératoires en utilisant la catéchine à différentes concentrations qui varient entre 5 et 700µg/ml.

Les concentrations des flavonoïdes présents dans les échantillons exprimées en µg équivalent catéchine par mg extrait sec (µg E C/ mg ES), sont calculées selon la formule suivante :

$$[\text{Flavonoïdes}] = (a * f) / C$$

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

f : Facteur de dilution.

C : Concentration initiale de l'extrait

### **4.3. Dosage des flavonols**

La quantité des flavonols contenus dans les extraits et les fractions des racines de la bryone et des fruits de la coloquinte a été déterminée selon la méthode colorimétrique de **Kumaran et Karunakaran, (2007)**. Cette dernière est basée sur la formation d'un complexe (Acid-stable complexe) entre le chlorure d'aluminium et le groupement cétonique en C-4 et le groupement hydroxyle en C-3 ou C-5 des flavonols. Ces complexes ainsi formés ont une absorbance maximale entre 415 et 440nm (**Chang et al., 2002**).

### **Mode opératoire**

Pour ce faire, nous avons suivi le protocole décrit par **Kumaran et Karunakaran, (2007)** ;

- Mélanger 2mL de l'extrait avec 2mL de chlorure d'aluminium à 10% (préparé dans l'éthanol) ;
- Additionner 3mL de l'acétate de sodium à 5% ;
- Incuber les tubes pendant 2h30 min à 20°C, puis mesurer l'absorbance à 440nm.

Dans des conditions expérimentales semblables, une gamme d'étalonnage a été préparée à partir de la quercétine à des concentrations allant de 290 jusqu'à 1143 µg/mL. Les résultats obtenus ont été exprimés en µg E Q/mg d'extrait sec.

### **4.4. Dosage des saponines**

La détermination du taux de saponines présents dans les extraits étudiés a été réalisée suivant la méthode décrite par **Hiai et al., (1976)** et **Patel et al., (2015)**. Dans cette méthode, l'acide sulfurique induit l'oxydation des saponines avec la vanilline, produisant ainsi une coloration violette mesurable à 544 nm. L'intensité de la couleur obtenue est proportionnelle à la teneur en saponines présents dans les différents extraits testés.

#### **Mode opératoire (Hiai et al., 1976 ; Patel et al., 2015)**

- Mélanger 50µL de l'extrait avec 500µL d'une solution de vanilline 8% (préparées dans l'éthanol) et 5mL d'acide sulfurique H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (72%) ;
- Vortexer les mélanges et incuber au bain marie à 60°C pendant 10 min ;
- Refroidir les tubes dans un bain de glace pendant 15 min ;
- Lire l'absorbance à 544 nm contre un tube blanc.

Une gamme étalon de l'acide oléanolique été préparée comme contrôle positif avec des concentrations croissantes allant de 50 à 1000 µg/mL. Les résultats obtenus ont été exprimés en microgramme équivalent acide oléanolique par milligramme d'extrait sec (µg E AO/mg d'extrait sec).

#### **5. Identification des composés phytochimiques par LC-MS**

Les extraits et fractions des deux plantes étudiées ayant montré les effets antioxydant et antidiabétique les plus puissants ont été sélectionnés pour faire l'objet d'une analyse chromatographique UHPLC-DAD-ESI/MS (LC-MS), cette dernière a été réalisée au sein du laboratoire de chimie en Portugal, la procédure de l'analyse a été effectuée comme suit :

Les extraits de plantes ont été analysés dans un équipement UHPLC Ultimate 3000 (Dionex Co., San Jose, CA, USA), couplé à un détecteur UV (Dionex Co., San Jose, CA, USA) et à un spectromètre de masse Thermo LTQ XL (Thermo Scientific, San Jose, CA, USA) équipé d'une interface d'ionisation par électrospray (ESI). L'élution a été effectuée avec un mélange d'acide formique à 0,1 % (v/v) dans l'eau (A) et l'acétonitrile (B). Le système de colonne était un Hypersil Gold (Thermo Scientific, USA) C18 (100 mm de longueur ; 2,1 mm de diamètre intérieur ; 1,9 µm de diamètre particulaire ; end-capped). Le débit par défaut a été maintenu à 0,2 ml/min. Le volume d'injection était de 5 µL (5 mg/mL d'extrait). L'instrument fonctionnait en mode ion négatif à une température de 25°C. Le balayage complet a couvert la gamme de masse de m/z 100 à 2000. Les composés phytochimiques ont été identifiés en comparant leurs temps de rétention et leurs spectres UV avec ceux d'étalons purs.

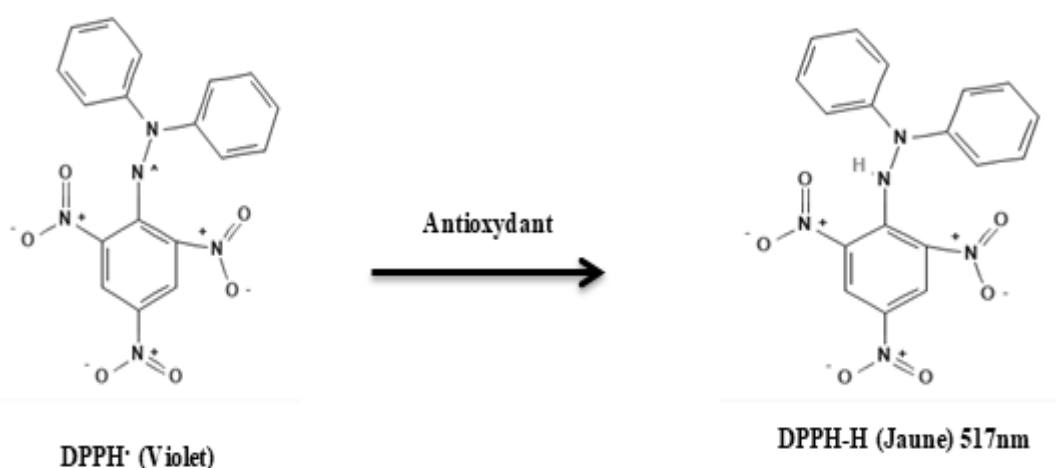
## Partie 2 : Etude des activités biologiques de *Bryonia dioïca* et *Citrullus colocynthis*

### 1. Evaluation de l'activité antioxydante

Les plantes médicinales constituent de véritables sources de molécules bioactives à propriétés biologiques diverses notamment le pouvoir antioxydant. Différentes méthodes ont été développées pour évaluer *in vitro* ou *in vivo* la capacité des molécules phytochimiques de gérer le stress oxydatif. Dans le présent travail, nous nous sommes intéressés à étudier l'éventuel effet antioxydant des extraits de *Bryonia dioïca* et *Citrullus colocynthis*. Quatre différents tests *in vitro* ont été réalisés : Le test de piégeage du radical libre DPPH, le test du pouvoir réducteur du fer, le test de blanchiment de  $\beta$ -carotène, et le test de l'effet cytoprotecteur des hématies contre l'état de stress induit par l'AAPH.

#### 1.1. Evaluation de l'effet des extraits sur le piégeage du radical libre DPPH

Le test de DPPH (2,2 DiPhenyle-1-Picryl-Hydrazyle) est la méthode la plus utilisée pour évaluer l'activité antioxydante par piégeage des radicaux libres du fait de sa simplicité, sa rapidité et sa reproductibilité. Cette méthode est basée sur la réduction du radical azoté instable DPPH $^{\bullet}$  de couleur violette en DPPH-H de couleur jaune (**Figure 29**). La mesure de l'effet antiradicalaire se fait par mesure de la diminution de la coloration violette par spectrophotomètre à 515-518 nm (**Popovici et al., 2009**).



**Figure 29:** Mécanisme réactionnel de réduction du DPPH $^{\bullet}$  en DPPH-H

#### Mode opératoire

La capacité de piégeage du radical libre DPPH est effectuée suivant le protocole décrit par **Kumar et al., (2008)** ;

- Préparation de la solution du DPPH à une concentration de 0,0025g/100ml dans du méthanol ;
- L'ajout de 50 µl de l'extrait testé à différentes concentrations à 1950 µl de la solution méthanolique du DPPH ;
- Agitation et incubation pendant 30 min à l'abri de la lumière et à température ambiante ;
- Mesure de l'absorbance à 517 contre un blanc pour chaque concentration.

Dans les mêmes conditions opératoires, nous avons utilisé l'acide ascorbique comme contrôle positif.

Les essais ont été répétés trois fois pour chaque concentration et la valeur moyenne des absorbances a été utilisée pour le calcul du pouvoir antiradicalaire exprimé en pourcentage de réduction du DPPH selon la formule suivante :

$$\% \text{ DPPH} = [(A_{\text{contrôle}} - A_{\text{échantillon}}) / A_{\text{contrôle}}] * 100$$

% DPPH : Pourcentage de réduction du DPPH

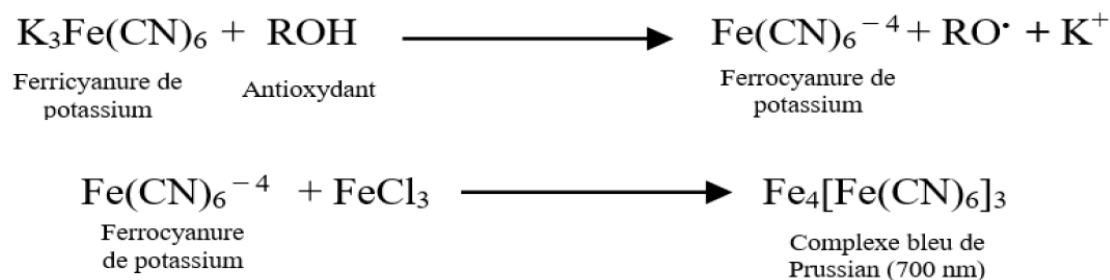
A<sub>contrôle</sub> : Absorbance de la solution méthanolique du DPPH

A<sub>échantillon</sub> : Absorbance de l'échantillon (extraits ou molécule de référence)

Les équations de régression linéaire des courbes des pourcentages d'inhibition du DPPH en fonction des concentrations des extraits ont servis à la détermination de la valeur de IC<sub>50</sub>, la concentration inhibitrice de 50% du DPPH, de chaque extrait.

## **1.2. Evaluation de l'effet des extraits sur la réduction du fer (FRAP)**

Le test du pouvoir réducteur du fer FRAP (Ferric reducing antioxidant power) est l'une des méthodes que nous avons effectuées afin d'évaluer l'activité antioxydante des extraits des racines de *Bryonia dioïca* et les extraits des fruits de *Citrullus colocynthis*. Le principe de ce test consiste à une réaction d'oxydo-réduction entre l'extrait et les ions métalliques de transitions telles que le fer (**Figure 30**). Le ferricyanure de potassium présente une source des ions ferriques (Fe<sup>3+</sup>) qui seront par la suite oxydés en fer ferreux (Fe<sup>2+</sup>) par le biais des antioxydants contenus dans les extraits végétaux. L'ajout du chlorure de fer aux ions Fe<sup>2+</sup> donne une coloration bleue qui va être un paramètre de mesure de l'effet réducteur du fer. Plus l'intensité de couleur est importante plus le pouvoir réducteur du fer est élevé (**Li et al., 2008 ; Bursal et köksal, 2011**).



**Figure 30:** Mécanisme réactionnel de réduction du fer ferrique en fer ferreux (Apak et al., 2016; Sadeer et al., 2020)

### Mode opératoire

Pour déterminer le pouvoir réducteur du fer, nous avons suivis la méthode décrite par Karagözler et al., (2008);

- Ajouter à 100 µl d'extrait à différentes concentrations, 250 µl du tampon phosphate (0,2M ; pH 6,6) et 250µl du ferricyanure de potassium  $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$  à 1% ;
- Incuber le mélange pendant 20 min à 50°C ;
- Ajouter 250 µl d'acide trichloracétique (TCA) à 10% ;
- Centrifuger à 2000 rpm pendant 10 min ;
- Mélanger 500µl du surnageant avec 500 µl d'eau distillée et 100 µl de chlorure de fer ( $\text{FeCl}_3$ ) à 1% ;
- Déterminer les absorbances contre un blanc à 700 nm.

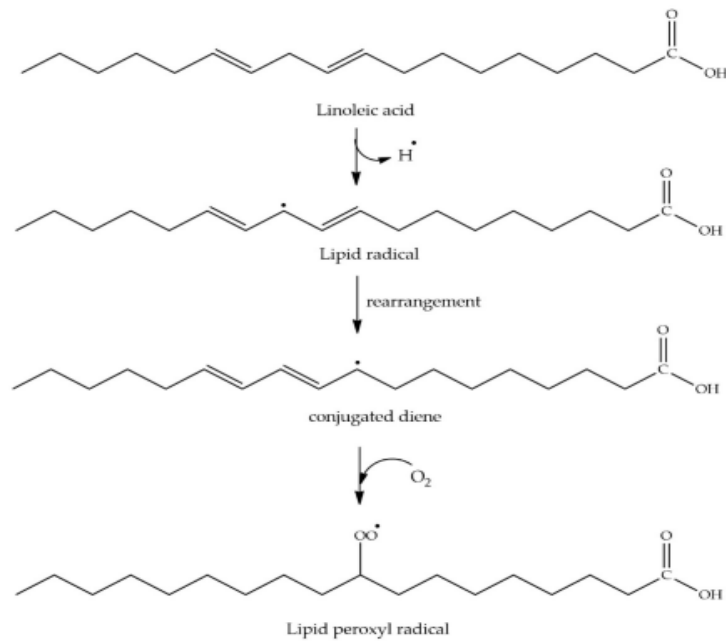
La BHA a été évaluée dans les mêmes conditions opératoires comme contrôle positif.

Les équations de régression linéaire des courbes des absorbances de chaque extrait en fonction des concentrations de l'échantillon permettent de déterminer la concentration efficace qui correspond à l'absorbance 0,5 ( $\text{EC}_{50}$ ).

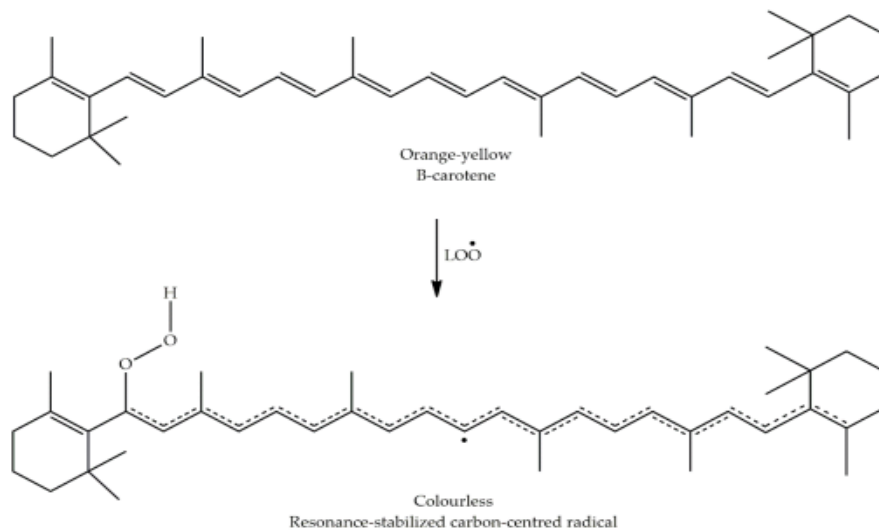
### 1.3. Evaluation de l'effet des extraits sur le blanchiment de $\beta$ -carotène

Le pouvoir protecteur des différents extraits préparés contre la peroxydation lipidique a été évalué par le test de blanchiment de  $\beta$ -carotène. Cette méthode est basée sur l'oxydation de  $\beta$ -carotène par les produits d'oxydation de l'acide linoléique (Les hydroperoxydes conjugués diène) en présence d' $\text{O}_2$  (Figures 31 et 32). La  $\beta$ -carotène ainsi oxydée perd sa couleur orange qui absorbe à 470 nm, la présence d'un antioxydant empêche son blanchiment via la neutralisation des radicaux libres résultants de l'oxydation de l'acide linoléique (Figure 33)

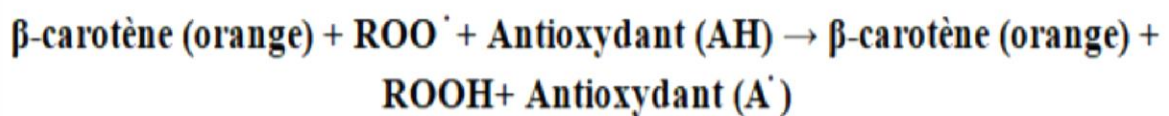
(Laguerre *et al.*, 2007 ; Foti et Amorati, 2009 ; Kadri *et al.*, 2011 ; Ghedadba *et al.*, 2015).



**Figure 31:** Réaction de l'oxydation de l'acide linoléique (Sadeer *et al.*, 2020)



**Figure 32:** Réaction de l'oxydation de β-carotène (orange) par l'acide linoléique oxydé (Sadeer *et al.*, 2020)



**Figure 33:** Réaction d'inhibition de blanchiment de β-carotène en présence d'antioxydant (Martins *et al.*, 2015)

## Mode opératoire

Nous avons suivi le protocole décrit par **Koleva et al., (2002)** et **Ghalem et al., (2014)** ;

- Dissoudre 2 mg de  $\beta$ -carotène dans 20 ml de chloroforme ;
- Prélever 4 ml de cette solution dans une fiole contenant 40mg d'acide linoléique et 400mg de tween 40 ;
- Evaporer le chloroforme et ajouter 100 ml de l'eau saturée en oxygène, puis agiter vigoureusement le mélange ;
- Additionner 3 ml de l'émulsion ( $\beta$ -carotène/acide linoléique) à 200  $\mu$ l de l'extrait à différentes concentrations;
- Mesurer immédiatement l'absorbance du contrôle à 470 nm ;
- Incuber à 50°C pendant 120 min, ensuite lire l'absorbance des échantillons testés à 470nm.

Dans les mêmes conditions le BHA et la quercétine ont été testés comme contrôles positifs. L'activité antiradicalaire des extraits a été évaluée selon la formule suivante :

$$\% \text{ d'inhibition} = ((A_{\text{éch}} - A_{\text{cf}}) / (A_{\text{c0}} - A_{\text{cf}})) * 100$$

$A_{\text{éch}}$  : Absorbance de l'extrait ou la molécule de référence ;

$A_{\text{c0}}$  : Absorbance du contrôle en absence de l'extrait ou la molécule de référence à  $t_0$  min ;

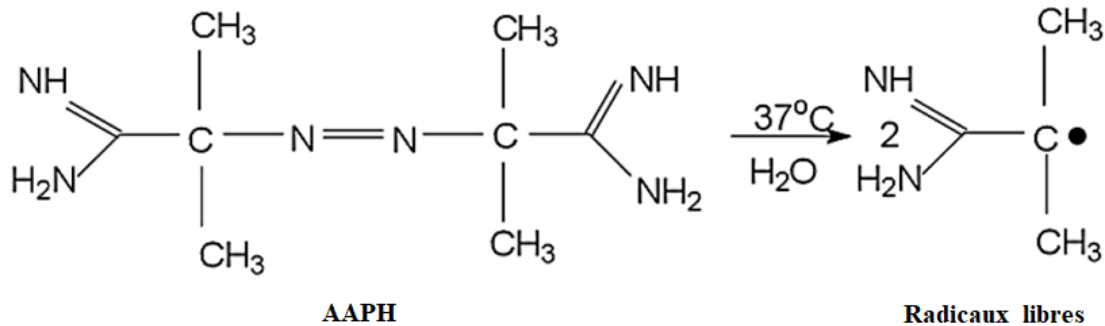
$A_{\text{cf}}$  : Absorbance du contrôle en absence de l'extrait ou la molécule de référence à  $t_{120}$  min

La concentration correspondante à 50% d'inhibition de  $\beta$ -carotène ( $IC_{50}$ ) a été déterminée à partir des équations de régression linéaire des courbes des pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations des extraits.

### **1.4. Evaluation de l'effet cytoprotecteur des extraits sur les hématies contre l'attaque radicalaire du AAPH [2,2-azobis (2 amidinopropane) dihydrochloride]**

L'effet cytoprotecteur des extraits des racines de la bryone et des fruits de la coloquinte sur les hématies a été évalué par le test de l'AAPH. Cette méthode repose sur l'oxydation des lipides membranaires des globules rouges soumis à une agression radicalaire provoquant une peroxydation lipidique et par la suite une hémolyse. Dans le milieu réactionnel, la décomposition thermique de l'AAPH (**Figure 34**) génère des radicaux libres qui attaquent la membrane des érythrocytes. Ces dernières perdent leur résistance après un épuisement des

antioxydants endogènes et se lysent, ce qui conduit à la libération de l'hémoglobine dans le milieu. Le taux de l'hémolyse est suivi par spectrophotométrie à 545 nm ; la présence des antioxydants dans le milieu réactionnel sert à la diminution du taux d'hémolyse (**Dai et al., 2006; Bessada et al., 2015**).



**Figure 34:** Réaction de la décomposition thermique de l'AAPH (**Werber et al., 2011**)

### Préparation de la suspension érythrocytaire

- Prélèvement du sang chez une personne saine volontaire dans un tube hépariné (4mL du sang) ;
- Centrifugation du sang total (1500 rpm ; 10min ; 4°C) et récupération du culôt ;
- Lavage du culôt trois fois par une solution NaCl (0,9%) ;
- Elimination du surnageant et dilution du culôt dans le tampon phosphate salin PBS (10 mM ; pH 7,4) pour obtenir une suspension érythrocytaire à 20%.

### Mode opératoire

Nous avons utilisé le protocole décrit par **Bureau et al., (2005)** légèrement modifié ;

- A 200µl de la suspension érythrocytaire (20%), ajouter 200 µl de l'extrait à différentes concentrations ;
- Incuber à 37°C pendant 10 min ;
- Additionner 400µl de AAPH (100mM) et incuber une deuxième fois pendant 2h à 37°C ;
- Ajouter 1 ml de PBS (10 mM ; pH 7,4) et centrifuger à 1500 rpm pendant 5min ;
- Mesurer l'absorbance du surnageant à 540nm.

En parallèle et dans les mêmes conditions, l'acide ascorbique a été testé pour son effet protecteur contre l'hémolyse comme molécule de référence.

Les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition de l'hémolyse selon la formule suivante:

$$\text{Hémolyse (\%)} = ((A_C - A_E) / A_C) * 100$$

Hémolyse (%): Pourcentage d'inhibition de l'hémolyse

$A_E$  : Absorbance de l'extrait ou la molécule de référence

$A_C$  : Absorbance du contrôle

## **2. Evaluation *in vitro* de l'activité antidiabétique**

Des méthodes *in vitro* et *in vivo* sont utilisées pour évaluer l'activité antidiabétique des extraits de plantes. Dans cette étude, nous nous sommes intéressés à l'évaluation *in vitro* de l'effet antidiabétique des extraits de la bryone et de la coloquinte sur l'activité des enzymes intestinales  $\alpha$ -amylase et  $\alpha$ -glucosidase, sur la glycation non enzymatique de la BSA, et sur la captation du glucose par les hémi-diaphragmes isolés de rats Wistar.

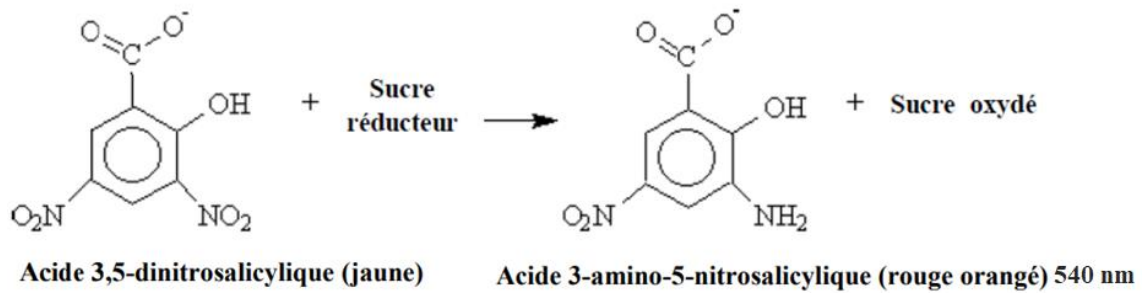
### **2.1. Evaluation de l'effet des extraits sur l'activité de l' $\alpha$ -amylase**

Au cours du présent travail, les 14 extraits préparés à partir des deux plantes ont été testés *in vitro* pour leur éventuel effet inhibiteur de l'activité de l' $\alpha$ -amylase d'origine porcine en utilisant la méthode en point terminal et la méthode de la cinétique enzymatique.

#### **2.1.1. Méthode en point terminal**

##### ***Principe***

Selon la méthode colorimétrique de **Bernfeld, (1955)** l'hydrolyse de l'amidon par l' $\alpha$ -amylase permet la libération des sucres réducteurs dans le milieu réactionnel, qui sont rapidement oxydés par l'acide 3,5-dinitrosalicylique (DNSA) à chaud et à pH alcalin. En conséquence, le DNSA de couleur jaune orange est réduit en acide 3-amino-5-nitrosalicylique de couleur rouge orange qui absorbe à 540nm (**Figure 35**). L'intensité de la coloration est proportionnelle aux taux des sucres réducteurs libérés.



**Figure 35:** Réaction de réduction du DNSA par les sucres réducteurs (Wood *et al.*, 2012)

#### *Préparation de la solution enzymatique*

L' $\alpha$  amylase porcine pancréatique (EC 3.2.1.1 ; Sigma Aldrich) a été récupérée sous forme lyophilisée avec une activité spécifique de 13UI/mg. 3mg de cette enzyme a été solubilisée dans 10 ml du tampon phosphate (0,02M ; NaCl 6,7mM ; pH 6,9) pour préparer une solution enzymatique à 3,9UI/ml.

#### *Préparation du substrat*

Dans 100 ml du tampon phosphate (0,02M ; NaCl 6,7 mM ; pH 6,9) 0,5 g d'amidon soluble de pomme de terre (Merck) a été solubilisé sous agitation et à chaud (60°C).

#### *Préparation du réactif 3,5-dinitrosalicylique (DNSA)*

Pour obtenir le réactif chromogène, caractérisé par sa couleur orange, deux solutions ont été préparées et mélangées :

- ✓ **Solution 1** ; constituée de 30g de tartrate double sodium/potassium solubilisés sous agitation dans 20 ml de NaOH (2N) préchauffée à 60°C;
- ✓ **Solution 2** ; contenant 1 g de l'acide 3,5-dinitrosalicylique dissout dans 40 ml d'eau distillée préchauffée (50°C).

Le mélange des deux solutions est ajusté à 100ml avec de l'eau distillée. Le réactif obtenu est conservé à l'abri de la lumière jusqu'à son utilisation.

#### **Mode opératoire (Kim *et al.*, 2005; Laoufi *et al.*, 2017)**

- Dans des tubes à hémolyse, 200 $\mu$ L d'extrait ou d'acarbose (LARIMEL) à différentes concentrations, préparés dans le tampon phosphate (0,02M ; NaCl 6,7mM ; pH 6,9), sont mélangés avec 200 $\mu$ l de la solution  $\alpha$ -amylase;

- Incuber les tubes à 37°C pendant 10 min, puis ajouter 200 µl du substrat (Amidon à 5 mg/ml) ;
- Incuber une deuxième fois les tubes à 37°C pendant 15 min ;
- Placer les tubes dans un bain marie bouillant (100°C) pendant 8 min après l'ajout de 600µl du réactif DNSA ;
- Refroidir les tubes dans un bain glaçant durant 4min, puis ajouter 1ml d'eau distillée et mesurer l'absorbance à 540 nm.

Les résultats de l'activité inhibitrice de l' $\alpha$ -amylase sont exprimés en pourcentage d'inhibition selon la formule ci-dessous. Ils sont également exprimés en valeurs de  $IC_{50}$ , concentration de l'échantillon inhibant 50% de l'activité enzymatique, qui sont déterminées graphiquement à partir des équations des courbes du pourcentage d'inhibition=f(concentration de l'échantillon):

$$\text{Inhibition } \alpha\text{-amylase (\%)} = [(A_C - A_E) / A_C] * 100$$

Ac : Absorbance du contrôle (sans extrait ou standard) ; AE : Absorbance de l'extrait ou de l'acarbose

### **2.1.2. Méthode en cinétique enzymatique**

Les extraits testés sur l'  $\alpha$  amylase en point terminal, et ayant montré un effet intéressant ont été sélectionnés pour étudier leur effet sur la cinétique de l' $\alpha$ -amylase pour déterminer les paramètres de la cinétique enzymatique  $K_m$  et  $V_{max}$ , ainsi que le mode d'inhibition. Pour cela, nous avons sélectionné les extraits BEA<sub>Acét</sub>, BChM, CEA<sub>Acét</sub> et CChM, en modifiant les concentrations du substrat (0,1%, 0,5% et 0,7%), de l'acarbose (2 ; 13 et 15 µg/mL), et des extraits CChM (100, 108 et 113 µg/mL) ; CEA<sub>Acét</sub> (33 ; 64 et 83 µg/mL) ; BChM (267 ; 301 et 333 µg/mL) et BEA<sub>Acét</sub> (100 ; 146 et 167 µg/mL).

#### **Mode opératoire (Kim et al., 2005; Laoufi et al., 2017)**

Après incubation de 200 µL des extraits ou d'acarbose avec 200 µL de l' $\alpha$ -amylase (concentration finale 1,3 UI/mL) pendant 10min, 200µL de l'amidon à différentes concentrations ont été ajoutés. La réaction enzymatique a été suivie à différents intervalles de temps, à 1, 2, 4, 6 et 8 min, à chaque intervalle le DNSA (600µL) est ajouté dans chaque milieu réactionnel. Ensuite, les tubes sont portés au bain marie bouillant pendant 8 min, puis

ils sont placés dans un bain de glace pendant 4 min. 1mL d'eau distillée a été ajoutée dans tous les tubes et l'absorbance a été mesurée à 540 nm au spectrophotomètre.

Une gamme étalon du maltose, comme produit d'hydrolyse de l'amidon par l' $\alpha$ -amylase, a été préparée à différentes concentrations.

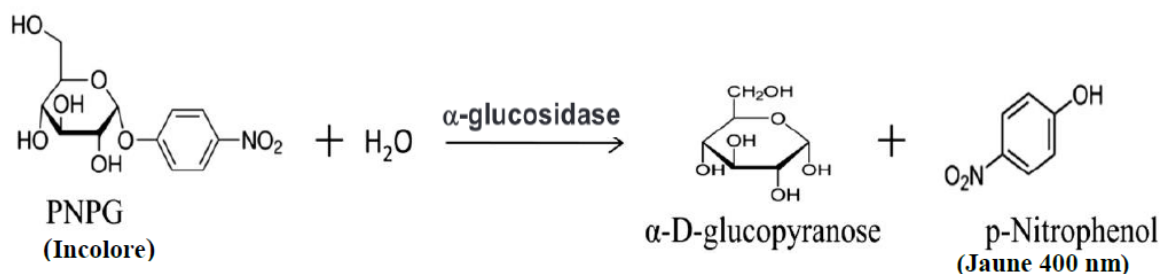
La vitesse initiale a été estimée à partir de la courbe : Produit en fonction du temps  $P = f(t_{min})$  où P: Produit ; t : Temps

Le mode d'inhibition de l'enzyme a été déterminé à partir des courbes de Lineweaver-Burk (doubles inverses) ( $1/V_i$ ) en fonction de ( $1/[S]$ ) dont  $V_i$  est la vitesse initiale et S est le substrat ; et par le calcul des paramètres cinétiques : Vitesse maximale ( $V_{max}$ ) et la constante de Michaelis ( $K_m$ ) en présence et en absence de l'inhibiteur où :  $V_{max} = 1/b$  et  $K_m = a * V_{max}$ .

## 2.2. Evaluation de l'effet des extraits sur l'activité de l' $\alpha$ -glucosidase

### Principe

Pour l'évaluation de l'effet des extraits des deux espèces étudiées sur l'activité de l' $\alpha$ -glucosidase de l'extrait enzymatique brut intestinal isolé au laboratoire de rats Wistar, nous avons utilisé la méthode colorimétrique en point terminal basée sur l'hydrolyse du para-Nitrophényl-  $\alpha$ -D-Glucopyranoside (pNPG, composé incolore) sous l'action de l' $\alpha$ -glucosidase en glucose et en para-nitrophénol (pNP). Ce dernier, en présence de carbonate de sodium ( $Na_2CO_3$ ), développe une coloration jaune (**Figure 36**) qui absorbe à 400nm (**Dejob, 2013 ; Assefa et al., 2019**). L'intensité de la coloration développée est proportionnelle à la quantité de glucose libéré dans le milieu réactionnel.



**Figure 36:** Principe de la réaction d'hydrolyse de pNPG par l' $\alpha$ -glucosidase (**Mohiuddin et al., 2016**)

### Préparation de l'extrait enzymatique intestinal brut

Des rats Wistar (n=7 ; 170 à 250 g ; des deux sexes) de l'animalerie de la Faculté SNV-STU, hébergés dans des conditions contrôlées (cycle lumière/obscurité de 12 heures, 25°C, 50% d'humidité) avec accès libre à l'aliment standard et à l'eau de robinet ont été utilisés. Les rats à jeûn ont été sacrifiés sous anesthésie intrapéritonéale au pentobarbital (30 mg/kg) afin de récupérer l'extrait enzymatique intestinal brut selon les protocoles de **Lee H. S., (2005); Yao et al., (2013)** et **Laoufi et al., (2017)**.

Après incision de la cavité abdominale, un segment de l'intestin grêle (30 cm de long) a été récupéré 10 cm après le pylore du duodénum jusqu'à l'ileum. Ce segment a été soigneusement lavé avec une solution saline glacée à l'aide d'une sonde de gavage, puis il est incisé sur sa longueur afin de gratter délicatement la muqueuse intestinale dans du tampon phosphate (pH 6,8 ; 67 mM) en utilisant un verre de montre. La suspension intestinale obtenue (15ml) a été homogénéisée par sonication dans de la glace, puis centrifugée à 6 000 tr/min pendant 20 minutes à 4 °C et le surnageant a été conservé comme solution enzymatique brute.

En respectant les conditions initiales de la saturation de l'enzyme, une cinétique de l'enzyme pour une série de concentration du substrat (pNPG) et de dilution de l'extrait enzymatique a été testée jusqu'à l'obtention d'une activité spécifique de 0,054 UI/mL.

#### **Mode opératoire (Laoufi et al., 2017)**

- ✓ Dans des tubes à essais, 200µL de l'extrait ou l'acarbose à différentes concentrations, sont mélangés avec 200µL de l'extrait brut enzymatique contenant de l'  $\alpha$ -glucosidase (0,054 UI/mL), 300 µL du substrat pNPG (10 mmol/L), et 1000 µL du tampon PBS (67mM ; pH 6,8);
- ✓ Incuber la réaction pendant 40min à 37°C ;
- ✓ Ajouter 3000µL de carbonate de sodium (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 100mM) dans tous les tubes ;
- ✓ Lire l'absorbance à 400nm contre un tube blanc.

Les résultats de l'activité inhibitrice de l' $\alpha$ -glucosidase sont exprimés en pourcentage d'inhibition selon la formule ci-dessous. Ils sont également exprimés en valeur de IC<sub>50</sub>, déterminée graphiquement à partir des équations des courbes du pourcentage d'inhibition en fonction des concentrations des échantillons.

$$\text{Inhibition } \alpha\text{-glucosidase (\%)} = [(A_C - A_E) / A_C] * 100$$

Ac : absorbance de contrôle négatif ; AE : absorbance de l'extrait ou d'Acarbose (LARIMEL).

### 2.3. Evaluation de l'effet des extraits sur la glycation non enzymatique de sérum albumine bovine (BSA)

L'exposition continue des protéines à des taux élevés en sucres réducteurs comme le glucose ou le fructose conduit à une série de réactions non enzymatiques responsables de la formation de composés fluorescents dits AGE (Advanced Glycation End-products) (Maillard, 1912).

#### Principe

Cette méthode est basée sur la mesure de la quantité des AGE, produits fluorescents, issus de la fixation de sucres réducteurs (glucose, fructose) sur les fonctions amines de l'albumine via des réactions non enzymatiques irréversibles après quelques jours voire quelques semaines d'incubation (Figure 37). Une inhibition de la glycation protéique se traduit par une faible production des AGEs, dont la quantité formée est déterminée par fluorimétrie en mesurant la fluorescence à une longueur d'onde d'excitation 335nm et d'émission 440nm (Gottschalk, 1972).

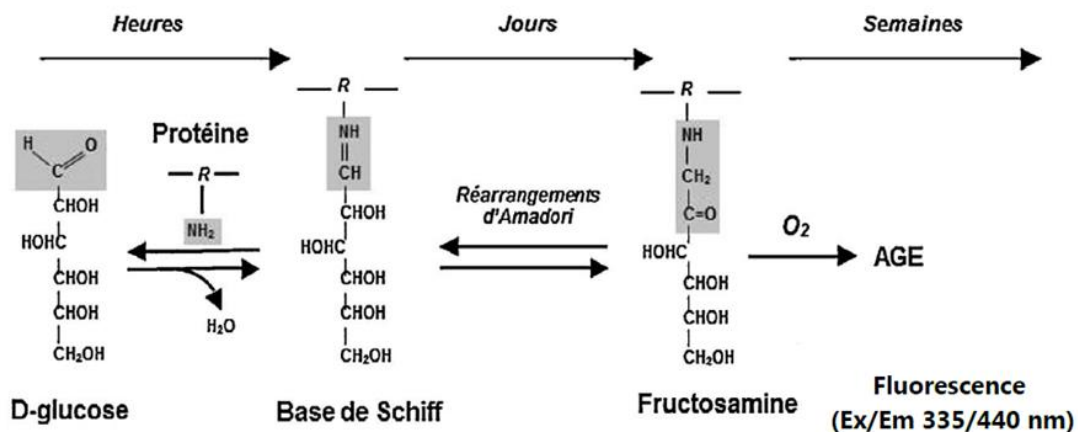


Figure 37: Réaction de Maillard (Wautier *et al.*, 2014)

#### Mode opératoire

L'activité antiglycation des extraits des plantes étudiées sur la BSA (Sigma Aldrich A7906-10G) a été évaluée selon les protocoles de Vinson et Howard, (1996) et Yoon et Shin, (2015) légèrement modifiés.

Dans des conditions stériles, le test d'antiglycation a été effectué comme suit :

- Mélanger 400  $\mu\text{L}$  de BSA (10mg/mL) avec 400  $\mu\text{L}$  d'extrait ou standard (Aminoguanidine, acide ascorbique) à différentes concentrations et préparés dans le tampon phosphate (0,1M; pH 7,4);

- Ajouter 400 µL du mélange glucose/fructose (0,2M) préparé instantanément;
- Additionner 100 µL de l'azide de sodium NaN<sub>3</sub> (0,02%) dans tous les tubes ;
- Incuber les tubes à 37°C pendant 3 semaines ;
- Mesurer la fluorescence à une longueur d'onde d'excitation 335nm et d'émission 440nm.

Les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition selon la formule suivante, et les valeurs d'IC<sub>50</sub> sont déterminées à partir des équations des courbes du pourcentage d'inhibition en fonction des concentrations des échantillons ou standard.

$$\text{Inhibition AGE (\%)} = ((F_0 - F_i) / F_0) * 100$$

F<sub>0</sub> = Fluorescence du contrôle négatif ; F<sub>i</sub> = fluorescence de l'extrait ou standard.

#### **2.4. Evaluation de l'effet des extraits sur la captation du glucose par héli-diaphragme**

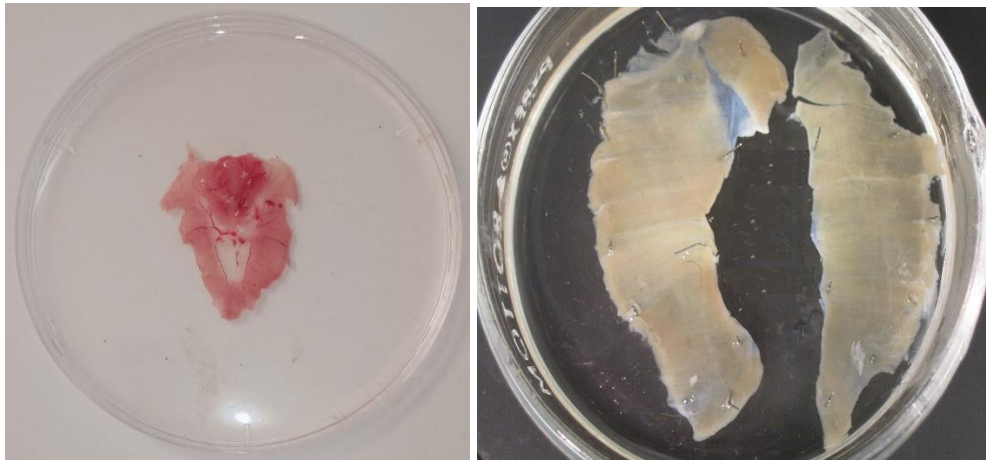
La régulation de la glycémie via le développement de nouveaux médicaments antidiabétiques à base de composés phytochimiques qui miment ou stimulent l'action de l'insuline dans les tissus périphériques, notamment le tissu musculaire et le tissu adipeux, est une stratégie alternative (Akdad et Eddouks, 2024). De ce fait, nous avons cherché *in vitro* l'effet de *B. dioica* et *C. colocynthis* sur la captation du glucose par héli- diaphragme.

##### ***Préparation de la solution tyrode***

La solution tyrode a été préparée à partir des composés suivants : Chlorure de sodium (NaCl 8g/L); chlorure de potassium (KCl 0,2 g/L); chlorure de magnésium (MgCl 0,75g/L); (NaHCO<sub>3</sub> 1g/L); dihydrogénophosphate de sodium (NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0,05g/L); chlorure de calcium (CaCl<sub>2</sub> 0,2g/L) et glucose (2g/L). Le pH de cette solution varie entre 7,2 et 7,6.

##### ***Préparation des héli-diaphragmes***

L'effet des extraits acétate d'éthyle et chloroforme-méthanol de *B. dioica* et *C. colocynthis* sur la captation du glucose a été évalué sur les héli-diaphragmes isolés de rat Wistar (n = 24) des deux sexes (180 à 250 g). Les rats mis à jeun la veille de la manipulation ont été sacrifiés sous anesthésie intrapéritonéale au pentobarbital (30 mg/kg). Les diaphragmes (**Figure 38**) ont été soigneusement disséqués et bien rincés dans une solution Tyrode (sans glucose), puis coupés en deux moitiés égales (héli-diaphragmes).



**Figure 38:** Diaphragme isolé de rat Wistar (Photo de laboratoire)

### Mode opératoire

Les essais de la captation du glucose par les hémi-diaphragmes isolés de rats Wistar ont été réalisés selon les protocoles décrits par **Chattopadhyay et al., (1992)** ; **Ravi et al., (2009)** avec quelques modifications. En utilisant des plaques à puits (12 puits), les hémi-diaphragmes ont été incubés avec les extraits ou les standards dans l'oxygène atmosphérique avec une faible agitation. Deux hémi-diaphragmes provenant du même animal n'ont pas été utilisés pour le même extrait. Le protocole utilisé est comme suit ;

- Dans chaque puit, 3500  $\mu\text{L}$  de la solution tyrode est mélangé avec 500  $\mu\text{L}$  de l'extrait (2,5 et 5mg/mL), l'insuline (0,2 et 0,4 UI/mL), ou la catéchine (2,5 et 5mg/mL);
- Chaque hémi-diaphragme est déposé dans chaque puit ;
- Les plaques à puits sont incubées dans un incubateur agitateur pendant 45min à 37°C et sous agitation (60cycle/min);
- Après chaque 15 min, 10  $\mu\text{L}$  du milieu d'incubation est prélevé pour déterminer le taux de glucose dans le milieu à  $T_{15 \text{ min}}$ ,  $T_{30 \text{ min}}$  et  $T_{45 \text{ min}}$ .

Après incubation, les hémi-diaphragmes ont été retirés et la teneur en glucose du milieu incubé a été mesurée par la méthode enzymatique glucose oxydase (GOD)/peroxydase (POD). L'absorption de glucose a été calculée comme la différence entre la teneur initiale et finale en glucose dans le milieu d'incubation à  $T_{15 \text{ min}}$ ,  $T_{30 \text{ min}}$  et  $T_{45 \text{ min}}$ , respectivement. Les résultats sont exprimés en pourcentages selon la formule suivante :

$$\text{Captation du glucose \%} = ((\text{teneur en glu}_{\text{CN}} - \text{teneur en glu}_{\text{E}}) / \text{teneur en glu}_{\text{CN}}) * 100$$

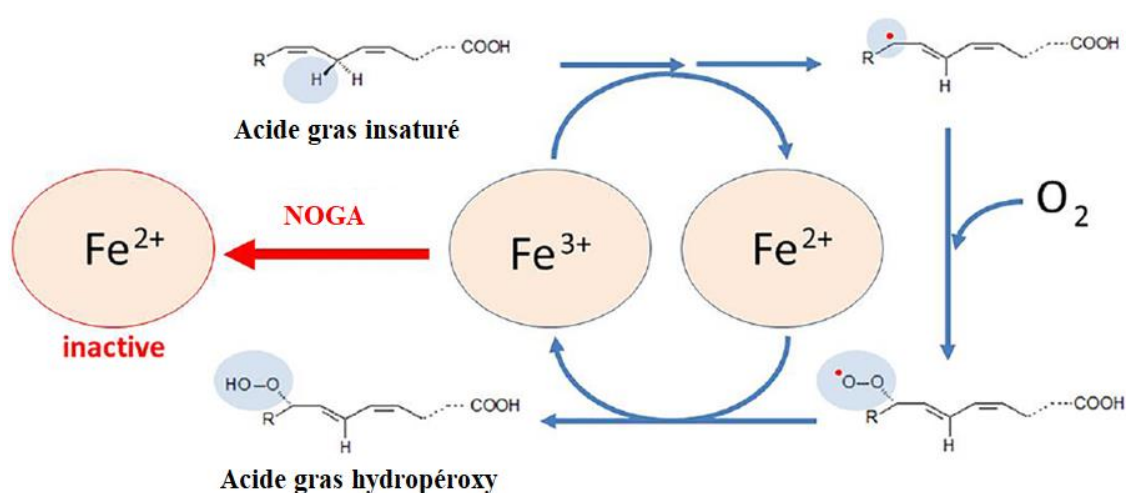
“teneur glu<sub>CN</sub>” et “teneur en glu<sub>E</sub>” représentent les teneurs en glucose du contrôle négatif et de l'échantillon, respectivement.

### 3. Evaluation *in vitro* de l'activité anti-inflammatoire

Dans la présente étude, l'effet anti-inflammatoire des extraits préparés à partir des racines de *Bryonia dioïca* et des fruits de *Citrullus colocynthis* a été évalué *in vitro* par la recherche d'un éventuel effet inhibiteur de l'activité de lipoxigénase (LOX).

#### Principe

Le centre catalytique de LOX contient le fer non hémique qui en association avec l'oxygène permet le cycle redox de l'enzyme. Au début de la réaction enzymatique, les acides gras insaturés tels que l'acide arachidonique et l'acide linoléique subissent une élimination d'hydrogène et un réarrangement d'électrons, convertissant le fer ferrique Fe<sup>3+</sup> en fer ferreux Fe<sup>2+</sup> et produisant ainsi un radical libre. Ensuite, une molécule d'oxygène est prélevée pour former un radical peroxy qui sera par la suite converti en acide gras hydroperoxy avec régénération du Fe<sup>3+</sup>. Ces composés formés possèdent de doubles liaisons conjuguées qui absorbent à 234 nm (**Figure 39**). En présence d'un agent anti-inflammatoire l'action de LOX est inhibée, c'est le cas de l'acide nordihydroguaiarétique (NOGA) qui rompt le cycle redox des LOX et entraîne leur inactivation en maintenant le fer sous la forme Fe<sup>2+</sup> (**Gargouri et al., 1996 ; Gardner, 1979 ; Manda et al., 2020**).



**Figure 39:** Le cycle redox de la lipoxigénase et l'effet de l'acide nordihydroguaiarétique (NOGA) (**Manda et al., 2020**)

#### Mode opératoire

La lipoxigénase de Soja (EC 1.13.11.12 ; L7395-15MU Merck) a été préparée dans le tampon borate (2M ; pH 9) à 200 U/mL (concentration finale). Le substrat l'acide linoléique (25mM), les extraits et le NOGA sont également préparés dans le tampon borate. Ce test a été réalisé selon les protocoles de **Shinde et al., (1999)**; **Kumaraswamy & Satish, (2008)** et **Bekhechi et al., (2024)**, comme suit;

- Dans des tubes à hémolyse 10µL d'extrait ou standard (NOGA, acide gallique) à différentes concentrations sont mélangés avec 10µL de la solution de la lipoxigénase et 1940µL du tampon borate (2M ; pH9) ;
- Incuber les mélanges pendant 5min à température ambiante ;
- Ajouter 10µL du substrat et incuber une deuxième fois pendant 10min à température ambiante ;
- Placer les tubes dans un bain marie bouillant pendant 3min pour arrêter la réaction enzymatique ;
- Laisser refroidir les tubes et mesurer l'absorbance à 234nm contre un tube blanc.

Les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition de la lipoxigénase en utilisant la formule citée ci-dessous, et en valeurs de IC<sub>50</sub> déterminées à partir des courbes des pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations des échantillons.

$$\text{Inhibition LOX (\%)} = ((A_C - A_E)/A_C) * 100$$

A<sub>C</sub> : Absorbance du contrôle négatif (Sans échantillon) ;

A<sub>E</sub> : Absorbance de l'échantillon.

### **Partie 3: Etude statistique**

Les différents tests menés dans notre travail de thèse ont été réalisés au minimum en triplicate. Les résultats ont été exprimés en moyenne ± ES (Erreur Standard). L'analyse statistique a été réalisée par analyse unidirectionnelle de la variance (ANOVA) suivie du test de Tukey pour des comparaisons multiples en utilisant le logiciel Minitab 16. Les histogrammes des résultats de l'analyse statistique ont été réalisés par logiciel Graph Pad Prism 5. La carte thermique de corrélation (Heat map) a été réalisée en utilisant ChiPlot (<https://www.chiplot.online/>) consulté en juin 2025.

### **Partie 4 : Docking moléculaire et analyse du réseau d'interaction biologique (Network)**

## **1. Docking moléculaire**

Pour mieux comprendre et argumenter les effets biologiques des extraits de plantes étudiées un docking moléculaire a été effectué en déterminant l'affinité et les types d'interactions qui peuvent être installés entre les protéines d'intérêt biologique, notamment  $\alpha$ -amylase et  $\alpha$ -glucosidase, et les composés phytochimiques des extraits de racines de *Bryonia dioïca* et des fruits de *Citrullus colocynthis*. Cette étude a été réalisée par Pr. Abdelli I. et son équipe, Laboratoire des substances naturelles et bioactives, Faculté des sciences, Université de Tlemcen, en utilisant des logiciels du docking moléculaire *AutoDock Vina* et les étapes décrites par **Trott et al., (2010)** et **Vina et al., (2020)**. L'interaction entre les protéines et les ligands a été visualisée par *Discovery Studio Visualizer 2021*.

## **2. Analyse du réseau d'interaction biologique (Network)**

Le réseau d'interaction biologique (Network) est une représentation graphique des liens et des relations entre les différents éléments d'un système biologique. Ces éléments peuvent être des gènes, des protéines, des cellules, des organismes, ou des espèces ; et les relations peuvent être des interactions physiques, fonctionnelles, ou évolutives. Dans notre étude, ce réseau permet de mieux comprendre le fonctionnement, visualiser les interactions possibles entre les composés phytochimiques de *B. dioïca* et *C. colocynthis* et les cibles liées au diabète sucré et à l'inflammation, et élucider les voies de signalisation dans lesquelles ces molécules sont impliquées. Pour ce faire, certaines molécules phytochimiques dérivées de *B. dioïca* et *C. colocynthis* ont été sélectionnées de la littérature. Leurs SMILES canoniques ont été ensuite obtenus à partir de la base de données *PubChem* (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) et saisis dans la base de données *CTD* (<https://www.ctdbase.org/>) et la base de données *BindingDB* (<https://www.bindingdb.org/>), en choisissant le mode « homo sapiens » pour identifier les différentes cibles associées aux composés. Les noms génétiques correspondants à ces cibles identifiées ont été extraits des bases de données *UniProtKB* (<https://www.uniprot.org/>) et *OMIM* (<https://www.omim.org/>) en sélectionnant spécifiquement l'option « organisme humain ». En outre, les cibles liées au diabète sucré et à l'inflammation ont été compilées à partir de la base de données *GeneCards* (<https://www.genecards.org/>). Les cibles des composés rassemblés et les cibles liées aux maladies étudiées ont été ensuite analysées à l'aide de l'outil *Venny 2.1.0* (<https://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/>) afin d'identifier et de sélectionner les cibles qui se chevauchent. Enfin, les données obtenues ont été intégrées dans le logiciel *Cytoscape version 3.10.3* pour visualiser et construire un réseau d'interaction entre les composés phytochimiques et leurs cibles.

# Résultats et interprétation

Partie 1 : Etude phytochimique de *Bryonia dioïca* et *Citrullus colocynthis*

1. Rendements et caractéristiques des extraits

La décoction de la poudre des racines de *Bryonia dioïca* et les fruits de *Citrullus colocynthis* dans différents solvants utilisés, eau distillée, eau distillée-solvants organiques a permis d'obtenir des extraits et des fractions sous forme solide, les tableaux n°4 et n°5 résument quelques caractéristiques de ces extraits.

D'après les résultats mentionnés dans le tableau ci-dessous, la plupart des extraits et fractions préparés des racines de *Bryonia dioïca* sont sous forme de poudre, et d'autres sous forme de pâte de couleur caractéristique pour chacun. Le rendement d'extraction varie selon le solvant d'extraction utilisé. L'extrait aqueux brut (**BAQ**) donne le rendement le plus élevé (19,4%), suivi par l'extrait hydro-acétone brut (**BEA**) (5,8%) et la fraction n-butanol de l'extrait aqueux (**BAQ<sub>nB</sub>**) (3%). Cependant, les fractions acétate d'éthyle de l'extrait aqueux (**BAQ<sub>Acét</sub>**), n-butanol de l'extrait hydro-acétone (**BEA<sub>nB</sub>**), l'extrait chloroforme-méthanol (**BChM**) et la fraction acétate d'éthyle de l'extrait hydro-acétone (**BEA<sub>Acét</sub>**) présentent les rendements les plus faibles 2,8 ; 2,2 ; 1,55 et 0,4%, respectivement.

Tableau 4 : Caractéristiques des extraits et fractions préparés des racines de *Bryonia dioïca*

Extraits et fractions	Aspect et couleur	Rendement (%)	Solubilité
<b>BAQ</b>	Poudre marron	19,4	Eau distillée
<b>BAQ<sub>Acét</sub></b>	Poudre jaune	2,8	Eau distillée/MeOH (V/V) partielle
<b>BAQ<sub>nB</sub></b>	Poudre orange	3	Eau distillée
<b>BEA</b>	Pâte marron	5,8	Eau distillée/MeOH (V/V)
<b>BEA<sub>Acét</sub></b>	Poudre marron-orange	0,4	Eau distillée/MeOH (V/V)
<b>BEA<sub>nB</sub></b>	Poudre marron	2,2	Eau distillée
<b>BChM</b>	Pâte marron	1,55	Eau distillée/MeOH (V/V)

**BAQ** : Extrait aqueux brut de *B. dioïca* ; **BAQ<sub>Acét</sub>** : Fraction acétate d'éthyle de l'extrait aqueux de *B. dioïca* ; **BAQ<sub>nB</sub>** : Fraction n-butanol de l'extrait aqueux de *B. dioïca* ; **BEA** : Extrait eau-acétone brut de *B. dioïca* ; **BEA<sub>Acét</sub>** : Fraction acétate d'éthyle de l'extrait eau-acétone de *B. dioïca* ; **BEA<sub>nB</sub>** : Fraction n-butanol de l'extrait eau-acétone de *B. dioïca* ; **BChM** : Extrait chloroforme-méthanol de *B. dioïca* . **MeOH** : Méthanol

De même, dans le **tableau n°5** l'ensemble des extraits et fractions préparés à partir des fruits de *Citrullus colocynthis* sont récupérés sous forme solide de couleur marron foncée caractéristique aux extraits **CChM** et **CEA**, et marron clair pour le reste des extraits. Les extraits bruts **CAQ** et **CEA** ont révélé des rendements élevés 15,2 et 11%, respectivement, suivis par l'extrait **CChM** et la fraction **CAQ<sub>nB</sub>** ayant un rendement de 3%. De faibles rendements ont été enregistrés dans les fractions **CEA<sub>nB</sub>**, **CEA<sub>Acét</sub>** et **CAQ<sub>Acét</sub>**, 2,4 ; 2,2 et 1,8%, respectivement.

L'extrait brut aqueux de la bryone a révélé un taux élevé par rapport à celui de la coloquinte, cependant, les extraits **CEA** et **CChM** ont donné des rendements supérieurs aux extraits **BEA** et **BChM**. Tandis que, les fractions acétate d'éthyle et n-butanol des deux espèces, ont enregistrées de faibles rendements qui ne dépassent pas 2,8%.

**Tableau 5 :** Caractéristiques des extraits et fractions préparés des fruits de *Citrullus colocynthis*

<b>Extraits et fractions</b>	<b>Aspect et couleur</b>	<b>Rendement (%)</b>	<b>Solubilité</b>
<b>CAQ</b>	Poudre marron claire	15,2	Eau distillée
<b>CAQ<sub>Acét</sub></b>	Poudre marron jaune	1,8	Non déterminée
<b>CAQ<sub>nB</sub></b>	Poudre marron clair	3	Eau distillée
<b>CEA</b>	Solide marron foncé	11	Eau distillée/MeOH (V/V)
<b>CEA<sub>Acét</sub></b>	Poudre marron jaune	2,2	Eau distillée/MeOH (V/V)
<b>CEA<sub>nB</sub></b>	Poudre marron jaune	2,4	Eau distillée/MeOH (V/V)
<b>CChM</b>	Solide marron foncé	3	Eau distillée/MeOH (V/V)

**CAQ:** Extrait aqueux brut de *C. colocynthis* ; **CAQ<sub>Acét</sub>** : Fraction acétate d'éthyle de l'extrait aqueux de *C. colocynthis*; **CAQ<sub>nB</sub>** : Fraction n-butanol de l'extrait aqueux de *C. colocynthis* ; **CEA:** Extrait eau-acétone brut de *C. colocynthis* ; **CEA<sub>Acét</sub>** : Fraction acétate d'éthyle de l'extrait eau-acétone de *C. colocynthis* ; **CEA<sub>nB</sub>** : Fraction n-butanol de l'extrait eau-acétone de *C. colocynthis*; **CChM:** Extrait chloroforme-méthanol de *C. colocynthis* ; **MeOH** : Méthanol

## 2. Screening phytochimique

Afin de vérifier la présence de certains métabolites secondaires dans les extraits et les fractions préparés des racines de la bryone et des fruits de la coloquinte, nous avons procédé un screening phytochimique. Les résultats (**tableaux n°6 et n°7**) ont été obtenus à partir des observations de développement de coloration ou l'apparition de précipitation.

Le screening phytochimique effectué sur les extraits de *Bryonia dioïca* (**Tableau n° 6**) a révélé la présence de flavonoïdes, alcaloïdes, composés réducteurs et l'absence des tanins, des quinones et des antraquinones dans tous les extraits et fractions testés. Cependant, les terpénoïdes et les saponines n'ont été présents que dans l'extrait **BEA**, sa fraction **BEA<sub>Acét</sub>**, ainsi que l'extrait **BChM**. Selon l'intensité de la coloration, les composés phytochimiques ont été fortement présents dans certains extraits et faiblement enregistrés dans d'autres. Comme indiqué, l'extrait chloroforme-méthanol de la bryone (**BChM**) a révélé par rapport aux autres extraits des tests fortement positifs pour les flavonoïdes, les composés réducteurs, et les alcaloïdes et moyennement positifs pour les terpénoïdes.

**Tableau 6** : Screening phytochimiques des différents extraits des racines de *Bryonia dioïca*.

	<b>BAQ</b>	<b>BAQ<sub>nB</sub></b>	<b>BAQ<sub>Acét</sub></b>	<b>BEA</b>	<b>BEA<sub>nB</sub></b>	<b>BEA<sub>Acét</sub></b>	<b>BChM</b>
<b>Saponines (cm)</b>	0,2	-	-	0,8	0,2	0,7	0,8
<b>Tanins</b>	-	-	-	-	-	-	-
<b>Flavonoïdes</b>	+	+	+	+	+	++	+++
<b>Quinones libres</b>	-	-	-	-	-	-	-
<b>Antraquinones</b>	-	-	-	-	-	-	-
<b>Composés réducteurs</b>	+++	+++	+++	++++	++++	++	+++
<b>Alcaloïdes :</b>							
<b>Wagner</b>	+	+	++	++	++	+++	+++
<b>Mayar</b>	+	++	+	++	+	+++	++
<b>Terpénoïdes :</b>							
<b>Slawoski</b>	-	-	-	++	-	++	++
<b>Lieberman</b>	-	-	-	-	-	-	-

**BAQ**: Extrait aqueux brut de *B. dioïca* ; **BAQ<sub>Acét</sub>**: Fraction acétate d'éthyle de l'extrait aqueux de *B. dioïca* ; **BAQ<sub>nB</sub>**: Fraction n-butanol de l'extrait aqueux de *B. dioïca* ; **BEA**: Extrait eau-acétone brut de *B. dioïca* ; **BEA<sub>Acét</sub>**: Fraction acétate d'éthyle de l'extrait eau-acétone de *B. dioïca* ; **BEA<sub>nB</sub>**: Fraction n-butanol de l'extrait eau-acétone de *B. dioïca* ; **BChM**: Extrait chloroforme-méthanol de *B. dioïca* .  
 (+) : Test positif ; (-) : Test négatif

Dans le **tableau n°7** ci-dessous, nous avons noté la présence des flavonoïdes, quinones libres, composés réducteurs, alcaloïdes et des terpénoïdes dans l'ensemble des extraits et fractions de fruits de coloquinte testés. Tandis que les saponines, les tanins et les antraquinones ont

présenté des tests négatifs. Parmi les extraits étudiés, nous avons détecté dans l'extrait **CChM** une forte présence de flavonoïdes, de quinones libres et de composés réducteurs.

**Tableau 7 :** Screening phytochimiques des différents extraits des fruits de *Citrullus colocynthis*.

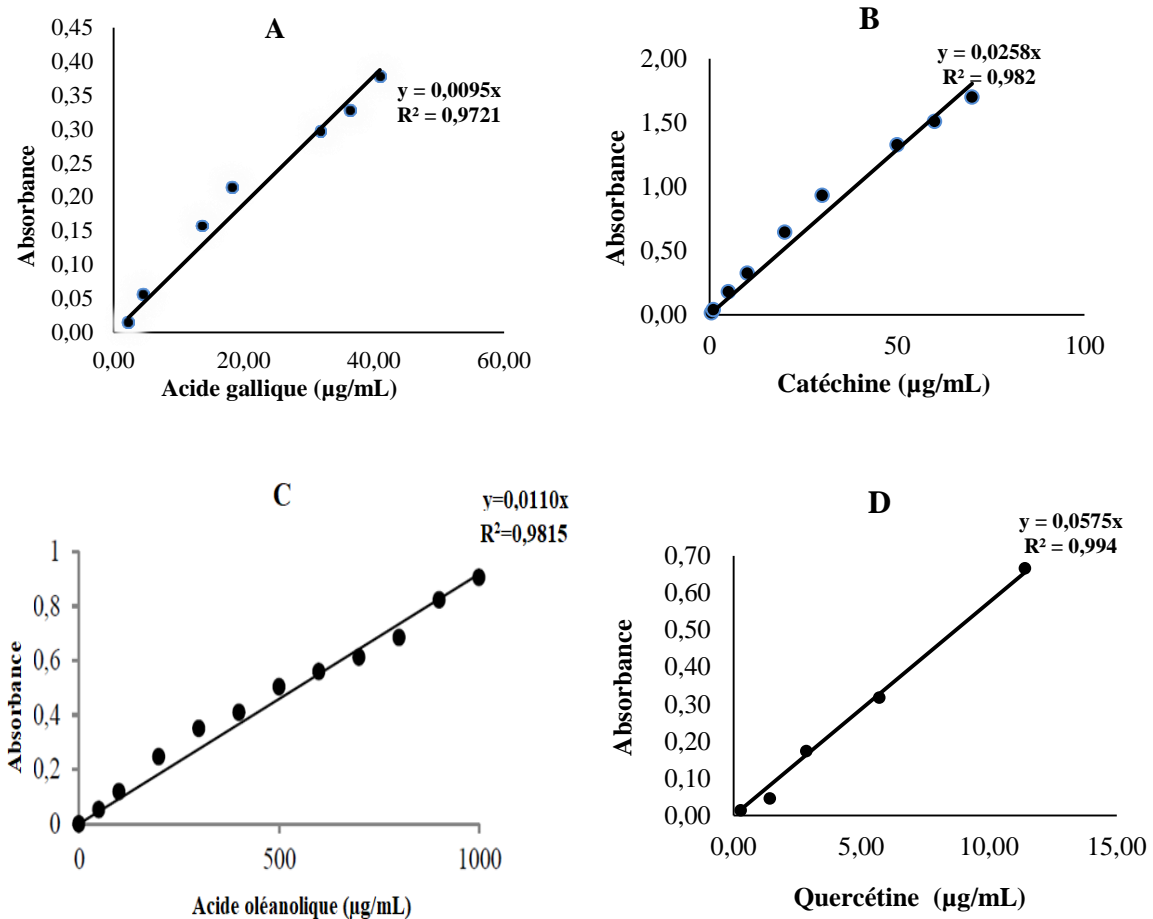
	CAQ	CAQ <sub>nB</sub>	CAQ <sub>Acét</sub>	CEA	CEA <sub>nB</sub>	CEA <sub>Acét</sub>	CChM
<b>Saponines</b>	-	-	-	-	-	-	-
<b>Tanins</b>	-	-	-	-	-	-	-
<b>Flavonoïdes</b>	+	++	++	++	++	++	+++
<b>Quinones libres</b>	+	++	++	++	++	++	+++
<b>Antraquinones</b>	-	-	-	-	-	-	-
<b>Composés réducteurs</b>	++++	++++	++	++	++	+++	+++
<b>Alcaloïdes :</b>							
<b>Wagner</b>	+	+	+	+	+	+	+
<b>Mayar</b>	+	+	+	-	-	-	-
<b>Terpénoïdes :</b>							
<b>Slawoski</b>	++	++	++	+++	++	++	++
<b>Liberman</b>	-	-	-	-	-	-	-

**CAQ** : Extrait aqueux brut de *C. colocynthis* ; **CAQ<sub>Acét</sub>** : Fraction acétate d'éthyle de l'extrait aqueux de *C. colocynthis*; **CAQ<sub>nB</sub>**: Fraction n-butanol de l'extrait aqueux de *C. colocynthis* ; **CEA** : Extrait eau-acétone brut de *C. colocynthis* ; **CEA<sub>Acét</sub>**: Fraction acétate d'éthyle de l'extrait eau-acétone de *C. colocynthis* ; **CEA<sub>nB</sub>**: Fraction n-butanol de l'extrait eau-acétone de *C. colocynthis*; **CChM**: Extrait chloroforme-méthanol de *C. colocynthis* .

(+) : Test positif ; (-) : Test négatif

### 3. Teneurs des extraits en composés phytochimiques

Les taux de polyphénols totaux (Pt), flavonoïdes (Flv), flavonols (Fln) et de saponines (sap) dans les extraits des deux cucurbitacées ont été déterminés à partir des courbes d'étalonnage d'acide gallique, de catéchine, de quercétine et d'acide oléanolique, respectivement (**Figure 40**). Les résultats obtenus sont exprimés en microgramme équivalent de chaque étalon correspondant par milligramme d'extrait sec (**Tableaux 8 et 9**).



**Figure 40:** Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux (A); De la catéchine pour le dosage des flavonoïdes (B); De l'acide oléanolique pour le dosage de saponines (C) et de la quercétine pour le dosage des flavonols (D)

Selon les résultats indiqués dans le **tableau n° 8**, nous avons remarqué que les concentrations de Pt varient considérablement entre les différents extraits de la bryone. Nous avons constaté que l'extrait chloroforme-méthanol **BChM** renferme la teneur significativement ( $p \leq 0,0001$ ) élevée ( $299,51 \pm 0,01 \mu\text{g Eq AG/mg ES}$ ) suivi par les fractions acétate d'éthyle et n-butanol **BEA<sub>Acét</sub>** et **BEA<sub>nB</sub>** avec des taux de  $157,01 \pm 0,01$  et  $134,86 \pm 0,02 \mu\text{g Eq AG/mg ES}$ , respectivement. Cependant, de faibles teneurs en FLv et FLn ont été notées dans tous les extraits à l'exception de l'extrait **BChM** et la fraction **BEA<sub>Acét</sub>** qui ont montré des valeurs modérées de l'ordre de  $49,09 \pm 0,00$  ;  $8,64 \pm 0,001 \mu\text{g Eq C/mg ES}$  ;  $26,27 \pm 0,02$  ; et  $24,67 \pm 0,03 \mu\text{g Eq Q/mg ES}$ , respectivement. De même, de très faibles teneurs en saponines ont été enregistrées dans la majorité des extraits avec des valeurs qui varient entre  $0,18 \pm 0,01$  et  $0,90 \pm 0,01 \mu\text{g Eq AO/mg ES}$ .

**Tableau 8 :** Teneurs en polyphénols totaux, flavonoïdes, flavonols et en saponines dans les extraits et les fractions préparés des racines de *Bryonia dioïca*.

Extraits	Polyphénols totaux (µg Eq AG/mg ES)	Flavonoïdes (µg Eq C/mg ES)	Flavonols (µg Eq Q/mg ES)	Saponines (µg Eq AO/mg ES)
<b>BAQ</b>	89,06±0,01 <sup>d</sup>	7,58±0,003 <sup>c</sup>	8,87±0,02 <sup>c</sup>	0,33±0,01 <sup>e</sup>
<b>BAQ<sub>Acét</sub></b>	74,11±0,01 <sup>g</sup>	3,76± 0,01 <sup>f</sup>	0,85±0,003 <sup>g</sup>	0,22±0,01 <sup>f</sup>
<b>BAQ<sub>nB</sub></b>	82,06±0,01 <sup>f</sup>	4,67±0,02 <sup>e</sup>	0,91±0,01 <sup>f</sup>	0,54±0,01 <sup>c</sup>
<b>BEA</b>	87,56±0,02 <sup>e</sup>	6,01±0,01 <sup>d</sup>	6,33±0,02 <sup>d</sup>	0,40±0,01 <sup>d</sup>
<b>BEA<sub>Acét</sub></b>	157,01±0,01 <sup>b</sup>	8,64±0,001 <sup>b</sup>	24,67±0,03 <sup>b</sup>	0,90±0,01 <sup>a</sup>
<b>BEA<sub>nB</sub></b>	134,86±0,02 <sup>c</sup>	2,93±0,004 <sup>g</sup>	2,35±0,01 <sup>e</sup>	0,18±0,01 <sup>g</sup>
<b>BChM</b>	299,51±0,01 <sup>a</sup>	49,09±0,00 <sup>a</sup>	26,27±0,02 <sup>a</sup>	0,58±0,01 <sup>b</sup>
<b>Valeur de p</b>	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001

Valeur moyenne ± ESM (n=3) **BAQ**: Extrait aqueux brut de *B. dioïca* ; **BAQ<sub>Acét</sub>**: Fraction acétate d'éthyle de l'extrait aqueux de *B. dioïca* ; **BAQ<sub>nB</sub>**: Fraction n-butanol de l'extrait aqueux de *B. dioïca* ; **BEA**: Extrait eau-acétone brut de *B. dioïca* ; **BEA<sub>Acét</sub>**: Fraction acétate d'éthyle de l'extrait eau-acétone de *B. dioïca* ; **BEA<sub>nB</sub>**: Fraction n-butanol de l'extrait eau-acétone de *B. dioïca* ; **BChM**: Extrait chloroforme-méthanol de *B. dioïca* .<sup>a-g</sup>Les échantillons non reliés par la même lettre présentent une différence fortement significative.

Pour la coloquinte, les résultats des différents dosages sont rapportés dans le **tableau n°9** indiquant des concentrations importantes, à  $p \leq 0,0001$ , en Pt (266,32±0,07 ; 217,68±0,03 ; 162,44±0,02 et 117,80±0,03 µg Eq AG/mg ES) et modérées en Flv (68,73±0,12 ; 99,82±0,04 ; 16,18±0,05 et 58,36±0,11 µg Eq C/mg ES) dans la fraction **CAQ<sub>Acét</sub>**, l'extrait **CChM**, la fraction **CEA<sub>Acét</sub>** et **CAQ<sub>nB</sub>**, respectivement. Par contre, de très faibles taux en FLn et en sap ont été affichés dans la plupart des extraits testés dont **CChM** a présenté une teneur significativement ( $p \leq 0,0001$ ) élevée en FLn 35,28±0,01 µg Eq Q/mg ES par rapport aux autres.

Les extraits et les fractions des deux espèces étudiées présentent des teneurs en Pt et en FLv comparables, dont la coloquinte révèle des taux modérément considérables par rapport à la bryone. Tandis que, les teneurs en flavonols et en saponines ont été faibles dans les deux plantes.

**Tableau 9:** Teneurs en polyphénols totaux, flavonoïdes, flavonols et en saponines dans les extraits et les fractions préparés des fruits de *Citrullus colocynthis*.

Extraits	Polyphénols totaux ( $\mu\text{g Eq AG/mg ES}$ )	Flavonoïdes ( $\mu\text{g Eq C/mg ES}$ )	Flavonols ( $\mu\text{g Eq Q/mg ES}$ )	Saponines ( $\mu\text{g Eq AO/mg ES}$ )
CAQ	81,98 $\pm$ 0,01 <sup>e</sup>	15,16 $\pm$ 0,03 <sup>e</sup>	2,82 $\pm$ 0,01 <sup>e</sup>	0,31 $\pm$ 0,01 <sup>c</sup>
CAQ <sub>Acét</sub>	266,32 $\pm$ 0,07 <sup>a</sup>	68,73 $\pm$ 0,12 <sup>b</sup>	6,66 $\pm$ 0,01 <sup>b</sup>	0,32 $\pm$ 0,003 <sup>c</sup>
CAQ <sub>nB</sub>	117,80 $\pm$ 0,03 <sup>d</sup>	58,36 $\pm$ 0,11 <sup>c</sup>	3,15 $\pm$ 0,01 <sup>d</sup>	0,24 $\pm$ 0,02 <sup>d</sup>
CEA	79,05 $\pm$ 0,01 <sup>f</sup>	5,82 $\pm$ 0,004 <sup>f</sup>	3,19 $\pm$ 0,01 <sup>d</sup>	0,15 $\pm$ 0,01 <sup>e</sup>
CEA <sub>Acét</sub>	162,44 $\pm$ 0,02 <sup>c</sup>	16,18 $\pm$ 0,05 <sup>d</sup>	6,39 $\pm$ 0,03 <sup>c</sup>	0,39 $\pm$ 0,002 <sup>b</sup>
CEA <sub>nB</sub>	48,79 $\pm$ 0,02 <sup>g</sup>	4,75 $\pm$ 0,01 <sup>g</sup>	2,25 $\pm$ 0,07 <sup>f</sup>	0,48 $\pm$ 0,02 <sup>a</sup>
CChM	217,68 $\pm$ 0,03 <sup>b</sup>	99,82 $\pm$ 0,04 <sup>a</sup>	35,28 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>	0,22 $\pm$ 0,001 <sup>d</sup>
Valeur <i>p</i>	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001

Valeur moyenne  $\pm$  ESM (n=3) **CAQ**: Extrait aqueux brut de *C. colocynthis*; **CAQ<sub>Acét</sub>**: Fraction acétate d'éthyle de l'extrait aqueux de *C. colocynthis*; **CAQ<sub>nB</sub>**: Fraction n-butanol de l'extrait aqueux de *C. colocynthis*; **CEA**: Extrait eau-acétone brut de *C. colocynthis*; **CEA<sub>Acét</sub>**: Fraction acétate d'éthyle de l'extrait eau-acétone de *C. colocynthis*; **CEA<sub>nB</sub>**: Fraction n-butanol de l'extrait eau-acétone de *C. colocynthis*; **CChM**: Extrait chloroforme-méthanol de *C. colocynthis*.<sup>a-g</sup> Les échantillons non reliés par la même lettre présentent une différence fortement significative.

#### 4. Identification des composés phytochimiques par LC-MS

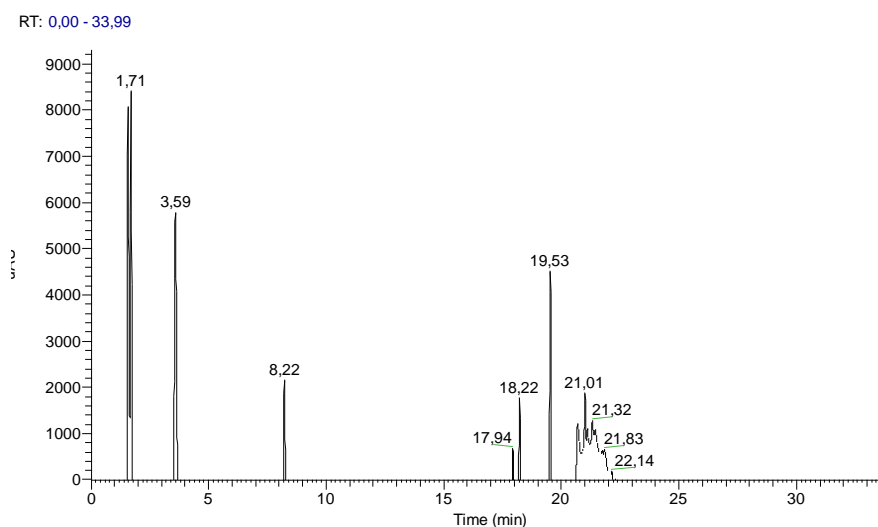
Les fractions acétate d'éthyle récupérées de l'extrait eau-acétone (**BEA<sub>Acét</sub>**; **CEA<sub>Acét</sub>**) et les extraits chloroforme-méthanol (**BChM**; **CChM**) des deux espèces *Bryonia dioïca* et *Citrullus colocynthis*, ayant présenté des activités biologiques intéressantes, ont fait l'objet d'une analyse chromatographique LC-MS. Différents composés phytochimiques ont été identifiés pour la première fois dans les extraits analysés.

Comme illustré dans **la figure 41** et **le tableau n °10**, la fraction **BEA<sub>Acét</sub>** préparée des racines de la bryone renferme un nombre important en molécules phytochimiques, dont huit composés ont été identifiés principalement des flavonoïdes et des coumarines. Il s'agit de méthylcoumarine dimérique; dérivé de coumarine de type haplopéroside et la chryisine 7-*O*-néohespéridoside qui ont présenté des pics chromatographiques d'intensité élevée. Autres pics d'allure moins importante ont été également enregistrés, ils correspondent à la pinocembrine 7-*O*-néohespéridoside; dérivé acétylé de Pinocembrine 7-*O*- néohespéridoside et de chryisine 7-*O*-néohespéridoside; méthylcoumarine et Isorhoifoline. En ce qui concerne l'extrait **BChM**, deux composés ont été identifiés méthylcoumarine et méthylcoumarine dimérique (**Figure 42**; **tableau n°10**).

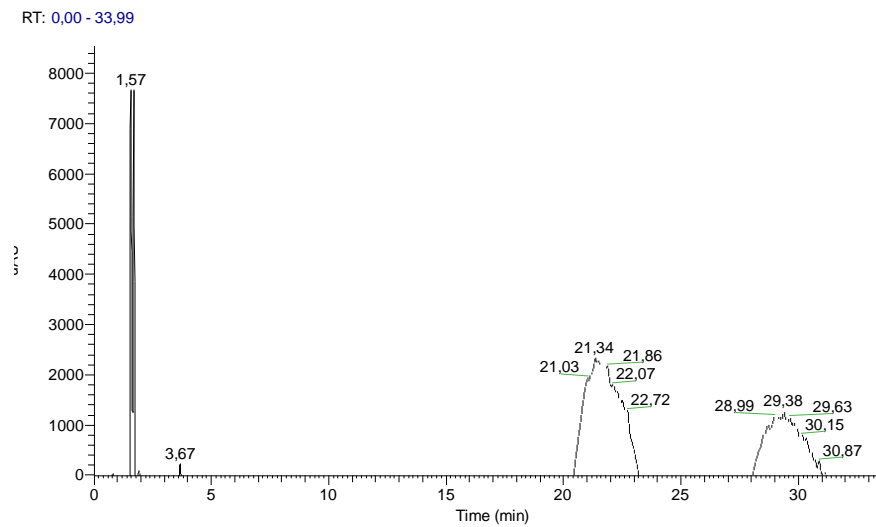
**Tableau 10:** Les composés déterminés dans la fraction **BEA<sub>Acét</sub>** et l'extrait **BChM** des racines de *Bryonia dioïca* par analyse LC-MS

	TR (min)	λ (nm)	[M-H] <sup>-</sup> (m/z)	Composé
<b>BEA<sub>Acét</sub></b>	1,57	254 ; 282; 319	159	Méthylcoumarine
	1,71	207; 282; 319	321	Méthylcoumarine dimérique
	3,59	199; 250; 302	645	Dérivé de Coumarine de type haploperoside
	8,22	239; 270	1069	inconnu
	17,94	244; 268;302	577	Isorhoifoline
	18,22	240; 298	563	Pinocembrine 7- <i>O</i> -néohespéridoside
	19,53	244; 268; 300	561	Chryisine 7- <i>O</i> -néohespéridoside
	20,69	245; 268; 297	603	Dérivé acétylé de Chryisine 7- <i>O</i> -néohespéridoside
	21,01	248; 261; 297	605	Dérivé acétylé de Pinocembrine 7- <i>O</i> -néohespéridoside
	21,32	248; 267	1077	inconnu
<b>BChM</b>	1,57	254; 282;319	159	Méthylcoumarine
	1,71	207; 282;319	321	Méthylcoumarine dimérique
	21,34	259; 282;319	721	inconnu
	29,38	246; 287	1073	inconnu

**TR:** Temps de rétention ; **BEA<sub>Acét</sub>**: Fraction acétate d'éthyle de l'extrait eau-acétone de *B. dioïca*; **BChM**: Extrait chloroforme-méthanol de *B. dioïca*.



**Figure 41:** Spectre de l'analyse LC-MS de la fraction acétate d'éthyle **BEA<sub>Acét</sub>** des racines de *Bryonia dioïca*.



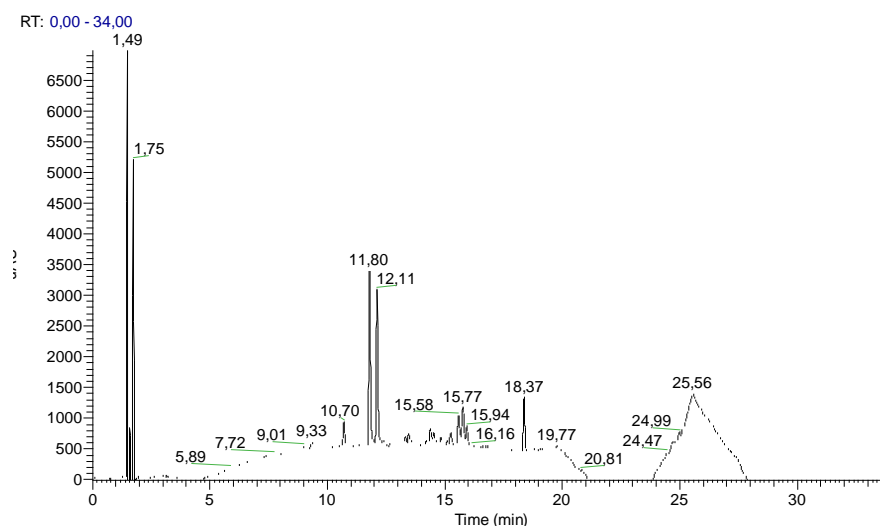
**Figure 42:** Spectre de l'analyse LC-MS de l'extrait **BChM** des racines de *Bryonia dioïca*.

Par ailleurs, la caractérisation des extraits de la coloquinte représentée dans **les figures 43, 44** et **le tableau n°11** a révélé la présence de coumarines, dérivé de coumarines, et des flavonoïdes. Dans la fraction acétate d'éthyle **CEA<sub>Acét</sub>**, il a été noté la présence des dérivés de coumarines, kaempférol glucoside, apigénine glucoside, kaempférol glucuronide et dérivé de kaempférol. De même, sept composés phytochimiques ont été identifiés dans l'extrait chloroforme-méthanol **CChM** ; dérivé de coumarine, apigénine glucosylglucoside, isorhamnétine rutinoside, kaempférol glucoside, apigénine glucoside, kaempférol glucuronide et dérivé de kaempférol.

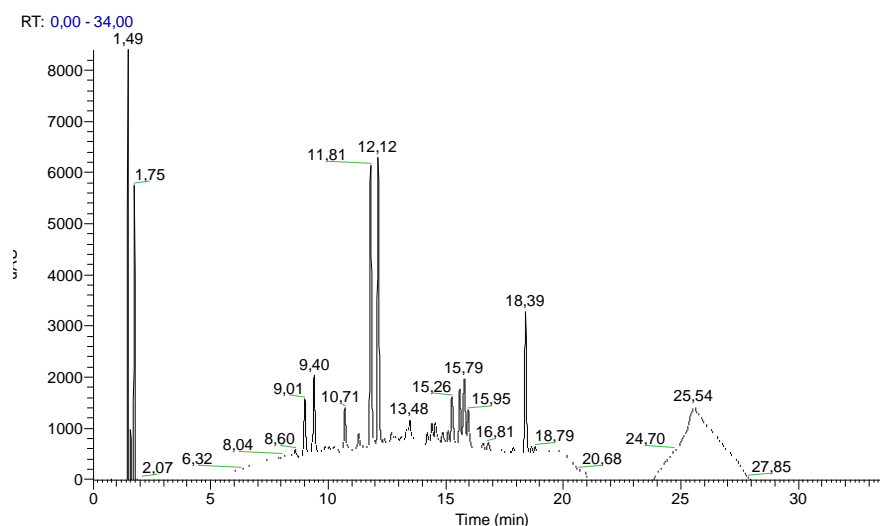
**Tableau 11:** Les composés déterminés dans la fraction  $\text{CEA}_{\text{Acét}}$  et l'extrait  $\text{CChM}$  des fruits de *Citrullus colocynthis* par analyse LC-MS

	TR (min)	$\lambda$ (nm)	$[\text{M-H}]^-$ (m/z)	Composé
$\text{CEA}_{\text{Acét}}$	1,49	206 ; 356	387	inconnu
	1,75	206 ; 357	191	Dérivé de coumarine
	10,70	250 ; 356	447	Kaempférol glucoside
	11,80	271 ; 343	431	Apigénine glucoside
	12,11	271 ; 351	461	Kaempférol glucuronide
	15,58	240 ; 368	723	Dérivé de Kaempférol
	15,77			
	18,37	243	763	inconnu
$\text{CChM}$	1,49	206 ; 356	387	inconnu
	1,75	206 ; 357	191	Dérivé de coumarine
	9,01	207 ; 338	593	Apigénine glucosylglucoside
	9,40	206 ; 351	623	Isorhamnétine rutinoside
	10,71	207 ; 354	447	Kaempférol glucoside
	11,81	271 ; 339	431	Apigénine glucoside
	12,12	208 ; 351	461	Kaempférol glucuronide
	15,60	240 ; 368	723	Dérivé de Kaempférol
	15,95			
18,39	237	763	inconnu	

**TR:** Temps de rétention ;  $\text{CEA}_{\text{Acét}}$ : Fraction acétate d'éthyle de l'extrait eau-acétone de *C. colocynthis* ;  $\text{CChM}$ : Extrait chloroforme-méthanol de *C. colocynthis*.



**Figure 43:** Spectre de l'analyse LC-MS de la fraction acétate d'éthyle  $\text{CEA}_{\text{Acét}}$  des fruits de *Citrullus colocynthis*.



**Figure 44:** Spectre de l'analyse LC-MS de l'extrait **CChM** des fruits de *Citrullus colocynthis*.

## Partie 2 : Activités biologiques des extraits de *Bryonia dioïca* et *Citrullus colocynthis*

### 1. Effet des extraits de *B. dioïca* et *C. colocynthis* sur l'activité antioxydante

Dans la présente étude nous avons évalué *in vitro* la capacité antioxydante des extraits et fractions des deux espèces *Bryonia dioïca* et *Citrullus colocynthis* en utilisant quatre tests complémentaires: le test de piégeage du radical libre DPPH, le test du pouvoir réducteur du fer (FRAP), le test de blanchiment de  $\beta$ -carotène, et le test de l'effet cytoprotecteur des globules rouges contre l'attaque radicalaire du AAPH.

#### 1.1. Effet sur le piégeage du radical libre DPPH

L'effet piégeur des extraits et fractions isolés des deux plantes étudiées sur le radical libre DPPH est représenté dans les **tableaux n°12 et n°13**, et dans **les figures 45; 46 et 47**.

Les différents extraits ont révélé sur le DPPH un effet piégeur croissant et proportionnel aux concentrations testées. L'ensemble des extraits et fractions des racines de *B. dioïca* révèlent une activité anti-radicalaire modérée à 250 $\mu$ g/mL avec des pourcentages de réduction supérieurs à 20%, à l'exception de l'extrait aqueux brut **BAQ** et sa fraction acétate d'éthyle **BAQ<sub>Acét</sub>** qui ont montré de faibles réductions de 14,74 $\pm$ 0,01 et 1,51 $\pm$  0,02 % à la même concentration. La fraction **BAQ<sub>Acét</sub>** a présenté de très faible effet anti-radicalaire avec une instabilité des pourcentages de réduction.

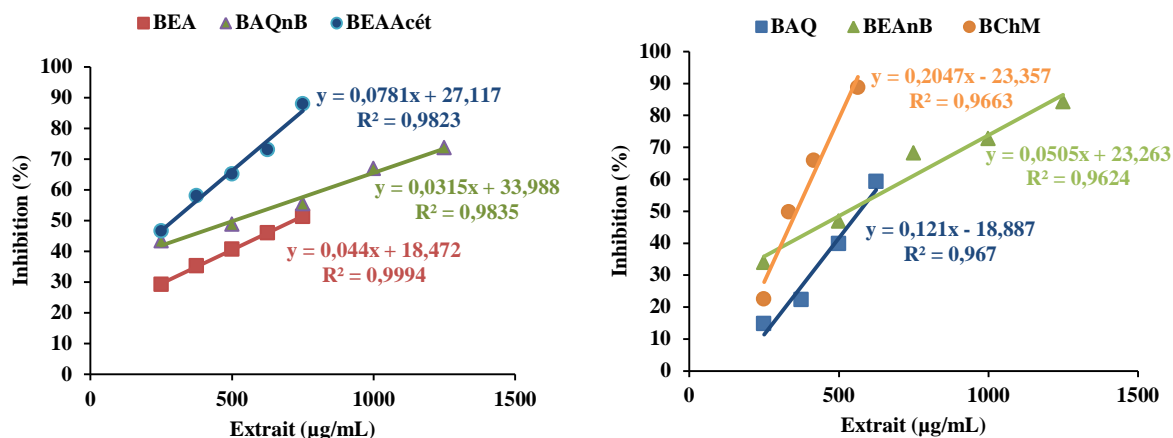
En terme de concentrations correspondantes à 50% d'inhibition (IC<sub>50</sub>) déterminées graphiquement (**Figure 45, tableau n°12**) la fraction acétate d'éthyle **BEA<sub>Acét</sub>** a affiché un effet antiradicalaire significativement puissant par rapport aux autres extraits, avec une faible valeur de IC<sub>50</sub> qui est de l'ordre de 293±0,05 µg/mL, suivie par l'extrait **BChM** (IC<sub>50</sub> = 358,36±0,04 µg/mL). Cependant les fractions **BAQ<sub>nB</sub>** et **BEA<sub>nB</sub>** et l'extrait **BAQ** ont montré un effet antioxydant modéré avec des IC<sub>50</sub> comparables 508,32±0,04 ; 529,45±0,03 et 569,31±0,04 µg/mL, respectivement. De même, L'extrait **BEA** a présenté un faible pouvoir antiradicalaire (IC<sub>50</sub> = 716,55±0,004µg/mL), pour la fraction **BAQ<sub>Acét</sub>** l'IC<sub>50</sub> n'a pas pu être déterminée vu l'instabilité des résultats.

**Tableau 12:** Pourcentages de réduction du radical DPPH et les valeurs d'IC<sub>50</sub> des extraits des racines de *Bryonia dioica*.

Extraits	Concentrations (µg/mL)					IC <sub>50</sub> (µg/mL)
	250	375	500	625	750	
<b>BAQ</b>	14,75±0,01	22,26±0,01	39,83±0,03	59,29±0,04	-	569,31±0,04
<b>BAQ<sub>nB</sub></b>	43,40±0,03	48,74±0,06	55,41±0,02	66,93±0,03	73,71±0,04	508,32±0,04
<b>BAQ<sub>Acét</sub></b>	1,51±0,02	6,21±0,03	12,51±0,03	11,78±0,02	10,31±0,03	Non déterminée
<b>BEA</b>	29,20±0,01	35,21±0,02	40,64±0,01	45,97±0,004	51,31±0,004	716,55±0,004
<b>BEA<sub>nB</sub></b>	33,91±0,01	46,87±0,02	68,18±0,04	72,65±0,003	84,18±0,02	529,45±0,03
<b>BEA<sub>Acét</sub></b>	46,62±0,08	58,10±0,02	65,15±0,01	73,07±0,02	87,97±0,05	293±0,05
<b>BChM</b>	22,45±0,08	49,71±0,01	65,86±0,07	88,77±0,05	-	358,36±0,04

Valeur moyenne ± ESM (Erreur standard) (n=3)

**BAQ**: Extrait aqueux brut de *B. dioica* ; **BAQ<sub>Acét</sub>**: Fraction acétate d'éthyle de l'extrait aqueux de *B. dioica* ; **BAQ<sub>nB</sub>**: Fraction n-butanol de l'extrait aqueux de *B. dioica* ; **BEA**: Extrait eau-acétone brut de *B. dioica* ; **BEA<sub>Acét</sub>**: Fraction acétate d'éthyle de l'extrait eau-acétone de *B. dioica* ; **BEA<sub>nB</sub>**: Fraction n-butanol de l'extrait eau-acétone de *B. dioica* ; **BChM**: Extrait chloroforme-méthanol de *B. dioica* .



**Figure 45:** Pourcentages de réduction du radical libre DPPH en fonction des concentrations des extraits des racines de *B. dioica*.

Concernant *C. colocynthis*, tous les extraits et les fractions ont révélé une forte réduction du DPPH à 1000µg/mL avec des pourcentages d'inhibition qui varient entre 61,18±0,10 et 85,62±0,01%. L'acide ascorbique utilisé comme contrôle positif a réduit 98% du DPPH à faible concentration (5µg/mL) (**Figure 46 ; tableaux n°13 et n°14**). Les valeurs de IC<sub>50</sub> enregistrées pour les extraits de *C. colocynthis* sont supérieures à 500 µg/mL, l'extrait **CAQ** présente une IC<sub>50</sub> de 567,05±0,03 µg/mL, suivi par les autres extraits et fractions qui ont enregistré des IC<sub>50</sub> entre 644,55±0,01 et 744,15±0,02 µg/mL, tandis que l'extrait **CEA** a révélé l'IC<sub>50</sub> la plus élevée (867,08±0,01 µg/mL).

D'après les résultats obtenus, on remarque que les extraits de *B. dioica* présente un pouvoir antiradicalaire intéressant par rapport aux extraits de *C. colocynthis*. Ces résultats restent significativement inférieurs à l'effet de l'acide ascorbique la molécule antioxydante de référence (IC<sub>50</sub> = 2,23±0,004µg/mL).

**Tableau 13 :** Pourcentages de réduction du radical libre DPPH et les IC<sub>50</sub> des extraits des fruits de *Citrullus colocynthis*

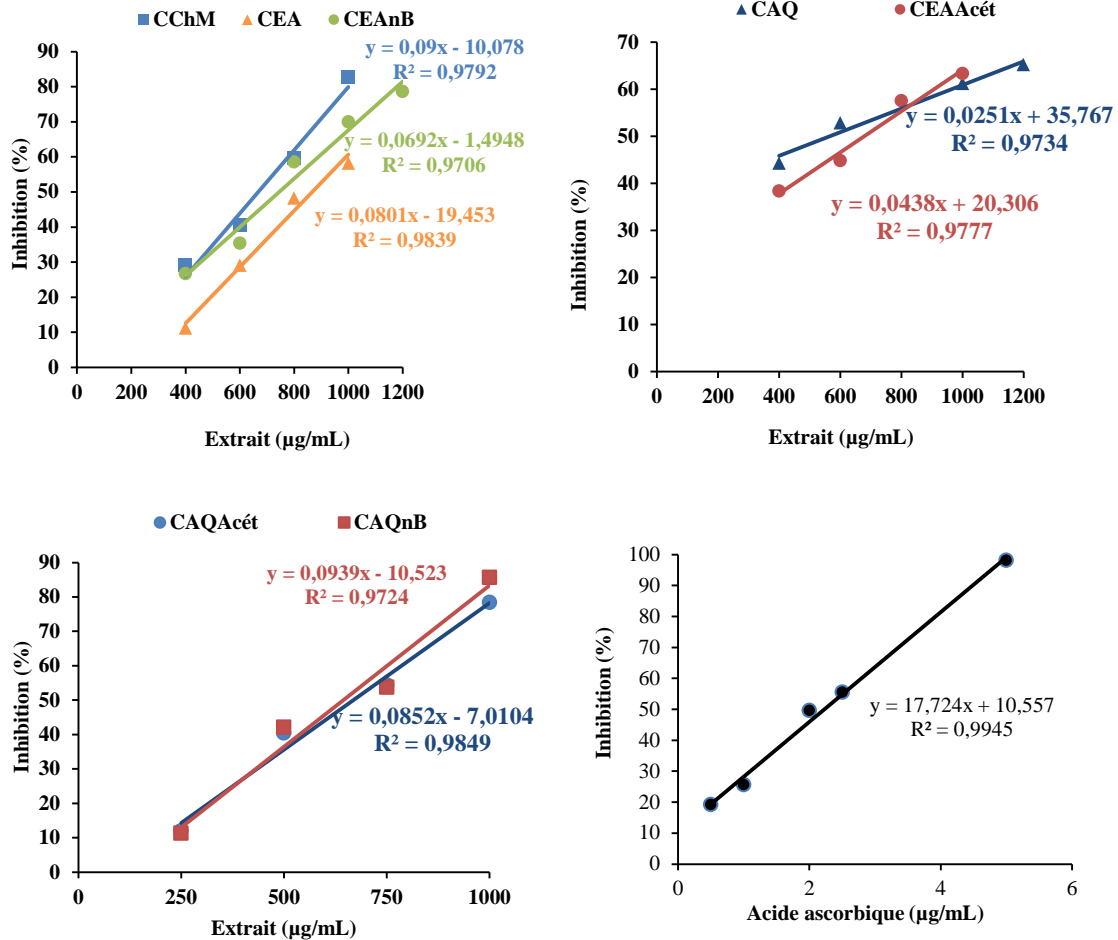
Extraits	Concentrations (µg/mL)					IC <sub>50</sub> (µg/mL)
	400	600	1000	1200		
CAQ	44,26±0,01	52,81±0,05	61,18±0,10	65,19±0,11	-	567,05±0,03
CAQ <sub>nB</sub>	11,24±0,003	42,09±0,01	53,73±0,01	85,62±0,01	-	644,55±0,01
CAQ <sub>Acét</sub>	11,97±0,01	40,37±0,04	54,33±0,05	78,33±0,01	-	669,14±0,05
CEA	11,16±0,06	29,03±0,01	48,20±0,01	58,19±0,004	-	867,08±0,01
CEA <sub>nB</sub>	26,72±0,02	35,35±0,03	58,56±0,01	69,92±0,001	78,59±0,004	744,15±0,02
CEA <sub>Acét</sub>	38,29±0,03	44,80±0,01	57,50±0,01	63,26±0,01	-	677,95±0,01
CChM	29,03±0,03	40,38±0,003	59,68±0,04	82,59±0,01	-	667,53±0,02

Valeur moyenne ± ESM (Erreur standard) (n=3)

CAQ : Extrait aqueux brut de *C. colocynthis* ; CAQ<sub>Acét</sub> : Fraction acétate d'éthyle de l'extrait aqueux de *C. colocynthis* ; CAQ<sub>nB</sub> : Fraction n-butanol de l'extrait aqueux de *C. colocynthis* ; CEA : Extrait eau-acétone brut de *C. colocynthis* ; CEA<sub>Acét</sub> : Fraction acétate d'éthyle de l'extrait eau-acétone de *C. colocynthis* ; CEA<sub>nB</sub> : Fraction n-butanol de l'extrait eau-acétone de *C. colocynthis* ; CChM : Extrait chloroforme-méthanol de *C. colocynthis*.

**Tableau 14:** Pourcentages de réduction du radical DPPH et la valeur d'IC<sub>50</sub> de l'acide ascorbique

Acide ascorbique	Concentrations (µg/mL)					IC <sub>50</sub> (µg/mL)
	0,5	1	2	2,5	5	
	(19,17±0,01)	(25,57±0,003)	(49,53±0,01)	(55,42±0,01)	(98,05±0,003)	2,23±0,004



**Figure 46:** Pourcentages de réduction du radical libre DPPH en fonction des concentrations des extraits des fruits de *C. colocynthis*.

## 1.2. Effet des extraits sur la réduction du fer (FRAP)

Le pouvoir réducteur du fer ferrique  $Fe^{3+}$  en fer ferreux  $Fe^{2+}$  en présence des différents extraits et fractions de *B. dioïca*, *C. colocynthis* ainsi que le BHA (Molécule antioxydante standard) est figuré dans les **tableaux n°15 et n°16**. Les résultats sont exprimés en concentrations efficaces correspondantes à 0,5 d'absorbance à 700nm déterminées à partir des courbes illustrées dans les **figures 47 ; 48 et 49**. L'ensemble des extraits et fractions préparés à partir des deux espèces végétales ainsi que la molécule standard BHA montre une réduction du fer ferrique d'une manière dose dépendante.

**Tableau 15:** Les absorbances du pouvoir réducteur du fer des extraits des racines de *B. dioïca*.

Extraits	Concentrations (µg/mL)							EC <sub>50</sub> (µg/mL)
	668	1333	1668	2500	3333	4167	-	
<b>BAQ</b>	0,22±0,1	0,43±0,003	0,57±0,01	0,84±0,02	1,13±0,04	1,57±0,04	-	1401 ±0,004
<b>BAQ<sub>nB</sub></b>	0,06±0,02	0,07±0,06	0,16±0,03	0,22±0,02	0,53±0,04	0,86±0,08	1,19±0,07	571,89 ±0,03
<b>BAQ<sub>Acét</sub></b>	0,05±0,003	0,20±0,03	0,23±0,02	0,35±0,01	0,61±0,04	-	-	1668 ±0,02
<b>BEA</b>	0,20±0,06	0,39±0,04	0,69±0,06	1,09±0,07	1,44±0,11	-	-	691,80 ±0,05
<b>BEA<sub>nB</sub></b>	0,09±0,01	0,12±0,04	0,19±0,04	0,40±0,05	0,57±0,03	0,69±0,03	-	906,6± 0,04
<b>BEA<sub>Acét</sub></b>	0,21±0,02	0,44±0,02	0,75±0,05	0,89±0,06	1,29±0,05	-	-	830,6 ±0,03
<b>BChM</b>	0,23±0,03	0,47±0,02	0,65±0,01	0,98±0,06	1,34±0,06	-	-	535,91 ±0,01

Valeur moyenne ± ESM (Erreur standard) (n=3)

**BAQ**: Extrait aqueux brut de *B. dioïca*; **BAQ<sub>Acét</sub>**: Fraction acétate d'éthyle de l'extrait aqueux de *B. dioïca*; **BAQ<sub>nB</sub>**: Fraction n-butanol de l'extrait aqueux de *B. dioïca*; **BEA**: Extrait eau-acétone brut de *B. dioïca*; **BEA<sub>Acét</sub>**: Fraction acétate d'éthyle de l'extrait eau-acétone de *B. dioïca*; **BEA<sub>nB</sub>**: Fraction n-butanol de l'extrait eau-acétone de *B. dioïca*; **BChM**: Extrait chloroforme-méthanol de *B. dioïca*.

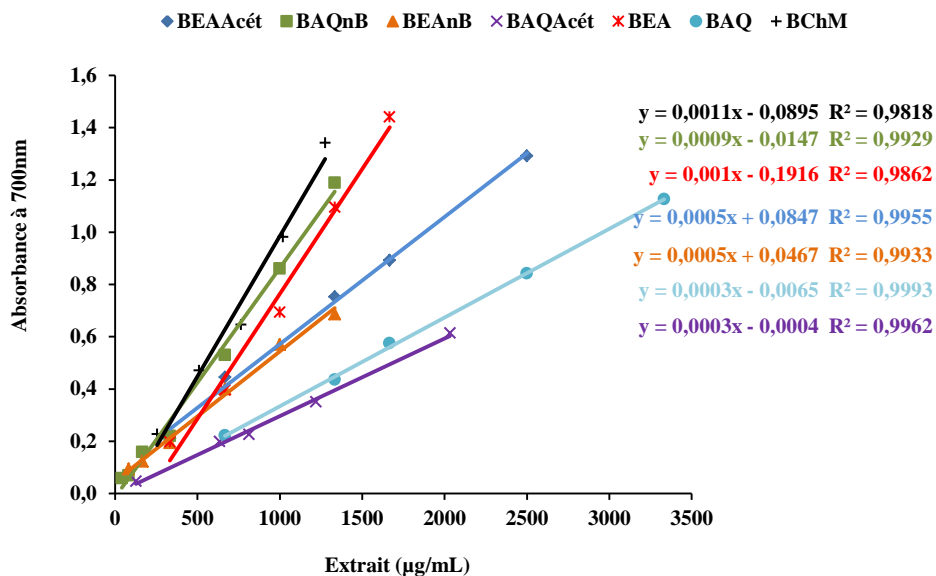
Selon les résultats représentés dans les **tableaux n°15 et n°16**, on constate un faible pouvoir réducteur du fer pour les extraits **BAQ**, **CAQ**, les fractions **BAQ<sub>Acét</sub>**, **CEA<sub>nB</sub>** et l'extrait **CEA<sub>Acét</sub>** avec des EC<sub>50</sub> qui dépassent 1000µg/ml. Les extraits et fractions suivants, **BEA**, **BEA<sub>Acét</sub>**, **BEA<sub>nB</sub>**, **CEA**, **CChM** et **CAQ<sub>nB</sub>** ont montré une activité modérée avec des valeurs d'EC<sub>50</sub> variables entre 691,80±0,05 et 936±0,02 µg/mL. Cependant, nous avons enregistré un pouvoir réducteur moyennement important pour l'extrait **BChM**; et les fractions **BAQ<sub>nB</sub>**, **CAQ<sub>Acét</sub>** comparativement aux autres extraits, avec des concentrations efficaces comparables de l'ordre de 535,91±0,01; 571,89±0,03 et 584±0,01 µg/mL, respectivement. En général l'effet des différents extraits reste significativement inférieur à l'effet de la molécule antioxydante de référence BHA, qui a révélé le pouvoir antioxydant le plus élevé avec une EC<sub>50</sub> de 16,33±0,03 µg/mL.

**Tableau 16:** Les absorbances du pouvoir réducteur du fer des extraits des fruits de *C. colocynthis* et du BHA.

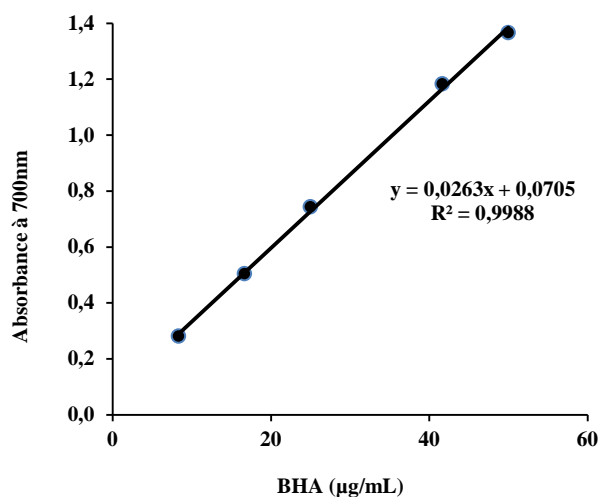
Extraits	Concentrations (µg/mL)				EC <sub>50</sub> (µg/mL)	
	667	1333	1667	2667		
CAQ	0,30±0,01	0,57±0,01	0,69±0,02	1,04±0,05	1072±0,01	
CAQ <sub>nB</sub>	0,23±0,03	0,37±0,002	0,62±0,03	0,71±0,07	936±0,02	
CAQ <sub>Acét</sub>	0,31±0,01	0,56±0,01	0,90±0,09	1,08±0,001	584±0,01	
CEA	0,22±0,02	0,37±0,03	0,70±0,02	1,28±0,05	853,4±0,03	
CEA <sub>nB</sub>	0,16±0,03	0,31±0,02	0,62±0,11	0,74±0,02	1039±0,06	
CAQ <sub>Acét</sub>	0,32±0,09	0,56±0,00	0,69±0,03	0,899±0,175	1120,67 ±0,05	
CChM	0,25±0,02	0,37±0,04	0,71±0,02	0,90±0,06	853,8±0,04	
<b>BHA (µg/mL)</b>						
Moyenne de l'absorbance						
	<b>8</b>	<b>17</b>	<b>25</b>	<b>42</b>	<b>50</b>	<b>EC<sub>50</sub>µg/mL</b>
	0,28±0,01	0,50±0,05	0,74±0,04	1,18±0,05	1,37±0,05	16,33±0,03

Valeur moyenne ± ESM (Erreur standard) (n=3)

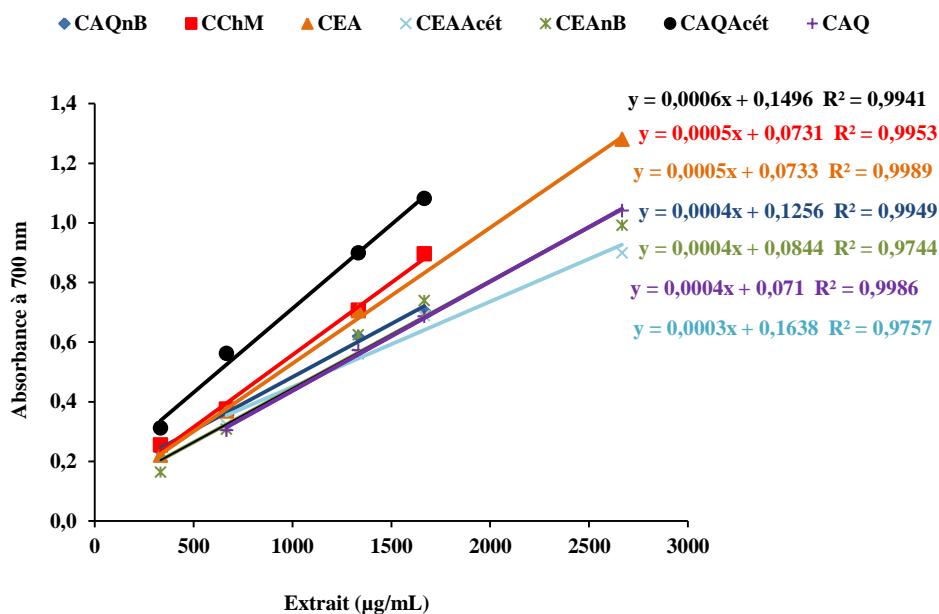
**CAQ:** Extrait aqueux brut de *C. colocynthis*; **CAQ<sub>Acét</sub>:** Fraction acétate d'éthyle de l'extrait aqueux de *C. colocynthis*; **CAQ<sub>nB</sub>:** Fraction n-butanol de l'extrait aqueux de *C. colocynthis*; **CEA:** Extrait eau-acétone brut de *C. colocynthis*; **CEA<sub>Acét</sub>:** Fraction acétate d'éthyle de l'extrait eau-acétone de *C. colocynthis*; **CEA<sub>nB</sub>:** Fraction n-butanol de l'extrait eau-acétone de *C. colocynthis*; **CChM:** Extrait chloroforme-méthanol de *C. colocynthis*.



**Figure 47:** Pouvoir réducteur du fer en fonction des concentrations des extraits des racines de *B. dioica*.



**Figure 48:** Pouvoir réducteur du fer en fonction des concentrations de la molécule standard BHA.



**Figure 49:** Pouvoir réducteur du fer en fonction des concentrations des extraits des fruits de *C. colocynthis*.

### 1.3. Effet sur le blanchiment de $\beta$ -carotène

Les résultats d'inhibition de l'oxydation de  $\beta$ -carotène sont exprimés dans les **tableaux n°17 et n°18**, et dans les **figures 50, 51 et 52**. Suivant ces résultats, les extraits et les fractions préparés des deux cucurbitacées testées, *B. dioïca* et *C. colocynthis*, présentent un effet inhibiteur de la peroxydation lipidique dose-dépendant.

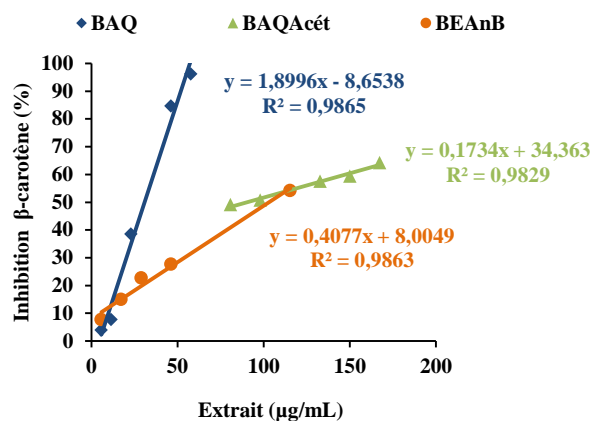
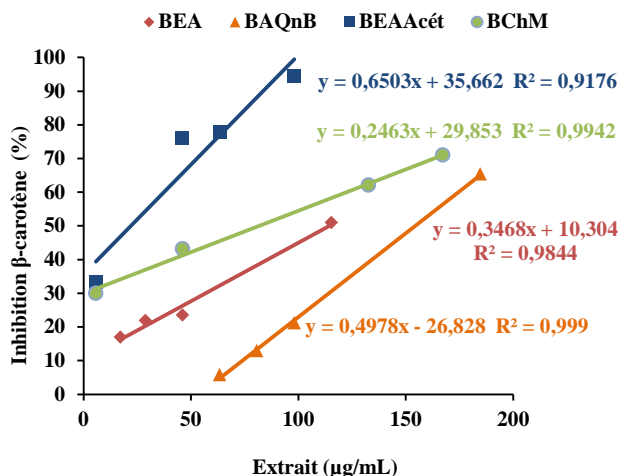
Le **tableau n°17** illustre l'effet des extraits de la bryone qui inhibent fortement l'oxydation de  $\beta$ -carotène. Cette inhibition est proportionnelle à l'augmentation des concentrations. L'extrait **BAQ** (58  $\mu\text{g/mL}$ ) et la fraction **BEA<sub>Acét</sub>** (98  $\mu\text{g/mL}$ ) inhibent à plus de 90% le blanchiment de  $\beta$ -carotène. De même, l'extrait chloroforme-méthanol **BChM** et la fraction **BAQ<sub>Acét</sub>** à la concentration de 167 $\mu\text{g/mL}$  ont assuré une inhibition de 70,95% et 64,23%, respectivement. Cependant, l'extrait **BEA** et sa fraction **BEA<sub>nB</sub>** révèlent des pourcentages d'inhibition comparables au voisinage de 50%.

**Tableau 17:** Effet des extraits des racines de *B. dioïca* sur l'inhibition de la peroxydation lipidique exprimé en pourcentage.

Extraits	Concentrations ( $\mu\text{g/mL}$ ) (% d'inhibition)							IC <sub>50</sub> ( $\mu\text{g/mL}$ )
	6	11	23	46	58	-	-	
<b>BAQ</b>	3,85±0,02	7,69±0,01	38,46±0,01	84,62±0,02	96,15±0,02	-	-	30,88± 0,01
<b>BAQ<sub>nB</sub></b>	5,78±0,02	12,29±0,01	21,17±0,01	65,39±0,02	-	-	-	154,34 ± 0,01
<b>BAQ<sub>Acét</sub></b>	17	46	81	98	133	150	167	90,55± 0,01
	38,13±0,01	41,15±0,002	49,08±0,01	50,67±0,01	57,50±0,004	59,40±0,01	64,23±0,01	
<b>BEA</b>	17	29	46	115	-	-	-	114,46 ± 0,01
	16,96±0,02	21,82±0,02	23,50±0,002	50,98±0,01	-	-	-	
<b>BEA<sub>nB</sub></b>	6	17	29	46	115	-	-	103,0± 0,01
	7,66±0,003	14,92±0,01	22,69±0,01	27,63±0,02	54,16±0,01	-	-	
<b>BEA<sub>Acét</sub></b>	6	46	63	98	-	-	-	22,05± 0,02
	33,33±0,02	75,93±0,02	77,78±0,02	94,44±0,04	-	-	-	
<b>BChM</b>	6	46	133	167	-	-	-	81,80± 0,02
	29,90±0,01	43,19±0,02	62,08±0,02	70,95±0,01	-	-	-	

Valeur moyenne ± ESM (Erreur standard) (n=3)

**BAQ** : Extrait aqueux brut de *B. dioïca* ; **BAQ<sub>Acét</sub>** : Fraction acétate d'éthyle de l'extrait aqueux de *B. dioïca* ;  
**BAQ<sub>nB</sub>** : Fraction n-butanol de l'extrait aqueux de *B. dioïca* ; **BEA** : Extrait eau-acétone brut de *B. dioïca* ;  
**BEA<sub>Acét</sub>** : Fraction acétate d'éthyle de l'extrait eau-acétone de *B. dioïca* ; **BEA<sub>nB</sub>** : Fraction n-butanol de  
l'extrait eau-acétone de *B. dioïca* ; **BChM** : Extrait chloroforme-méthanol de *B. dioïca*.



**Figure 50:** Effet des extraits des racines de *B. dioica* sur l'inhibition de la peroxydation lipidique exprimé en pourcentage.

En revanche, une activité inhibitrice moyennement faible a été démontrée à la plus faible concentration (6 µg/mL) des extraits de la coloquinte **CAQ**; **CEA**; **CEAnB** et **CChM**, avec des pourcentages d'inhibition qui varient entre 9,20 et 41,40%. La fraction **CAQnB** (17 µg/mL) a présenté un effet considérable sur la peroxydation lipidique (42,57%), alors que la fraction **CEAAcét** a assurée une inhibition de 32,69% à la concentration 46µg/mL (**Figure 51 ; tableau n°18**).

Les molécules antioxydantes de référence, BHA et quercétine, ont révélé un pouvoir inhibiteur intéressant de la peroxydation lipidique à faible concentration 11µg/mL avec des pourcentages d'inhibition qui dépassent les 50% (**Figure 52**).

En terme de valeurs d'IC<sub>50</sub>, une forte protection de β-carotène contre l'oxydation a été assurée par la fraction **BEAAcét** suivie par les extraits et les fractions **CEAnB**; **BAQ** et **CAQnB** avec de basses valeurs IC<sub>50</sub> de l'ordre de 22,05±0,02 ; 30,28±0,01 ; 30,88±0,01 et 55,66±0,01

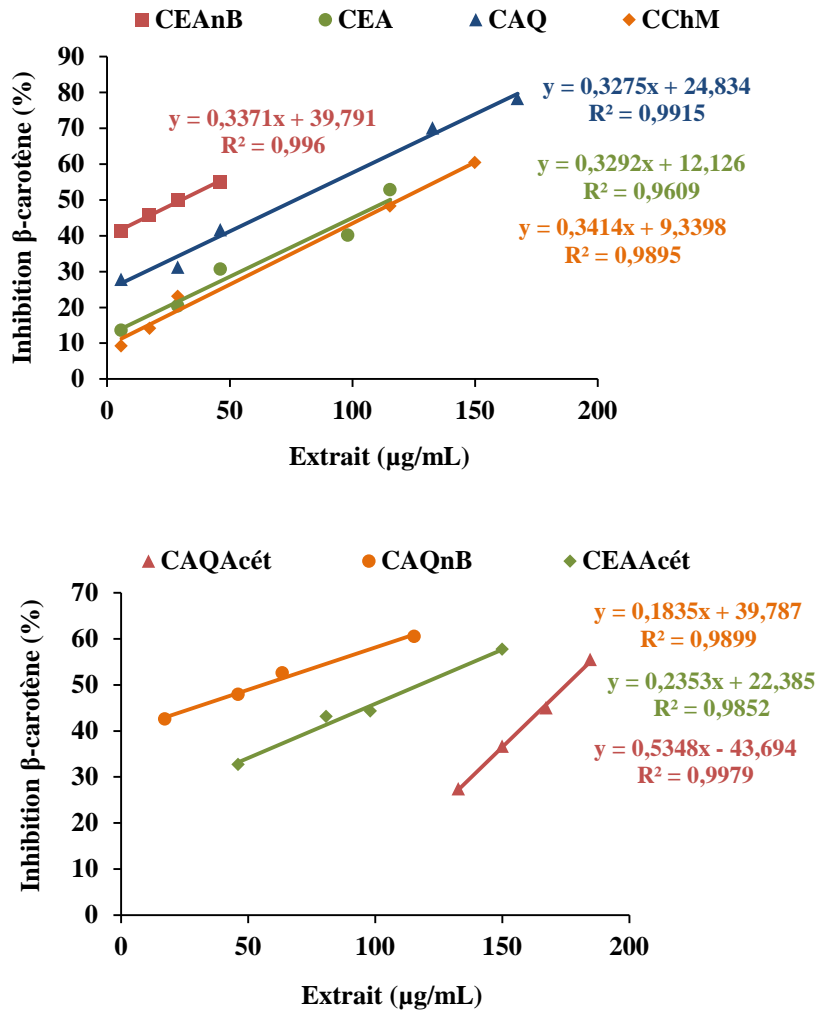
µg/mL, respectivement. Tandis que, les fractions **CAQ<sub>Acét</sub>** et **BAQ<sub>nB</sub>** semblent des inhibiteurs moins effectifs par rapport aux autres extraits ( $IC_{50}=175,19\pm 0,01$  et  $154,34\pm 0,01\mu\text{g/mL}$ , respectivement). Ces effets restent inférieurs à ceux révélés par les standards BHA ( $IC_{50} = 5,99\pm 0,01\mu\text{g/mL}$ ) et quercétine ( $IC_{50} = 9,20\pm 0,004 \mu\text{g/mL}$ ).

**Tableau 18 :** Effet des extraits des fruits de *C. colocynthis* sur l'inhibition de la peroxydation lipidique exprimé en pourcentage.

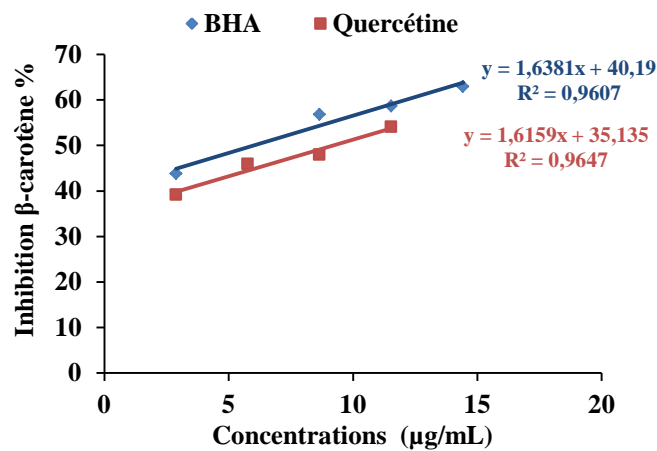
Extraits	Concentrations (µg/mL)					IC <sub>50</sub> (µg/mL)
	(% d'inhibition)					
<b>CAQ</b>	<b>6</b> 27,74±0,02	<b>29</b> 31,21±0,02	<b>46</b> 41,61±0,02	<b>133</b> 70,05±0,01	<b>167</b> 78,29±0,01	76,84±0,01
<b>CAQ<sub>nB</sub></b>	<b>17</b> 42,57±0,01	<b>46</b> 47,96±0,001	<b>63</b> 52,58±0,01	<b>115</b> 60,52±0,01	-	55,66±0,01
<b>CAQ<sub>Acét</sub></b>	<b>133</b> 27,46±0,002	<b>150</b> 36,67±0,02	<b>167</b> 45,00±0,01	<b>185</b> 55,54±0,02	-	175,19±0,01
<b>CEA</b>	<b>6</b> 13,60±0,03	<b>29</b> 20,40±0,03	<b>46</b> 30,60±0,02	<b>98</b> 40,12±0,02	<b>115</b> 52,79±0,01	115,05±0,01
<b>CEA<sub>nB</sub></b>	<b>6</b> 41,40±0,004	<b>17</b> 45,86±0,01	<b>29</b> 49,91±0,01	<b>46</b> 55,06±0,01	-	30,28±0,01
<b>CEA<sub>Acét</sub></b>	<b>46</b> 32,69±0,01	<b>81</b> 43,12±0,01	<b>98</b> 44,29±0,01	<b>150</b> 57,71±0,003	-	117,36±0,01
<b>CChM</b>	<b>6</b> 9,20±0,004	<b>17</b> 14,14±0,01	<b>29</b> 23,06±0,002	<b>115</b> 48,24±0,02	<b>150</b> 60,41±0,03	119,10±0,03
<b>BHA</b>	<b>3</b> 43,83±0,01	<b>9</b> 56,79±0,01	<b>11</b> 58,64±0,01	<b>14</b> 62,69±0,01	-	5,99±0,01
<b>Quercétine</b>	<b>3</b> 39,19±0,03	<b>6</b> 45,95±0,01	<b>9</b> 47,97±0,01	<b>11</b> 54,04±0,00	-	9,20±0,004

Valeur moyenne ± ESM (Erreur standard) (n=3)

**CAQ:** Extrait aqueux brut de *C. colocynthis* ; **CAQ<sub>Acét</sub>:** Fraction acétate d'éthyle de l'extrait aqueux de *C. colocynthis* ; **CAQ<sub>nB</sub>:** Fraction n-butanol de l'extrait aqueux de *C. colocynthis* ; **CEA :** Extrait eau-acétone brut de *C. colocynthis* ; **CEA<sub>Acét</sub>:** Fraction acétate d'éthyle de l'extrait eau-acétone de *C. colocynthis*; **CEA<sub>nB</sub>:** Fraction n-butanol de l'extrait eau-acétone de *C. colocynthis* ; **CChM :** Extrait chloroforme-méthanol de *C. colocynthis* .



**Figure 51:** Effet des extraits des fruits de *C. colocynthis* sur l'inhibition de la peroxydation lipidique exprimé en pourcentage.



**Figure 52:** Effet des molécules antioxydantes sur l'inhibition de la peroxydation lipidique exprimé en pourcentage.

### 1.4. Effet cytoprotecteur des extraits sur les hématies contre l'attaque radicalaire de l'AAPH

L'effet des extraits et fractions de *B. dioïca*, *C. colocynthis* et l'acide ascorbique sur la protection des hématies contre les radicaux libres produits par décomposition du AAPH est montré dans les tableaux n°19 et n°20, et dans les figures 53 et 54. L'ensemble des extraits testés ainsi que l'acide ascorbique préservent fortement l'altération membranaire des globules rouges contre l'AAPH d'une manière dose- dépendante.

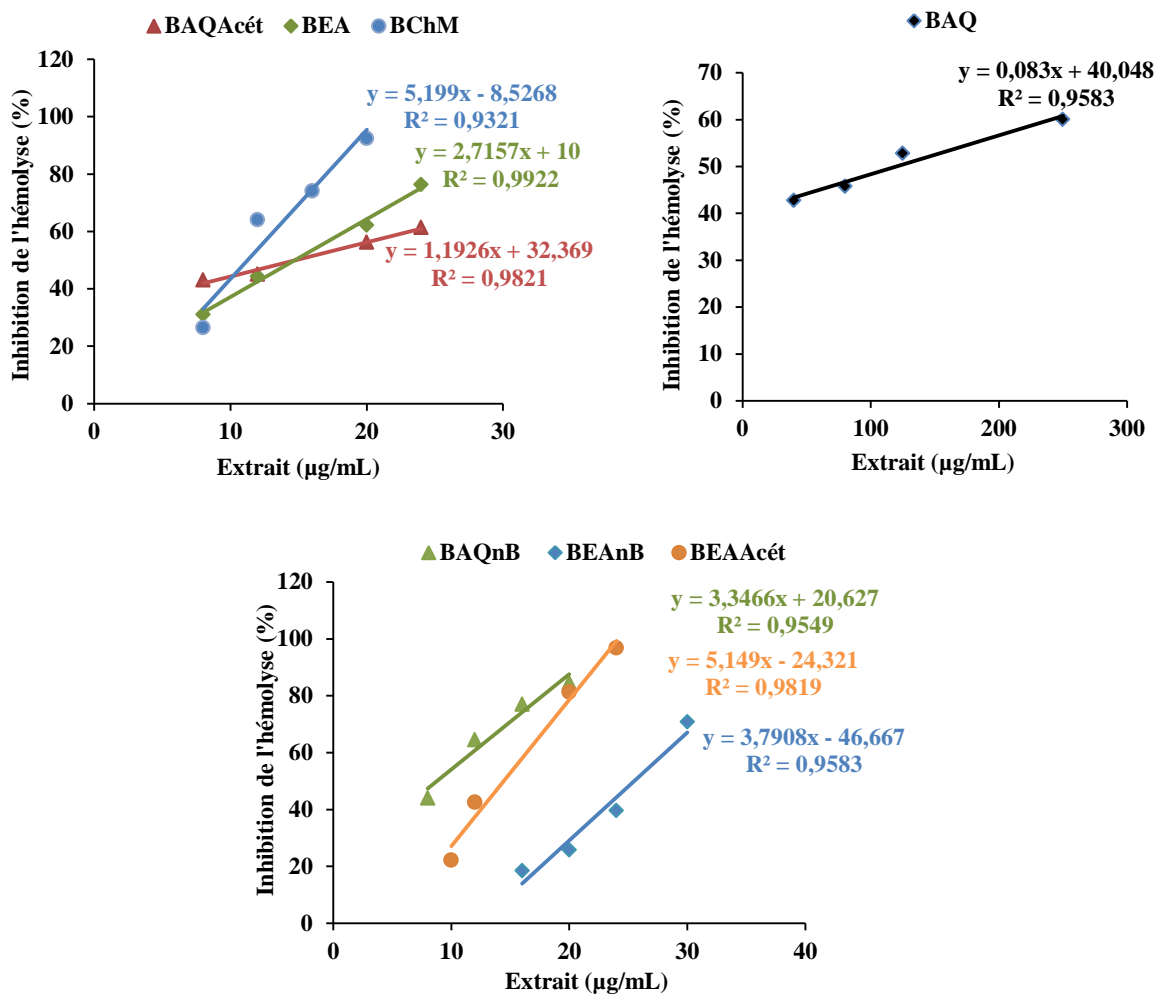
A de très faibles concentrations 8 et 10µg/mL, la majorité des extraits de la bryone assurent une inhibition de l'hémolyse de plus de 20%, et qui dépassant les 90% pour la fraction BEA<sub>Acét</sub> et l'extrait BChM aux concentrations 24 et 20µg/ml, respectivement (Tableau n°19). L'extrait aqueux brut (BAQ) semble moyennement efficace par rapport aux autres extraits avec un pourcentage d'inhibition de 60% à forte concentration (250µg/ml). Entre autre, de très faibles valeurs d'IC<sub>50</sub> ont été enregistrées, et qui varient entre 11,26±0,02 et 25,50±0,02 µg/mL pour l'ensemble des extraits et fractions. Cependant, la plus faible valeur d'IC<sub>50</sub> a été enregistrée dans la fraction BAQ<sub>nB</sub> (8,78±0,01µg/mL) ce qui indique un effet préventif puissant et supérieur à celui de l'acide ascorbique (IC<sub>50</sub>= 10,38±0,02µg/mL).

**Tableau 19:** Effet cytoprotecteur des extraits des racines de *Bryonia dioïca* des globules rouges contre l'hémolyse induite par l'AAPH exprimé en pourcentage d'inhibition

Extraits	Concentrations (µg/mL) (% d'inhibition de l'hémolyse)				IC <sub>50</sub> (µg/mL)
	40	80	125	250	
BAQ	42,75±0,06	45,72±0,06	52,78±0,002	60,03±0,01	119,90±0,03
BAQ <sub>nB</sub>	8	12	16	20	8,78±0,01
	44,02±0,01	64,44±0,01	76,99±0,01	84,46±0,01	
BAQ <sub>Acét</sub>	8	12	20	24	14,78±0,02
	43,11±0,003	45,08±0,002	56,24±0,03	61,38±0,02	
BEA	8	12	20	24	14,73±0,02
	30,98±0,03	44,29±0,02	62,20±0,02	76,34±0,01	
BEA <sub>nB</sub>	16	20	24	30	25,50±0,02
	18,43±0,004	25,75±0,03	39,61±0,02	70,72±0,01	
BEA <sub>Acét</sub>	10	12	20	24	14,43±0,04
	22,11±0,06	42,52±0,07	81,20±0,01	96,72±0,00	
BChM	8	12	16	20	11,26±0,02
	26,44±0,00	64,06±0,03	74,12±0,02	92,41±0,01	

Valeur moyenne ± ESM (Erreur standard) (n=3)

BAQ: Extrait aqueux brut de *B. dioïca* ; BAQ<sub>Acét</sub>: Fraction acétate d'éthyle de l'extrait aqueux de *B. dioïca* ; BAQ<sub>nB</sub>: Fraction n-butanol de l'extrait aqueux de *B. dioïca* ; BEA: Extrait eau-acétone brut de *B. dioïca* ; BEA<sub>Acét</sub>: Fraction acétate d'éthyle de l'extrait eau-acétone de *B. dioïca* ; BEA<sub>nB</sub>: Fraction n-butanol de l'extrait eau-acétone de *B. dioïca* ; BChM : Extrait chloroforme-méthanol de *B. dioïca* .



**Figure 53:** Effet cytoprotecteur des extraits des racines de *Bryonia dioïca* des globules rouges contre l'hémolyse induite par l'AAPH

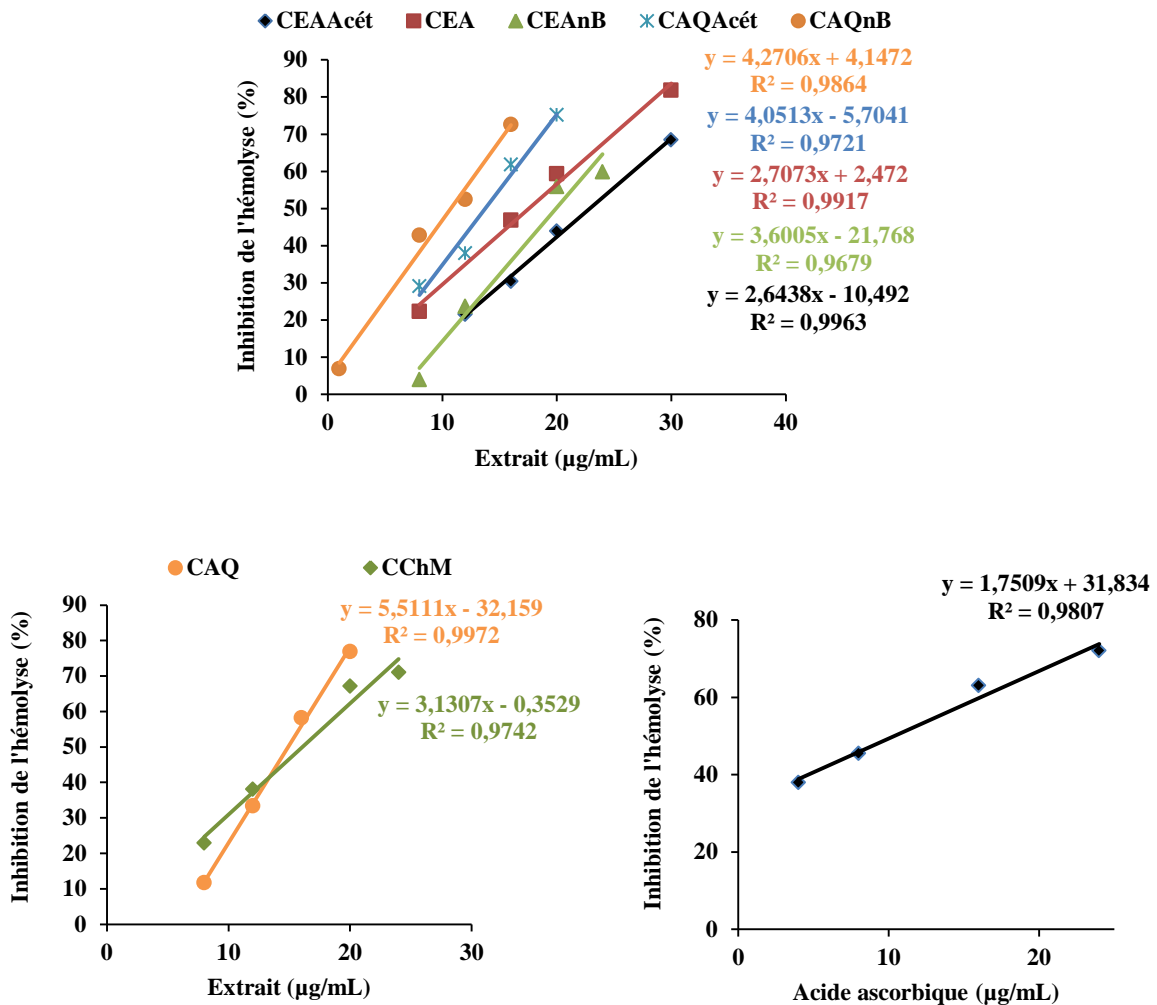
Les résultats mentionnés dans le **tableau n°20** et la **figure 54** indiquent que les extraits de la coloquinte confèrent un effet protecteur intéressant proportionnel à l'augmentation de la concentration des extraits. Les pourcentages d'inhibition enregistrés varient entre 3,94 à 81,84% sur une gamme de concentrations de 8µg/mL jusqu'à 30µg/mL. Parmi les extraits, la fraction **CAQ<sub>nB</sub>** a révélé une faible IC<sub>50</sub> (10,74±0,17 µg/mL) comparable à celle de l'acide ascorbique (10,38±0,02); suivie par la fraction **CAQ<sub>Acét</sub>** et l'extrait **CChM** qui ont affiché des valeurs de IC<sub>50</sub> de 13,75±0,02 et 16,08±0,02 µg/mL, respectivement.

**Tableau 20:** Effet cytoprotecteur de l'acide ascorbique et des extraits des fruits de *Citrullus colocynthis* des globules rouges contre l'hémolyse induite par l'AAPH exprimé en pourcentage d'inhibition

Extraits	Concentrations ( $\mu\text{g/mL}$ ) (% d'inhibition de l'hémolyse)				IC <sub>50</sub> ( $\mu\text{g/mL}$ )
<b>CAQ</b>	<b>8</b> 11,65±0,00	<b>12</b> 33,31±0,09	<b>16</b> 58,18±0,02	<b>20</b> 76,84±0,02	14,91±0,06
<b>CAQ<sub>nB</sub></b>	<b>1</b> 6,84±0,00	<b>8</b> 42,74±0,18	<b>12</b> 52,45±0,15	<b>16</b> 72,57±0,20	10,74±0,17
<b>CAQ<sub>Acét</sub></b>	<b>8</b> 29,12±0,02	<b>12</b> 37,95±0,02	<b>16</b> 61,81±0,01	<b>20</b> 75,18±0,00	13,75±0,02
<b>CEA</b>	<b>8</b> 22,25±0,07	<b>16</b> 46,80±0,000	<b>20</b> 59,34±0,001	<b>30</b> 81,84±0,004	17,56±0,000
<b>CEA<sub>nB</sub></b>	<b>8</b> 3,94±0,00	<b>12</b> 23,70±0,69	<b>20</b> 55,84±0,04	<b>24</b> 59,88±0,04	19,93±0,36
<b>CEA<sub>Acét</sub></b>	<b>12</b> 21,50±0,04	<b>16</b> 30,37±0,03	<b>20</b> 43,93±0,04	<b>30</b> 68,46±0,01	22,88±0,03
<b>CChM</b>	<b>8</b> 22,88±0,02	<b>12</b> 38,04±0,02	<b>20</b> 67,06±0,01	<b>24</b> 70,98±0,003	16,08±0,02
<b>A. ascorbique</b>	<b>4</b> 37,91±0,04	<b>8</b> 45,42±0,03	<b>16</b> 63,00±0,01	<b>24</b> 72,05±0,04	10,38±0,02

Valeur moyenne  $\pm$  ESM (Erreur standard) (n=3)

**CAQ:** Extrait aqueux brut de *C. colocynthis*; **CAQ<sub>Acét</sub>:** Fraction acétate d'éthyle de l'extrait aqueux de *C. colocynthis*; **CAQ<sub>nB</sub>:** Fraction n-butanol de l'extrait aqueux de *C. colocynthis*; **CEA:** Extrait eau-acétone brut de *C. colocynthis*; **CEA<sub>Acét</sub>:** Fraction acétate d'éthyle de l'extrait eau-acétone de *C. colocynthis*; **CEA<sub>nB</sub>:** Fraction n-butanol de l'extrait eau-acétone de *C. colocynthis*; **CChM:** Extrait chloroforme-méthanol de *C. colocynthis*.



**Figure 54:** Effet cytoprotecteur de l'acide ascorbique et des extraits des fruits de *Citrullus colocynthis* des globules rouges contre l'hémolyse induite par l'AAPH

À la lumière des résultats des différents tests réalisés pour l'évaluation de l'activité antioxydante, et suite à la comparaison des valeurs de  $IC_{50}$ , nous avons constaté que les extraits de *B. dioïca* ont montré une activité antioxydante très significative ( $p= 0,0001$ ) dans le test de blanchiment de  $\beta$ -carotène et le test cytoprotecteur des globules rouges comparativement aux valeurs du test du DPPH et du FRAP (**Tableau n°21 ; figure 55**). De même, les extraits de *C. colocynthis* ont significativement ( $p= 0,0001$ ) protégé la  $\beta$ -carotène contre l'oxydation par l'acide linoléique, et les globules rouges contre l'effet du AAPH, ainsi qu'un effet scavenger du DPPH modéré et une faible réduction du fer ferrique (**Tableau n° 22; figure 56**). Le meilleur effet antioxydant a été présenté par les extraits de *B. dioïca* par rapport à ceux de *C.colocynthis*.

**Tableau 21:** Les valeurs de IC<sub>50</sub> (µg/mL) de l'activité antioxydante déterminées pour les extraits de *B. dioïca*

	DPPH	FRAP	β-carotène	AAPH
<b>BAQ</b>	569,31±0,04 <sup>b</sup>	1401±0,004 <sup>b</sup>	30,88±0,01 <sup>f</sup>	119,90±0,03 <sup>a</sup>
<b>BAQ<sub>Acét</sub></b>	nd	1668±0,02 <sup>a</sup>	90,55±0,01 <sup>d</sup>	14,78±0,02 <sup>c</sup>
<b>BAQ<sub>nB</sub></b>	508,32±0,04 <sup>d</sup>	571,89±0,03 <sup>f</sup>	154,34±0,01 <sup>a</sup>	8,78±0,01 <sup>g</sup>
<b>BEA</b>	716,55±0,004 <sup>a</sup>	691,8±0,05 <sup>e</sup>	114,46±0,01 <sup>b</sup>	14,73±0,02 <sup>c</sup>
<b>BEA<sub>Acét</sub></b>	293±0,05 <sup>f</sup>	830,6±0,03 <sup>d</sup>	22,05±0,02 <sup>g</sup>	14,43±0,04 <sup>d</sup>
<b>BEA<sub>nB</sub></b>	529,45±0,03 <sup>c</sup>	906,6±0,04 <sup>c</sup>	103±0,01 <sup>c</sup>	25,50±0,02 <sup>b</sup>
<b>BChM</b>	358,36±0,04 <sup>e</sup>	535,91±0,01 <sup>g</sup>	81,80±0,02 <sup>e</sup>	11,26±0,02 <sup>e</sup>
<b>Acide ascorbique</b>	2,23±0,004 <sup>g</sup>	-	-	10,38±0,02 <sup>f</sup>
<b>BHA</b>	-	16,33±0,03 <sup>h</sup>	5,99±0,01 <sup>i</sup>	-
<b>Quercétine</b>	-	-	9,20±0,004 <sup>h</sup>	-
<b>Valeur de p</b>	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001

Valeur moyenne ± ESM (Erreur standard) (n=3) **BAQ**: Extrait aqueux brut de *B. dioïca* ; **BAQ<sub>Acét</sub>**: Fraction acétate d'éthyle de l'extrait aqueux de *B. dioïca* ; **BAQ<sub>nB</sub>**: Fraction n-butanol de l'extrait aqueux de *B. dioïca* ; **BEA**: Extrait eau-acétone brut de *B. dioïca* ; **BEA<sub>Acét</sub>**: Fraction acétate d'éthyle de l'extrait eau-acétone de *B. dioïca* ; **BEA<sub>nB</sub>**: Fraction n-butanol de l'extrait eau-acétone de *B. dioïca* ; **BChM**: Extrait chloroforme-méthanol de *B. dioïca* . <sup>a-i</sup> Les échantillons non reliés par la même lettre présentent une différence fortement significative

**Tableau 22:** Les valeurs de IC<sub>50</sub> (µg/mL) de l'activité antioxydante déterminées pour les extraits de *C. colocynthis*

	DPPH	FRAP	β-carotène	AAPH
<b>CAQ</b>	567,05±0,03 <sup>g</sup>	1072±0,01 <sup>b</sup>	76,84±0,01 <sup>e</sup>	14,91±0,06 <sup>e</sup>
<b>CAQ<sub>Acét</sub></b>	669,14±0,05 <sup>d</sup>	584±0,01 <sup>g</sup>	175,19±0,01 <sup>a</sup>	13,75±0,02 <sup>f</sup>
<b>CAQ<sub>nB</sub></b>	644,55±0,01 <sup>f</sup>	936±0,02 <sup>d</sup>	55,66±0,01 <sup>f</sup>	10,74±0,17 <sup>g</sup>
<b>CEA</b>	867,08± 0,01 <sup>a</sup>	853,4±0,03 <sup>f</sup>	115,05±0,01 <sup>d</sup>	17,56±0,00 <sup>e</sup>
<b>CEA<sub>Acét</sub></b>	677,95±0,01 <sup>c</sup>	1120,67±0,05 <sup>a</sup>	117,36±0,01 <sup>c</sup>	22,88±0,03 <sup>a</sup>
<b>CEA<sub>nB</sub></b>	744,15±0,02 <sup>b</sup>	1039±0,06 <sup>c</sup>	30,28±0,01 <sup>g</sup>	19,93±0,36 <sup>b</sup>
<b>CChM</b>	667,53±0,02 <sup>e</sup>	853,80±0,04 <sup>e</sup>	119,10±0,03 <sup>b</sup>	16,08±0,02 <sup>d</sup>
<b>Acide ascorbique</b>	2,23±0,004 <sup>h</sup>	-	-	10,38±0,02 <sup>g</sup>
<b>BHA</b>	-	16,33±0,03 <sup>h</sup>	5,99±0,01 <sup>i</sup>	-
<b>Quercétine</b>	-	-	9,20±0,004 <sup>h</sup>	-
<b>Valeur de p</b>	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001

Valeur moyenne ± ESM (Erreur standard)(n=3) **CAQ**: Extrait aqueux brut de *C. colocynthis*; **CAQ<sub>Acét</sub>**: Fraction acétate d'éthyle de l'extrait aqueux de *C. colocynthis*; **CAQ<sub>nB</sub>**: Fraction n-butanol de l'extrait aqueux de *C. colocynthis*; **CEA**: Extrait eau-acétone brut de *C. colocynthis*; **CEA<sub>Acét</sub>**: Fraction acétate d'éthyle de l'extrait eau-acétone de *C. colocynthis*; **CEA<sub>nB</sub>**: Fraction n-butanol de l'extrait eau-acétone de *C. colocynthis*; **CChM**: Extrait chloroforme-méthanol de *C. colocynthis*. <sup>a-i</sup> Les échantillons non reliés par la même lettre présentent une différence fortement significative

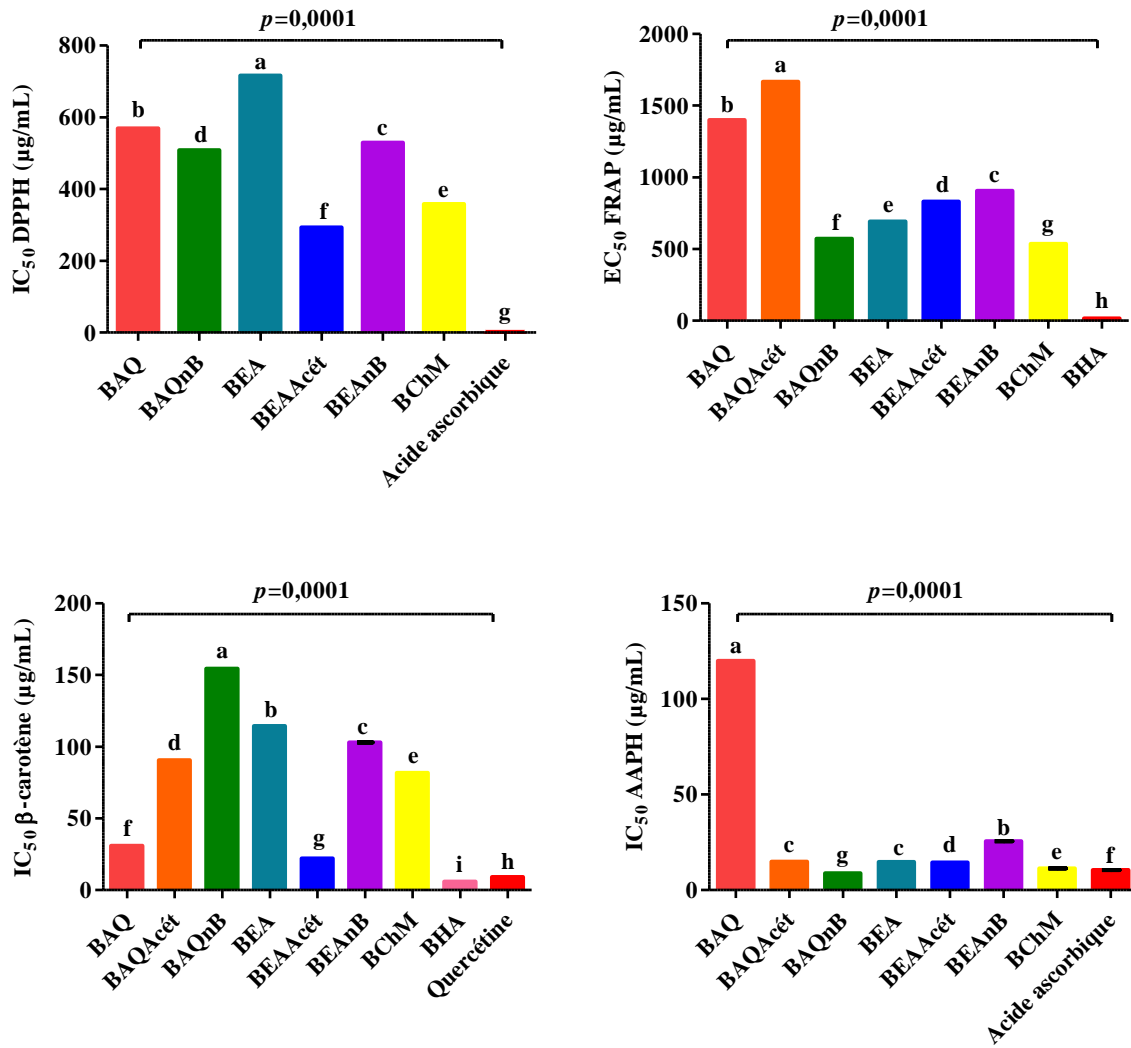


Figure 55: Les valeurs de IC<sub>50</sub> (µg/mL) de l'activité antioxydante déterminées pour les extraits de *B. dioica*

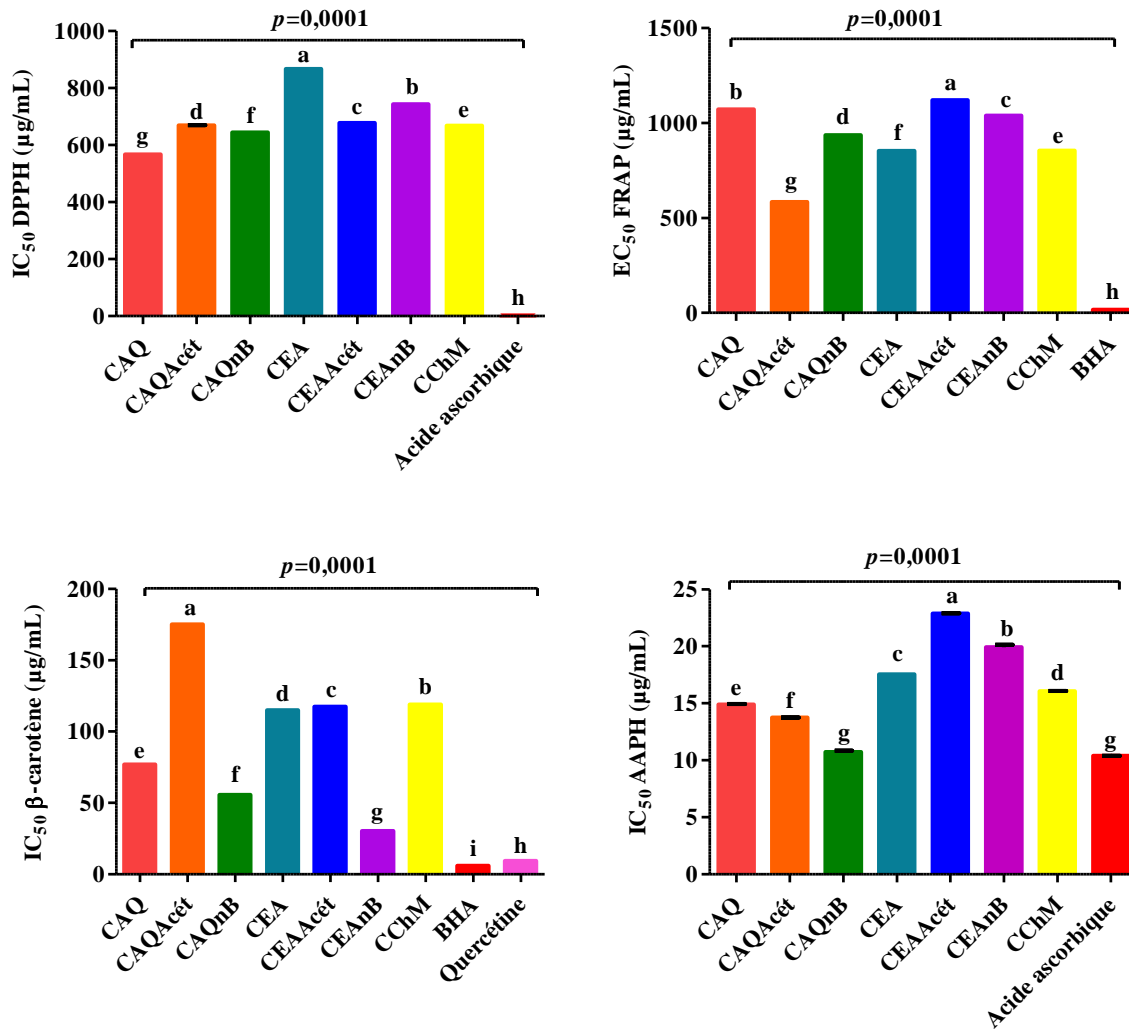


Figure 56: Les valeurs de IC<sub>50</sub> (µg/mL) de l'activité antioxydante déterminées pour les extraits de *C. colocynthis*

## 2. Effet des extraits de *B. dioïca* et *C. colocynthis* sur l'activité antidiabétique

### 2.1. Effet des extraits sur l'activité de l'α-amylase : Etude en point terminal

Les tableaux n°23 et n°24 et les figures 57 et 58 résument les résultats de l'effet des différents extraits et fractions des deux plantes étudiées sur l'activité de l'α-amylase.

Suivant ces résultats, l'ensemble des extraits étudiés présentent un effet inhibiteur dose-dépendant. Pour les extraits de la bryone, les fractions acétate d'éthyle et n-butanol de l'extrait hydro-acétone (**BEA<sub>Acét</sub>**, **BEA<sub>nB</sub>**) renferment un potentiel inhibiteur significativement ( $p \leq 0,0001$ ) élevé par rapport à l'effet de l'extrait brut **BEA**. De même, l'extrait brut aqueux (**BAQ**) et sa fraction acétate d'éthyle (**BAQ<sub>Acét</sub>**) aux concentrations variables entre 167 et 1333 µg/mL révèlent des taux d'inhibition modérés allant de

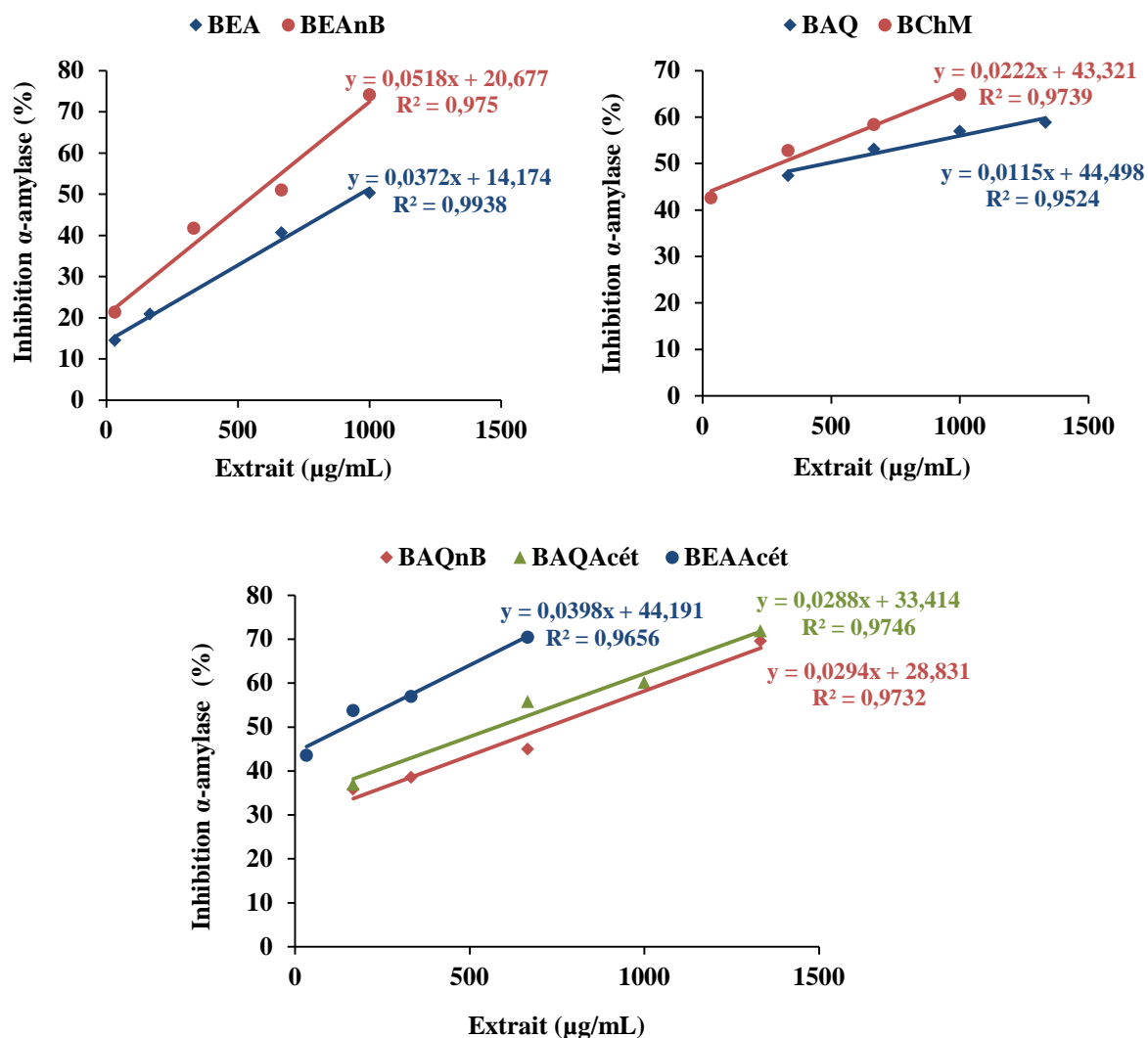
36,98±0,02% jusqu'à 71,89±0,03%. Egalement, l'extrait chloroforme-méthanol (**BChM**) inhibe significativement l'activité enzymatique (42,59±0,02 %) à faible concentration (33 µg/mL). En terme de valeurs de IC<sub>50</sub>, la fraction acétate d'éthyle **BEA<sub>Acét</sub>** a affichée une faible IC<sub>50</sub> de l'ordre de 145,95±0,01µg/mL, suivie par l'extrait **BChM** (300,86±0,04 µg/mL). Pour les autres extraits les IC<sub>50</sub> varient entre 963,06 et 566,08 µg/mL.

**Tableau 23:** Effet des extraits des racines de *Bryonia dioïca* sur l'inhibition de l'activité de l'α-amylase.

Extraits	Concentrations (µg/mL)				IC <sub>50</sub> (µg/mL)
	(% d'inhibition)				
<b>BAQ</b>	<b>333</b>	<b>667</b>	<b>1000</b>	<b>1333</b>	478,43±0,004
	47,37±0,00	53,11±0,01	56,94±0,01	58,85±0,05	
<b>BAQ<sub>nB</sub></b>	<b>167</b>	<b>333</b>	<b>667</b>	<b>1333</b>	720,03±0,05
	35,83±0,02	38,50±0,004	44,92±0,004	69,52±0,09	
<b>BAQ<sub>Acét</sub></b>	<b>167</b>	<b>667</b>	<b>1000</b>	<b>1333</b>	575,90±0,01
	36,98±0,02	55,79±0,01	60,11±0,03	71,89±0,03	
<b>BEA</b>	<b>33</b>	<b>167</b>	<b>667</b>	<b>1000</b>	963,06±0,05
	14,44±0,02	20,86±0,01	40,64±0,02	50,27±0,08	
<b>BEA<sub>nB</sub></b>	<b>33</b>	<b>333</b>	<b>667</b>	<b>1000</b>	566,08±0,02
	21,30±0,04	41,67±0,02	50,93±0,01	74,07±0,02	
<b>BEA<sub>Acét</sub></b>	<b>33</b>	<b>167</b>	<b>333</b>	<b>667</b>	145,95±0,01
	43,52±0,02	53,70±0,01	56,94±0,01	70,37±0,01	
<b>BChM</b>	<b>33</b>	<b>333</b>	<b>667</b>	<b>1000</b>	300,86±0,04
	42,59±0,02	52,78±0,05	58,33±0,01	64,81±0,003	

Valeur moyenne ± ESM (Erreur standard) (n=3)

**BAQ:** Extrait aqueux brut de *B. dioïca* ; **BAQ<sub>Acét</sub>:** Fraction acétate d'éthyle de l'extrait aqueux de *B. dioïca* ; **BAQ<sub>nB</sub>:** Fraction n-butanol de l'extrait aqueux de *B. dioïca* ; **BEA:** Extrait eau-acétone brut de *B. dioïca* ; **BEA<sub>Acét</sub>:** Fraction acétate d'éthyle de l'extrait eau-acétone de *B. dioïca* ; **BEA<sub>nB</sub>:** Fraction n-butanol de l'extrait eau-acétone de *B. dioïca* ; **BChM:** Extrait chloroforme-méthanol de *B. dioïca* .



**Figure 57:** Effet des extraits des racines de *Bryonia dioïca* sur l'inhibition de l'activité de l' $\alpha$ -amylase

Concernant la coloquinte, nous avons constaté un effet inhibiteur de l' $\alpha$ -amylase meilleur que celui de la bryone. Selon les résultats exprimés dans le **tableau n°24** et la **figure n°58**, à faible concentration (100 µg/mL) les fractions **CAQ<sub>nB</sub>**; **CAQ<sub>Acét</sub>**; **CEA<sub>nB</sub>**; **CEA<sub>Acét</sub>** et l'extrait **CChM** présentent une inhibition significative de l'activité enzymatique avec un taux d'inhibition de plus de 40 %. Les extraits bruts **CEA** et **CAQ** atteignent plus de 30% d'inhibition aux concentrations de 100 et 167 µg/mL, respectivement. Les valeurs d'IC<sub>50</sub> déterminées pour cette activité indiquent que la fraction **CEA<sub>Acét</sub>** renferme le pouvoir inhibiteur le plus puissant (IC<sub>50</sub> = 63,75±0,06 µg/ml), suivi par l'extrait chloroforme-méthanol **CChM** et la fraction **CEA<sub>nB</sub>** qui présentent des valeurs de l'ordre de 107,51±0,02 et 159,79±0,06 µg/mL, respectivement. Cependant, l'effet inhibiteur le plus faible a été enregistré dans l'extrait brut aqueux avec une valeur d'IC<sub>50</sub> de 594±0,03µg/mL.

En revanche, l'acarbose la molécule antidiabétique utilisée comme référence, a présenté un effet inhibiteur très significative à faibles concentrations de 7 à 33 µg/mL qui arrivent à des taux d'inhibition de 39,47±0,03 jusqu'à 72,08±0,01%, respectivement, et une valeur d'IC<sub>50</sub> égale à 13,46±0,03µg/mL.

**Tableau 24:** Effet des extraits des fruits de *Citrullus colocynthis* sur l'inhibition de l'activité de l'α-amylase

Extraits	Concentrations (µg/mL)				IC <sub>50</sub> (µg/mL)
	(% d'inhibition)				
<b>CAQ</b>	<b>167</b>	<b>333</b>	<b>667</b>	<b>1000</b>	594,0±0,03
	39,49±0,03	40,50±0,03	50,94±0,02	59,10±0,02	
<b>CAQ<sub>nB</sub></b>	<b>20</b>	<b>100</b>	<b>200</b>	<b>333</b>	201,73±0,01
	35,45±0,01	40,49±0,04	46,38±0,01	63,88±0,01	
<b>CAQ<sub>Acét</sub></b>	<b>100</b>	<b>333</b>	<b>667</b>	<b>1000</b>	303,29±0,03
	42,26±0,04	52,31±0,01	61,20±0,01	79,43±0,02	
<b>CEA</b>	<b>10</b>	<b>33</b>	<b>100</b>	<b>200</b>	186,68±0,03
	13,79±0,04	17,82±0,02	37,93±0,04	50,43±0,05	
<b>CEA<sub>nB</sub></b>	<b>3</b>	<b>33</b>	<b>100</b>	<b>200</b>	159,79±0,06
	8,05±0,02	13,79±0,02	41,81±0,09	57,33±0,03	
<b>CEA<sub>Acét</sub></b>	<b>3</b>	<b>20</b>	<b>33</b>	<b>100</b>	63,75±0,06
	34,54±0,01	40,86±0,01	42,84±0,03	58,38±0,10	
<b>CChM</b>	<b>10</b>	<b>33</b>	<b>100</b>	<b>200</b>	107,51±0,02
	35,32±0,05	38,14±0,06	46,75±0,003	65,83±0,03	
<b>Acarbose</b>	<b>7</b>	<b>14</b>	<b>27</b>	<b>33</b>	13,46±0,03
	39,47±0,03	53,72±0,02	66,59±0,01	72,08±0,01	

Valeur moyenne ± ESM (Erreur standard) (n=3)

**CAQ:** Extrait aqueux brut de *C. colocynthis*; **CAQ<sub>Acét</sub>:** Fraction acétate d'éthyle de l'extrait aqueux de *C. colocynthis*; **CAQ<sub>nB</sub>:** Fraction n-butanol de l'extrait aqueux de *C. colocynthis*; **CEA:** Extrait eau-acétone brut de *C. colocynthis*; **CEA<sub>Acét</sub>:** Fraction acétate d'éthyle de l'extrait eau-acétone de *C. colocynthis*; **CEA<sub>nB</sub>:** Fraction n-butanol de l'extrait eau-acétone de *C. colocynthis*; **CChM:** Extrait chloroforme-méthanol de *C. colocynthis*.

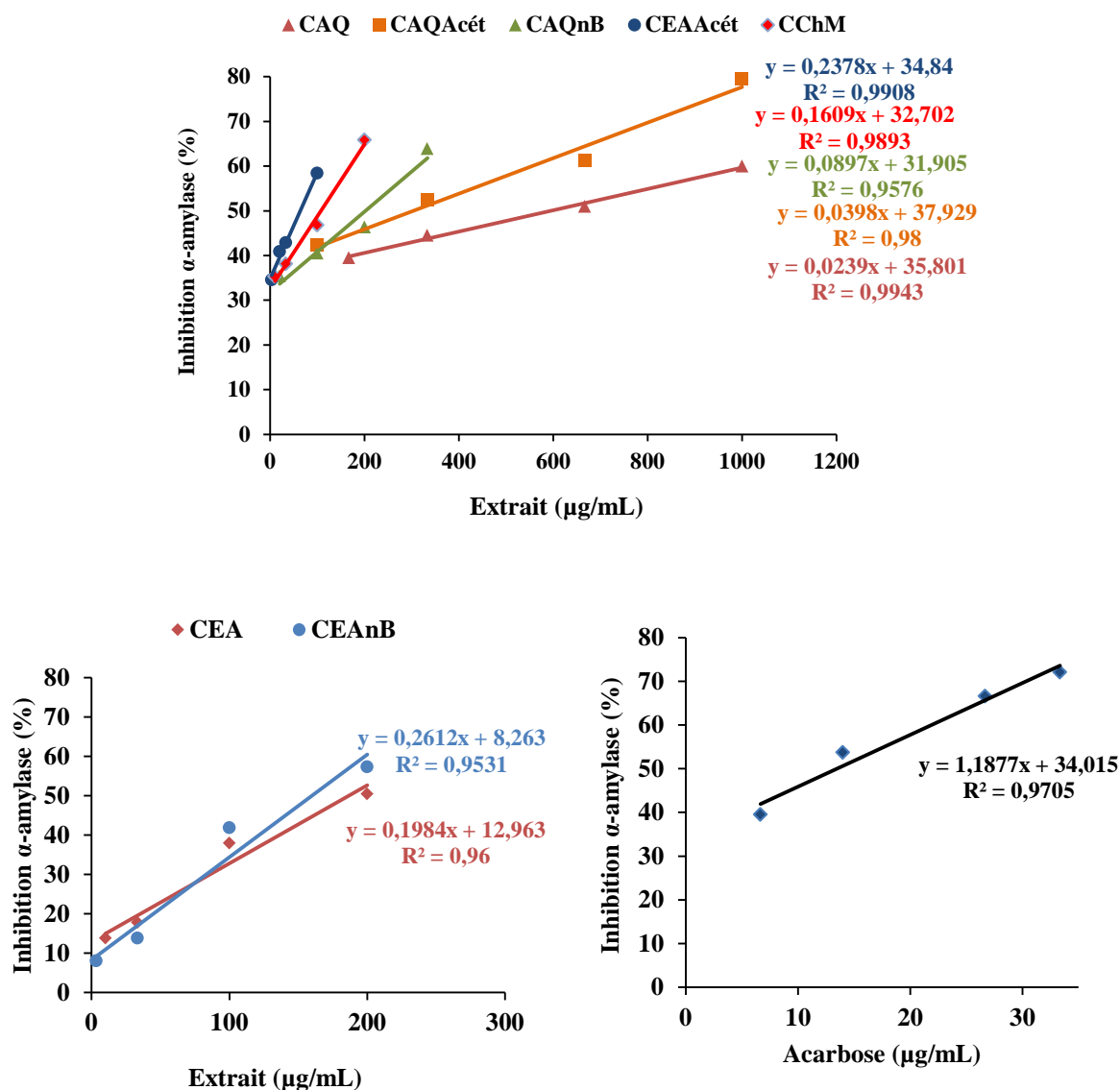


Figure 58: Effet des extraits des fruits de *Citrullus colocynthis* et de l'acarbose sur l'inhibition de l'activité de l' $\alpha$ -amylase.

## 2.2. Effet des extraits sur l'activité de l' $\alpha$ -amylase : Etude de la cinétique enzymatique

Afin de mettre en évidence le mode d'inhibition des deux espèces végétales étudiées vis-à-vis l'activité enzymatique de l' $\alpha$ -amylase nous avons réalisé une étude de la cinétique enzymatique. Seules les fractions acétate d'éthyle préparées à partir de l'extrait hydroacétonique et les extraits chloroforme-méthanol ont fait l'objet de cette étude. Les résultats obtenus sont représentés dans les figures 59 à 67 et les tableaux 25 à 28.

Pour quantifier le taux du maltose (le produit) libéré au cours de chaque réaction enzymatique, une gamme d'étalonnage a été effectuée en utilisant le maltose comme étalon (Figure 59). Les produits quantifiés ont été utilisés pour réaliser des courbes de l'apparition

du produit en fonction du temps ( $[P]=f(t)$ ) afin de mettre en évidence les valeurs des vitesses initiales. Trois concentrations d'inhibiteurs, extraits ou Acarbose ont été testées, dont la réaction d'hydrolyse pour chaque concentration d'inhibiteur a été réalisée en présence de trois concentrations (0,1 ; 0,5 et 0,7%) du substrat (amidon).

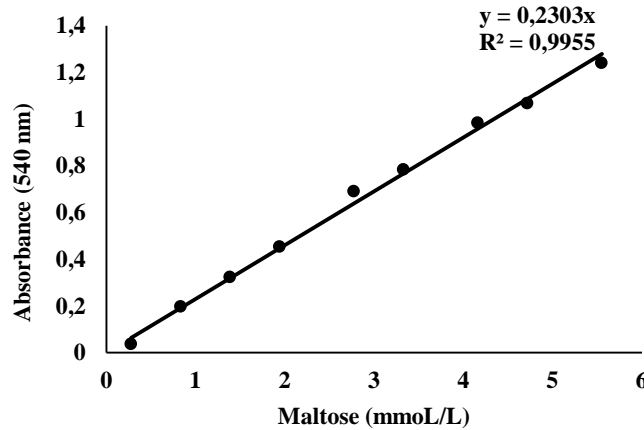


Figure 59: Courbe d'étalonnage du maltose

La figure n°60 représente les courbes  $[P]=f(t)$  en absence d'inhibiteur, on remarque que l'apparition du maltose augmente proportionnellement à la concentration du substrat au cours du temps. De même, nous avons enregistré une augmentation proportionnelle de la vitesse initiale (correspondante à la pente de la tangente déterminée par le logiciel Regressi) à la concentration du substrat (Tableau n°25), elle passe de 0,5056 mM/min à la concentration de 0,33mg/mL du substrat et atteint 1,113mM/min à 2,33mg/mL du substrat.

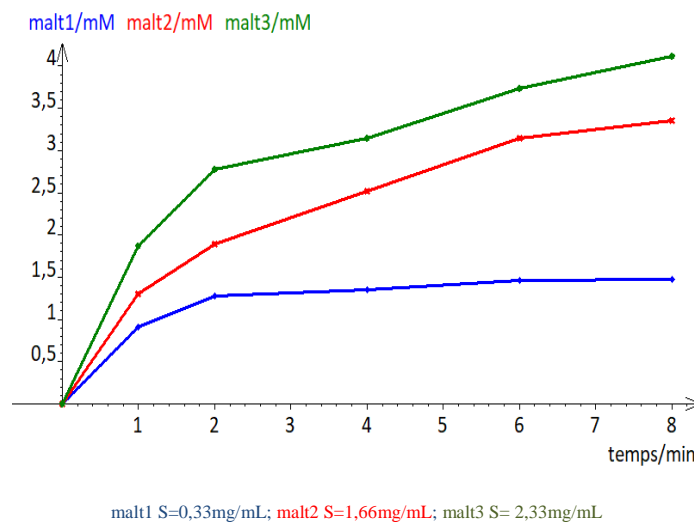


Figure 60: Courbes d'apparition du produit de l' $\alpha$ -amylase (maltose) en fonction du temps et en présence de trois concentrations de l'amidon (0,33 ; 1,66 et 2,33 mg/mL)

**Tableau 25:** Les vitesses initiales de la cinétique enzymatique de l' $\alpha$ -amylase à différentes concentrations de l'acarbose et du substrat.

		Vitesse initiale (mM/min)			
		Acarbose ( $\mu\text{g/mL}$ )			CN
		2	13	15	-
<b>Substrat</b> <b>(Amidon</b> <b>mg/mL)</b>	<b>0,33</b>	0,2728	0,1816	0,0787	0,5056
	<b>1,66</b>	0,6029	0,5564	0,3179	0,8118
	<b>2,33</b>	0,9323	0,658	0,3781	1,113

CN: Contrôle négatif (Réaction enzymatique sans inhibiteur)

Les effets des extraits **BChM** et **CChM**, des fractions **BEA<sub>Acét</sub>** et **CEA<sub>Acét</sub>**, et de la molécule antidiabétique standard (acarbose) représentés dans **les figures 61 à 65** ont montré une augmentation de la production du maltose (produit) proportionnelle à la concentration de l'amidon (substrat) mais inversement proportionnelle en présence des inhibiteurs comme l'extrait chloroforme-méthanol, la fraction acétate d'éthyle et l'acarbose. Les résultats de la pente de la tangente ( $d[P]/d(t)$ ) groupés dans **les tableaux n°25 ; 26 et 27** indiquent une augmentation de la vitesse initiale par augmentation de la concentration du substrat et sa diminution par augmentation de la concentration des extraits et de l'acarbose, ce qui explique leurs effets inhibiteurs de l'activité de l' $\alpha$ -amylase.

**Tableau 26:** Les vitesses initiales de la cinétique enzymatique de l' $\alpha$ -amylase à différentes concentrations des extraits de *B. dioica* et du substrat.

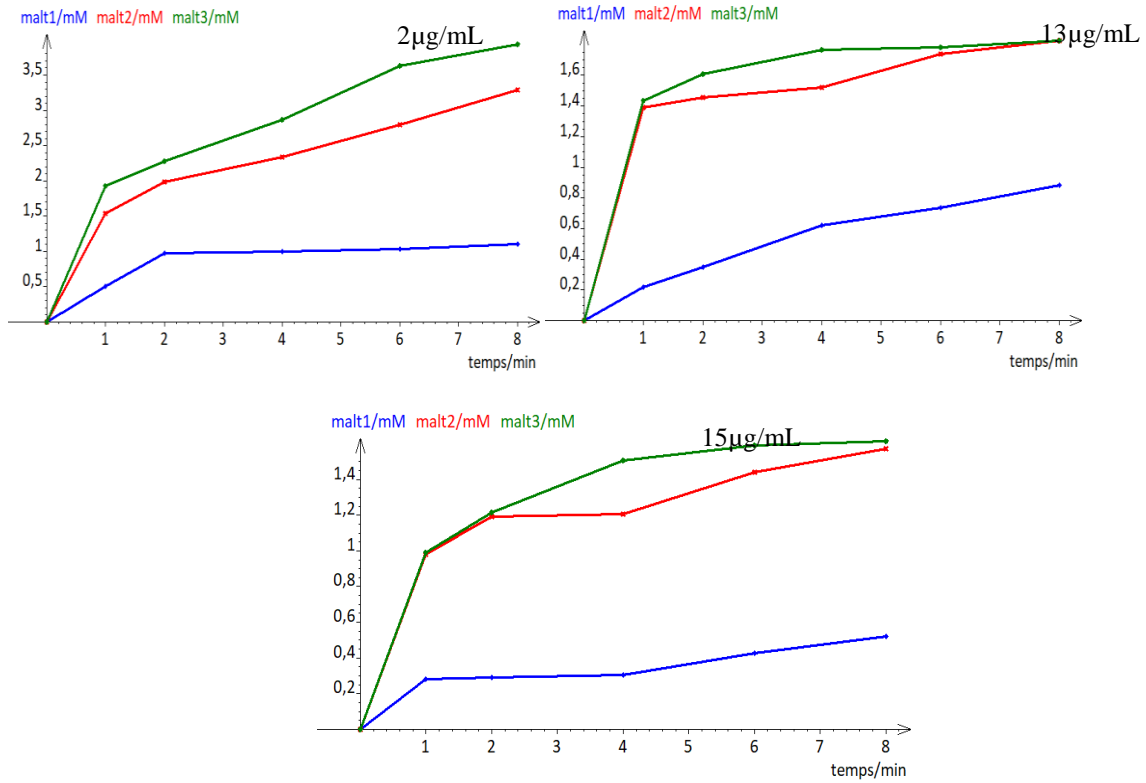
		Vitesse initiale (mM/min)						
		BEA <sub>Acét</sub> ( $\mu$ g/mL)			BChM ( $\mu$ g/mL)			CN
		100	146	167	267	301	333	-
<b>Substrat</b> (Amidon mg/mL)	<b>0,33</b>	0,4406	0,2901	0,2710	0,236	0,2160	0,1694	0,5056
	<b>1,66</b>	0,7231	0,4802	0,4298	0,4950	0,4783	0,4077	0,8118
	<b>2,33</b>	0,8814	0,4998	0,4798	0,6836	0,6127	0,5151	1,113

**BEA<sub>Acét</sub>**: Fraction acétate d'éthyle de l'extrait eau-acétone de *B. dioica* ; **BChM**: Extrait chloroforme-méthanol de *B. dioica* ; **CN** : contrôle négatif (Réaction enzymatique sans inhibiteur).

**Tableau 27:** Les vitesses initiales de la cinétique enzymatique de l' $\alpha$ -amylase à différentes concentrations des extraits de *C. colocynthis* et du substrat.

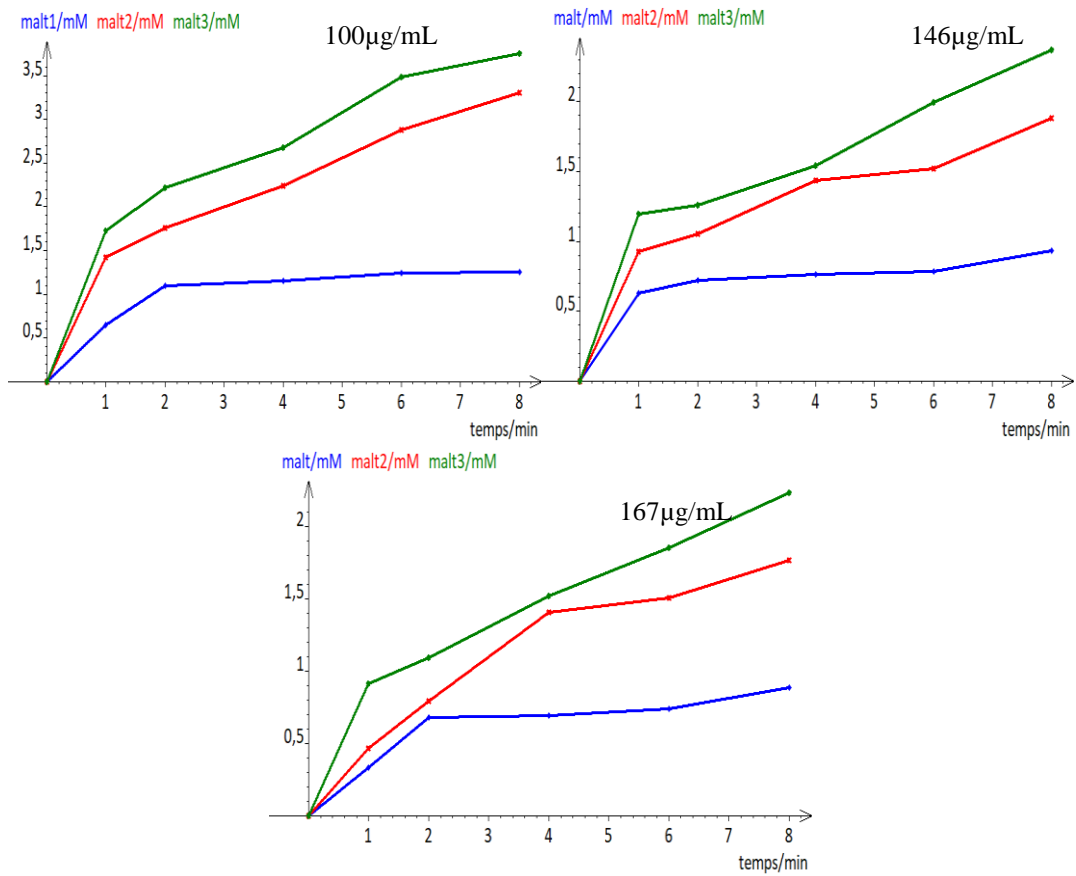
		Vitesse initiale (mM/min)						
		CEA <sub>Acét</sub> ( $\mu$ g/mL)			CChM ( $\mu$ g/mL)			CN
		33	63	83	100	108	113	-
<b>Substrat</b> (Amidon mg/mL)	<b>0,33</b>	0,4873	0,2286	0,1872	0,2590	0,2153	0,1728	0,5056
	<b>1,66</b>	0,9304	0,4616	0,4033	0,4774	0,4530	0,3142	0,8118
	<b>2,33</b>	0,9871	0,6491	0,5042	0,6411	0,4427	0,4226	1,113

**CEA<sub>Acét</sub>**: Fraction acétate d'éthyle de l'extrait eau-acétone de *C. colocynthis* ; **CChM**: Extrait chloroforme-méthanol de *C. colocynthis*; **CN** : Contrôle négatif (Réaction enzymatique sans inhibiteur)



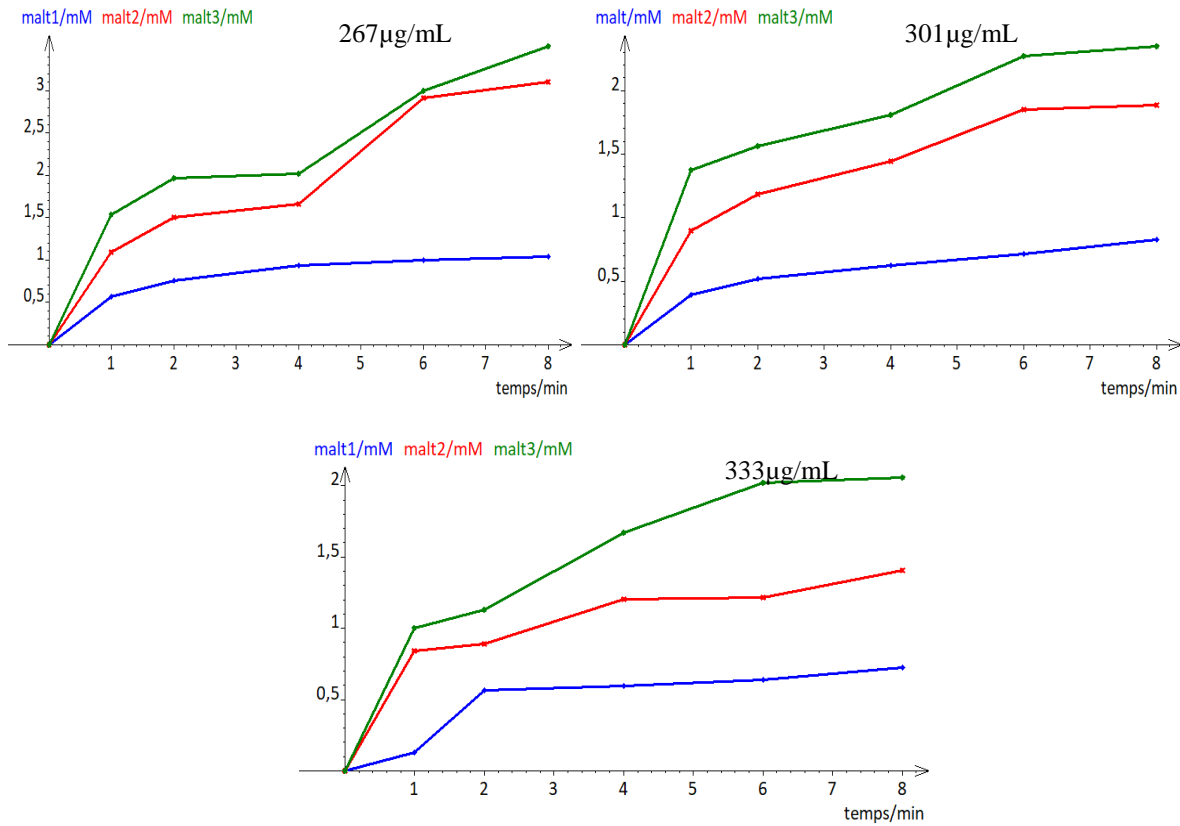
malt1 S=0,33mg/mL; malt2 S=1,66mg/mL; malt3 S= 2,33mg/mL

**Figure 61:** Courbes d'apparition du produit de l' $\alpha$ -amylase (maltose) en fonction du temps et en présence des trois concentrations de l'amidon et de l'acarbose (2 ; 13 et 15 µg/mL)



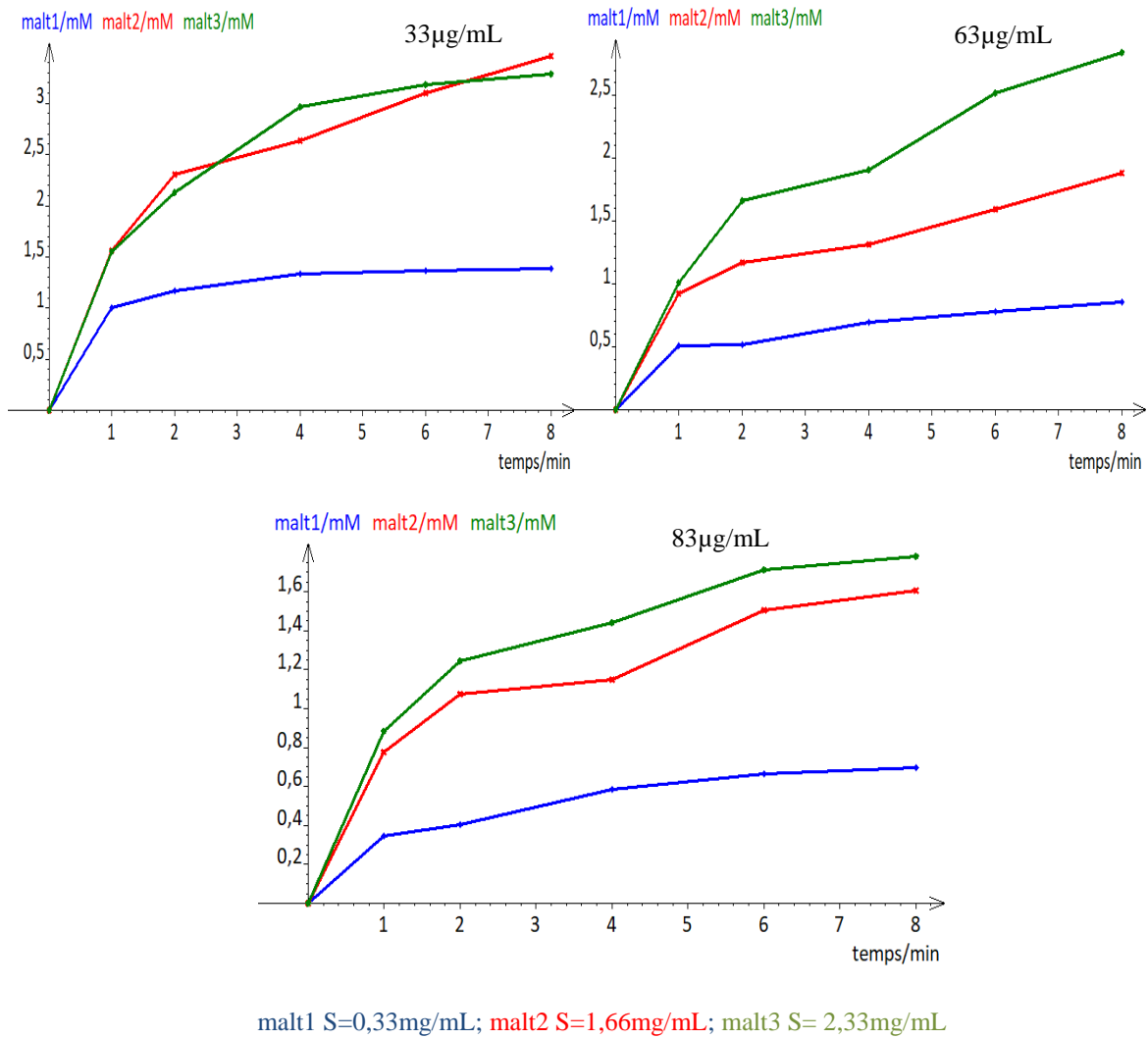
malt1 S=0,33mg/mL; malt2 S=1,66mg/mL; malt3 S= 2,33mg/mL

**Figure 62:** Courbes d'apparition du produit de l' $\alpha$ -amylase (maltose) en fonction du temps et en présence des trois concentrations de l'amidon et de la fraction **BEA<sub>Acét</sub>** de *B. dioïca* (100 ; 146 et 167µg/mL)

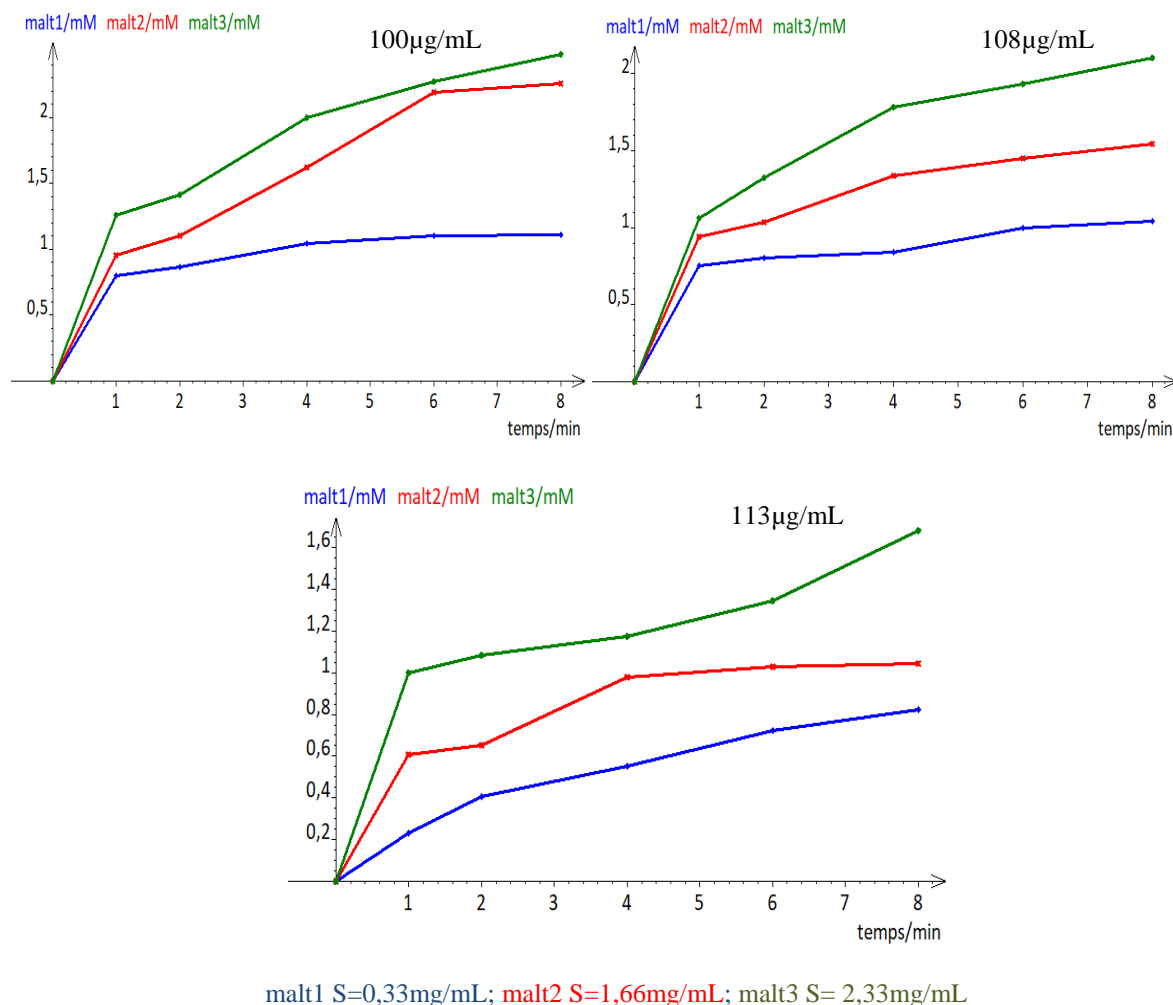


malt1 S=0,33mg/mL; malt2 S=1,66mg/mL; malt3 S= 2,33mg/mL

**Figure 63:** Courbes d'apparition du produit de l' $\alpha$ -amylase (maltose) en fonction du temps et en présence des trois concentrations de l'amidon et de l'extrait **BChM** de *B.dioïca* (267 ; 301 et 333 $\mu$ g/mL)



**Figure 64:** Courbes d'apparition du produit de l' $\alpha$ -amylase (maltose) en fonction du temps et en présence des trois concentrations de l'amidon et de la fraction  $CEA_{Acét}$  de *C. colocynthis* (33 ; 63 et 83 µg/mL)



**Figure 65:** Courbes d'apparition du produit de l' $\alpha$ -amylase (maltose) en fonction du temps et en présence des trois concentrations de l'amidon et de l'extrait CChM de *C. colocynthis* (100 ; 108 et 113 $\mu$ g/mL)

En ce qui concerne le mode d'inhibition de l' $\alpha$ -amylase exercé par l'extrait chloroforme-méthanol et la fraction acétate d'éthyle préparés des racines de la bryone, des courbes en double inverse de *Lineweaver et Burck* ( $1/V_{in} = f(1/[S])$ ) ont été réalisées pour déterminer les paramètres cinétiques, la vitesse maximale ( $V_{max}$ ) et la constante de Michaelis ( $K_m$ ). Selon **la figure n°66**, les droites de différentes concentrations de la fraction  $BEA_{Acét}$  ont été intersectées au même point dans le 4<sup>ème</sup> quad. Nous avons également enregistré dans **le tableau n°28** que l'augmentation de la concentration de la fraction  $BEA_{Acét}$  conduit à une diminution des valeurs de  $V_{max}$  qui passent de 0,96 à 0,53 mM/min. D'autre part, les valeurs de  $K_m$  diminuent de 0,39 mg/mL à 100 $\mu$ g/mL pour atteindre 0,32 mg/mL dans les deux concentrations 146 et 167 $\mu$ g/mL. Ces résultats sont incomparables aux paramètres déterminés en absence de l'inhibiteur (CN) ( $V_{max} = 1,15$  mM/min et  $K_m = 0,43$  mg/mL).

De même, en présence de l'extrait **BChM** nous avons révélé une intersection des droites en même point (**Figure n°66**), les valeurs des vitesses maximales qui sont inversement proportionnelles à la concentration de l'extrait varient entre 0,83 et 0,70 mM/min. Cependant, les constantes de Michaelis ont augmenté et passent de 0,84 à 1,05mg/mL aux concentrations de 267 à 333 µg/mL de l'extrait.

Les paramètres de la cinétique enzymatique déterminés indiquent que la fraction **BEA<sub>Acét</sub>** et l'extrait **BChM** exercent une inhibition mixite de l' $\alpha$ -amylase.

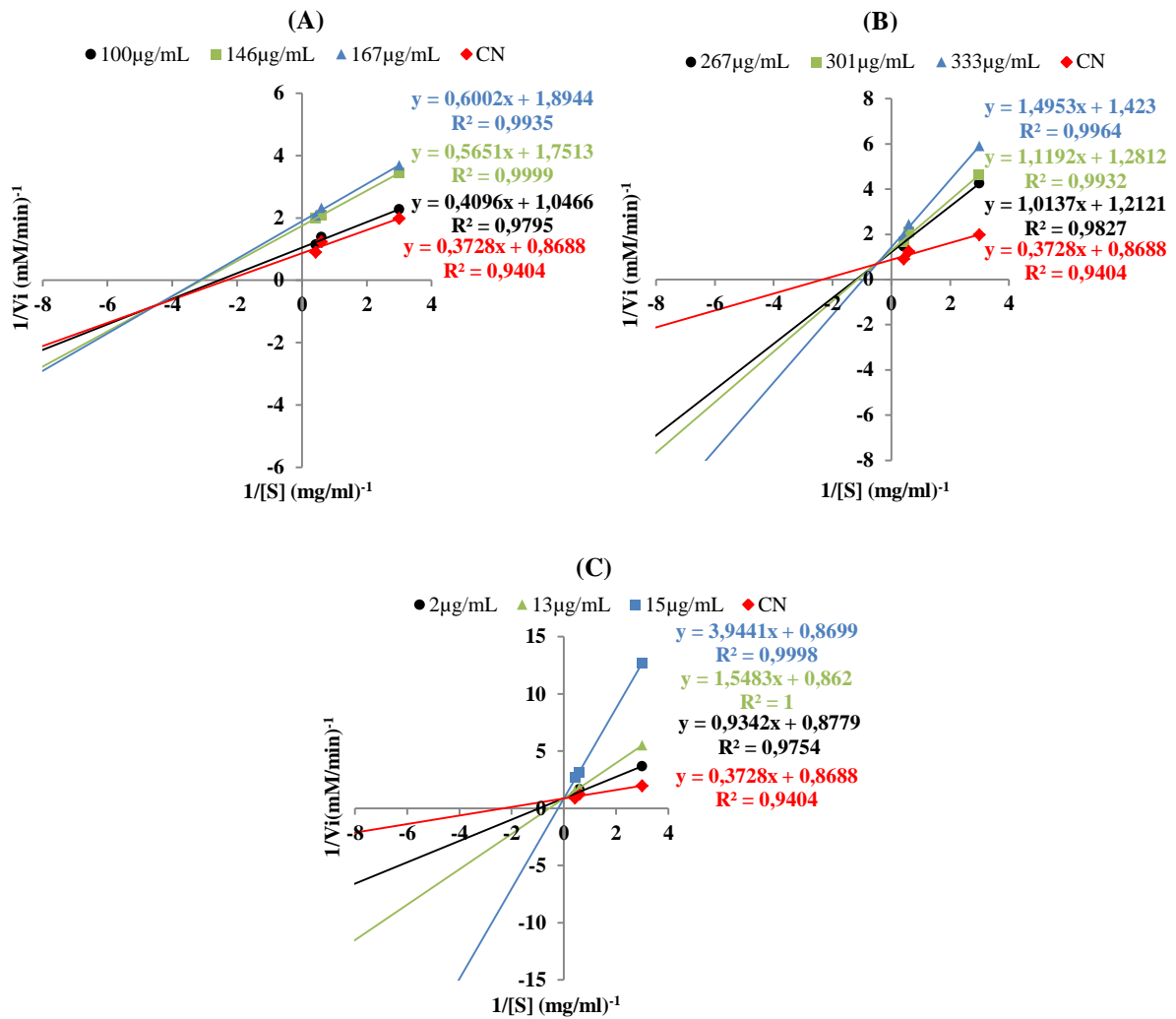
**Tableau 28:** Les paramètres cinétiques ( $V_{max}$  et  $K_m$ ) de l' $\alpha$ -amylase déterminés en présence et en absence (CN) des extraits de *B. dioïca*, *C. colocynthis* et l'acarbose

	Concentration (µg/mL)	$V_{max}$ (mM/min)	$K_m$ (mg/mL)	Mécanisme d'inhibition
<b>BEA<sub>Acét</sub></b>	100	0,96	0,39	Inhibition mixte
	146	0,57	0,32	
	167	0,53	0,32	
<b>BChM</b>	267	0,83	0,84	Inhibition mixte
	301	0,78	0,87	
	333	0,70	1,05	
<b>CEA<sub>Acét</sub></b>	33	1,20	0,49	Inhibition mixte
	63	0,76	0,77	
	83	0,63	0,80	
<b>CChM</b>	100	0,72	0,59	Inhibition mixte
	108	0,57	0,55	
	113	0,47	0,57	
<b>Acarbose</b>	2	1,14	1,06	Inhibition compétitive
	13	1,16	1,80	
	15	1,15	4,53	
<b>CN</b>	-	1,15	0,43	-

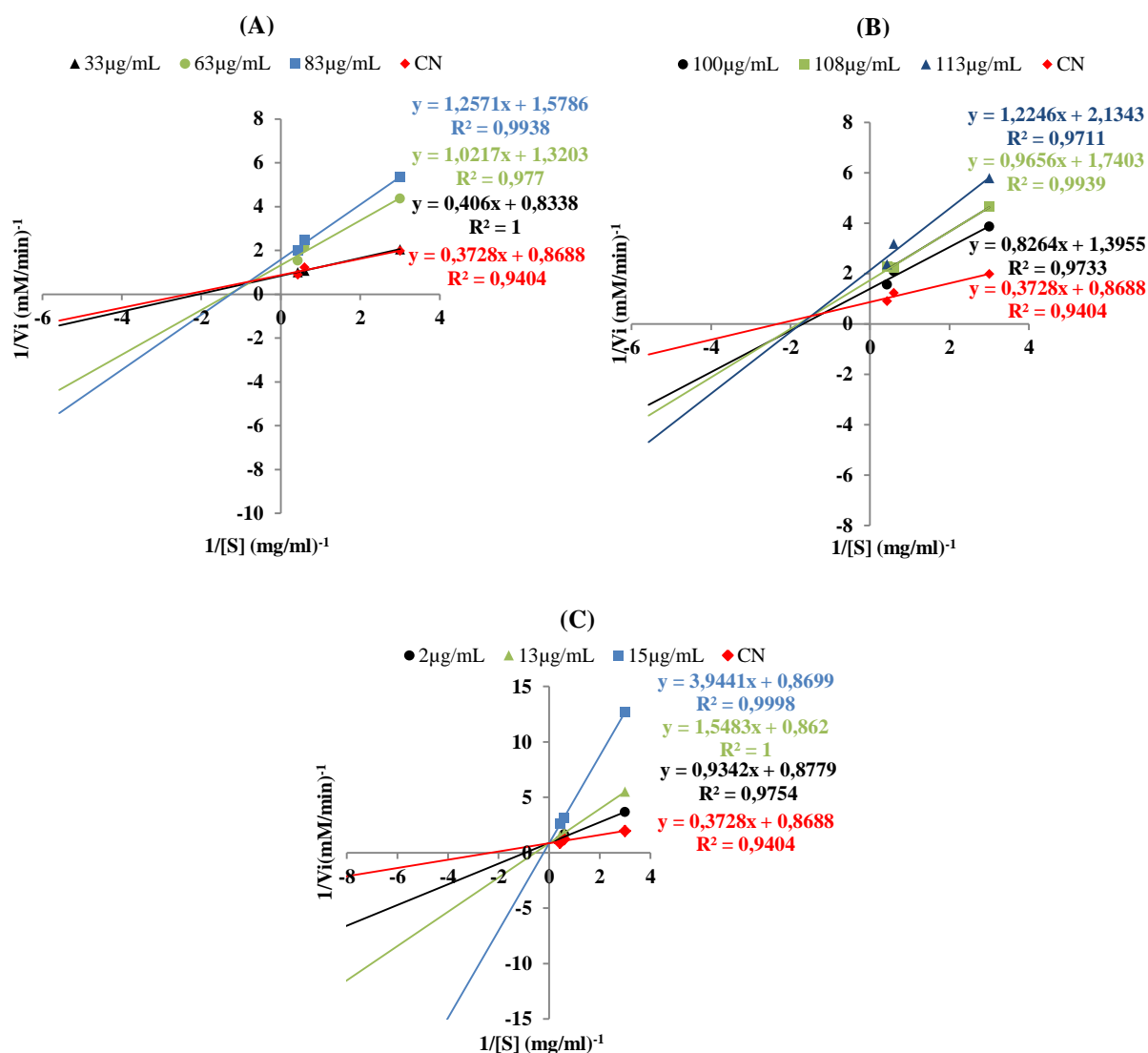
**BEA<sub>Acét</sub>** : Fraction acétate d'éthyle de l'extrait eau acétone de *B. dioïca* ; **BChM**: Extrait chloroforme-méthanol de *B. dioïca* ; **CEA<sub>Acét</sub>** : Fraction acétate d'éthyle de l'extrait eau acétone de *C. colocynthis* ; **CChM**: Extrait chloroforme-méthanol de *C. colocynthis* ; **CN** : Contrôle négatif (Réaction enzymatique sans inhibiteur)

En ce qui concerne l'effet des extraits de la coloquinte, les paramètres de la cinétique de l' $\alpha$ -amylase en présence de la fraction **CEA<sub>Acét</sub>** et l'extrait **CChM** déterminés à partir des représentations *Lineweaver et Burck* ( $1/V_{in} = f(1/[S])$ ) sont représentés dans **la figure n°67**, qui illustre que les droites se regroupent au même point. De plus, **le tableau n°28**, Les vitesses maximales diminuent progressivement à des concentrations croissantes des extraits. De 1,20 jusqu'à 0,63mM/min pour la fraction **CEA<sub>Acét</sub>** et de 0,72 jusqu'à 0,47mM/min pour l'extrait chloroforme-méthanol **CChM**. Tandis que, les  $K_m$  dans le milieu réactionnel augmentent avec l'augmentation de la concentration de la fraction **CEA<sub>Acét</sub>** ( $K_m$  : de 0,49 à 0,80mg/mL) et semblent stables et proches en présence de l'extrait **CChM** ( $K_m$  : 0,59 ; 0,55 et 0,57mg/mL). La présence des deux extraits de la coloquinte a modifié les paramètres cinétiques de l' $\alpha$ -amylase qui a montré une  $V_{max}$  égale à 1,15 mM/min et une  $K_m$  de l'ordre de 0,43 mg/mL dans un milieu réactionnel sans inhibiteur. De ce fait et selon les résultats, on peut déduire que la fraction **CEA<sub>Acét</sub>** et l'extrait **CChM** sont des inhibiteurs mixtes de l' $\alpha$ -amylase.

La figure représentant la double inverse de *Lineweaver et Burck* de la cinétique enzymatique en absence et en présence des différentes concentrations de l'acarbose, montre que les droites linéaires se regroupent sur l'axe des ordonnées au même point. Les vitesses maximales déterminées (**Tableau 28**) demeurent constantes au voisinage de 1,15mM/min malgré la croissance des concentrations, ces valeurs sont comparables avec celle obtenu en absence d'inhibiteur. Toutefois, l'augmentation des concentrations de l'acarbose conduit à des valeurs de la constante de Michaelis supérieures à celle du contrôle négatif de l'ordre de 1,06 ; 1,80 et 4,53mg/mL. À l'issue des résultats obtenus, il est constaté que l'acarbose joue le rôle d'un inhibiteur compétitif de l'activité de l' $\alpha$ -amylase.



**Figure 66:** Représentation en double inverse *Lineweaver et Burck* ( $1/V_{in} = f(1/[S])$ ) de la réaction de l' $\alpha$ -amylase en présence et en absence (CN) des extraits de *B. dioica* et en présence de l'acarbose ; BEA<sub>Acét</sub> (A), BChM (B) et acarbose (C)



**Figure 67:** Représentation en double inverse *Lineweaver et Burck* ( $1/V_{in} = f(1/[S])$ ) de la réaction de l' $\alpha$ -amylase en présence et en absence (CN) des extraits de *C. colocynthis*. et en présence de l'acarbose ; CEA<sub>Acét</sub> (A), CChM (B) et acarbose (C)

### 2.3. Effet des extraits sur l'activité de l' $\alpha$ -glucosidase

Les résultats de l'effet des différents extraits et fractions préparés des racines de *Bryonia dioica* et des fruits de *Citrullus colocynthis* vis-à-vis l'activité de l' $\alpha$ -glucosidase sont représentés dans les **tableaux n°29 et n°30**, et dans les **figures 68 ; 69 et 70**. Tous les extraits testés ont révélé une inhibition dose-dépendante de l'activité de l' $\alpha$ -glucosidase, à l'exception des extraits chloroforme-méthanol des deux plantes **BChM et CChM** qui ont montré des résultats instables.

Dans le **tableau n°29**, les extraits et les fractions de la bryone montrent un effet inhibiteur modéré avec des taux d'inhibition qui varient entre  $11,35 \pm 0,01$  et  $66,74 \pm 0,04$  % aux

concentrations 59 jusqu'à 941 µg/mL. Nous avons constaté que l'extrait aqueux et ses fractions renferment un effet inhibiteur meilleur que celui de l'extrait hydro-acétone et ses fractions, néanmoins cet effet reste faible par rapport à celui de l' $\alpha$ -amylase. De faibles valeurs d'IC<sub>50</sub> ont été enregistrées dans l'extrait brut **BAQ** (449,80±0,03 µg/mL) suivi par sa fraction **BAQ<sub>Acét</sub>** (505,06±0,03 µg/mL).

**Tableau 29:** Effet des extraits des racines de *Bryonia dioïca* sur l'activité de l' $\alpha$ -glucosidase exprimé en pourcentage d'inhibition.

Extraits	Concentrations (µg/mL)				IC <sub>50</sub> (µg/mL)
	(% d'inhibition)				
<b>BAQ</b>	<b>118</b>	<b>235</b>	<b>353</b>	<b>941</b>	449,80±0,03
	11,35±0,01	33,59±0,02	48,55±0,01	66,74±0,04	
<b>BAQ<sub>nB</sub></b>	<b>118</b>	<b>353</b>	<b>471</b>	<b>588</b>	538,08±0,01
	40,15±0,01	44,09±0,01	49,21±0,01	51,22±0,01	
<b>BAQ<sub>Acét</sub></b>	<b>59</b>	<b>235</b>	<b>353</b>	<b>588</b>	505,06±0,03
	24,48±0,01	28,09±0,04	43,21±0,05	55,41±0,01	
<b>BEA</b>	<b>235</b>	<b>353</b>	<b>471</b>	-	562,88±0,01
	20,18±0,02	34,48±0,01	40,64±0,01		
<b>BEA<sub>nB</sub></b>	<b>235</b>	<b>353</b>	<b>471</b>	<b>588</b>	564,22±0,02
	30,16±0,01	37,11±0,02	43,01±0,03	52,27±0,01	
<b>BEA<sub>Acét</sub></b>	<b>235</b>	<b>353</b>	<b>471</b>	<b>588</b>	583,90±0,01
	14,25±0,01	20,92±0,002	38,11±0,01	51,44±0,02	
<b>BChM</b>	Nd				

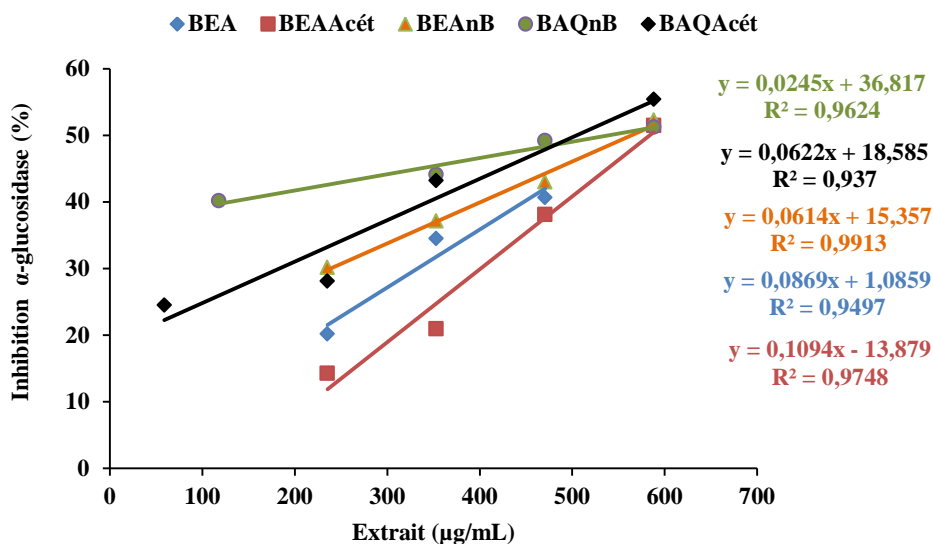
Valeur moyenne ± ESM (Erreur standard) (n=3)

**BAQ:** Extrait aqueux brut de *B. dioïca* ; **BAQ<sub>Acét</sub>:** Fraction acétate d'éthyle de l'extrait aqueux de *B. dioïca* ;

**BAQ<sub>nB</sub>:** Fraction n-butanol de l'extrait aqueux de *B. dioïca* ; **BEA:** Extrait eau-acétone brut de *B. dioïca* ;

**BEA<sub>Acét</sub>:** Fraction acétate d'éthyle de l'extrait eau-acétone de *B. dioïca* ; **BEA<sub>nB</sub>:** Fraction n-butanol de l'extrait eau-acétone de *B. dioïca* ; **BChM:** Extrait chloroforme-méthanol de *B. dioïca* .

**Nd :** Non déterminée



**Figure 68:** Effet des extraits des racines de *Bryonia dioica* sur l'activité de l'α-glucosidase exprimé en pourcentage d'inhibition.

En ce qui concerne l'effet des extraits de la coloquinte, le **tableau n°30** et les **figures n°69 et n°70** indiquent un pouvoir inhibiteur de l'α-glucosidase important par rapport à l'effet de la bryone. Nous avons enregistré des taux d'inhibition variables entre  $6,68 \pm 0,04$  % (à  $59 \mu\text{g/mL}$ ) et  $79,36 \pm 0,02$  % (à  $588 \mu\text{g/mL}$ ). L'ensemble des extraits à l'exception de la fraction **CAQ<sub>nB</sub>** et l'extrait **CEA** ont révélé une activité inhibitrice remarquable, dont les fractions acétate d'éthyle **CEA<sub>Acét</sub>** et **CAQ<sub>Acét</sub>** ont présenté les valeurs d'IC<sub>50</sub> les plus faibles  $287,65 \pm 0,03$  et  $322,40 \pm 0,03 \mu\text{g/mL}$ , respectivement.

Le pouvoir inhibiteur obtenu dans les extraits et fractions des plantes étudiées reste significativement inférieur à celui de l'acarbose qui a enregistré une inhibition élevée avec une IC<sub>50</sub> de l'ordre de  $115,05 \pm 0,02 \mu\text{g/mL}$ .

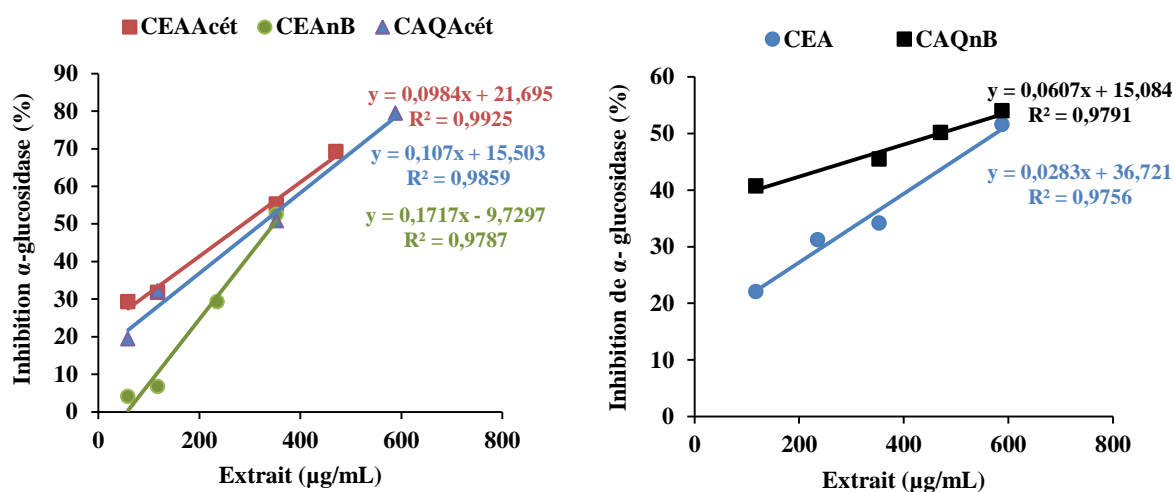
**Tableau 30:** Effet des extraits des fruits de *Citrullus colcynthis* sur l'activité de l' $\alpha$ -glucosidase exprimé en pourcentage d'inhibition.

Extraits	Concentrations ( $\mu\text{g/mL}$ )				IC <sub>50</sub> ( $\mu\text{g/mL}$ )
	(% d'inhibition)				
CAQ	59	118	235	471	391,76 $\pm$ 0,03
	6,68 $\pm$ 0,04	20,40 $\pm$ 0,07	38,56 $\pm$ 0,03	54,49 $\pm$ 0,03	
CAQ <sub>nB</sub>	118	353	471	588	469,22 $\pm$ 0,02
	40,68 $\pm$ 0,01	45,42 $\pm$ 0,03	50,10 $\pm$ 0,01	53,96 $\pm$ 0,05	
CAQ <sub>Acét</sub>	59	118	353	588	322,40 $\pm$ 0,03
	19,34 $\pm$ 0,02	32,08 $\pm$ 0,03	50,81 $\pm$ 0,03	79,36 $\pm$ 0,02	
CEA	118	235	353	588	575,22 $\pm$ 0,02
	22,05 $\pm$ 0,03	31,18 $\pm$ 0,02	34,13 $\pm$ 0,03	51,52 $\pm$ 0,01	
CEA <sub>nB</sub>	59	118	235	353	347,87 $\pm$ 0,04
	4,02 $\pm$ 0,01	6,63 $\pm$ 0,02	29,25 $\pm$ 0,02	52,51 $\pm$ 0,05	
CEA <sub>Acét</sub>	59	118	353	471	287,65 $\pm$ 0,03
	29,20 $\pm$ 0,05	31,68 $\pm$ 0,02	55,19 $\pm$ 0,03	69,12 $\pm$ 0,03	
CChM	Nd				
Acarbose	92	184	368	735	115,05 $\pm$ 0,02
	45,65 $\pm$ 0,01	57,25 $\pm$ 0,03	64,84 $\pm$ 0,01	69,53 $\pm$ 0,06	

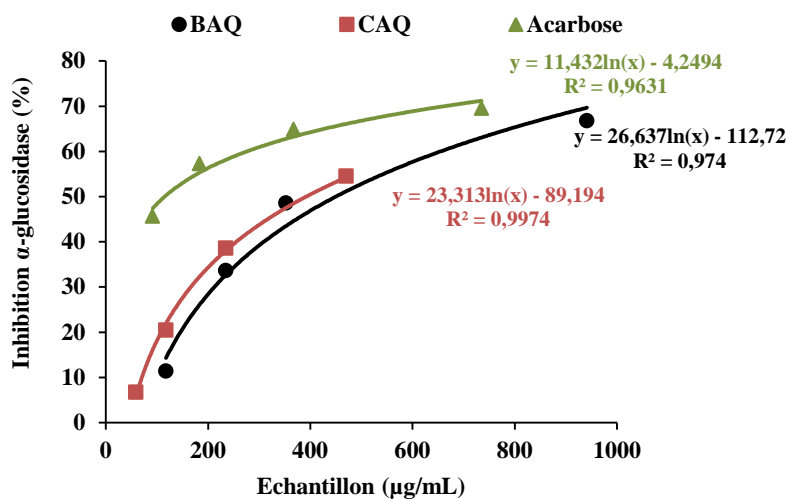
Valeur moyenne  $\pm$  ESM (Erreur standard) (n=3)

CAQ: Extrait aqueux brut de *C. colcynthis* ; CAQ<sub>Acét</sub>: Fraction acétate d'éthyle de l'extrait aqueux de *C. colcynthis* ; CAQ<sub>nB</sub>: Fraction n-butanol de l'extrait aqueux de *C. colcynthis* ; CEA: Extrait eau-acétone brut de *C. colcynthis* ; CEA<sub>Acét</sub>: Fraction acétate d'éthyle de l'extrait eau-acétone de *C. colcynthis* ; CEA<sub>nB</sub>: Fraction n-butanol de l'extrait eau-acétone de *C. colcynthis* ; CChM: Extrait chloroforme-méthanol de *C. colcynthis*.

Nd : Non déterminée



**Figure 69:** Effet des extraits des fruits de *Citrullus colcynthis* sur l'activité de l' $\alpha$ -glucosidase exprimé en pourcentage d'inhibition.



**Figure 70:** Effet des extraits bruts aqueux des racines de *Bryonia dioïca* et des fruits de *Citrullus colocynthis* et de l'acarbose sur l'activité de l' $\alpha$ -glucosidase exprimé en pourcentage d'inhibition.

#### 2.4. Effet des extraits sur la glycation non enzymatique de BSA

L'effet antiglycant des différents extraits et fractions préparés a été étudié sur la BSA comme modèle protéique en utilisant le mélange des sucres glucose-fructose pour créer la glycation. Les résultats obtenus sont mentionnés dans les tableaux n°31 et n°32, et dans les figures 71, 72 et 73.

Suivant la figure 71, tous les extraits et les fractions de *B. dioïca* ont inhibé de manière dose dépendante la glycation de BSA. Les pourcentages d'inhibition enregistrés varient entre  $17,63 \pm 0,26$  et  $99,95 \pm 0,01\%$  dans un intervalle de concentrations croissant ( $77$ - $6154 \mu\text{g/mL}$ ). Le pouvoir antiglycant de BSA le plus significatif a été révélé par la fraction n-butanol **BAQ<sub>nB</sub>** avec une valeur d' $\text{IC}_{50}$  de l'ordre de  $228,12 \pm 10,64 \mu\text{g/mL}$ . De même, les fractions **BEA<sub>Acét</sub>** et **BEA<sub>nB</sub>** ont présenté un potentiel d'inhibition remarquable avec des  $\text{IC}_{50}$  similaires  $318,26 \pm 0,81$  et  $323,12 \pm 1,37 \mu\text{g/mL}$ , respectivement. La plus faible activité antiglycante de BSA a été enregistrée par l'extrait **BChM** ( $608,69 \pm 2,45 \mu\text{g/mL}$ ), cependant aucun effet inhibiteur n'a été observé pour l'extrait brut aqueux **BAQ**.

**Tableau 31:** Effet des extraits des racines de *Bryonia dioïca* sur l'inhibition de la glycation de BSA exprimé en pourcentage.

Extraits	Concentrations (µg/mL) % d'inhibition				IC <sub>50</sub> (µg/mL)
	308	3077	6154	-	
<b>BAQ</b>	27,57±0,49	43,58±5,87	70,60±0,29	-	3545,27±3,08
<b>BAQ<sub>nB</sub></b>	29,09±2,90	62,36±18,38	76,66±11,70	88,14±10,35	228,12±10,64
<b>BAQ<sub>Acét</sub></b>	21,94±18,60	23,85±9,21	82,81±4,58	99,87±0,01	424,26±690
<b>BEA</b>	35,62±7,62	92,49±0,58	-	-	550,78±4,10
<b>BEA<sub>nB</sub></b>	17,63±0,26	28,88±1,50	46,76±0,86	95,29±1,87	99,95±0,01
<b>BEA<sub>Acét</sub></b>	19,71±0,18	36,31±0,71	43,44±0,54	88,06±1,07	99,26±0,13
<b>BChM</b>	18,12±0,40	32,24±4,74	89,16±0,16	-	608,69±2,45

Valeur moyenne ± ESM (Erreur standard) (n=3)

**BAQ:** Extrait aqueux brut de *B. dioïca* ; **BAQ<sub>Acét</sub>:** Fraction acétate d'éthyle de l'extrait aqueux de *B. dioïca* ;

**BAQ<sub>nB</sub>:** Fraction n-butanol de l'extrait aqueux de *B. dioïca* ; **BEA:** Extrait eau-acétone brut de *B. dioïca* ;

**BEA<sub>Acét</sub>:** Fraction acétate d'éthyle de l'extrait eau-acétone de *B. dioïca* ; **BEA<sub>nB</sub>:** Fraction n-butanol de l'extrait eau-acétone de *B. dioïca* ; **BChM:** Extrait chloroforme-méthanol de *B. dioïca* .

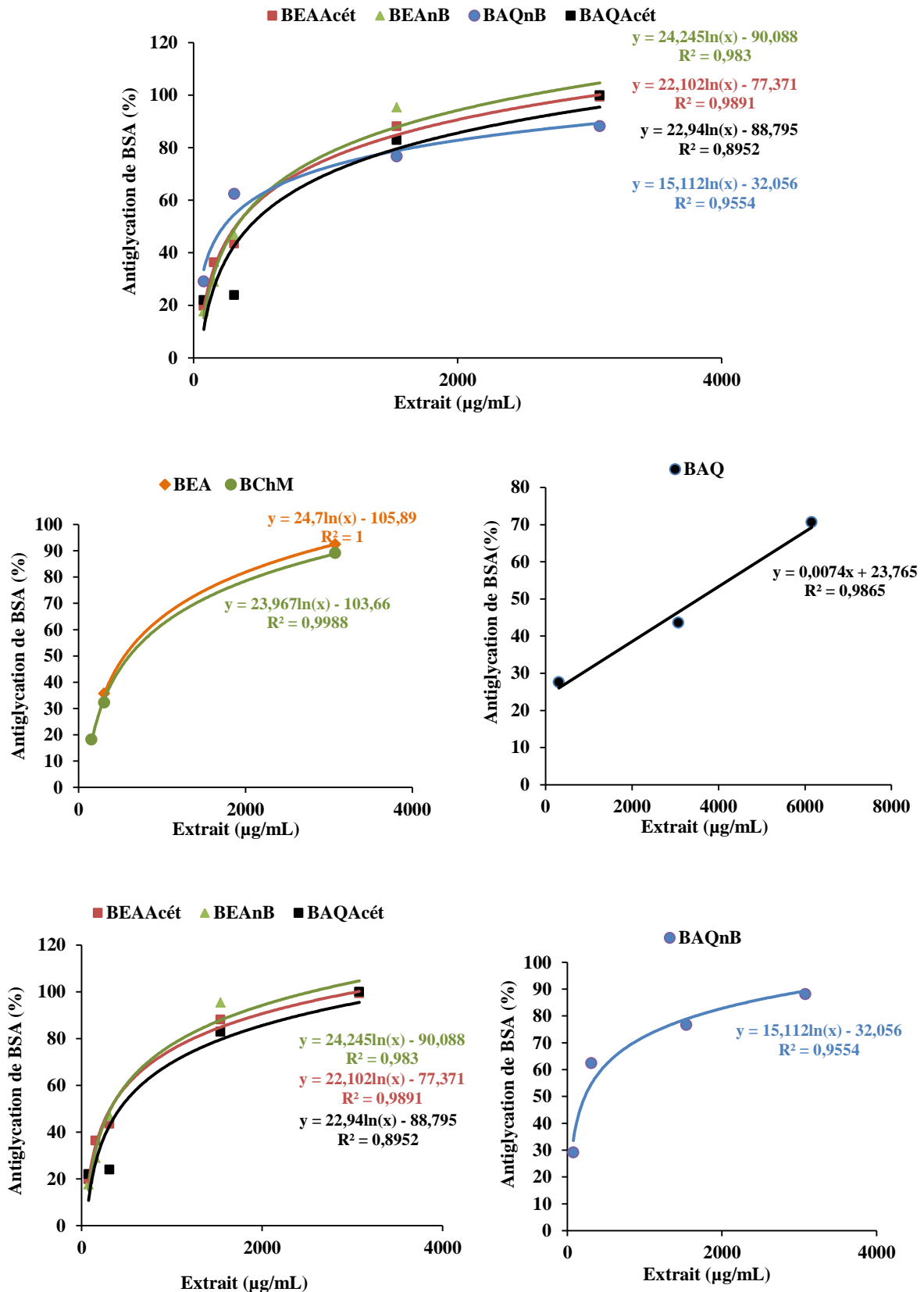


Figure 71: Effet des extraits des racines de *Bryonia dioica* sur l'inhibition de la glycation de BSA exprimé en pourcentage.

Pour l'effet des extraits de *Citrullus coloyntis*, l'ensemble des extraits et fractions ont significativement inhibé la glycation de BSA et ceci d'une manière dose dépendante (**Figure 72**). Nous avons enregistré dans le **tableau n°32** un faible pourcentage d'inhibition de l'ordre de  $7,94 \pm 0,59\%$  à  $77 \mu\text{g/mL}$  par la fraction **CEA<sub>Acét</sub>**. L'effet inhibiteur le plus puissant a été enregistré pour la fraction **CAQ<sub>Acét</sub>** avec une faible valeur d' $\text{IC}_{50}$  de  $84,36 \pm 7,04 \mu\text{g/mL}$ , suivie par les extraits et les fractions **CAQ<sub>nB</sub>** ( $\text{IC}_{50} = 121,76 \pm 13,96 \mu\text{g/mL}$ ), **CChM** ( $\text{IC}_{50} = 128,26 \pm 0,40 \mu\text{g/mL}$ ), **CEA<sub>nB</sub>** ( $\text{IC}_{50} = 131,19 \pm 0,50 \mu\text{g/mL}$ ) et **CEA** ( $\text{IC}_{50} = 179,20 \pm 5,63 \mu\text{g/mL}$ ).

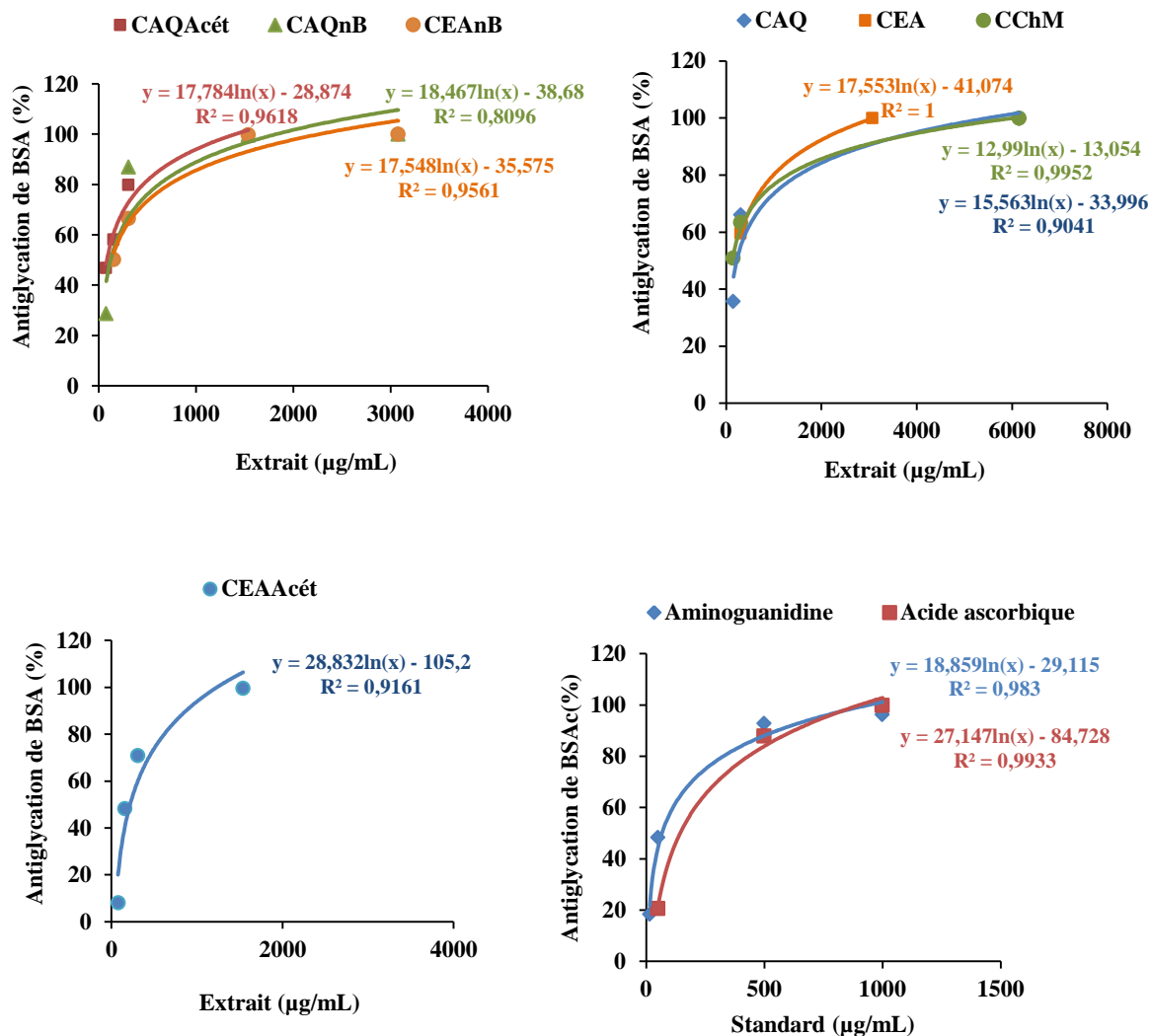
A la lumière des résultats obtenus, nous avons constaté un effet antiglycant éminent des extraits et fractions de *C. coloyntis* par rapport à ceux de *B. dioica*, qui toutefois restent inférieur à l'effet de l'aminoguanidine ( $\text{IC}_{50} = 66,36 \pm 3,96 \mu\text{g/mL}$ ), et parfois supérieur à l'effet de l'acide ascorbique ( $\text{IC}_{50} = 143,01 \pm 1,12 \mu\text{g/mL}$ ).

**Tableau 32:** Effet des extraits des racines des fruits de *Citrullus colocynthis* sur l'inhibition de la glycation de BSA exprimé en pourcentage.

Extraits	Concentrations ( $\mu\text{g/mL}$ )				$\text{IC}_{50}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )
	% d'inhibition				
<b>CAQ</b>	<b>154</b>	<b>308</b>	<b>6154</b>	-	220,78±6,26
	35,61±5,36	65,96±7,15	99,76±0,05		
<b>CAQ<sub>nB</sub></b>	<b>77</b>	<b>308</b>	<b>1538</b>	<b>3077</b>	121,76±13,96
	28,64±15,96	86,91±11,96	99,61±0,07	99,95±0,01	
<b>CAQ<sub>Acét</sub></b>	<b>77</b>	<b>154</b>	<b>308</b>	<b>1538</b>	84,36±7,04
	46,78±9,92	58,00±4,17	79,79±18,74	99,12±0,28	
<b>CEA</b>	<b>308</b>	<b>3077</b>	-	-	179,20±5,63
	59,49±5,63	99,90±0,06			
<b>CEA<sub>nB</sub></b>	<b>154</b>	<b>308</b>	<b>1538</b>	<b>3077</b>	131,19±0,50
	50,09±0,50	66,50±0,25	99,75±0,01	99,97±0,02	
<b>CEA<sub>Acét</sub></b>	<b>77</b>	<b>154</b>	<b>308</b>	<b>1538</b>	217,65±0,59
	7,94±0,59	48,19±0,30	70,73±0,87	99,51±0,04	
<b>CChM</b>	<b>154</b>	<b>308</b>	<b>6154</b>	<b>9231</b>	128,26±0,40
	50,80±0,40	63,29±1,44	99,92±0,02	99,95±0,002	
<b>Aminoguanidine</b>	<b>15</b>	<b>50</b>	<b>500</b>	<b>1000</b>	66,36±3,96
	18,30±0,02	48,24±4,78	92,79±3,13	96,17±1,17	
<b>Acide ascorbique</b>	<b>50</b>	<b>500</b>	<b>1000</b>	-	143,01±1,12
	20,49±0,69	87,85±1,55	99,82±0,11		

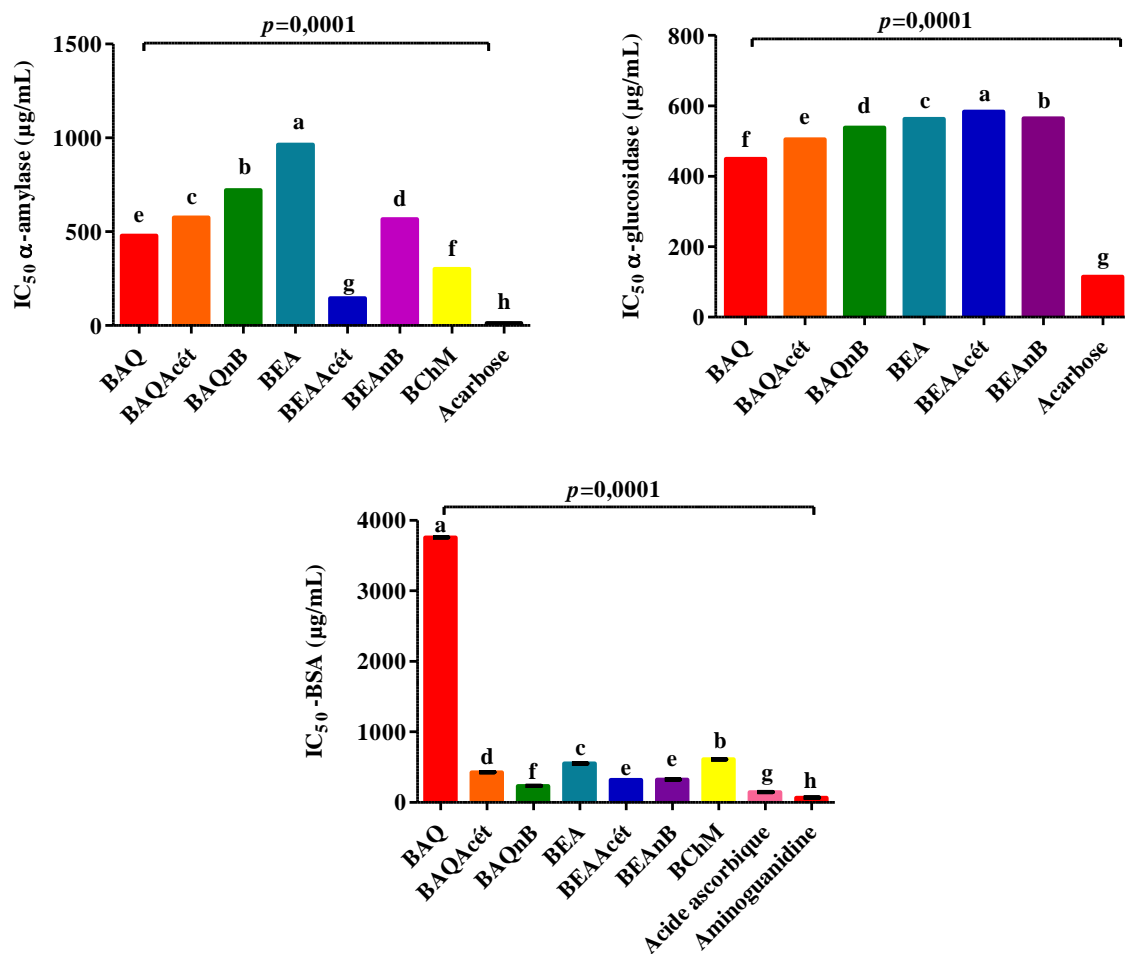
Valeur moyenne ± ESM (Erreur standard) (n=3)

**CAQ:** Extrait aqueux brut de *C. colocynthis* ; **CAQ<sub>Acét</sub>:** Fraction acétate d'éthyle de l'extrait aqueux de *C. colocynthis* ; **CAQ<sub>nB</sub>:** Fraction n-butanol de l'extrait aqueux de *C. colocynthis* ; **CEA:** Extrait eau-acétone brut de *C. colocynthis* ; **CEA<sub>Acét</sub>:** Fraction acétate d'éthyle de l'extrait eau-acétone de *C. colocynthis* ; **CEA<sub>nB</sub>:** Fraction n-butanol de l'extrait eau-acétone de *C. colocynthis* ; **CChM:** Extrait chloroforme-méthanol de *C. colocynthis* .



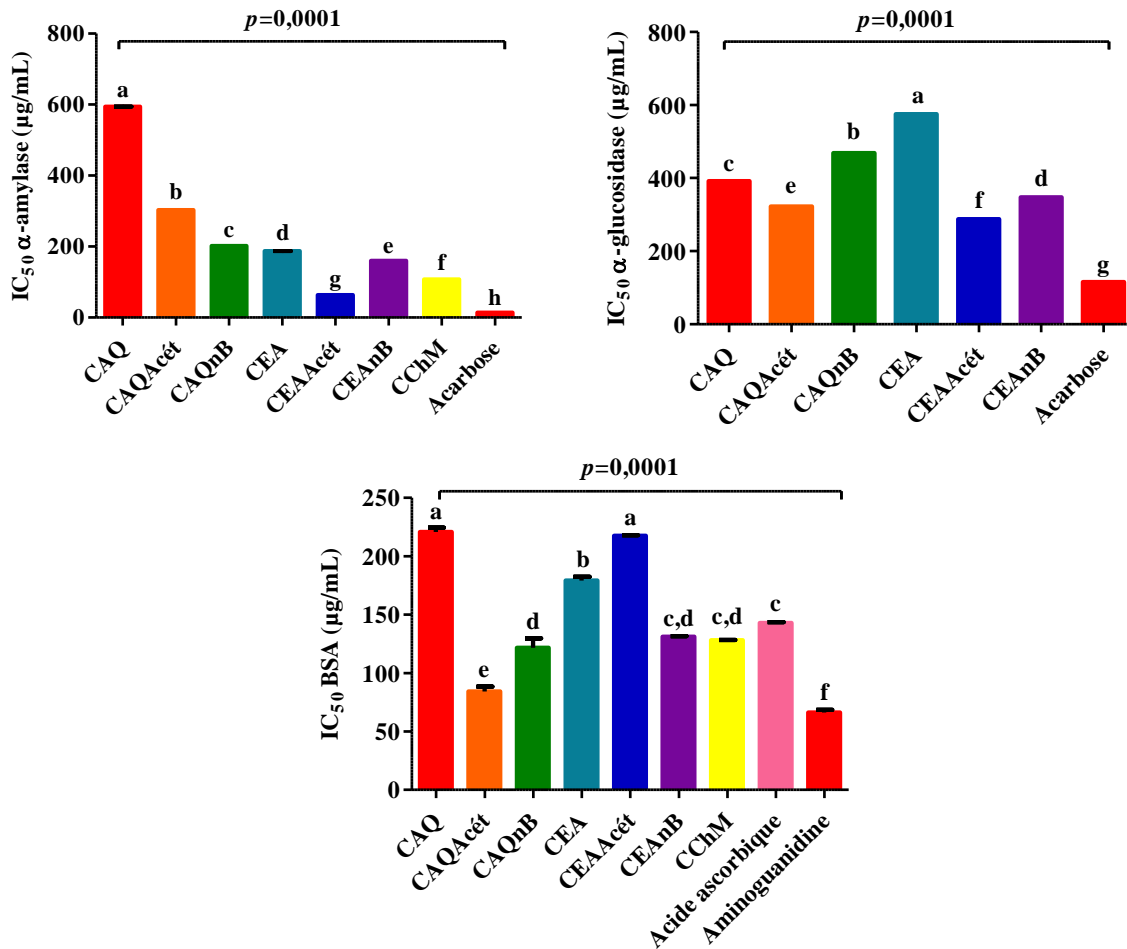
**Figure 72:** Effet des extraits des fruits de *Citrullus colocynthis* et des molécules standards sur l'inhibition de la glycation de BSA exprimé en pourcentage.

En résumant les résultats obtenus (**Figure 73**), les différents extraits de la bryone ont montré des effets très significatifs remarquables ( $p= 0,0001$ ) dans le test d'antiglycation de BSA en présentant de faibles valeurs d'IC<sub>50</sub>. De même, des différences très significatives ( $p= 0,0001$ ) ont été révélés dans l'inhibition de l' $\alpha$ -glucosidase et l' $\alpha$ -amylase par l'ensemble des extraits testés et les molécules standards utilisés comme contrôle positif. En parallèle et selon le test de tuckey, les extraits et les molécules de références n'ont été pas reliés par la même lettre ce qui indique une différence fortement significative dans les activités évaluées à l'exception des fractions **BEA<sub>Acét</sub>** et **BEA<sub>nB</sub>** qui ont partagé la même lettre en inhibant la glycation de BSA.



**Figure 73:** Les valeurs d'IC<sub>50</sub> déterminées au cours de l'évaluation *in vitro* de l'activité antidiabétique des extraits de *Bryonia dioica*

Concernant la coloquinte, **la figure 74** montre des différences fortement significatives présentées par tous les extraits et les molécules de références testés avec des valeurs de *p* de l'ordre de 0,0001 vis-à-vis l'inhibition des deux enzymes digestives ( $\alpha$ -glucosidase et  $\alpha$ -amylase). En revanche, la glycation de BSA a été significativement (*p*= 0,0001) inhibé par l'ensemble des extraits étudiés révélant de fortes différences ; cependant, la fraction **CEAnB** et l'extrait **CChM** ont été tous les deux reliés avec la fraction **CAQnB** (Lettre **d**) et l'acide ascorbique (Lettre **C**) partageant ainsi aucune différence.



**Figure 74:** Les valeurs d'IC<sub>50</sub> déterminées au cours de l'évaluation *in vitro* de l'activité antidiabétique des extraits de *Citrullus colocynthis*.

## 2.5. Effet des extraits sur la captation du glucose par héli-diaphragme

Les extraits chloroforme-méthanol et les fractions acétate d'éthyle des extraits hydro-acétone préparés dans cette étude ainsi que la catéchine ont été testés pour leurs effets sur la captation du glucose par héli-diaphragmes isolés de rats Wistar. Les résultats obtenus, exprimés en pourcentages de captation, sont représentés dans les **tableaux n° 33** et **n°34** et dans les **figures 75 ; 76** et **77**.

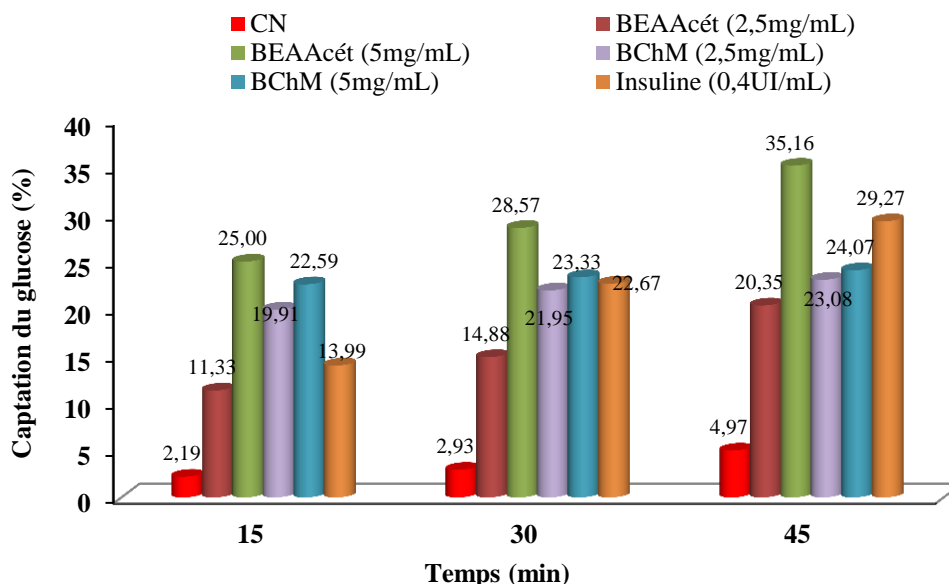
Ces tableaux et figures illustrent une augmentation de la captation du glucose au cours du temps en présence des extraits des deux plantes étudiées, dont les pourcentages de captation du glucose ont été significativement ( $p \leq 0,0001$ ) supérieurs à ceux du contrôle négatif (2,19% à 15min ; 2,93% à 30min et 4,97% à 45min) qui représente les héli-diaphragmes et le glucose sans présence de stimulateurs.

Pour les extraits de la brynoe (**Tableau n°33, figure 75**), la fraction **BEA<sub>Acét</sub>** a exercé un effet stimulant de l'hémi-diaphragme à 2,5mg/ml, qui devient très intéressant à la concentration de 5mg/mL et qui augmente significativement ( $p=0,0001$ ) les pourcentages de captation du glucose en arrivant à 35% après 45min d'incubation. En revanche, l'extrait chloroforme-méthanol **BChM** (2,5 mg/mL) a présenté des pourcentages de captation du glucose modérés, qui varient entre 19,91et 23,08%, et qui restent moyennement supérieurs aux pourcentages de la fraction **BEA<sub>Acét</sub>** à la même concentration. A la concentration 5 mg/mL, l'extrait **BChM** n'a pas assuré un grand changement dans les pourcentages de la captation du glucose (22,59 à 24,07%).

**Tableau 33:** Effet des extraits de *Bryonia dioïca* sur la captation du glucose par hémi-diaphragme exprimé en pourcentage de captation.

	Temps (min)	BEA <sub>Acét</sub>	BChM	Catéchine	Insuline (0.4UI/mL)	Contrôle négatif	<i>p</i>
2,5mg/mL	15	11,33± 0,01 <sup>c</sup>	19,91± 0,06 <sup>a</sup>	8,40 ±0,02 <sup>d</sup>	13,99± 0,003 <sup>b</sup>	2,19 ±0,02 <sup>e</sup>	0,0001
	30	14,88± 0,06 <sup>c</sup>	21,95± 0,06 <sup>b</sup>	14,50± 0,02 <sup>d</sup>	22,67± 0,04 <sup>a</sup>	2,93 ±0,03 <sup>e</sup>	0,0001
	45	20,35± 0,06 <sup>c</sup>	23,08± 0,02 <sup>b</sup>	15,27± 0,05 <sup>d</sup>	29,27± 0,06 <sup>a</sup>	4,97± 0,03 <sup>e</sup>	0,0001
5mg/mL	15	25,00± 0,04 <sup>a</sup>	22,59 ±0,06 <sup>b</sup>	11,20± 0,02 <sup>d</sup>	13,99 ±0,003 <sup>c</sup>	2,19 ±0,02 <sup>e</sup>	0,0001
	30	28,57 ±0,05 <sup>a</sup>	23,33 ±0,04 <sup>b</sup>	15,20± 0,01 <sup>d</sup>	22,67± 0,04 <sup>c</sup>	2,93 ±0,03 <sup>e</sup>	0,0001
	45	35,16± 0,06 <sup>a</sup>	24,07± 0,01 <sup>c</sup>	19,60± 0,01 <sup>d</sup>	29,27± 0,06 <sup>b</sup>	4,97 ±0,03 <sup>e</sup>	0,0001

**BEA<sub>Acét</sub>**: Fraction acétate d'éthyle de l'extrait eau-acétone de *B. dioïca*; **BChM**: Extrait chloroforme-méthanol de *B. dioïca*. <sup>a-e</sup> Les échantillons non reliés par la même lettre présentent une différence fortement significative



**Figure 75:** Effet de la fraction **BEA<sub>Acét</sub>** et l'extrait **BChM** de *Bryonia dioïca* sur la captation du glucose par héli-diaphragme exprimé en pourcentage de captation.

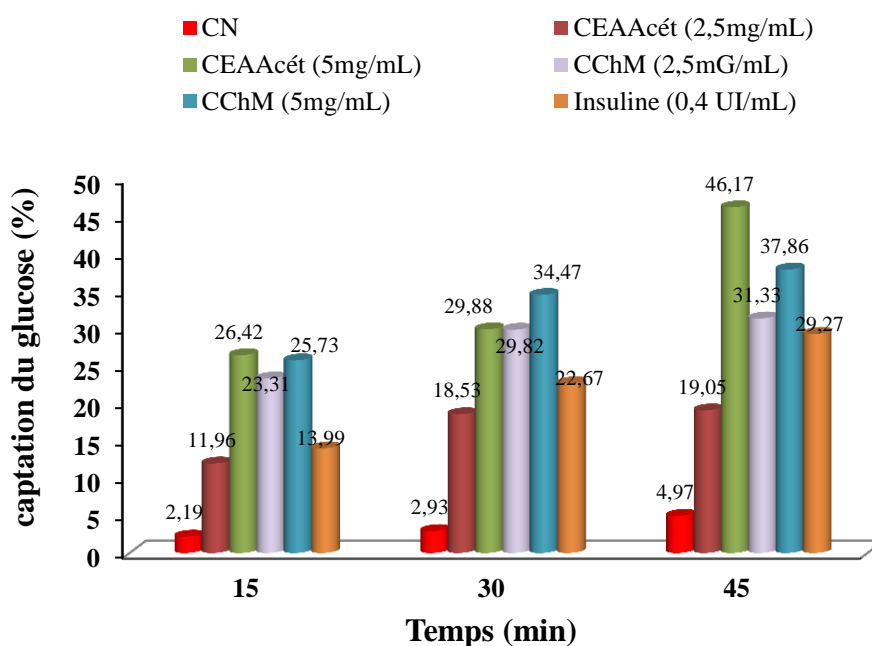
Concernant l'effet des extraits de la coloquinte représenté dans le **tableau n°34** et la **figure 76**, on remarque que ces extraits stimulent la captation du glucose d'une manière dose-dépendante et au cours tu temps. La fraction **CEA<sub>Acét</sub>** à la concentration de 2,5 mg/mL assure une captation du glucose variable entre 11,96 et 19,05%, cette captation a significativement ( $p=0,0001$ ) augmenté à la concentration 5mg/mL et passe de 26,42 à 46,17 après 45 min d'incubation. Tandis que, l'extrait chloroforme-méthanol (**CChM**) à faible concentration a révélé des pourcentages variés entre 23,31et 31,33%, mais qui augmente légèrement à la concentration 5mg/mL (de 25,73 à 37,86 %).

A l'issue des résultats obtenus, nous avons constaté un pouvoir considérable de la fraction acétate d'éthyle (**CEA<sub>Acét</sub>**) et de l'extrait chloroforme-méthanol (**CChM**) des fruits de la coloquinte sur la captation du glucose par rapport à l'effet des extraits de la bryone. L'effet des extraits des deux plantes a significativement ( $p=0,0001$ ) dépassé l'effet de l'insuline (0,2 et 0,4 UI/mL) molécule antidiabétique qui a assuré un pourcentage de captation du glucose variable entre 13,99 et 29,27%. L'association de l'insuline (0,4 UI/mL) et la fraction **CEA<sub>Acét</sub>** de *C. colocynthis* (5mg/mL) a amélioré la captation du glucose (23,29 et 28,08%) par apport à l'effet de l'insuline seule et diminué l'effet de l'extrait par apport à son effet seul. En autre, la catéchine a affiché de faibles pourcentages qui varient entre 8,40 et 19,60% (**Figure 77**).

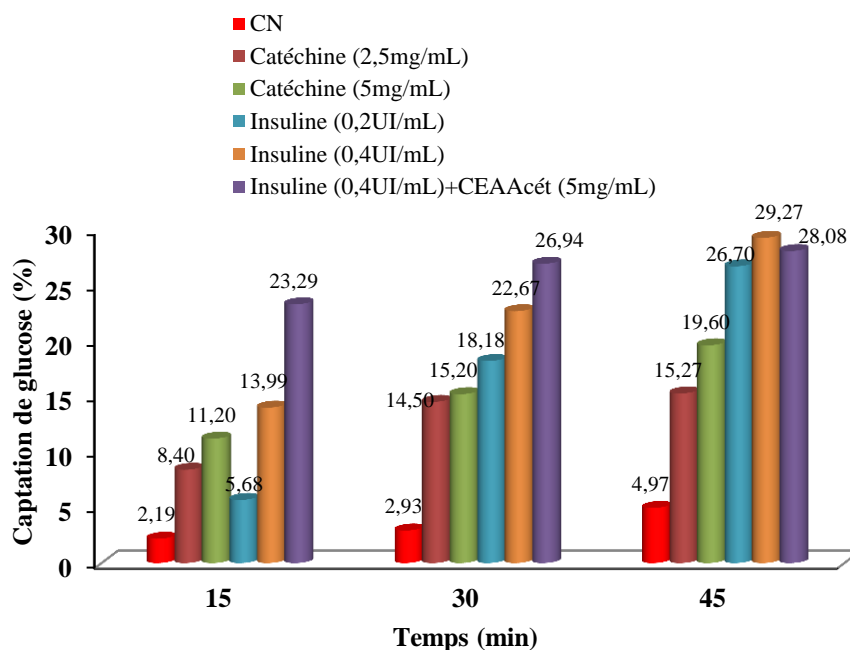
**Tableau 34:** Effet des extraits de *Citrullus colocynthis* sur la captation du glucose par héli-diaphragme exprimé en pourcentage de captation.

	Temps (min)	CEA <sub>Acét</sub>	CChM	Catéchine	Insuline (0.4UI/mL)	Contrôle négatif	CEA <sub>Acét</sub> + Insuline (0.4UI/mL)	p
2.5mg/mL d'extrait	15	11,96±0,01 <sup>c</sup>	23,31± 0,02 <sup>a</sup>	8,40 ±0,02 <sup>d</sup>	13,99± 0,003 <sup>b</sup>	2,19 ±0,02 <sup>e</sup>	-	0,0001
	30	18,53±0,03 <sup>c</sup>	29,82± 0,14 <sup>a</sup>	14,50± 0,02 <sup>d</sup>	22,67± 0,04 <sup>b</sup>	2,93 ±0,03 <sup>e</sup>	-	0,0001
	45	19,05±0,03 <sup>c</sup>	31,33± 0,02 <sup>a</sup>	15,27± 0,05 <sup>d</sup>	29,27± 0,06 <sup>b</sup>	4,97± 0,03 <sup>e</sup>	-	0,0001
5mg/mL d'extrait	15	26,42±0,01 <sup>a</sup>	25,73 ±0,03 <sup>b</sup>	11,20± 0,02 <sup>e</sup>	13,99 ±0,003 <sup>d</sup>	2,19 ±0,02 <sup>f</sup>	23,29 ±0,04 <sup>c</sup>	0,0001
	30	29,88±0,02 <sup>b</sup>	34,47 ±0,02 <sup>a</sup>	15,20± 0,01 <sup>e</sup>	22,67± 0,04 <sup>d</sup>	2,93 ±0,03 <sup>f</sup>	26,94 ±0,03 <sup>c</sup>	0,0001
	45	46,17±0,11 <sup>a</sup>	37,86± 0,06 <sup>b</sup>	19,60± 0,01 <sup>e</sup>	29,27± 0,06 <sup>c</sup>	4,97 ±0,03 <sup>f</sup>	28,08±0,04 <sup>d</sup>	0,0001

CEA<sub>Acét</sub>: Fraction acétate d'éthyle de l'extrait eau-acétone de *C. colocynthis*; CChM: Extrait chloroforme-méthanol de *C. colocynthis*. <sup>a-f</sup> Les échantillons non reliés par la même lettre présentent une différence fortement significative.



**Figure 76:** Effet de la fraction CEA<sub>Acét</sub> et l'extrait CChM de *Citrullus colocynthis* sur la captation du glucose par héli-diaphragme exprimé en pourcentage de captation.



**Figure 77:** Effet de la catéchine, l'insuline et l'association fraction  $CEA_{Acét}$  - insuline sur la captation du glucose par héli-diaphragme exprimé en pourcentage de captation.

### 3. Effet des extraits de *B. dioïca* et *C. colocynthis* sur l'activité anti-inflammatoire *in vitro*

Les résultats de l'effet des extraits des racines de *Bryonia dioïca* et des fruits de *Citrullus colocynthis* sur l'activité de la lipoxgénase (LOX) sont représentés dans le **tableau n°35** et le **figure n°78**. L'ensemble des extraits et fractions testés ont montré un pouvoir inhibiteur dose-dépendant.

Les pourcentages d'inhibition affichés par la majorité des extraits de la bryone varient entre  $1,80 \pm 0,01$  à  $82,77 \pm 0,02\%$  dans un intervalle de concentrations compris entre 19 et  $800 \mu\text{g/mL}$ , à l'exception de la fraction n-butanol  $BAQ_{nB}$  qui n'a pas été testée pour son effet sur LOX. En termes de concentrations correspondantes à 50% d'inhibition ( $IC_{50}$ ), la fraction  $BEA_{Acét}$  a révélé une activité anti-inflammatoire intéressante et significative avec une valeur de l'ordre de  $20,48 \pm 0,01 \mu\text{g/mL}$ . Cette activité est comparable à celle de l'acide gallique ( $IC_{50} = 19,35 \pm 0,06 \mu\text{g/mL}$ ) et meilleure que celle de l'acide nordihydroguaiarétique  $NOGA$  ( $IC_{50} = 36,49 \pm 0,01 \mu\text{g/mL}$ ). Les extraits  $BAQ$  et  $BChM$  ont montré des valeurs d' $IC_{50}$  égales à  $250,92 \pm 0,01$  et  $289,16 \pm 0,02 \mu\text{g/mL}$ , respectivement. Tandis que, les extraits  $BAQ_{Acét}$ ,  $BEA$  et  $BEA_{nB}$  ont montré un faible effet anti-inflammatoire en affichant des valeurs d' $IC_{50}$  qui varient entre 516,48 à  $744,01 \mu\text{g/mL}$ .

A propos l'effet anti-inflammatoire des extraits de la coloquinte, les pourcentages d'inhibition obtenus qui varient entre  $0,06 \pm 0,04$  à  $93,84 \pm 0,03\%$  sont proportionnels aux concentrations des extraits et des fractions testés (**Tableau 35 et figure 78**). Le meilleur effet anti-inflammatoire dans l'ensemble des extraits a été observé dans l'extrait chloroforme-méthanol **CChM** avec une faible valeur d' $IC_{50}$  qui est égale à  $205,70 \pm 0,05 \mu\text{g/mL}$ , suivi par la fraction **CEA<sub>Acét</sub>** qui a affiché une  $IC_{50}$  de  $249,90 \pm 0,01 \mu\text{g/mL}$ . Par contre, le reste des extraits et fractions ont exhibé une capacité anti-inflammatoire modérée en enregistrant des  $IC_{50}$  comparables. Ces effets restent inférieurs à ceux obtenus pour le contrôle positif NOGA ( $36,49 \mu\text{g/mL}$ ) et acide gallique ( $19,35 \mu\text{g/mL}$ ). En outre, la comparaison des valeurs d' $IC_{50}$  représentée dans la **figure n°79** nous a permis de constater que l'effet anti-inflammatoire des extraits de *B. dioïca* était moyennement supérieur à l'effet des extraits de *C. colocynthis*.

**Tableau 35:** Effet des extraits des racines de *B. dioïca* et des fruits de *C. colocynthis* sur l'inhibition de l'activité de la lipoxycgénase exprimé en pourcentage.

Extraits	Concentrations (µg/mL)					IC <sub>50</sub> (µg/mL)	
	% d'inhibition						
<b>BAQ</b>	<b>25</b>	<b>50</b>	<b>100</b>	<b>400</b>	<b>800</b>	-	250,92±0,01
11,39±0,02	12,53±0,01	36,08±0,004	52,91±0,01	76,58±0,02			
<b>BAQ<sub>nB</sub></b>	Nd						
<b>BAQ<sub>Acét</sub></b>	<b>25</b>	<b>100</b>	<b>200</b>	<b>400</b>	<b>800</b>	-	744,01±0,19
2,64±0,04	4,34±0,01	12,12±0,01	20,53±0,06	56,54±0,31			
<b>BEA</b>	<b>75</b>	<b>150</b>	<b>300</b>	<b>600</b>	-	-	516,48±0,01
13,64±0,03	27,94±0,03	40,01±0,01	52,44±0,02				
<b>BEA<sub>nB</sub></b>	<b>100</b>	<b>200</b>	<b>400</b>	<b>800</b>	-	-	646,66±0,01
1,80±0,01	12,26±0,02	32,47±0,001	61,51±0,01				
<b>BEA<sub>Acét</sub></b>	<b>19</b>	<b>37,5</b>	<b>150</b>	<b>300</b>	-	-	20,48±0,01
44,11±0,01	64,03±0,02	75,89±0,01	82,77±0,02				
<b>BChM</b>	<b>19</b>	<b>37,5</b>	<b>75</b>	<b>150</b>	<b>300</b>	-	289,16±0,02
7,98±0,04	14,71±0,01	17,94±0,02	25,92±0,02	52,82±0,02			
<b>CAQ</b>	<b>50</b>	<b>100</b>	<b>200</b>	<b>800</b>	-	-	481,60±0,34
0,73±0,08	3,03±0,04	32,17±0,34	62,84±0,33				
<b>CAQ<sub>nB</sub></b>	<b>50</b>	<b>200</b>	<b>400</b>	<b>800</b>	-	-	504,89±0,01
8,32±0,01	28,23±0,003	46,17±0,004	71,12±0,01				
<b>CAQ<sub>Acét</sub></b>	<b>25</b>	<b>50</b>	<b>100</b>	<b>200</b>	<b>400</b>	<b>800</b>	451,68±0,04
0,06±0,04	3,55±0,00	4,33±0,02	17,94±0,08	41,99±0,06	93,84±0,03		
<b>CEA</b>	<b>37,5</b>	<b>75</b>	<b>300</b>	<b>600</b>	-	-	451,86±0,05
10,98±0,02	13,22±0,02	29,63±0,04	67,11±0,06				
<b>CEA<sub>nB</sub></b>	<b>100</b>	<b>200</b>	<b>400</b>	<b>800</b>	-	-	481,95±0,02
5,33±0,04	10,49±0,02	36,19±0,03	92,84±0,004				
<b>CEA<sub>Acét</sub></b>	<b>75</b>	<b>150</b>	<b>300</b>	<b>600</b>	-	-	249,90±0,01
6,76±0,02	32,43±0,02	59,46±0,01	78,45±0,01				
<b>CChM</b>	<b>19</b>	<b>37,5</b>	<b>75</b>	<b>150</b>	<b>300</b>	-	205,70±0,05
3,40±0,05	14,22±0,06	23,93±0,01	48,68±0,08	56,87±0,03			
<b>Acide gallique</b>	<b>3</b>	<b>6</b>	<b>12,50</b>	<b>50</b>	<b>100</b>	-	19,35±0,06
6,70±0,08	23,13±0,05	36,12±0,05	75,30±0,08	89,31±0,02			
<b>NOGA</b>	<b>3</b>	<b>6</b>	<b>12,50</b>	<b>50</b>	-	-	36,49±0,01
31,62±0,02	33,46±0,02	42,04±0,02	56,02±0,004				

Valeur moyenne ± ESM (Erreur standard) (n=3)

**BAQ:** Extrait aqueux brut de *B. dioïca* ; **BAQ<sub>Acét</sub>:** Fraction acétate d'éthyle de l'extrait aqueux de *B. dioïca* ; **BAQ<sub>nB</sub>:** Fraction n-butanol de l'extrait aqueux de *B. dioïca* ; **BEA:** Extrait eau-acétone brut de *B. dioïca* ; **BEA<sub>Acét</sub>:** Fraction acétate d'éthyle de l'extrait eau-acétone de *B. dioïca* ; **BEA<sub>nB</sub>:** Fraction n-butanol de l'extrait eau-acétone de *B. dioïca* ; **BChM:** Extrait chloroforme-méthanol de *B. dioïca* ; **CAQ:** Extrait aqueux brut de *C. colocynthis* ; **CAQ<sub>Acét</sub>:** Fraction acétate d'éthyle de l'extrait aqueux de *C. colocynthis* ; **CAQ<sub>nB</sub>:** Fraction n-butanol de l'extrait aqueux de *C. colocynthis* ; **CEA:** Extrait eau-acétone brut de *C. colocynthis* ; **CEA<sub>Acét</sub>:** Fraction acétate d'éthyle de l'extrait eau-acétone de *C. colocynthis* ; **CEA<sub>nB</sub>:** Fraction n-butanol de l'extrait eau-acétone de *C. colocynthis* ; **CChM:** Extrait chloroforme-méthanol de *C. colocynthis* ; **NOGA :** Acide nordihydroguaiarétique ; **Nd :** Non déterminée

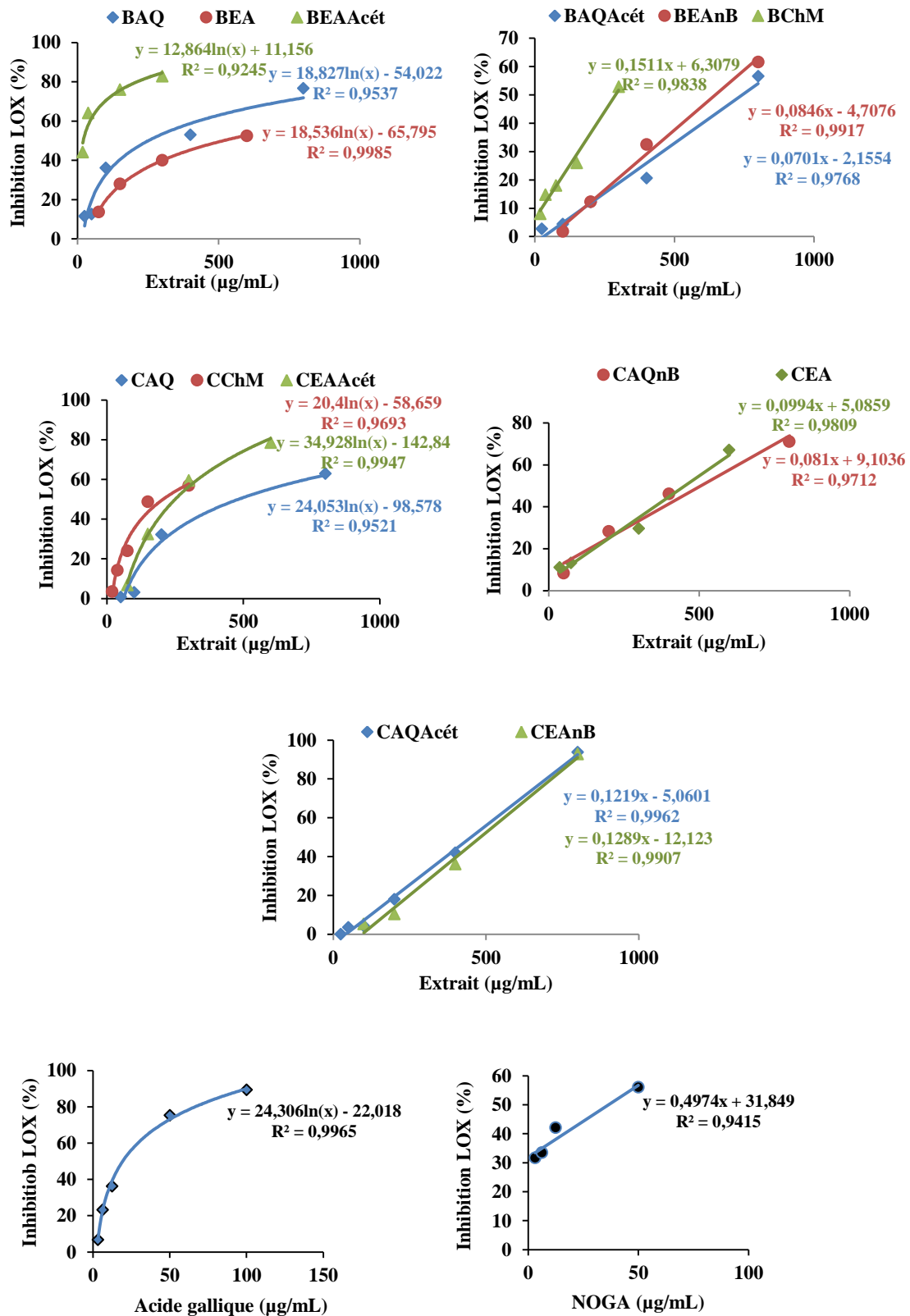
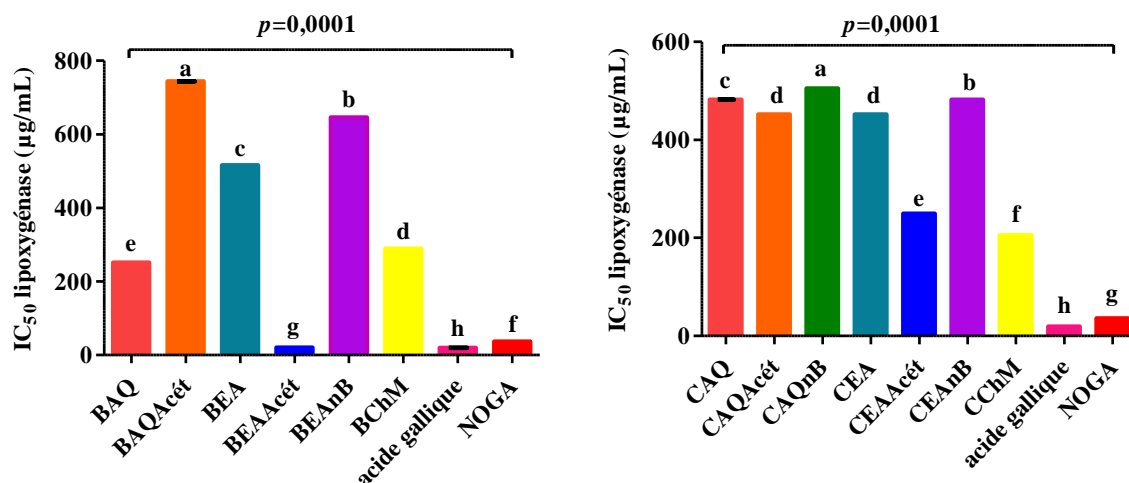


Figure 78: Effet des extraits des racines de *B. dioïca* et des fruits de *C. colocynthis* sur l'inhibition de l'activité de la lipoxygénase exprimé en pourcentage.

Pour l'étude statistique de l'effet anti-inflammatoire (**Figure 79**), les deux tests ANOVA et Tuckey réalisés sur *Bryonia dioica* ont révélé des différences fortement significatives à  $p=0,0001$ , dont tous les extraits et les molécules de références testés n'ont été pas reliés et ils ont différemment inhibé l'activité de la lipoxigénase. Pareil pour *Citrullus colocynthis*, l'ensemble des extraits ont présenté une activité anti-inflammatoire significative ( $p=0,0001$ ) avec une forte différence enregistrée sauf pour l'extrait CEA et la fraction CAQ<sub>Acét</sub> qui sont montrés avoir de similarité.

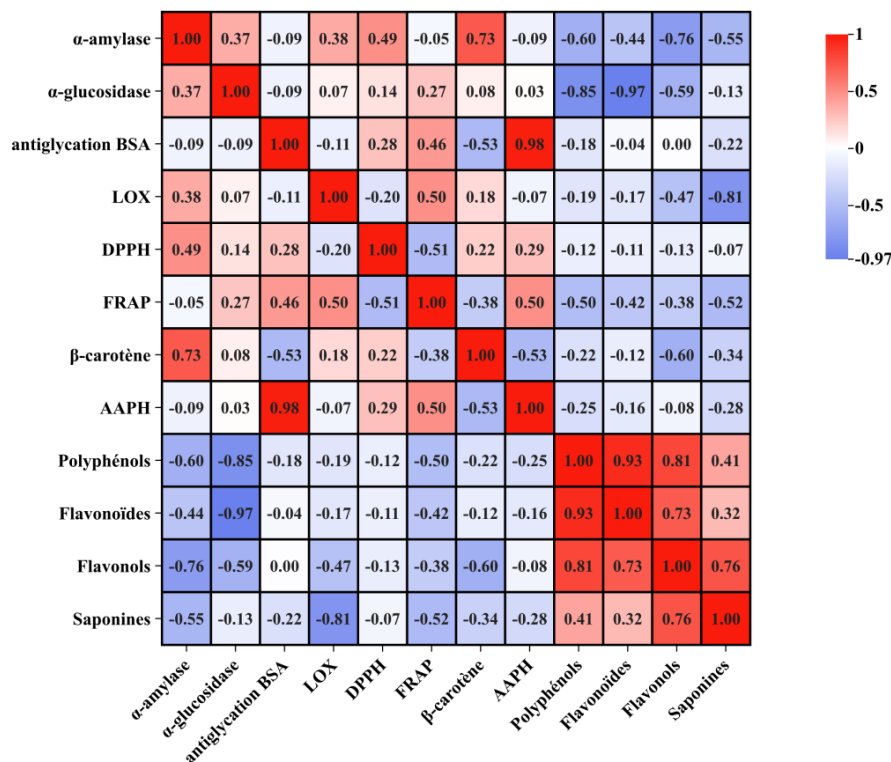


**Figure 79:** Les valeurs d'IC<sub>50</sub> déterminées au cours de l'évaluation *in vitro* de l'activité anti-inflammatoire des extraits de *Bryonia dioica* et de *Citrullus colocynthis*.

De plus, des cartes thermiques de corrélation (Heat-map) entre les activités biologiques et les composés phytochimiques de *Bryonia dioica* et de *Citrullus colocynthis* ont été réalisées. Les résultats obtenus sont illustrés dans les figures 80 et 81.

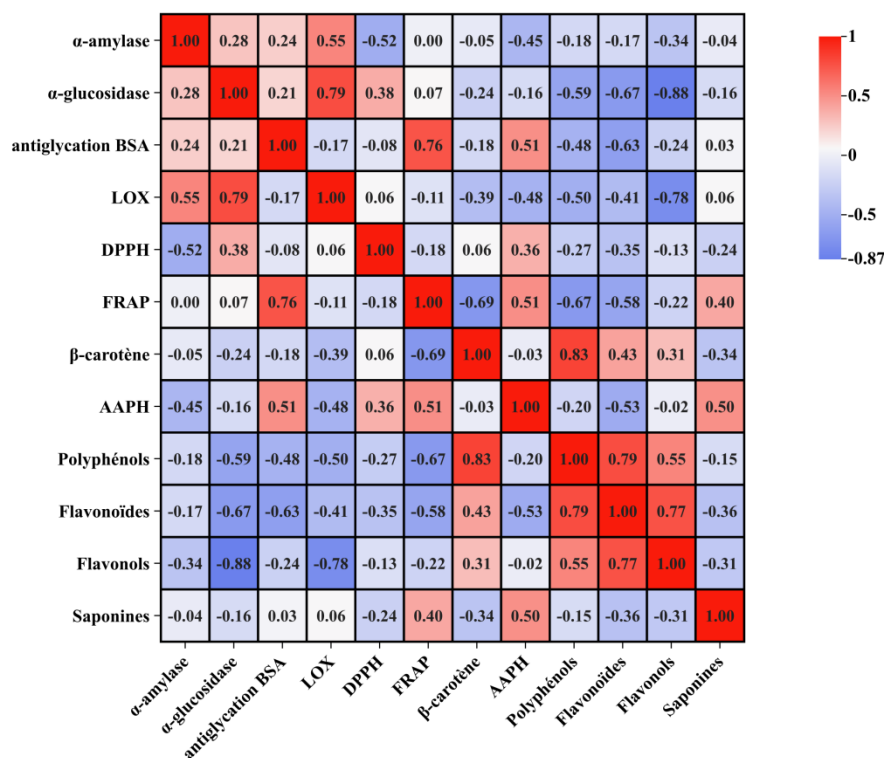
La carte thermique de corrélation pour la bryone (**Figure 80**) a montré que les polyphénols présentent une forte corrélation positive avec les flavonoïdes et les flavonols avec des coefficients de corrélation de Pearson (Pearson  $r$ ) de l'ordre de 0,93 et 0,81, respectivement ; cependant, une faible corrélation avec les saponines a été montrée (Pearson  $r = 0,41$ ). En outre, les flavonoïdes et les polyphénols sont fortement corrélés avec l' $\alpha$ -glucosidase avec des valeurs de Pearson  $r$  égal à -0,97 et -0,85, respectivement. Par contre, une faible corrélation entre l' $\alpha$ -amylase et les flavonoïdes (Pearson  $r = -0,44$ ) et modérée avec les flavonols et les polyphénols (Pearson  $r : -0,76$  et  $-0,60$ , respectivement) ont été présentées. En revanche, les saponines ont présenté la forte corrélation avec la lipoxigénase (Pearson  $r = -0,81$ ) ; cependant, ce sont les flavonols qui ont modérément corrélé avec la  $\beta$ -carotène (Pearson  $r = -$

0,60). Parallèlement, les composés phytochimiques étudiés ont faiblement corrélé avec le DPPH, FRAP, AAPH et BSA. Il est à noter qu'on a révélé une forte corrélation positive entre l'antiglycation de BSA et l'AAPH (Pearson  $r = 0,98$ ) et entre l' $\alpha$ -amylase et  $\beta$ -carotène (Pearson  $r = 0,73$ ).



**Figure 80:** Carte thermique de corrélation entre les activités biologiques et les composés phytochimiques de *Bryonia dioïca*

Concernant la coloquinte, les résultats de la corrélation sont présentés dans **la figure 81**. Les flavonols ont montré une forte corrélation négative avec l' $\alpha$ -glucosidase (Pearson  $r = -0,88$ ) et la lipoxygénase (Pearson  $r = -0,78$ ); les flavonoïdes ont présenté des corrélations comparables avec l' $\alpha$ -glucosidase et la BSA avec des valeurs de  $r$  de l'ordre de  $-0,67$  et  $-0,63$ , respectivement; les polyphénols ont fortement corrélé avec la  $\beta$ -carotène (Pearson  $r = 0,83$ ) et moyennement avec le FRAP (Pearson  $r = -0,67$ ); cependant, de très faibles corrélations ont été enregistrées entre les saponines et l'ensemble des variables étudiées ( $-0,36 \leq \text{Pearson } r \leq 0,50$ ). De plus, la lipoxygénase (LOX) a fortement corrélé avec l' $\alpha$ -glucosidase (Pearson  $r = 0,79$ ) et faiblement avec l' $\alpha$ -amylase (Pearson  $r = 0,55$ ). En parallèle, le FRAP a fortement corrélé avec la BSA (Pearson  $r = 0,79$ ), modérément avec la  $\beta$ -carotène (Pearson  $r = -0,69$ ) mais nullement avec l' $\alpha$ -amylase (Pearson  $r = 0,00$ ).



**Figure 81:** Carte thermique de corrélation entre les activités biologiques et les composés phytochimiques de *Citrullus colocynthis*

### Partie 3: Docking moléculaire et Network

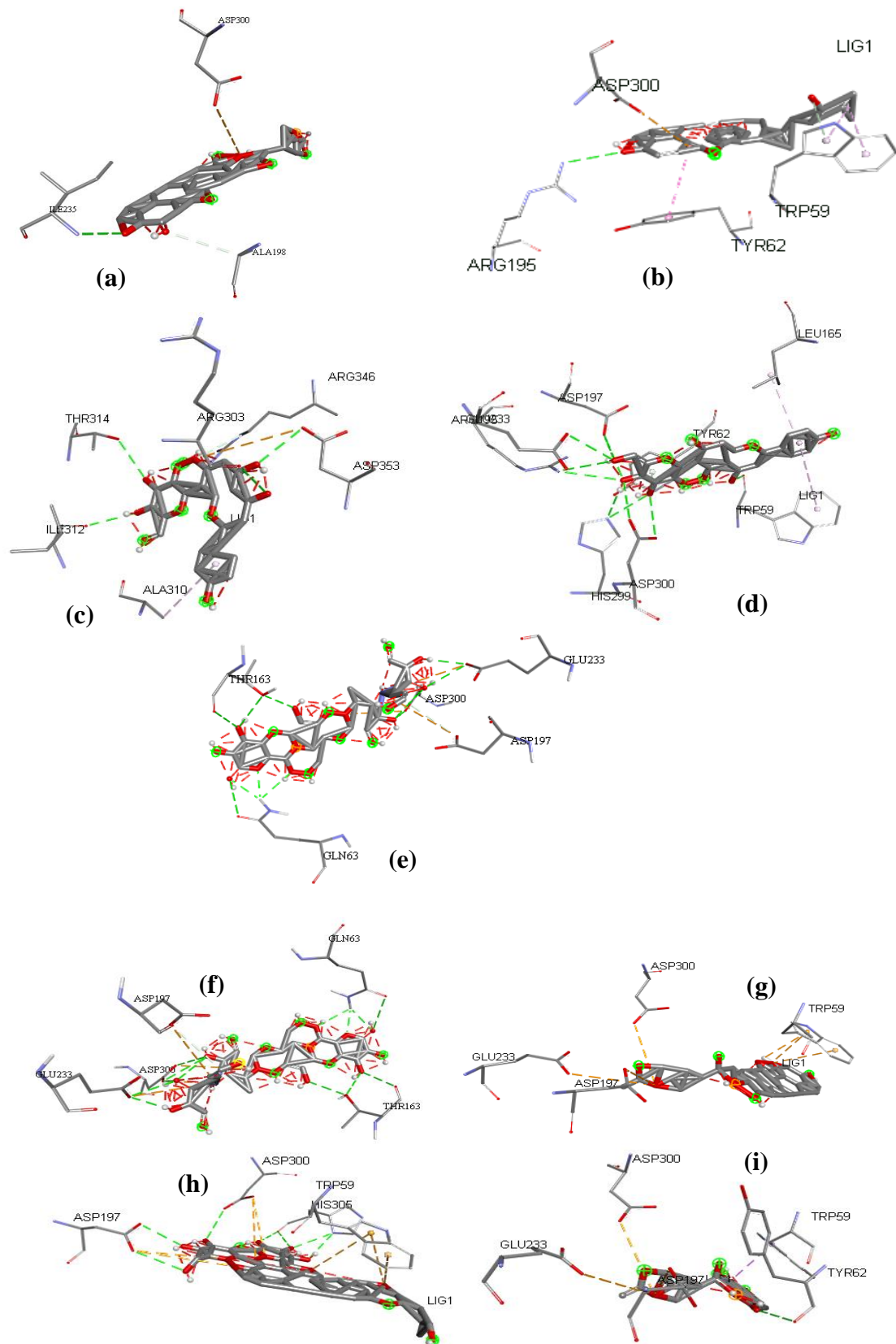
#### 1. Docking moléculaire

Les résultats de l'analyse du docking moléculaire entre les composants phytochimiques et les résidus des enzymes digestives  $\alpha$ -amylase et  $\alpha$ -glucosidase sont présentés dans **les annexes n°1 et n°2** et **les figures 82 et 83**. Cette analyse a révélé que toutes les molécules testées ont enregistré un score d'énergie d'interaction avec l' $\alpha$ -amylase et à l' $\alpha$ -glucosidase meilleur que celui de l'acarbose (**annexe 1, annexe 2**). Les énergies de liaison avec l' $\alpha$ -amylase varient entre -16,4 et -11,6 kcal/mol dans l'ordre suivant : Acarbose (-11,4 kcal/mol) < Vitexine (-11,6 kcal/mol) < Isovitexine (-12,1 kcal/mol) < Bryogénine (-14,5 kcal/mol) < Colocynthoside B (-14,8 kcal/mol) < Cucurbitacine E (-15,1 kcal/mol) < Cucurbitacine C (-15,9 kcal/mol) < Colocynthoside A (-16,3 kcal/mol) < Cucurbitacine B (-16,4 kcal/mol). Les énergies de liaison avec l' $\alpha$ -glucosidase varient entre -14,7 à -10,5 kcal/mol comme suit : Vitexine (-10,5 kcal/mol) < Acarbose (-10,8 kcal/mol) < Isovitexine (-11,5 kcal/mol) < Bryogénine (-12,8 kcal/mol) < Cucurbitacine E (-13,5 kcal/mol) < Cucurbitacine C (-14,0 kcal/mol) < Cucurbitacine B (-14,2 kcal/mol) < Colocynthoside B (-14,6 kcal/mol) < Colocynthoside A (-14,7 kcal/mol). Les scores d'énergie les plus faibles correspondent à des affinités plus élevées pour les enzymes ciblées.

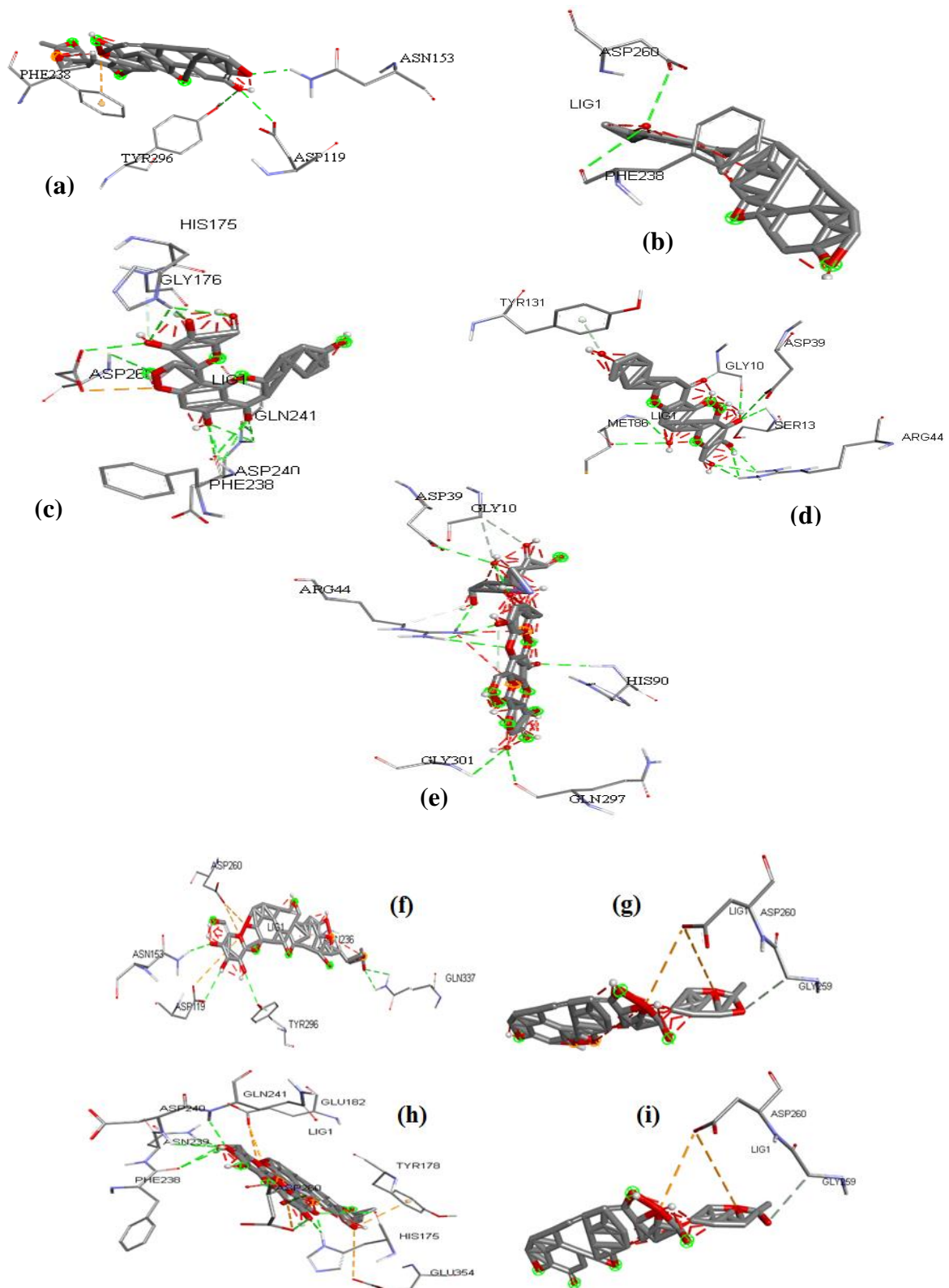
De plus, comme illustrés dans **les figures 82 et 83**, la cucurbitacine B a montré une interaction électrostatique (attraction de charge positive) avec le résidu Asp<sup>300</sup> du site catalytique de l' $\alpha$ -amylase, et deux liaisons hydrogènes avec les résidus Ile<sup>235</sup> et Ala<sup>198</sup>. Pour l' $\alpha$ -glucosidase, la cucurbitacine B présentait trois liaisons hydrogène avec Asn<sup>153</sup>, Asp<sup>119</sup> et Tyr<sup>296</sup>, et une liaison électrostatique (Pi-Cation) avec Phe<sup>238</sup>. En outre, la bryogénine interagit d'avantage avec l' $\alpha$ -amylase qu'avec l' $\alpha$ -glucosidase. Elle établit une liaison électrostatique avec Asp<sup>300</sup>, et cinq liaisons hydrogène avec Arg<sup>195</sup>, Trp<sup>59</sup> (liaison hydrogène) et Tyr<sup>62</sup>. Tandis que, la bryogénine avec l' $\alpha$ -glucosidase a formé une liaison hydrogène avec Phe<sup>238</sup> et Asp<sup>260</sup>. Par rapport aux autres ligands, l'isovitexine a fourni le maximum d'interactions avec les enzymes en créant onze liaisons hydrogène, trois liaisons avec les résidus du site actif de l' $\alpha$ -amylase Asp<sup>300</sup>, Asp<sup>197</sup>, et Glu<sup>233</sup>; une interaction hydrophobe (Alkyl) avec Leu<sup>165</sup>; et les autres liaisons avec les résidus Arg<sup>195</sup>, Trp<sup>59</sup>, His<sup>299</sup>, et Tyr<sup>62</sup>. Cependant, les liaisons hydrogène de l'isovitexine sont établies avec Ser<sup>13</sup>, Arg<sup>44</sup>, Met<sup>86</sup>, Gly<sup>10</sup>, Asp<sup>39</sup> et Tyr<sup>131</sup> de l' $\alpha$ -glucosidase. Les interactions de la vitexine sont principalement des liaisons hydrogène avec des résidus situés en dehors du site actif de l' $\alpha$ -amylase : Asp<sup>353</sup>, Thr<sup>314</sup>, Arg<sup>303</sup>, Asp<sup>353</sup>, Ile<sup>312</sup>, et Arg<sup>346</sup>, et de l' $\alpha$ -glucosidase : Gly<sup>176</sup>, Gln<sup>241</sup>, Gln<sup>241</sup>, Asp<sup>26</sup>, Asp<sup>240</sup> et Phe<sup>238</sup>. L'acarbose, utilisé comme contrôle, a établi des liaisons hydrogène avec les résidus Gln<sup>63</sup>, Glu<sup>233</sup> et Asp<sup>300</sup>, et des liaisons électrostatiques avec l' $\alpha$ -amylase.

Pour les composés phytochimiques de la colocynthe, la colocynthoside A a établis quatre interactions électrostatiques avec le résidu Asp<sup>300</sup> du site catalytique de l' $\alpha$ -amylase et les résidus Asp<sup>197</sup> et Trp<sup>59</sup>, et trois liaisons hydrogène avec les résidus Asp<sup>197</sup>, Trp<sup>59</sup>, et Gln<sup>63</sup>; concernant l' $\alpha$ -glucosidase, la colocynthoside A a montré six liaisons hydrogène avec Asn<sup>153</sup>, Asn<sup>236</sup>, Gln<sup>337</sup>, Gln<sup>337</sup>, Asp<sup>119</sup> et Tyr<sup>296</sup> et trois liaisons électrostatiques avec les résidus Asp<sup>260</sup>, Asp<sup>119</sup> et Asp<sup>260</sup>. La cucurbitacine C a interagit avec l' $\alpha$ -amylase via des liaisons électrostatiques avec les résidus Glu<sup>233</sup>, Asp<sup>300</sup>, Asp<sup>197</sup> et Trp<sup>59</sup>; et avec l' $\alpha$ -glucosidase via deux interactions électrostatiques (Asp<sup>260</sup>, Asp<sup>260</sup>) et une interaction hydrogène (Gly<sup>259</sup>). En outre, la cucurbitacine E présentait des liaisons électrostatiques avec les résidus Glu<sup>233</sup>, Asp<sup>300</sup>, et Asp<sup>197</sup> du site actif de l' $\alpha$ -amylase; une liaison hydrogène avec le résidu Tyr<sup>62</sup>; et une liaison hydrophobe avec le résidu Trp<sup>59</sup>. Pour l' $\alpha$ -glucosidase, la cucurbitacine E a interagit avec les résidus Asp<sup>260</sup> via deux liaisons électrostatiques et avec la Gly<sup>259</sup> via une liaison hydrogène. La colocynthoside B a créé le maximum d'interactions avec l' $\alpha$ -amylase dont sept liaisons électrostatiques avec Asp<sup>300</sup>, Asp<sup>197</sup> et Trp<sup>59</sup>, et sept liaisons hydrogène avec His<sup>305</sup>, Asp<sup>300</sup> et Asp<sup>197</sup>; de même, elle a fourni onze liaisons hydrogène (His<sup>175</sup>, His<sup>175</sup>, Asn<sup>239</sup>, Asp<sup>240</sup>, Asp<sup>240</sup>, Gln<sup>241</sup>, Asp<sup>260</sup>, Phe<sup>238</sup>, His<sup>175</sup>, Phe<sup>238</sup> et Asp<sup>260</sup>) et cinq liaisons

électrostatiques de type charge attractive (Glu<sup>182</sup>, Glu<sup>182</sup>, Asp<sup>260</sup> et Glu<sup>354</sup>) et Pi-cation (Tyr<sup>178</sup>) avec l' $\alpha$ -glucosidase. L'interaction des phytoconstituants de *B. dioïca* et *C. colocynthis* avec les résidus du site actif et en dehors du site actif de l' $\alpha$ -amylase est en concordance avec les résultats obtenus concernant l'effet des extraits de la bryone et la coloquinte sur la cinétique de l' $\alpha$ -amylase qui ont révélé une inhibition mixte de cette enzyme.



**Figure 82:** Modes de liaison prédits en 3D de la cucurbitacine B (a), de la bryogénine (b), de la vitexine (c) et de l'isovitexine (d) de *B. dioïca*, de l'acarbose (e), et de colocynthiside A (f) ; cucurbitacine C (g) ; colocynthiside B (h) ; cucurbitacine E (i) de *C. colocynthis* avec l' $\alpha$ -amylase (3BAJ)

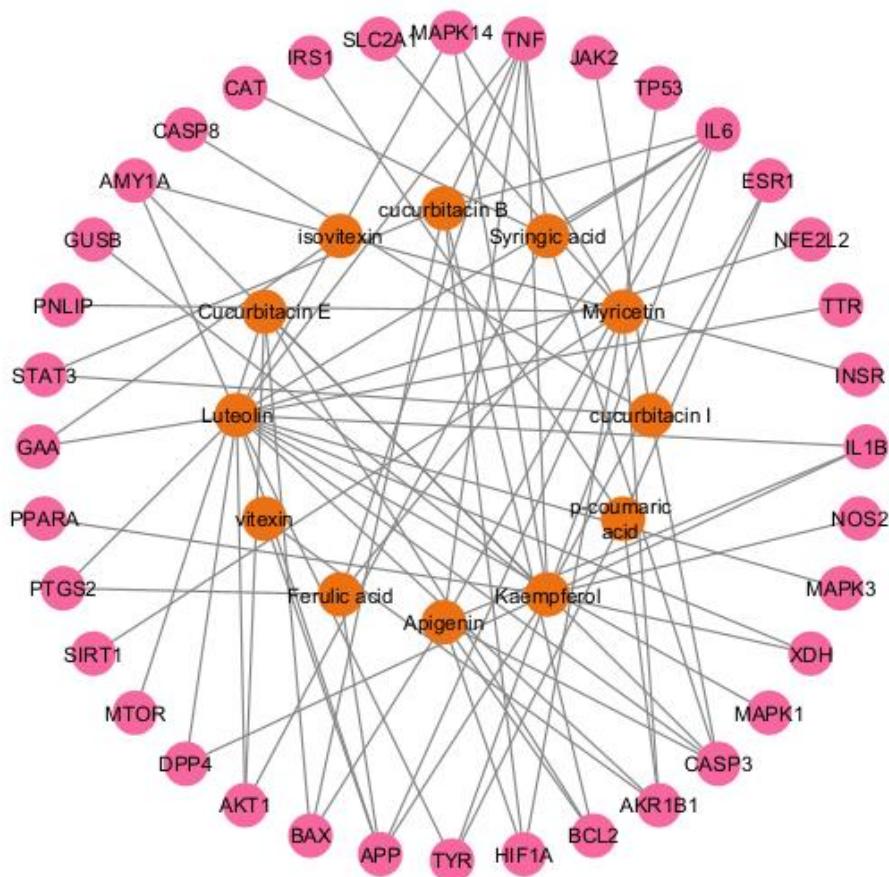


**Figure 83:** Modes de liaison prédits en 3D de la cucurbitacine B (a), de la bryogénine (b), de la vitexine (c) et de l'isovitexine (d) de *B. dioïca*, de l'acarbose (e), et de colocynthoside A (f), cucurbitacine C (g), colocynthoside B (h) et cucurbitacine E (i) de *C. colocynthis* avec l' $\alpha$ -glucosidase (1OBB).

## **2. Réseau d'interactions biologiques (Network)**

La carte du réseau d'interactions possibles entre les composés phytochimiques de *B. dioïca* et les cibles thérapeutiques (**Figure 84**), réalisée à l'aide de divers outils bioinformatiques, a révélé que les composés étudiés interagissaient avec 67 cibles distinctes ; tandis que, le diabète sucré de type 2 était associé à 595 cibles biologiques. Le chevauchement entre ces ensembles de cibles a permis d'identifier 36 gènes susceptibles d'être ciblés par les composés sélectionnés pour *B. dioïca*. Le network, présenté dans **la figure 84**, regroupe douze composés phytochimiques choisis et diverses cibles biologiques associées au diabète sucré de type 2, il est formé de 48 nœuds et 79 interactions.

Le réseau illustre des interactions variées avec une variété de cibles identifiées, notamment AMYL1A, GAA, STAT3, MAPK1, MAPK3, MAPK14, INSR (Récepteur de l'insuline) et autres, dont l' $\alpha$ -amylase (AMYIA) a été spécifiquement ciblée par la lutéoline, le kaempférol et la myricétine ; tandis que, l' $\alpha$ -glucosidase (GAA) a été la cible de lutéoline et d'isovitexine. La lutéoline, le kaempférol et la myricétine représentent les nœuds pivots, car ils montrent les degrés les plus élevés d'interactions 18 ; 13 et 10, respectivement. Cependant, l'apigénine et la cucurbitacine B interagissent respectivement avec 7 et 6 cibles, suivies par la cucurbitacine E et l'acide syringique qui sont associés chacun à 5 cibles. En outre, la cucurbitacine I, l'acide p-coumarique et l'acide férulique sont liés à 4 cibles ; tandis que, l'isovitexine et la vitexine présentent les interactions les plus faibles, seulement 1 et 2 connexions, respectivement.



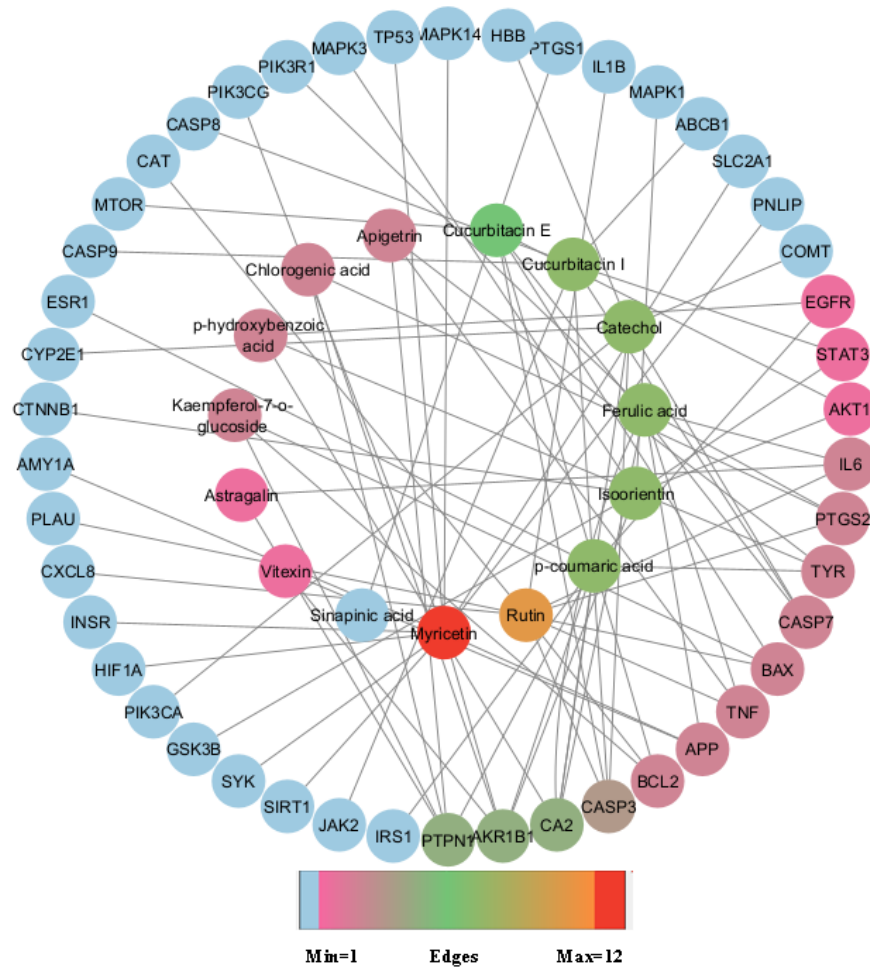
**Figure 84:** Réseau d'interaction (Network) entre certains composés phytochimiques de *Bryonia dioïca* et leur cibles biologiques liées au diabète sucré et à l'inflammation

**SLC2A1** : Solute Carrier Family 2 Member 1, **MAPK14**: Mitogen-activated protein kinase 14, **TNF** : Tumor necrosis factor, **JAK2** : Janus Kinase 2, **TP53**: Tumor Protein P53, **IL6** : Interleukin 6, **ESR1** : Estrogen receptor, **NFE2L2** : NFE2 Like BZIP Transcription Factor 2, **TTR** : Transthyrétin , **INSR** : Insulin receptor, **IL1B** : Interleukin 1 Beta, **NOS2** : Nitric Oxide Synthase 2, **MAPK3**: Mitogen-activated protein kinase 3, **XDH** : Xanthine Dehydrogenase, **MAPK1**: Mitogen-activated protein kinase 1, **CASP3** : Caspase 3, **AKR1B1**: Aldo-keto reductase family 1 member B1, **BCL2** : BCL2 Apoptosis Regulator, **HIF1A** : Hypoxia Inducible Factor 1 Subunit Alpha, **TYR** : Tyrosinase, **APP**: Amyloid-beta precursor protein, **BAX** : BCL2 Associated X, Apoptosis Regulator, **AKT1** : AKT Serine/Threonine Kinase 1, **DPP4** : Dipeptidyl Peptidase 4, **MTOR** : Mechanistic Target Of Rapamycin Kinase, **SIRT1**: Sirtuin 1, **PTGS2** : Prostaglandin G/H synthase 2, **PPARA** : Peroxisome Proliferator Activated Receptor Alpha , **GAA** : Alpha Glucosidase, **STAT3** : Signal Transducer And Activator Of Transcription 3, **PNLIP** : Pancreatic triacylglycerol lipase, **GUSB** : Glucuronidase Beta , **AMY1A** : Alpha-amylase 1A, **CASP8** : Caspase 8, **CAT** : Catalase, **IRS1** : Insulin Receptor Substrate 1

Le réseau d'interaction entre les composés phytochimiques de la coloquinte et les cibles de l'inflammation et du diabète sucré est représenté dans la **figure 85**. Environ 57 cibles ont été affichées pour les composés phytochimiques et 643 ont été associées au diabète sucré et à l'inflammation. L'intersection de cet ensemble d'éléments a révélé 46 cibles communes qui pourraient potentiellement être modulés par les composants phytochimiques sélectionnés de *C. colocynthis*. Le réseau d'interaction obtenu a révélé un total de 61 nœuds et de 80

interactions, dont les nœuds pivots ayant les degrés d'interactions les plus élevés sont représentés par la myricétine et la rutine avec 12 et 10 interactions, respectivement. Les nœuds verts représentés par la cucurbitacine I, l'acide férulique, le catéchol, l'isoorientine et l'acide p-coumarique ont été associés à 7 cibles chacun, suivis par la cucurbitacine E qui a interagi avec 6 cibles biologiques. L'acide chlorogénique, l'apigitrine, le kaempférol-7-O-glucoside et l'acide p-hydroxybenzoïque sont liés à 3 cibles ; tandis que, l'acide sinapinique, la vitexine et l'astragaline présentent de faibles interactions environ 1 et 2 cibles, respectivement. Ce réseau a permis de repérer une série d'interactions avec des cibles identifiées, telles que IL6, PTGS2, TYR, AMYL1A, STAT3, MAPK14, MAPK3, INSR, IRS1, JAK2 et TYR. L' $\alpha$ -amylase (AMYL1A), MAPK14, SLC2A1, SIRT1, SYK, HIF1A et INSR ont été spécifiquement ciblés par la myricétine. En outre, les cucurbitacines ont affiché des interactions avec les cibles prédites MTOR, STAT3, AKT1, JAK2, CASP8 et ABCB1.

En conclusion, l'analyse du réseau d'interactions biologiques, qui a révélé une série d'interactions entre certains phytoconstituants des espèces étudiées et une gamme des cibles biologiques associées au diabète sucré et à l'inflammation, nous a permis de confirmer le potentiel antidiabétique et anti-inflammatoire de *B. dioïca* et *C. colocynthis* qui ont été approuvés dans la partie expérimentale.



**Figure 85:** Réseau d’interaction (Network) entre certains composés phytochimiques de *Citrullus colocynthis* et leur cibles biologiques liées au diabète sucré et à l’inflammation.

**MAPK3:** Mitogen-activated protein kinase 3, **TP53:** Tumor Protein P53, **MAPK14:** Mitogen-activated protein kinase 14, **HBB:** Hemoglobin Subunit Beta, **PTGS1:** Prostaglandin G/H synthase 1, **IL1B :** Interleukin 1 Beta , **MAPK1:** Mitogen-activated protein kinase 1 , **ABCB1 :** ATP-dependent translocase ABCB1, **SLC2A1 :** Solute Carrier Family 2 Member 1, **PNLIP :** Pancreatic triacylglycerol lipase , **COMT:** Catechol-O-Methyltransferase, **EGFR:** Epidermal growth factor receptor , **STAT3 :** Signal Transducer And Activator Of Transcription 3 , **AKT1 :** AKT Serine/Threonine Kinase 1, **IL6 :** Interleukin 6, **PTGS2 :** Prostaglandin G/H synthase 2, **TYR :** Tyrosinase , **CASP7 :** Caspase 7 , **BAX :** BCL2 Associated X, Apoptosis Regulator, **TNF :** Tumor necrosis factor , **APP:** Amyloid-beta precursor protein , **BCL2 :** BCL2 Apoptosis Regulator, **CASP3 :** Caspase 3 , **CA2:** Carbonic anhydrase 2 , **AKR1B1:** Aldo-keto reductase family 1 member B1 , **PTPN1 :** Tyrosine-protein phosphatase non-receptor type 1 , **IRS1 :** Insulin Receptor Substrate 1, **JAK2 :** Janus Kinase 2, **SIRT1:** Sirtuin 1, **SYK :** Spleen Associated Tyrosine Kinase, **GSK3B :** Glycogen synthase kinase-3 beta, **PIK3CA :** Phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate 3-kinase catalytic subunit alpha isoform , **HIF1A :** Hypoxia Inducible Factor 1 Subunit Alpha , **INSR :** Insulin receptor, **CXCL8 :** C-X-C Motif Chemokine Ligand 8 , **PLAU :** Plasminogen Activator, Urokinase, **AMY1A :** Alpha-amylase 1A , **CTNNB1 :** CATENIN beta-1 , **CYP2E1 :** Cytochrome P450 Family 2 Subfamily E Member 1, **ESR1 :** Estrogen receptor , **CASP9 :** Caspase 9 , **MTOR :** Mechanistic Target Of Rapamycin Kinase, **CAT :** Catalase , **CASP8 :** Caspase 8 , **PIK3CG :** Phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate 3-kinase catalytic subunit gamma isoform, **PIK3R1 :** Phosphoinositide-3-Kinase Regulatory Subunit 1

# DISCUSSION

La recherche scientifique dans le domaine des produits naturels aux propriétés thérapeutiques issus du règne végétale constitue une voie alternative qui suscite un intérêt majeur à l'heure actuelle. Dans ce cadre s'articule l'objectif de notre travail qui porte sur l'étude phytochimique et la recherche de l'activité antioxydante, antidiabétique et anti-inflammatoire des extraits préparés de deux cucurbitacées *Bryonia dioïca* (de la région de Tlemcen) et *Citrullus colocynthis* (de la région de Naâma).

Cette étude a été réalisée en deux grandes parties expérimentales ; la première consiste à une étude phytochimique regroupant la détermination de taux de certains composés phytochimiques et l'analyse LC-MS des extraits chloroforme-méthanol et des Fractions acétate d'éthyle des extraits eau-acétone. La deuxième partie consiste à l'étude biologique des différents extraits et fractions préparés.

La partie phytochimique a été initiée par la préparation, à partir des racines de *B. dioïca* et des fruits de *C. colocynthis*, des extraits aqueux bruts ; des extraits eau-acétone bruts ; de leurs fractions acétate d'éthyle et n-butanol ; ainsi que des extraits chloroforme-méthanol en utilisant la décoction et la macération comme modes d'extraction. L'ensemble des extraits préparés ont été récupérés sous forme solide de couleur caractéristique marron. Les extraits aqueux bruts ont révélé les meilleurs rendements d'extraction suivis par les extraits eau-acétone ; cependant, les fractions et les extraits chloroforme-méthanol ont montré les taux faibles.

Les rendements de nos extraits sont élevés par rapport aux résultats obtenus par **Chekroun et al., (2017)** qui ont enregistré des rendements d'extraction de l'ordre de 11,26% et 5,41% dans les extraits aqueux préparés par décoction des racines de *B. dioïca* et des fruits de *C. colocynthis*, respectivement. Des résultats plus faibles ont été également obtenus par **Benariba et al., (2013)** dans les fractions acétate d'éthyle et n-butanol issues de l'extrait hydro-méthanol préparé des graines dégraissées des fruits de *C. colocynthis*, qui ont de faibles rendements variables entre 1,1 et 1,2 %.

Le criblage phytochimique effectué sur les différents extraits et fractions préparés à partir des racines de *B. dioïca* a révélé la présence des flavonoïdes, des composés réducteurs, des alcaloïdes et des terpénoïdes. Cependant, les saponines, les tanins, les quinones libres et les anthraquinones ont montré des tests négatifs. Selon la bibliographie, l'extrait éthanolique des feuilles de la bryone renferme des alcaloïdes, des flavonoïdes, des tanins, des stéroïdes, et des anthraquinones (**Khamees et al., 2017**). Par ailleurs, nos résultats concordent avec ceux de **Kadhim, (2014)** qui a enregistré dans l'extrait éthanol des feuilles de la bryone récoltée en

Irak la présence des alcaloïdes, des flavonoïdes, des stéroïdes, des anthraquinones et des terpénoïdes avec absence des tanins et des saponines.

Concernant les résultats obtenus pour la coloquinte, nous avons remarqué la présence des flavonoïdes, des quinones libres, des composés réducteurs, des alcaloïdes et des terpénoïdes, tandis que les tanins et les saponines étaient absents. Comparativement aux autres travaux, une étude menée sur l'extrait hydro-méthanol préparé par décoction de graines dégraissées des fruits de *C. colocynthis* a montré la présence de certains composés phytochimiques dont les tanins, les flavonoïdes et les terpénoïdes ; néanmoins, les alcaloïdes, les sucres réducteurs, les quinones, les coumarines et les anthraquinones ont été absents (**Benariba et al., 2013**).

En plus de l'analyse qualitative, une étude quantitative de certaines familles phytochimiques a été réalisée afin de déterminer les teneurs en polyphénols totaux, en flavonoïdes, en flavonols et en saponines présents dans les extraits et les fractions obtenus des deux cucurbitacées.

Il est à noter que les différentes classes phytochimiques étudiées dans ce travail varient significativement entre les extraits et les fractions de la même espèce et entre les deux espèces. Les taux élevés en polyphénols ont été enregistrés dans les extraits chloroforme-méthanol **BChM** et **CChM** (299,51 et 217,68 µg Eq AG/mgES, respectivement) et dans les fractions acétate d'éthyle **CAQ<sub>Acét</sub>**; **CEA<sub>Acét</sub>** et **BEA<sub>Acét</sub>** (266,32 ; 162,44 et 157,01 µg Eq AG/mg ES, respectivement). Concernant les flavonoïdes nous avons obtenu des teneurs modérées dans la majorité des extraits et fractions de deux plantes, dont les extraits **ChM** ont marqué des valeurs élevées de l'ordre de 99,82 µg Eq C/mg ES pour la coloquinte et 49,09 µg Eq C/mg ES pour la bryone. Néanmoins, l'ensemble des extraits ont présenté des taux faibles en flavonols voire très faibles en saponines.

Nos résultats ont montré la richesse des extraits et fractions de *B. dioïca* en polyphénols par rapport à ceux de **Morales et al., (2012)** qui ont déterminé un taux de 35,10 mg Eq AG/g E dans l'extrait méthanolique préparé par macération de la poudre des jeunes pousses aux bourgeons foliaires. De même, **Ahmed et al., (2019)** ont noté des taux relativement plus faibles en polyphénols variant entre 5,73 et 37,69 mg Eq AG/g E ; et en flavonoïdes passant de 1,73 à 119,63 mg Eq Q/ g E dans les différents extraits organiques des feuilles de *C. colocynthis* et entre 1,23 et 43,32 mg Eq Q/ g E dans les extraits des racines.

De plus, nos résultats obtenus pour la coloquinte sont proches des résultats enregistrés par **Benariba et al., (2013)** qui ont révélé des taux en polyphénols de l'ordre de 298,88 et 154,06 mg Eq AG/g E dans les fractions acétate d'éthyle et n-butanol de l'extrait eau-méthanol,

respectivement. Cependant des taux en flavonoïdes supérieurs à nos résultats ont été notés dans les mêmes extraits (219,18 et 78,37 mg Eq C/g E). De même, l'étude de **Chekroun et al., (2017)** a montré des teneurs en polyphénols et en flavonoïdes dans l'extrait aqueux des racines de *B. dioica* et des fruits de *C. colocynthis* comparables à nos résultats.

Par ailleurs, **Iftikhar et al., (2023)** ont indiqué que la fraction acétate d'éthyle issue de l'extrait éthanolique des fruits de *C. colocynthis* renferme des quantités importantes en polyphénols (289,4 mg Eq AG/g E), modérées en flavonols (35,7 mg Eq R/g E) et faibles en flavonoïdes (7,6 mg Eq C/g E) ; suivie par la fraction chloroforme (172,3 mg Eq AG/g E ; 10,2 mg Eq R/g E et 3,5 mg Eq C/g E) ; tandis que, le reste des extraits organiques ont présenté des taux faibles ce qui est en accord avec nos résultats.

La variation des rendements d'extraction ainsi que les résultats des tests phytochimiques qualitatifs et quantitatifs obtenus dans la présente étude par rapport à ce qui a été souligné en bibliographie, est reliée à différents facteurs influenceurs. Les paramètres de base qui aboutissent à ces variations de la qualité d'extrait et sa composition en métabolites secondaires sont majoritairement la plante elle-même ; le mode et le temps d'extraction, voire le type et la polarité du solvant utilisé (**Ncube et al., 2008 ; Tiwari et al., 2011**) .

**Ksouri et al., (2008)** et **Martins –Gomes et al., (2023)** ont également reporté que la période et la région de la récolte influencent la composition phytochimique des espèces végétales, de même, et selon **Sharma et al., (2019)** et **Brahmi et al., (2022)** la quantité et la qualité des phytoconstituants notamment les polyphénols, les flavonoïdes et les tanins varient considérablement sous l'impact de la température, la nature du sol (salinité), l'attitude, le climat et même sous l'influence des facteurs biotiques dont nous citons le stade de développement de la plante, sa partie utilisée ainsi que l'espèce végétale . De plus, **Sik et al., (2022)** ont constaté dans leur étude une variation du taux de polyphénols reliée au temps d'extraction, la concentration de solvant utilisé ainsi que son acidité.

Par ailleurs, des travaux antérieurs ont associé la diversité en phytoconstituants au solvant d'extraction utilisé, dont l'acétone, le méthanol et l'eau assurent l'extraction des polyphénols ; les mélanges eau-alcools (méthanol, éthanol) permettent de récupérer les flavonoïdes ; cependant, les composés apolaires à savoir les terpénoïdes sont extraits par le chloroforme et le dichlorométhane (**Sultana et al., 2009 ; Tiwari et al., 2011**) .

En plus de la détermination du taux de composés phénoliques (polyphénols, flavonoïdes et flavonols) et terpéniques (saponines), nous avons procédé à l'analyse chromatographique des

extraits et fractions ayant montré les meilleurs effets dans l'activité antioxydante et antidiabétique en utilisant l'analyse HPLC-SM. De nombreux composés phénoliques ont été caractérisés dans les quatre extraits analysés (**BEA<sub>Acét</sub>**, **BChM**, **CEA<sub>Acét</sub>** et **CChM**) dont le méthylcoumarine et le méthylcoumarine dimérique sont les composés communs dans les extraits de la bryone et qui semblent les plus abondants. Cependant, les extraits de la coloquinte ont partagé le dérivé de coumarine ; le kaempférol glucoside ; l'apigénine glucoside ; le kaempférol glucuronide et le dérivé de kaempférol. D'autres molécules ont été révélées dans la fraction **BEA<sub>Acét</sub>**, à savoir le dérivé de coumarine de type haplopérozide; l'isorhoifoline ; la pinocembrine 7-*O*-néohespéridoside ; la chrysine 7-*O*-néohespéridoside; le dérivé acétylé de chrysine 7-*O*-néohespéridoside et le dérivé acétylé de pinocembrin 7-*O*-néohespéridoside; tandis que, l'apigénine glucosylglucoside et l'isorhamnétine rutinoside ont marqué leur présence dans l'extrait **CChM**.

Selon la bibliographie, certains composés phénoliques principalement les flavonoïdes glycosylés ont été caractérisés par HPLC-DAD-ESI/MS dans l'extrait de *Bryonia dioïca* du Portugal, à savoir la lutéoline-6-*C*-glucoside-7-*O*-glucoside (lutarine), la lutéoline-6-*C*-glucoside, l'apigénine 6-*C*-glucoside, le kaempférol 3,7-di-*O*-rhamnoside, l'apigénine 6-*C*-glucoside-*O*-rhamnosyl-hexoside et l'apigénine-6-*C*-glucoside-7-*O*-glucoside (saponarine) comme étant le composé majoritaire (**Barros et al., 2011**).

D'autres études antérieures sur différentes parties de *Bryonia dioïca* ont montré la présence de la quercétine-*O*-pentosyl-rhamnosyl ; le kaempférol-3-*O*-néohespéridoside ; l'apigénine-*C*-hexoside-*O*-hexoside ; la quercétine-*O*-hexoside et la myricétine (**Barreira et al., 2013** ; **Benarba et al., 2019**). Selon l'étude de **Ukiya et al., (2002)**, certains composés phytochimiques de la famille des terpénoïdes ont été identifiés par RMN dans l'extrait méthanolique de *Bryonia dioïca* dont la bryoamaride, la cabénoside D et les bryoniosides (A-G). De plus, l'analyse GC-MS réalisée sur la bryone a mis en évidence des acide gras comme l'acide palmitique, l'acide stéarique, l'acide oléique, l'acide linoléique et l'acide  $\alpha$ -linoléique ; 1,2,3-triméthylbenzène ; 3-méthylglucose ; coumaran ; hypoxanthine et le maaliol (**Dhouioui et al., 2016** ; **Bourhia et al., 2019**).

En outre, de nombreuses analyses chimiques des différents extraits de différentes parties de la coloquinte ont identifié un grand nombre de molécules phytochimiques telles que des cucurbitacines (B, E et S) ; des glucosides des cucurbitacines (A, B, E, I et L), le 23, 24-dihydrocucurbitacines E, colocynthoside A, colocynthoside B, cucurbitacine K 2-*O*- $\beta$ -D-

glucopyranoside, cucurbitacine E 2-O- $\alpha$ -D-glucopyranoside, cucurbitacine A 2-O-  $\beta$  -D-glucopyranoside, et dihydrocucurbitacine B ; des acides phénoliques (acide chlorogénique, acide férulique, acide *p*-coumérique, acide gallique, acide *p*-hydroxy benzoïque et acide vanillique) ; des flavonoïdes (quercétine , catéchine , myricétine , kaempférol , rutine et isovitexine) ; des tanins (corilagine , acide 3-O-cafféoylquinique , gallocatéchine et gastrodine) ; des stéroles (spinastérole) ; des alcaloïdes (2- (nonan-8-one)-(1H)-4-quinolone; 2-(nonan-8-one)-4-methoxy-quinoline; quinoline; 7,8-benzoquinoline et 8-hydroxyquinoline); et des tocophéroles ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ) (Sturm et Stuppner, 2000 ; Salama et al., 2012 ; Hussain et al., 2013 ; Nehdi et al., 2013; Jeon et Lee, 2014 ; Shawkey et al., 2014 ; Kim et al., 2018 ; Terki et al., 2023).

La diversité des plantes médicinales en composés phytochimiques entraîne une diversité de leurs propriétés biologiques : Antioxydantes, antidiabétiques, antimicrobiennes, antitumorales et autres. De ce fait, dans la deuxième partie de notre étude, nous nous sommes intéressées à la recherche du potentiel biologique des différents extraits et fractions des deux plantes cucurbitacées.

La capacité antioxydante a été évaluée par quatre méthodes différentes afin de prendre en considération les différents mécanismes d'action exercés. Le premier test réalisé est celui de piégeage du radical libre DPPH ; les résultats obtenus ont révélé un effet antioxydant significatif ( $p \leq 0,0001$ ) et dose dépendant dans l'ensemble des extraits et fractions préparés. Toutefois, le meilleur pouvoir réducteur du DPPH a été observé dans les extraits et les fractions issus de *B. dioïca* par rapport aux extraits de *C. colocynthis*.

Pour la bryone, les faibles  $IC_{50}$  ont été enregistrées dans la Fraction **BEA<sub>Acét</sub>** et l'extrait **BChM** avec des valeurs de l'ordre de  $293 \pm 0,05$  et  $358,36 \pm 0,04$   $\mu\text{g/mL}$ , respectivement. Cependant, l'extrait aqueux brut de la coloquinte a montré une faible valeur d' $IC_{50}$  par rapport aux autres extraits ( $IC_{50} = 567,05 \pm 0,03$   $\mu\text{g/mL}$ ). Néanmoins, l'effet réducteur exercé par les deux cucurbitacées reste significativement inférieur à l'effet de l'acide ascorbique ( $IC_{50} = 2,23 \pm 0,004$   $\mu\text{g/mL}$ ).

Nos résultats sont éminents en regard des résultats obtenus par Morales et al., (2012) qui ont enregistré un effet réducteur très faible du DPPH' par l'extrait méthanolique des jeunes pousses de *B. dioïca* récoltées en Espagne avec une valeur d' $IC_{50}$  de l'ordre de  $4,43 \pm 1,29$   $\text{mg/mL}$ . De même, l'étude réalisée sur les fruits de *B. dioïca* récoltés en Portugal a présenté

un faible potentiel antioxydant dans l'extrait éthanolique avec une  $IC_{50}$  égale à  $1,5 \pm 0,1$  mg/mL (**Barreira et al., 2013**).

Selon la bibliographie, **Chekroun et al., (2015)** ont enregistré un effet piègeur du radical libre DPPH<sup>\*</sup> intéressant dans les extraits aqueux préparés des fruits de *B. dioïca* et des racines de *C. colocynthis* ( $IC_{50}$ : 47,25 et 241,25  $\mu$ g/mL, respectivement), ainsi que dans ses fractions n-butanol ( $IC_{50}$ : 2,25 et 61,00  $\mu$ g/mL). Ces résultats sont en accord avec nos résultats en ce qui concerne l'efficacité antiradicalaire de la bryone par rapport à la coloquinte.

En outre, la fraction acétate d'éthyle de l'extrait hydro-méthanol obtenu des fruits de *C. colocynthis* a présenté un effet anti-radicalaire important en comparaison avec l'extrait aqueux et l'extrait hydro-méthanolique avec une valeur d' $IC_{50}$  de l'ordre de 350 $\mu$ g/mL (**Benariba et al., 2013**) ; tandis que, les extraits méthanoliques acidifiés et non-acidifiés, issus des graines de *C. colocynthis* de la région de Pakistan, ont présenté des pourcentages de réduction allant de  $89,21 \pm 1,1$  à  $98,86 \pm 1,1$  % à la concentration de 5mg/mL (**Yasir et al., 2016**).

Concernant le test du pouvoir réducteur du fer, les résultats enregistrés ont montré un faible effet antioxydant dans l'ensemble des extraits et fractions testés, dont l'extrait **BChM** ainsi que les fractions **BAQ<sub>nB</sub>** et **CAQ<sub>Acét</sub>** ont réduit le fer ferrique  $Fe^{3+}$  en fer ferreux  $Fe^{2+}$  de manière modeste avec des  $EC_{50}$  de l'ordre de  $535,91 \pm 0,01$  ;  $571,89 \pm 0,03$  et  $584 \pm 0,01$   $\mu$ g/mL, respectivement. Ces valeurs restent significativement élevées par rapport à celle du BHA ( $EC_{50} = 16,33 \pm 0,03$   $\mu$ g/mL).

Des études antérieures ont confirmé la faible capacité des extraits de *B. dioïca* et *C. colocynthis* sur la réduction du fer (**Rafael et al., 2011** ; **Morales et al., 2012** ; **Limem et al., 2016**). **Gholivand et Piryaei, (2012)** ont noté un pouvoir réducteur de  $Fe^{3+}$  des extraits méthanoliques des différentes parties de *B. dioïca* (tiges, feuilles et fleurs) ; **Iftikhar et al., (2023)** ont souligné un effet réducteur des extraits organiques et leurs fractions préparés des fruits de *C. colocynthis*. De plus, **Mohadjerani et Shokohsaljoghi, (2014)** ont constaté une réduction du fer ferrique par les extraits méthanoliques des racines et de la pulpe de *C. colocynthis* récoltée en Iran. Pareil, les résultats du test de FRAP réalisé par **Chekroun et al., (2015)** ont affiché à la concentration de 3mg/mL des absorbances de l'ordre de 0,36 et 0,74 pour les extraits aqueux de la coloquinte et de la bryone, et pour les fractions n-butanol (0,55 et 1,79).

Au cours de notre étude, nous avons également évalué le pouvoir inhibiteur de nos extraits vis-à-vis la peroxydation lipidique en utilisant le test de blanchiment de  $\beta$ -carotène. Des résultats intéressants ( $p \leq 0,0001$ ) ont été obtenus par rapport aux deux premiers tests (DPPH et FRAP). Nous avons enregistré une forte inhibition de l'oxydation de  $\beta$ -carotène de manière dose dépendante ; avec de faibles  $IC_{50}$  pour l'ensemble des extraits et fractions testés. Les meilleurs effets inhibiteurs ont été enregistrés dans la fraction **BEA<sub>Acét</sub>**; l'extrait **BAQ** et l'extrait **BChM** ( $IC_{50} = 22,05 \pm 0,02$  ;  $30,88 \pm 0,01$  et  $81,80 \pm 0,02$   $\mu\text{g/mL}$ , respectivement). Pour la coloquinte, les fractions n-butanol **CEA<sub>nB</sub>** et **CAQ<sub>nB</sub>** ainsi que l'extrait **CAQ** ont significativement protégé la  $\beta$ -carotène contre l'oxydation induite par l'acide linoléique,  $IC_{50}$  égale à  $30,28 \pm 0,01$  ;  $55,66 \pm 0,01$  et  $76,84 \pm 0,01$   $\mu\text{g/mL}$ . Les molécules standards BHA et quercétine ont montré des  $IC_{50}$  très faibles,  $5,99 \pm 0,01$  et  $9,20 \pm 0,004$   $\mu\text{g/mL}$ , respectivement.

Selon la bibliographie, nos résultats restent intéressants par rapport à ceux montrés par **Barreira et al., (2013)** dans l'extrait éthanolique des fruits matures de *B. dioïca* ( $IC_{50} = 1,9 \pm 0,1$   $\text{mg/mL}$ ) ; par **Rafael et al., (2011)** dans les extraits méthanoliques préparés des fruits matures et immatures de la bryone ( $IC_{50} = 0,58 \pm 0,09$   $\mu\text{g/mL}$  et  $1,87 \pm 0,25$   $\text{mg/mL}$ ) ; par **Limem et al., (2016)** dans l'extrait méthanolique de *C. colocynthis* du Togo ( $IC_{50} = 0,68 \pm 0,013$   $\mu\text{g/mL}$ ) ; et par **Nessa et al., (2014)** dans les différents extraits organiques des feuilles de *C. colocynthis* récoltées en Emirats arabes (de 33,35 à 82,24% d'inhibition).

Un faible potentiel vis-à-vis la peroxydation lipidique a été observé dans l'extrait hexanique des graines de *C. colocynthis* du Maroc, dont 50% d'inhibition de blanchiment de  $\beta$ -carotène a été enregistrée à la concentration de 2,22  $\text{mg/mL}$  (**Bourhia et al., 2021**). Des travaux antérieurs ont confirmé le pouvoir inhibiteur de la coloquinte vis-à-vis la peroxydation lipidique. A 200 $\mu\text{g/mL}$ , les extraits éthanoliques et hexaniques des différentes parties de *C. colocynthis* (racines, feuilles et fruits) ont assuré l'inhibition de la peroxydation de l'acide linoléique entre 43,8 et 80,9% (**Hussain et al., 2013**).

La dernière méthode d'évaluation de l'activité antioxydante est celle de la recherche de l'effet cytoprotecteur des extraits contre l'hémolyse induite par AAPH. D'après les résultats obtenus, nous avons noté un effet très significatif ( $p \leq 0,0001$ ) des différents extraits et fractions étudiés dont la protection des globules rouges contre l'attaque radicalaire a été exercée de manière dose dépendante. La meilleure activité antiradicalaire a été observée dans la fraction n-butanol **BAQ<sub>nB</sub>** avec une valeur d' $IC_{50}$  de l'ordre de  $8,78 \pm 0,01$   $\mu\text{g/mL}$  inférieure à celle de l'acide ascorbique ( $IC_{50} = 10,38 \pm 0,02$   $\mu\text{g/mL}$ ). Autres effets comparables à l'effet de la molécule

standard ont été enregistrés dans la fraction **CAQ<sub>nb</sub>** ( $IC_{50}= 10,74\pm 0,17 \mu\text{g/mL}$ ) et l'extrait **BChM** ( $IC_{50}= 11,26\pm 0,02 \mu\text{g/mL}$ ). Le reste des extraits et fractions de deux espèces végétales étudiées ont également inhibé les radicaux libres issus de la décomposition de l'AAPH ( $IC_{50}$  rangées entre  $13,75\pm 0,02$  et  $119,90\pm 0,03 \mu\text{g/mL}$ ). Ce sont les fractions n-butanol récupérées des extraits aqueux qui ont fortement protégé les hématies soumises à l'attaque radicalaire.

Nos résultats sont en accord avec ceux reportés par **Terki et al., (2023)** qui ont confirmé le potentiel antiradicalaire des fractions acétate d'éthyle et n-butanol de l'extrait hydrométhanolique préparé par macération des fruits de *C. colocynthis* pendant 48h ( $IC_{50} = 99,64\pm 2,92$  et  $19,11\pm 0,5 \mu\text{g/mL}$ , respectivement). Dans la même étude, les molécules standards acide ascorbique et quercétine ont présenté des effets cytoprotecteurs des globules rouges importants mais qui restent inférieurs aux résultats de nos standards ( $IC_{50}= 16,32\pm 0,05$  et  $18,27\pm 0,2 \mu\text{g/mL}$ , respectivement).

Selon la bibliographie, la décomposition thermique de l'AAPH en radicaux libres peroxydes induit la peroxydation lipidique et l'oxydation des protéines des globules rouges, ce qui conduit à la formation des trous facilitant ainsi la fuite de composants du milieu extracellulaire à l'intérieur de ces cellules et leur éclatements ; la présence d'un antioxydant exogène en plus de ceux endogènes aboutit à la protection des hématies contre l'hémolyse (**Sato et al., 1999 ; Bureau et al., 2005 ; Dai et al., 2006**). De nombreuses études ont attribué l'effet protecteur des globules rouges contre l'attaque oxydative aux composés phytochimiques, parmi lesquels les flavonoïdes, qui ont été constatés comme inhibiteurs de l'hémolyse en inhibant l'oxydation des groupements thiols (-SH) des hématies par le tetrathionate (**Asgary et al., 2005**).

**Wu H. et al, (2018)** et **Wang et al, (2019)** ont signalé que les flavones à savoir la naringine, le 2''-O-acétyl-3'-O-méthylrutine et le 5,7,8,3 '-tétrahydroxy-3,4 '-diméthoxy protègent les érythrocytes contre l'hémolyse en neutralisant les radicaux libres générés de la décomposition de l'AAPH avec diminution du taux des espèces réactives de l'oxygène (ROS) dans le milieu intracellulaire. En outre, l'épicatéchine et ses conjuguées ont été rapportés comme inhibiteurs de l'hémolyse par diminution de la fluidité de la membrane plasmique et le blocage d'accès des radicaux peroxydes au milieu intracellulaire (**Martinez et al., 2012**). Le kaempférol possède également un potentiel antihémolytique capable de diminuer le taux des ROS intracellulaires ainsi que le malondialdéhyde (MDA) ; et il augmente l'activité des enzymes antioxydantes de superoxyde dismutase et glutathion peroxydase (**Wu P. et al., 2018**).

De même, les polyphénols réduisent les radicaux libres dans le milieu réactionnel d'une part, et d'autre part ils empêchent leur pénétration à l'intérieur de la cellule en se liant au groupements hydrophiles de la monocouche lipidique extérieure ce qui aboutit à la protection des érythrocytes contre l'hémolyse (**Bonarska-Kujawa et al., 2014**). Le composé phénolique allylpyrocatechol a été démontré comme protecteur des hématies contre l'hémolyse induite par l'AAPH via la diminution de la peroxydation lipidique et la restauration à la normale des ratios intracellulaires  $K^+/Na^+$  et cholestérol/phospholipide (**Meenakshi et al., 2013**).

La mise en évidence du pouvoir antioxydant des deux cucurbitacées étudiées *B. dioïca* et *C. colocynthis*, réalisée par les quatre tests complémentaires, a révélé des résultats importants qui ont montré l'effet intéressant des différents extraits et fractions préparés, dont la bryone a présenté un pouvoir antioxydant remarquable par rapport à la coloquinte. La capacité antioxydante enregistrée est probablement liée à la composition phytochimique des deux plantes. Il est bien connu que les antioxydants ont différentes manières d'agir, certains fournissent des atomes d'hydrogènes aux radicaux libres permettant ainsi leur inactivation et par la suite l'interruption des réactions radicalaires comme le cas du test du DPPH; d'autres via le transfert d'un seul électron par transfert de proton ; via un transfert séquentiel d'électrons par perte de proton ; ou via la chélation d'un métal de transition (**Zhang et Tsao, 2016 ; Lee et al., 2020 ; Zeb, 2020**).

Les composés phénoliques à savoir les flavonoïdes ont été reportés dans plusieurs travaux expérimentaux comme étant de puissants antioxydants ; en effet, leur pouvoir antioxydant dépend de leur structure chimique en particulier de la répartition des groupements hydroxyles. Selon une étude de la relation structure- activité, la diminution ou l'augmentation de l'activité antioxydante s'est avéré associée à la distribution des groupements  $-OH$  et  $-OCH_3$  où les composés ayant un second  $-OH$  en position ortho ou para montrent un pouvoir plus élevé qu'en position méta. De même, le piégeage des radicaux libres est étroitement lié à la configuration du 3',4'-orthodihydroxy du cycle B et du groupe 4-carbonyle du cycle C ainsi que des groupements 3-OH et 5-OH du cycle C des flavonoïdes (**Wojdylo et al., 2007 ; Benariba et al., 2013 ; Muhammad et al., 2016**).

Les flavonoïdes sont dotés de forte capacité antioxydante par libération d'un atome d'hydrogène et piégeage des radicaux libres par formation de molécules plus stables **RH** et des radicaux flavoxyles moins réactifs **FLO<sup>•</sup>**. Ces derniers subissent par la suite des modifications structurales par résonance et par redistributions des électrons impaires au

niveau des noyaux aromatiques donnant ainsi des molécules plus stables ; ces radicaux flavoxyles peuvent également former des composés **FLO-R** non réactifs par interactions entre eux (**Pietta, 2000 ; Kravchenko et al., 2003 ; Kumar et Pandey, 2013**).

La présence d'un groupement OH en position C3 et du groupe catéchol comme le cas de la quercétine a augmenté sa capacité à piéger le radical peroxyazotine par rapport à l'ebseen (un antioxydant du radical d'oxyde nitreux), cependant, la substitution de ce groupe hydroxyle par un groupement méthyle ou glycosyle a aboli complètement son effet inhibiteur de blanchiment de  $\beta$ -carotène, de même, la présence d'une liaison hydrogène intramoléculaire entre le groupe hydroxyle C3 et le système 3', 4'-catéchol explique bien les propriétés antioxydantes puissantes des flavan-3-ols et des flavon-3-ols (**Haenen et al., 1997 ; Parcheta et al., 2021**).

Dans notre étude nous avons ainsi remarqué que les extraits des deux plantes ont présenté le meilleur pouvoir antioxydant dans le test de l'AAPH et la  $\beta$ -carotène ; pour le test de DPPH des résultats modérés ont été enregistrés ; cependant de très faible potentiel réducteur du fer a été montré par l'ensemble des extraits. Cela nous a permis de suggérer que l'effet des extraits est due à leur composition phytochimique qui inhibe ou prévient la formation des radicaux libres comme le cas des tests AAPH et  $\beta$ -carotène, ou qui fournit directement des hydrogènes ou des électrons aux DPPH ou le  $Fe^{3+}$ .

En plus de la recherche de l'effet antioxydant des extraits et fractions préparés de *B. dioica* et *C. colocynthis*, nous avons également recherché *in vitro* leur pouvoir antidiabétique en évaluant leurs effets sur l'activité de l' $\alpha$ -amylase (en point terminal et en cinétique) et de l' $\alpha$ -glucosidase (en point terminal), sur la glycation non enzymatique du BSA et sur la captation du glucose par hémidiaphragme.

La réduction de l'hyperglycémie post prandiale via l'inhibition des enzymes digestives l' $\alpha$ -amylase et l' $\alpha$ -glucosidase est l'une des approches thérapeutiques impliquées dans le traitement du diabète sucré. De nombreux médicaments sont utilisés pour inhiber ces enzymes et retarder la digestion des glucides comme l'acarbose, le miglitol et le voglibose ; cependant, ces médicaments pharmaceutiques présentent des effets indésirables ce qui incite à la recherche et au développement de nouveaux antidiabétiques alternatifs issus du règne végétal (**Kajaria et al., 2013 ; Chukwuma et al., 2019**).

Dans notre étude, l'ensemble des extraits et fractions testés ont inhibé de manière dose dépendante l'activité de l' $\alpha$ -amylase, dont les pourcentages d'inhibition varient entre  $14,44 \pm 0,02$  et  $74,07 \pm 0,02\%$  pour la bryone, et entre  $8,05 \pm 0,02$  et  $79,43 \pm 0,02\%$  pour la coloquinte. Les meilleurs potentiels inhibiteurs ont été constatés dans les fractions acétate d'éthyle **BEA<sub>Acét</sub>** ( $IC_{50} = 146 \pm 0,01 \mu\text{g/mL}$ ) et **CEA<sub>Acét</sub>** ( $IC_{50} = 63,75 \pm 0,06 \mu\text{g/mL}$ ) ; ainsi que dans les extraits chloroforme-méthanol **BChM** ( $IC_{50} = 300,86 \pm 0,04 \mu\text{g/mL}$ ) et **CChM** ( $IC_{50} = 107,51 \pm 0,02 \mu\text{g/mL}$ ). De même, le reste des extraits et fractions de *C. colocynthis* ont significativement ( $p \leq 0,0001$ ) inhibé l'activité de l' $\alpha$ -amylase ( $IC_{50} =$  de  $159,79 \pm 0,06$  à  $594,01 \pm 0,03 \mu\text{g/mL}$ ) ; tandis que, les extraits de *B. dioïca* ont révélé une inhibition modérée de l' $\alpha$ -amylase avec des  $IC_{50}$  comprises entre  $478,43 \pm 0,004$  et  $963,06 \pm 0,05 \mu\text{g/mL}$ .

Pareil pour l' $\alpha$ -glucosidase, nous avons enregistré des effets inhibiteurs significatifs de cette enzyme proportionnels aux concentrations de chaque extrait. L'extrait aqueux **BAQ** et sa fraction **BAQ<sub>Acét</sub>** ont présenté les meilleurs pouvoirs inhibiteurs de l' $\alpha$ -glucosidase avec des  $IC_{50}$  de l'ordre de  $449,80 \pm 0,03$  et  $505,06 \pm 0,03 \mu\text{g/mL}$ , respectivement ; toutefois, ces effets sont faibles par rapport à ceux enregistrés pour les fractions **CEA<sub>Acét</sub>** ( $IC_{50} = 287,65 \pm 0,03 \mu\text{g/mL}$ ) et **CAQ<sub>Acét</sub>** ( $IC_{50} = 322,40 \pm 0,03 \mu\text{g/mL}$ ). Concernant l'acarbose, une forte activité inhibitrice des deux enzymes a été observée avec de faibles valeurs d' $IC_{50}$  égal à  $13,20 \pm 0,03 \mu\text{g/mL}$  et  $115,05 \pm 0,02 \mu\text{g/mL}$  pour  $\alpha$ -amylase et  $\alpha$ -glucosidase, respectivement.

Entre autre, les paramètres de la cinétique enzymatique de l' $\alpha$ -amylase en présence et en absence des extraits et fractions testés nous ont permis de déduire le mode d'inhibition exercé sur cette enzyme. Les quatre échantillons étudiés : **BEA<sub>Acét</sub>**, **BChM**, **CEA<sub>Acét</sub>** et **CChM** ont présenté une inhibition mixte ; cependant, l'acarbose a montré une inhibition compétitive de l' $\alpha$ -amylase.

Selon la bibliographie, les extraits organiques ( $3\text{mg/mL}$ ) des fruits de la coloquinte inhibent l'activité de l' $\alpha$ -amylase aux pourcentages de  $55 \pm 0,528$  ;  $77 \pm 0,844$  et  $57 \pm 0,573\%$ , respectivement (**Sindhu et al., 2023**), cet effet est nettement inférieur à l'effet de nos extraits. Cependant, l'étude de **Ghauri et al., (2020)** a reporté le pouvoir inhibiteur de l'extrait hydro-éthanolique de la pulpe des fruits et des graines de *C. colocynthis* vis à vis l'activité de l' $\alpha$ -glucosidase avec une  $IC_{50}$  comparable à nos résultats, qui est de l'ordre de  $355,5 \pm 1,0 \mu\text{g/mL}$ .

Aucun travail n'a été réalisé sur l'effet de *Bryonia dioïca* sur l'activité de l' $\alpha$ -amylase et l' $\alpha$ -glucosidase, de ce fait notre comparaison avec la bibliographie porte sur d'autres espèces

végétales de la même famille des cucurbitacées. Nos résultats sont intéressants par rapport aux résultats publiés par **Chokki et al., (2020)** qui ont affiché un faible effet de l'extrait dichlorométhane de *Momordica charantia* vis-à-vis l'activité de l' $\alpha$ -amylase ( $IC_{50}=7,5\pm 0,57\text{mg/mL}$ ). **Oboh et al., (2012)** ont mis en valeur le pouvoir inhibiteur des extraits hydro-éthanolique des feuilles blanchies et non blanchies de *Telfairia occidentalis* sur l'activité de l' $\alpha$ -amylase ( $IC_{50}=0,24\pm 0,09$  et  $0,17\pm 0,05\text{mg/mL}$ ) et l' $\alpha$ -glucosidase ( $IC_{50}=0,18\pm 0,08$  et  $0,14\pm 0,01\text{mg/mL}$ ). Parallèlement, **Buchholz et al., (2016)** et **Pham et al., (2019)** ont constaté une inhibition de l' $\alpha$ -amylase par l'extrait méthanolique obtenu des racines de *Trichosanthes kirilowii* Maxim avec une  $IC_{50}$  de l'ordre de  $0,249\pm 0,067\text{mg/mL}$  et par la fraction acétate d'éthyle de l'extrait éthanolique de *Momordica charantia* ( $IC_{50}=0,27\pm 0,029\text{mg/mL}$ ).

L'étude de **Poovitha et al., (2016)** a montré que les extraits protéiques des deux variétés de *Momordica charantia* (var. *charantia* ; var. *muricata*) exercent une inhibition compétitive de l'activité de l' $\alpha$ -amylase et l' $\alpha$ -glucosidase en présentant des  $IC_{50}$  variables entre  $0,261\pm 0,019$  et  $0,298\pm 0,034\text{mg/mL}$  ; tandis que, l'acarbose a présenté une faible inhibition des deux enzymes par rapport à notre résultat,  $0,258\pm 0,017\text{mg/mL}$  pour l' $\alpha$ -amylase et  $0,28\pm 0,019\text{mg/mL}$  pour l' $\alpha$ -glucosidase. A son tour, l'extrait hexanique de la partie aérienne de *C. colocynthis* a inhibé de manière in-compétitive l'activité de l' $\alpha$ -glucosidase avec un pourcentage de  $85,9\pm 0,1\%$  (**Gurudeeban et al., 2012**) ; voire l'extrait de lectine (agglutine) de la même espèce a induit une inhibition non-compétitive de l' $\alpha$ -amylase à la concentration de  $2\text{mg/mL}$  (**Ramzi et al., 2013**).

Les composés phytochimiques ont été reportés comme des inhibiteurs puissants de l'activité de l' $\alpha$ -amylase et l' $\alpha$ -glucosidase, **Suresh et al., (2021)** ont enregistré un pouvoir important de certaines saponines stéroïdiennes isolés de *Trillium govianum* (Borassoside E , protodioscine, diosgénine) vis-à-vis l' $\alpha$ -amylase et l' $\alpha$ -glucosidase. De leur côté **Zhang et al., (2020)** ont noté une inhibition importante de l'activité de l' $\alpha$ -glucosidase exercée par les saponines isolées de graines de *Trigonella foenum-graecum* L. avec des  $IC_{50}$  comprises entre  $5,49$  et  $15,18\mu\text{M}$ , avec une inhibition meilleure par les triterpènes pentacycliques par rapport aux sapogénines stéroïdiennes.

De même, deux cucurbitanes- glycoside (Charantoside et goyaglycoside D) isolés de l'extrait éthanolique des fruits de *Momordica charantia* L. ont été reportés comme inhibiteurs de

l'activité de l' $\alpha$ -glucosidase aux  $IC_{50}$   $134,12 \pm 11,20$  et  $163,17 \pm 13,71$   $\mu$ M, respectivement (Yen et al., 2022).

De plus, les composés phénoliques ont été démontrés comme des inhibiteurs puissants des  $\alpha$ -glucosidases. Tadera et al., (2006) ; Indrianingsih et al., (2015) et Rasouli et al., (2017) ont signalé que la lutéoline, la myricétine, l'épigallocatechine gallate et la naringinine sont des inhibiteurs non compétitifs de l' $\alpha$ -glucosidase ; tandis que, la quercétine, l'acide caféique, l'acide férulique, l'épicatéchine, l'acide rosmarinique et le resvératrol sont des inhibiteurs compétitifs. Pareil, la quercétine, la lutéoline et la myricétine ont montré une inhibition compétitive de l' $\alpha$ -amylase porcine (Tadera et al., 2006 ; Watcharachaisoponsiri et al., 2016).

Les groupements hydroxyles (-OH) sont essentiels pour l'effet inhibiteur des flavonoïdes sur l' $\alpha$ -amylase, certains travaux scientifiques ont confirmé l'importance de ces groupements dans cet effet. La quercétagine et la scutellaréine ont été démontrées comme des inhibiteurs potentiels de l' $\alpha$ -amylase, avec des valeurs  $IC_{50}$  de 10,2 et 9,64  $\mu$ M, respectivement ; ces deux flavonoïdes comportent dans leur structures moléculaires des groupes hydroxyle aux carbones 5, 6, 7 du cycle A ainsi qu'on position 4' du cycle B. En revanche, les valeurs  $IC_{50}$  de certains autres flavonoïdes (kaempférol, apigénine, naringénine, daidzéine et catéchine) ayant moins de groupes hydroxyles dans leurs structures moléculaires étaient beaucoup plus élevées (0,5 mM-6,0 mM) que celles de la quercétagine et de la scutellaréine (Tadera et al., 2006 ; Lo Piparo et al., 2008 ; Sun et al., 2019).

L'activité inhibitrice des flavonoïdes est également affectée par la double liaison 2,3 dans les cycles. Cette dernière est conjuguée avec le groupe 4-carbonyle, ce qui accentue la délocalisation des électrons entre le cycle C et le cycle A ; le système benzopyrone (cycle A et C) a été suggéré pour former un système  $\pi$ - $\pi$  conjugué très stable avec l'indole de Trp<sup>59</sup> sur le site actif de l' $\alpha$ -amylase, ce qui favorise sa liaison à l' $\alpha$ -amylase et diminue son activité catalytique (Lo Piparo et al., 2008) .

Les résultats de l'étude confirment bien l'utilisation de la bryone et plus particulièrement de la coloquinte pour traiter le diabète sucré. Nous avons enregistré une forte atténuation de l'activité de l' $\alpha$ -amylase avec un mode d'inhibition mixte. Ce mécanisme d'action est probablement lié à la variété des composés phytochimiques présents dans les extraits (cucurbitacines, composés phénoliques,...) dont probablement ceratins agissent directement sur l'enzyme par compétition avec le substrat, les autres composés peuvent inhiber le complexe

enzyme-substrat ou se fixer sur un autre site hors les résidus du site actif aboutissant donc à un mode d'inhibition mixte. De plus, on suggère également que les composés phytochimiques inclus dans les extraits puissent réduire l'activité de l'enzyme en changeant sa conformation (Sun et al., 2019).

Entre autre, l'ensemble des extraits et fractions préparés dans notre étude ont montré une forte inhibition de l' $\alpha$ -glucosidase qui toutefois reste faible par rapport à l'inhibition de l' $\alpha$ -amylase, ce résultat observé est peut être dû du fait que cette dernière enzyme utilisée été pure, cependant, dans le cas de l' $\alpha$ -glucosidase on a travaillé avec un extrait brut de la muqueuse intestinale duquel on peut trouver quelques impurités, tels que des protéines non enzymatiques, qui peuvent interférer et diminuer la quantité de molécules phytochimiques (polyphénols, flavonoïdes, cucurbitacines et autres) susceptibles de se lier à l' $\alpha$ -glucosidase et de l'inhiber, et donc atténuer leurs effets inhibiteurs. Malgré la présence de certains impurités en faibles quantités, ce modèle enzymatique (extrait brut de l' $\alpha$ -glucosidase) trouve son utilisation dans de nombreuses études scientifiques en raison de son avantage de donner une évaluation plus réaliste de l'activité hydrolytique des saccharidases (Kan et al., 2021).

Pour le docking moléculaire, les résultats obtenus montrent que la cucurbitacine B, la colocynthoside A, la colocynthoside B, la cucurbitacine C, la cucurbitacine E, la bryogénine, l'isovitexine, et la vitexine ont présenté des énergies libres de liaison avec l' $\alpha$ -amylase comprises entre -16,4 et -11,6 kcal/mol, et avec l' $\alpha$ -glucosidase entre -14,7 et -10,5 kcal/mol, dont la cucurbitacine B et la colocynthoside A révèlent les meilleurs scores d'énergies par rapport aux autres molécules. De plus, l'isovitexine et la colocynthoside B ont fourni le maximum d'interactions avec les résidus du site actif et en dehors du site actif de l' $\alpha$ -amylase (Glu<sup>233</sup>, Asp<sup>300</sup>, Asp<sup>197</sup>...) et de l' $\alpha$ -glucosidase (His<sup>175</sup>, His<sup>175</sup>, Asn<sup>239</sup>, Asp<sup>240</sup>...). Ces résultats sont en conformité avec les résultats obtenus sur l'effet des extraits de *B. dioica* et de *C. colocynthis* sur l'activité de ces enzymes, en particulier sur la cinétique de l' $\alpha$ -amylase qui ont révélé une inhibition mixte.

Les études antérieures menées sur le docking moléculaire ont mis en évidence une liaison hydrogène entre les groupes hydroxyles des polyphénols et les résidus d'acides aminés (Asp<sup>197</sup>, Glu<sup>233</sup> et Asp<sup>300</sup>) dans le site actif de l' $\alpha$ -amylase, ainsi que des interactions hydrophobes entre les groupements aromatiques des polyphénols et cette enzyme (Trp<sup>59</sup>) (Lo Piparo et al., 2008; Miao et al., 2015). Des liaisons hydrogène, hydrophobes et électrostatiques entre certains composés phénoliques et l' $\alpha$ -glucosidase ont été déterminées,

comme les interactions entre l'acide gallique et la catéchine via les résidus Asp<sup>326</sup>, Arg<sup>197</sup>, Asn<sup>324</sup> et Tyr<sup>63</sup> (**Choudhary et al., 2020**). L'acide rosmarinique a également montré son effet inhibiteur de l' $\alpha$ -amylase salivaire humaine (-296,8 kJ/mol) par interaction aux résidus Arg<sup>319</sup>, Thr<sup>376</sup>, Arg<sup>387</sup>, Trp<sup>388</sup>, Arg<sup>389</sup>, Gln<sup>390</sup>, et aux résidus Tyr<sup>62</sup>, Gln<sup>63</sup>, Val<sup>107</sup>, Leu<sup>162</sup>, His<sup>299</sup>, et Glu<sup>233</sup> du site catalytique de l' $\alpha$ -glucosidase (**Meidinna et Fatchiyah, 2019**). De plus, le  $\beta$ -sitostérol glucoside, la naringénine, la scutellaréine, la kusaginine et la vitexine ont été identifiés par le docking moléculaire en tant qu'inhibiteurs puissants de l'activité de l' $\alpha$  amylase via des interactions hydrogènes avec Asp<sup>356</sup> et Asp<sup>353</sup>; Gln<sup>63</sup> et His<sup>299</sup>; His<sup>299</sup>, Gln<sup>63</sup>; Asn<sup>298</sup>, Glu<sup>233</sup>, Asp<sup>300</sup>, TRP<sup>59</sup>, ASP<sup>356</sup> et Glu<sup>63</sup>; et Asp<sup>411</sup>, Asn<sup>408</sup>, Gln<sup>441</sup>, respectivement (**Khanal et Patil, 2020 ; Kulkarni et al., 2021**).

Selon l'étude de **Abbdeli et al., (2021)**, l'acide tannique, la catéchine, l'acide gallique, la quercétine et l'épicatéchine ont présenté des énergies libres de liaison avec l' $\alpha$ -amylase comprise entre -4,396 et -11,666 Kcal/mol. L'acide tannique a donné le meilleur score d'amarrage comparé aux autres complexes en établissant cinq forte interactions donneur-H avec les résidus du site actif de l' $\alpha$ -amylase, dont deux ont été observées avec les acides aminés polaires chargés négativement Asp<sup>197</sup> et Glu<sup>233</sup>; de même, l'acide gallique a formé des interactions donneur-H, accepteur et ionique avec les résidus Asp<sup>197</sup>, Arg<sup>195</sup> et His<sup>299</sup>. Pour l' $\alpha$ -glucosidase, l'acide tannique a formé trois interactions H-donneur où deux d'entre elles avec des résidus polaires Asp<sup>215</sup> et Gln<sup>297</sup> du site actif de l'enzyme; La quercétine a formé deux interactions donneur-H avec les résidus Asp<sup>215</sup>, Asp<sup>69</sup> et accepteur-H avec le résidu His<sup>351</sup>; tandis que, l'épicatéchine a formé neuf interactions donneur -H dont deux avec les résidus Glu<sup>277</sup> et Asp<sup>215</sup>.

La glycation des protéines contribue à certaines altérations de leurs propriétés structurales et fonctionnelles, les collagènes des parois vasculaires sont parmi les protéines exposées à la glycation ce qui influence leur rôle mécanique et les rend plus résistantes aux enzymes impliquées dans le processus de remodelage des parois. De même, les protéines plasmatiques ou celles des cellules circulantes peuvent être altérées induisant ainsi des modifications importantes dans le métabolisme cellulaires (**Wautier et al., 2014**).

L'hyperglycémie chronique favorise la glycation non enzymatique des protéines circulantes notamment l'albumine, elle consiste en la fixation des oses (sucres réducteurs) particulièrement le glucose sur les groupements amines libres des protéines. Ce mécanisme se

déroule en plusieurs étapes qui finissent par la formation des produits complexes fluorescents dits AGEs « Advanced Glycation End products » (Jaisson *et al.*, 2018 ; Jaisson *et al.*, 2019).

L'inhibition de la formation des produits terminaux de la glycation mène à la correction et à la prévention des complications imposées par le diabète sucré. L'aminoguanidine, produit pharmaceutique, est l'un des traitements utilisé comme inhibiteur de la glycation des protéines sériques, cependant cette molécule présente certains effets indésirables (Spagnuolo *et al.*, 2021). Le développement de nouvelles stratégies thérapeutiques à base de molécules phytochimiques constitue actuellement une approche alternative. Différents travaux scientifiques portés sur la recherche de composés naturels à effet antiglycant ont révélé un pouvoir inhibiteur intéressant de la production des AGEs (Safari *et al.*, 2018 ; Premakumara & Abeysekera, 2023 ; Abu-Izneid *et al.*, 2024; Chociey *et al.*, 2024). Dans ce contexte nous avons cherché *in vitro* l'effet antiglycant de BSA des extraits de *Bryonia dioïca* et *Citrullus colocynthis*.

Selon les résultats obtenus, les différents extraits et fractions des deux espèces végétales étudiées ont assuré l'inhibition de formation des AGE d'une manière dose dépendante, dont la coloquinte a montré l'effet inhibiteur intéressant par rapport à la bryone. Pour cette dernière, Le pouvoir antiglycant le plus puissant a été observé dans les fractions **BAQ<sub>nB</sub>**, **BEA<sub>Acét</sub>** et **BEA<sub>nB</sub>** en montrant des valeurs  $IC_{50}$  significatives ( $p \leq 0,0001$ ) de l'ordre de  $228,12 \pm 10,64$  ;  $318,26 \pm 0,81$  et  $323,12 \pm 1,37 \mu\text{g/mL}$ , respectivement. Concernant la coloquinte, des effets meilleurs que l'acide ascorbique ( $p \leq 0,0001$ ) ont été révélés pour les fractions et les extraits **CAQ<sub>Acét</sub>**, **CEA**, **CAQ<sub>nB</sub>**, **CChM** et **CEA<sub>nB</sub>** ( $IC_{50} = 84,36 \pm 7,04$  ;  $117,89 \pm 5,63$  ;  $121,76 \pm 13,96$  ;  $128,26 \pm 0,40$  et  $131,19 \pm 0,50 \mu\text{g/mL}$ ). Les effets antiglycants de BSA révélés par les deux cucurbitacées restent inférieurs à celui de la molécule de référence aminoguanidine qui a présenté une  $IC_{50}$  égale à  $66,36 \pm 3,96 \mu\text{g/mL}$ .

Selon le travail réalisé par Mehmood *et al.*, (2021), les différents extraits préparés des fruits de *Citrullus colocynthis* et de la plante entière n'ont montré aucun effet intéressant sur la glycation de l'albumine (BSA) en présence du méthylglyoxal pendant 9 jours d'incubation, dont les pourcentages d'inhibition enregistrés ont varié entre  $1,50 \pm 0,43$  et  $46,21 \pm 3,22\%$  à  $1 \text{ mg/mL}$  d'extrait.

Des travaux antérieurs sur des espèces de la même famille ont été investigués, Oso *et al.*, (2023) ont affiché un pouvoir inhibiteur de formation des AGEs par l'extrait méthanolique et l'extrait aqueux préparés par macération des feuilles de *Momordica charantia* à de faibles

concentrations allant de 50 à 200 µg/mL. De même, l'extrait méthanolique des fruits de *Coccinia grandis* a assuré l'inhibition de production des AGEs de manière dose-dépendante ; ainsi que la diminution du taux des fructosamines avec un pourcentage de 35,03% contre 38,32% pour l'aminoguanidine à 0,50 mg/mL après 4 semaines d'incubation (**Meenatchi et al., 2017**). De même, **Dos Santos et al., (2019)** ont montré un potentiel antiglycant du BSA de l'extrait hydrométhanolique brut et la fraction acétate d'éthyle préparés à partir des tiges de *Siolmatra brasiliensis* avec des faibles taux en fructosamine et en marqueurs d'oxydation de tyrosine et du tryptophane.

Les composés phytochimiques ont été reportés comme des inhibiteurs puissants de la glycation de BSA ; certains acides phénoliques tels que de l'acide ferrulique, l'acide coumarique et l'acide caféique diminuent la carbonylation des protéines et le taux d'oxydation des groupements thiols libres, de même, le docking moléculaire a montré que l'acide gallique, l'acide caféique, l'acide élлагique et l'acide syringique interagissent avec les résidus d'arginine et de lysine du site actif de la BSA ce qui empêche la formation des AGEs (**Rashedinia et al., 2023**). De plus, les composés phénoliques piègent les intermédiaires carbonylés (Le méthylglyoxal) et bloquent l'auto-oxydation des sucres réducteurs ainsi que des espèces réactives (**Zhang et al., 2018**).

L'acide gallique a été rapporté dans l'étude réalisée par **Oso et al., (2023)** comme un probable inhibiteur compétitif du glucose en raison qu'il établit des liaisons hydrogène avec les mêmes résidus que le glucose Glu<sup>152</sup>, Tyr<sup>156</sup>, Ser<sup>191</sup>, Arg<sup>198</sup>, Ala<sup>290</sup>, et des liaisons hydrophobes avec Ala<sup>290</sup>.

Selon des études antérieures, la quercétine a inhibé la formation des AGEs d'une manière dose dépendante en piégeant les espèces réactives de l'oxygène ROS et les composés dicarbonylés produits au cours de la phase précoce et moyenne de la glycation (**Li et al., 2014 ; Bhuiyan et al., 2017 ; Zhang et al., 2018**). De même, la quercétine établit des liaisons hydrogène, ioniques et hydrophobes avec la BSA et inhibe la glycation en diminuant les changements de structure conformationnelle et micro-environnementale causés par la glycation, elle peut également supprimer la réticulation ou l'agrégation de la BSA glyquée (**Papadopoulou et al., 2005 ; Zhang et al., 2018**).

Parmi les composés phytochimiques étudiés pour leur effet anti-glycation de l'albumine, la rutine et l'acide oléanolique inhibent l'interaction du glucose avec les protéines ; la catéchine, la quercétine et l'acide gallique inhibent la formation de la base de schiff ; tandis que l'apigénine, la

myricétine et la lutéine inhibent la formation des produits d'Amadori; l'alcaloïde isolé de *Guatteria friesiana* a montré une activité antiglycation par inhibition de la formation des AGEs et la prévention de l'oxydation de BSA/méthylglyoxal et BSA/fructose (**Chinchansure et al., 2015 ; Yeh et al., 2017 ; Costa et al., 2018**). Outre, le limonène (100µM) a présenté un effet antiglycant de protéines avec une inhibition de 85,61% contre l'aminoguanidine (1mM) 88,02% (**More et al., 2014**).

De nombreuses études antérieures ont attribué le pouvoir antiglycant des composés phytochimiques à leur structure moléculaire, selon **Xie et al., (2013)** et **Darya et al., (2020)** les acides phénoliques à plusieurs groupements hydroxyles renferment une forte activité inhibitrice de la glycation. De même, l'hydroxylation des cycles A et B des flavonoïdes a amélioré l'effet antiglycant, tandis que l'hydrogénation de la double liaison C2=C3, la glycosylation du groupement hydroxyle, et l'hydroxylation du cycle C diminuent l'activité antiglycation des flavonoïdes. Pareil, l'hydroxylation du cycle B ainsi que la méthylation des stilbènes affaiblissent leur pouvoir inhibiteur de la glycation. **de Freitas et al., (2020)** ont également associés l'effet antiglycation des alcaloïdes isolés d'*Ocotea paranapiacabensis* à leur structure chimique, dont le groupement catéchol ayant une activité antioxydante et une paire d'électrons azotés contribuent à la stabilité des intermédiaires réactionnels, ce qui se traduit par un potentiel d'antiglycation plus élevé.

En raison de la diversité des structures et des fonctions des composés naturels, les mécanismes réactionnels par lesquels l'inhibition de la formation des AGEs peut avoir lieu sont également divers. En résumé, les travaux actuels suggèrent que les mécanismes d'antiglycation se répartissent en sept groupes à savoir la couverture des sites de glycation des protéines, le piégeage des radicaux libres oxydants, la chélation des ions métalliques, le piégeage des composés dicarbonylés actifs, la régulation des récepteurs des AGE, l'inhibition de l'aldose réductase et la diminution du taux de glucose sanguin. Toutefois, les principaux mécanismes sont la réduction des taux de composés carbonylés actifs et le piégeage des radicaux libres oxydants (**Song et al., 2021**).

Les deux plantes ont représenté des résultats intéressants dans le test de glycation de BSA ce qui nous permet de suggérer l'utilisation de ces deux cucurbitacées, particulièrement leurs molécules actives, pour frainer et réduire les complécatons de diabète sucré, notamment la glycation des protéines, et par conséquence diminuer les maladies en association. Probablement, nos extraits et fractions agissent soit au niveau des sites de glycation de la

BSA, soit en piégeant les radicaux libres oxydants ou les composés dicarboxylés actifs; il pourrait également avoir une synergie entre les différents constituants phytochimiques qui exercent différents mécanismes à la fois ce qui se traduit par l'effet antiglycation obtenu (**Song et al., 2021**).

Le transport de glucose via les tissus périphériques, notamment le tissu musculaire et le tissu adipeux, préoccupe un rôle important dans l'homéostasie. Le développement de nouveaux médicaments antidiabétiques à base de composés phytochimiques mimant ou stimulant l'action de l'insuline dans les tissus cibles est une stratégie alternative qui aboutit à la régulation de la glycémie (**Akdad et Eddouks, 2024**). De ce fait, notre étude porte sur la recherche d'un éventuel effet stimulant des extraits sur la captation du glucose, dont le diaphragme a été sélectionné comme tissu périphérique pour réaliser notre expérience.

L'étude *in vitro* de l'effet des extraits chloroforme-méthanol et les fractions acétate d'éthyle préparées à partir des extraits hydro-acétone sur la captation du glucose par héli-diaphragme a montré des résultats intéressants. Des effets stimulant significativement la captation du glucose ( $p \leq 0,0001$ ) ont été enregistrés dans l'ensemble des extraits testés avec des pourcentages dose-dépendants variables entre 11,33 et 46,17% durant 45min d'incubation. A 5mg/mL, Les fractions **BEA<sub>Acét</sub>** et **CEA<sub>Acét</sub>** ont présenté l'effet important par rapport aux extraits **BCM** et **CCM**, cet effet est meilleur que l'effet de la catéchine dans les mêmes concentrations. De même, l'insuline a montré un effet dose-dépendant qui varie de 5,68 à 29,27% aux concentrations 0,2 et 0,4UI/mL.

Aucun travail n'a été publié concernant l'effet de *Bryonia dioïca* et *Citrullus colocynthis* sur la captation du glucose par héli-diaphragme pour cela notre comparaison avec la bibliographie porte sur d'autres espèces végétales de la même famille et les molécules phytochimiques.

L'extrait de *Mukia maderaspatana* seul n'a exercé aucun effet significatif sur la captation du glucose par l'héli-diaphragme ; cependant, une combinaison de l'insuline et 100 µg/ml d'extrait de Mukia potentialise l'action de l'insuline sur la captation du glucose qui passe de 112,41±9,14 à 152,82±13,30mg/dl/g/30min (**Srilatha et al., 2014**). De leur côté, **Koneri et al., (2014)** ont montré une augmentation d'utilisation du glucose par héli-diaphragme en présence de l'oléanane (1mg/mL), un terpénoïde isolé des racines de *Momordica cymbalaria* Fenzl, avec un taux de captation de 6,94±0,21 mg/g de diaphragme contre 4,04±0,47 et 7,51±0,21 mg/g de diaphragme pour l'insuline (0,25UI/mL) et la metformine (1mg/mL),

respectivement. De plus, **Mahmoud et al., (2017)** ont signalé que *Momordica charantia* stimule la captation du glucose par hémi-diaphragme en absence et en présence de 0,4U/mL de l'insuline 6,03±0,20 et 12,17±0,60mg/g de tissu/30min.

Plusieurs études antérieures ont démontré que les composés phytochimiques augmentent la captation du glucose par les tissus périphériques. **Panchamoorthy et al., (2022)** ont enregistré selon le docking moléculaire un effet stimulant de transport de glucose à l'intérieur de l'hémi-diaphragme via une forte interaction de certains flavonoïdes et polyphénols avec la phosphatidylinositol-3-Kinase (PI3K) ; citons la rutine (-12,41Kcal/mol), la quercétine (-9,627Kcal/mol), la thymoquinone (-6,146Kcal/mol), l'acide coumarique (-6,62Kcal/mol) et l'acide gallique (-6,253Kcal/mol). L'ensemble de ces molécules ont établi des interactions hydrogène avec les acides aminés de la PI3K, notamment, Asp<sup>933</sup>, Glu<sup>849</sup>, Val<sup>851</sup>, Ser<sup>854</sup>, Gln<sup>859</sup> et Lys<sup>802</sup>. De même, l'acide bowsellique, l'acide éllagique, la rutine, et la quercétine ont augmenté la captation du glucose par hémi-diaphragme (**Jadhav et Puchchakayala, 2012**).

Les terpénoïdes sont aussi des composés phytochimiques à large spectre d'activités biologiques y compris les propriétés antidiabétiques. Le linalol (3,7-diméthyl-1,6-octadiène-3-ol), un monoterpénoïde, a montré une augmentation du transport de glucose de manière dose dépendante. A la concentration de 3 mM, le linalol exerce un effet stimulant comparable à celui de l'insuline (2 UI) au bout de 30 min avec un taux d'absorption de 1,3mg/g de glucose contre 1,5mg/g pour l'insuline, et qui augmente à 2,2 mg/g de tissu pour l'association des deux molécules (**Deepa et Anuradha, 2011 ; More et al., 2014**).

Une étude antérieure a signalé que la lutéoline 5-rutinoside s'est révélée capable d'augmenter la captation périphérique du glucose *in vitro* par hémi-diaphragme à 2,6 ± 0,5 ; 3,4 ± 0,4 et 3,3 ± 0,8 mg/10mg du poids sec aux concentrations 10<sup>-4</sup>, 10<sup>-3</sup> et 10<sup>-2</sup>mg/mL, respectivement (**Zarzuelo et al., 1996**).

La forte capacité stimulante de la captation du glucose par les fractions acétate d'éthyle et les extraits chloroforme-méthanol représente une initiative pour la recherche des agents antidiabétiques qui agissent au niveau des tissus périphériques ; nos extraits et fractions sont riches en composés phénoliques et certainement d'autres classes de métabolites secondaire, et exercent leur effet stimulateur en modulant probablement l'expression de l'ARNm des protéines transporteurs du glucose dont les GLUT<sub>4</sub>, l'augmentation du taux de ces transporteurs aboutis à l'augmentation de la pénétration du glucose du milieu extérieur au

mileu intérieur, ceci nous permet de suggérer que l'effet impliqué par les extraits des deux espèces étudiées soit mimétique de l'insuline (**Chidambaram et al., 2020**).

Actuellement, le traitement thérapeutique des personnes atteintes de diabète de type 2 repose sur divers voies notamment, la favorisation de l'utilisation du glucose par les tissus périphériques ainsi que la diminution de l'absorption intestinale des glucides. Dans la présente études, nos extraits ont pu stimulé la captation du glucose par héli-diaphragme (tissu périphériques) et ils ont de même inhibé les deux enzymes digestives ce qui peut diminuer l'absorption intestinale des glucides ; en parallèle, ils ont inhibé la glycation de la BSA .Tous ces résultats incitent la recherche à l'isolement des principes actifs à partir de *Bryonia dioïca* et *Citrullus colocynthis* , qui peuvent êtres exploités comme des agents thérapeutiques pour la prise en charge des diabétiques de type 2 et la prévention des complications associées (**Berdi et al., 2020**).

La dernière activité mise en évidence dans notre travail consiste en la recherche de l'effet anti-inflammatoire des différents extraits et fractions de *Bryonia dioïca* et *Citrullus colocynthis* en utilisant le test de la lipoxigénase.

Les résultats obtenus ont révélé une inhibition dose dépendante de l'activité de la lipoxigénase en présence des différents extraits et molécules standards dont la coloquinte ( $0,06 \leq \% \text{ d'inhibition} \leq 93,84$ ) a exhibé l'activité anti-inflammatoire intéressante par rapport à la bryone ( $1,80 \leq \% \text{ d'inhibition} \leq 82,77$ ). Cependant, le meilleur pouvoir inhibiteur proche de l'effet de l'acide gallique ( $IC_{50} = 19,35 \mu\text{g/mL}$ ) et meilleur que celui de la nordihydroguaiarétique ( $IC_{50} = 36,49 \mu\text{g/mL}$ ) est dans la fraction **BEA<sub>Acét</sub>** avec une faible  $IC_{50}$  de  $20,48 \mu\text{g/mL}$ .

Peu de travaux ont étudié l'effet inhibiteur de la coloquinte sur l'activité de la lipoxigénase, cependant, pour la bryone aucune étude n'a été réalisée ; pour cela notre comparaison avec la bibliographie porte principalement sur d'autres espèces végétales de la même famille et sur des composés phytochimiques.

Nos résultats sont en accord avec ceux de **Singh et Mukhtar (2020)** qui ont affiché un pouvoir inhibiteur de la lipoxigénase puissant exercé par les différents extraits et fractions (acétone, éthanol et acétate d'éthyle) des fruits de trois variétés de *Citrullus colocynthis*, dont les taux d'inhibition varient entre 26,45 et 90,47% aux concentrations comprises entre 31 et  $1000 \mu\text{g/mL}$ .

Certaines espèces végétales de la même famille (Cucurbitacée) ont été investiguées pour leur effet anti-inflammatoire, notamment la *Cucumis ficifolius* qui a été reportée comme un agent anti-inflammatoire en inhibant *in vitro* la 5-lipoxygénase ( $IC_{50} = 66,25 \mu\text{g/mL}$ ) contre l'acide nordihydroguaiarétique ( $5,54 \mu\text{g/mL}$ ) (Weletnsae et al., 2019). De même, la fraction hexanique préparée du comcombre a inhibé d'une manière dose dépendante l'activité de la lipoxygénase avec un taux d'inhibition de 80,24% à la concentration de  $2 \text{mg/mL}$  (Wang et al., 2012).

Les composés phytochimiques ont été largement étudiés en tant que des agents anti-inflammatoires dont certains travaux antérieurs ont bien noté leur effet sur l'activité des enzymes pro-inflammatoires principalement la lipoxygénase. Ha et al., (2010) ont signalé que la quercétine exerce une inhibition non-compétitive de la peroxydation de l'acide linoléique en réduisant la forme ferrique de la lipoxygénase à une forme ferreuse inactive, puis en chélant le fer du site actif de la même enzyme ; le kaempférol et la rutine ont également exhibé un effet inhibiteur puissant qui toutefois demeure inférieur à celui de la quercétine. Zhang et al., (2019) ont attribué le pouvoir inhibiteur de la lipoxygénase par l'acide chlorogénique ( $IC_{50} = 61,27 \mu\text{mol/L}$ ) et l'acide caféique ( $IC_{50} = 95,57 \mu\text{mol/L}$ ) à leur capacité réductrice.

De même, certains types de flavonoïdes à savoir la génistéine (Isoflavone), l'isoquercitrine, la réynoutrine, le kaempférol, l'astragaline, l'isorhamnétine et son glycopyranoside ; ainsi que des terpénoïdes (lupénone, lupéole et  $\alpha$ -amyrine) ont été reportés comme agents anti-inflammatoires en inhibant l'activité de la lipoxygénase (Gutierrez-Lugo et al., 2004 ; Kim M.Y. et al., 2005; Vicaş et al., 2011).

Selon Sudha et Srinivasan, (2015), le 5-hydroxy-30 ,40 ,7-triméthoxyflavone a atténué la lipoxygénase ( $IC_{50} = 23.97 \pm 0.82 \text{ mg/ml}$ ) en se liant à son site actif masquant ainsi ses résidus clés responsables de l'activité catalytique via des liaisons hydrogène avec les résidus Tyr<sup>207</sup>, His<sup>518</sup> et Gln<sup>716</sup>; des liaisons hydrophobes avec les résidus Leu<sup>277</sup>, Trp<sup>519</sup>, Ile<sup>557</sup>, Ala<sup>561</sup>, Leu<sup>565</sup>, Val<sup>566</sup>, Val<sup>571</sup>, Ile<sup>572</sup>, Phe<sup>576</sup>, Val<sup>769</sup>, Ile<sup>770</sup> et Leu<sup>773</sup>; et des liaisons électrostatiques (Empilement  $\pi$ - $\pi$ ). Pareil, la picralstonine, l'acide ursolique, la scholaricine et le  $\beta$ -sitostérol glucoside ont fortement inhibé l'activité de la lipoxygénase avec de faibles valeurs d' $IC_{50}$  25,4 ; 32,4 ; 15,2 et  $18,5 \mu\text{M}$ , respectivement. Ces résultats ont été confirmés par le docking moléculaire, dont la scholaricine a montré la plus faible énergie de liaison et

ayant formé un complexe stable avec le site actif de l'enzyme via des liaisons hydrogène avec le résidu Gln<sup>514</sup> (**Ghansenyuy et al., 2023**).

De plus, les triterpènes pentacycliques (3-hydroxyglutine-5-ene ; friedéline ; cycloeucanéol ; et l'acide ursolique), les diterpènes tricycliques aromatiques (nimbiol), les diterpénoïdes (sugiol), triterpénoïdes (surianol), et les saponines stéroïdiens (daucostérol) ont montré leur efficacité à inhiber significativement la lipoxygénase ; parmi lesquels, la friedelin a été le meilleur inhibiteur (**Kumari et al., 2011**).

Les extraits de *B. dioïca* et de *C. colocynthis* étudiés dans notre travail ont montré un potentiel anti-inflammatoire puissant via l'inhibition de l'activité de la lipoxygénase. Cette inhibition est probablement liée à leur composition phytochimique et peut être effectuée par différents mécanismes, par interaction entre les phytoconstituants et l'enzyme, par piégeage des radicaux issus d'oxydation de l'acide linoléique, par chélation ou réduction du Fe<sup>3+</sup> du site actif de l'enzyme, ou même par synergie et implication à la fois des différents mécanismes cités (**Landberg et al., 2020**).

L'utilisation d'un criblage ciblé à travers diverses bases de données facilite une identification plus rapide et plus directe des effecteurs protéiques et des voies associées par rapport à la méthode conventionnelle de criblage de chaque composant individuel (**Moulahoum et al., 2022**). La pharmacologie des réseaux s'est avérée très efficace pour élucider les voies de signalisation dans lesquelles les molécules phytochimiques peuvent interagir. Cette approche est basée sur des données expérimentales précédentes; elle offre une vue d'ensemble des relations structurelles entre les composés et leurs cibles thérapeutiques, ce qui peut être utile pour le criblage des composés naturels et la compréhension de leurs mécanismes d'action (**Moulahoum et al., 2022**).

Dans la présente étude, une analyse du réseau d'interaction biologique (network) a été réalisée pour visualiser les interactions entre les composés phytochimiques de *B. dioïca* et *C. colocynthis* et les cibles liées au diabète sucré, ainsi qu'à l'inflammation. Le nombre limité de composés phytochimiques des plantes étudiées et de leurs cibles associées au diabète sucré est corroboré par le peu de travaux scientifiques publiés sur les études moléculaires *in vivo* et *in vitro* de l'effet antidiabétique de ces deux cucurbitacées. Les principaux travaux publiés se concentrent sur les propriétés anti-inflammatoires et anticancéreuses des extraits de *Bryonia dioïca*, qui ont été révélées dans notre analyse network par la forte interaction des cucurbitacines et des polyphénols avec les cibles suivantes : TNF, IL6, IL1B, JAK2, STAT3,

CASP3 et CASP8. De même, peu de cibles associées au diabète sucré ont été démontrées dans le network de *Citrullus colocynthis*.

Des interactions entre les cucurbitacines et les composés phénoliques avec l' $\alpha$ -amylase, l' $\alpha$ -glucosidase et la voie de signalisation de la translocation du Glut4 ont été révélées, ce qui confirme nos résultats expérimentaux obtenus. Cette étude a mis en évidence les cucurbitacines, les polyphénols et les flavonoïdes en tant que phytoconstituants antidiabétiques prometteurs, et ceci corrobore les rapports antérieurs (**Singh et al., 2016 ; Halayal et al., 2023**). D'après la littérature, la lutéoline et le kaempférol présentent les niveaux d'interaction les plus élevés avec les cibles associées au diabète de type 2, tandis que, la vitexine présente les niveaux les plus faibles (**Moulahoum et al., 2022**).

De plus, des études antécédentes ont signalé un grand nombre de cibles de la cucurbitacine B associées à l'inflammation, en particulier TLR4, STAT3, HIF1A et NFkB1, suggérant que ces composés végétaux empêchaient la réponse inflammatoire en supprimant la voie de signalisation IL-6/STAT3/HIF-1 $\alpha$  (**Dai et al., 2024**). En outre, **Wang et al., (2023)** ont montré que la cucurbitacine E inhibe l'inflammation dans les chondrocytes et la dégénérescence du cartilage induite par IL-1 $\beta$  par l'inhibition de la voie de signalisation PI3K/Akt. **Li et al., (2017)** ont fourni un résumé complet de la pharmacologie des réseaux d'interaction biologique à partir des études antérieures, mettant en évidence les mécanismes associés au diabète sucré de type 2 y compris plusieurs cibles, l'inhibition de l' $\alpha$ -amylase et les voies de signalisation PI3K/Akt et AMPK.

Selon les conclusions tirées de l'analyse des résultats des network réalisés, nous suggérons que l'effet anti-inflammatoire des composés phytochimiques de *B. dioïca* et *C. colocynthis*, principalement les cucurbitacines et les composés phénoliques, implique divers processus clés en agissant sur les voies de signalisation MAPK et STAT3 et sur la production de cytokines inflammatoires telles que IL-6 et TNF ; en outre, l'effet antidiabétique peut probablement impliquer l'inhibition de l' $\alpha$ -amylase, l' $\alpha$ -glucosidase, la translocation du GLUT4, les voies de signalisation JAK-STAT, mTOR et PI3K-Akt.

En résumé, les extraits et fractions des racines de *Bryonia dioïca* et des fruits de *Citrullus colocynthis* ont montré des résultats intéressants dans les trois activités testés : Antioxydante, antidiabétique et anti-inflammatoire ; leurs effets remarquables enregistrés sont probablement liés à leur composition phytochimique variée et riche principalement en flavonoïdes. Dans l'ensemble, les résultats de la présente étude offrent des perspectives intéressantes pour le

développement de nouveaux médicaments antidiabétiques et ant-inflammatoires avec des propriétés antioxydantes.

# Conclusion et perspectives

La phytothérapie demeure une pratique encore largement utilisée par de nombreuses populations dans le monde, notamment la population algérienne, à l'égard de traitement de diverses maladies malgré le développement des médicaments. La valeur médicinale des plantes réside dans leur composition phytochimique à action biologique meilleure que celle des produits de synthèse, ce qui a attiré l'attention de plusieurs chercheurs scientifiques.

Dans ce contexte, le présent travail de thèse rapporte une contribution à l'étude des deux cucurbitacées *Bryonia dioïca* et *Citrullus colocynthis*, récoltées dans la wilaya de Tlemcen et Naâma, respectivement, à travers une étude phytochimique et une recherche d'éventuel effet antioxydant, antidiabétique et anti-inflammatoire.

Les résultats de l'étude phytochimique nous a permis de déduire la richesse des racines de la bryone et les fruits de la coloquinte en composés phénoliques (de 134,86 à 299,51 µg Eq AG/mg ES) en particulier les extraits chloroforme-méthanol **ChM** et les fractions acétate d'éthyle **EA<sub>Acét.</sub>**. De faibles teneurs en flavonols et en saponines ont été enregistrées. L'analyse chromatographique LC-MS nous a permis d'identifier certains flavonoïdes dans ces extraits, notamment la chrysine 7-*O*-néohespéridoside; la pinocembrine 7-*O*-néohespéridoside; l'isorhoifoline; le dérivé de coumarine; le kaempférol glucoside et l'apigénine glucoside.

Les résultats de l'activité antioxydante ont montré un pouvoir intéressant de la majorité des extraits et fractions des deux plantes étudiées en inhibant le blanchiment de β-carotène et l'hémolyse induite par l'attaque radicalaire exercée par l'AAPH; cependant un effet piègeur du DPPH modéré et une faible réduction du fer ont été observés. Les extraits chloroforme-méthanol et les fractions acétate d'éthyle des extraits eau-acétone ont présenté les meilleures activités antioxydantes par rapport aux autres extraits dont ceux de *Bryonia dioïca* possèdent un effet meilleur que l'effet des extraits de *Citrullus colocynthis*. De même, nous avons enregistré une activité antidiabétique remarquable des extraits des fruits de la coloquinte par rapport à l'effet des extraits des racines de la bryone via une inhibition mixte de l'α-amylase, une inhibition de l'α-glucosidase, une inhibition de la glycation non enzymatique de BSA, et une stimulation de la captation du glucose par hémi-diaphragme.

Les extraits des deux plantes étudiées ont montré une activité anti-inflammatoire intéressante, notamment la fraction acétate d'éthyle de l'extrait eau-acétone des racines de *Bryonia dioïca*

qui a présenté le meilleur effet inhibiteur de la lipoxigénase, comparable à l'effet de l'acide gallique et meilleur que l'effet de l'acide nordihydroguaiarétique.

L'effet antidiabétique et anti-inflammatoire des composés phytochimiques des extraits des deux plantes étudiées analysés par le docking moléculaire et le réseau d'interaction biologique (network) ont montré que les extraits exercent leur effet par inhibition des enzymes impliquées dans ces activités via l'interaction avec les résidus de leurs sites catalytiques et en dehors du site catalytique, ainsi que leurs interactions avec certaines voies de signalisation comme la voie PI3K/Akt, AMPK, STAT, et la translocation des GLUT4.

A l'issue des résultats obtenus nous avons constaté que *Bryonia dioïca* et *Citrullus colocynthis*, deux plantes médicinales utilisées en médecines traditionnelle locale, constituent une source importante de molécules phytochimiques dotées des propriétés biologiques et thérapeutiques diverses.

Ces résultats préliminaires nécessitent d'éventuelles recherches complémentaires, et qui s'intéressent à ;

- ✓ La recherche *in vitro* de l'effet Insulino-sécrétoire et la translocation des GLUT4 notamment pour les extraits de *B. dioïca* ;
- ✓ La recherche de l'effet inhibiteur de la dipeptidyl peptidase IV (DPP IV), et de la protéine tyrosine phosphatase 1B (PTP-1B) impliquées dans la régulation du métabolisme du glucose et les voies de signalisation de l'insuline, respectivement ;
- ✓ L'évaluation *in vitro* de l'activité anti-inflammatoire par des méthodes enzymatiques (la cyclooxygénase COX, protéase, hyaluronidase...) et par évaluation des biomarqueurs de l'inflammation (NfκB-p65, IL-1b, IL-18,...) ;
- ✓ La recherche *in vivo* de l'activité antioxydante et anti-inflammatoire des extraits étudiés ;
- ✓ L'étude *in vivo* de la toxicité des extraits via des tests sur la fonction hépatique (ASAT et ALAT) et rénale (Urée, créatinine), ainsi que des tests de cytotoxicité *in vitro* (LDH, MTT, WST) ;
- ✓ L'exploitation des composés phytochimiques isolés de *Bryonia dioïca* et *Citrullus colocynthis* dans d'autres domaines cosmétique, alimentaire, ou environnemental.

# **Références bibliographiques**

- Aba, P. E., & Asuzu, I. U. (2018). Mechanisms of actions of some bioactive anti-diabetic principles from phytochemicals of medicinal plants: A review. *Indian Journal of Natural Products and Resources*, 9(2), 85-96.
- Abbou, F., Azzi, R., Ouffai, K., El Haci, I. A., Belyagoubi-Benhammou, N., Bensouici, C., & Benamar, H. (2022). Phenolic profile, antioxidant and enzyme inhibitory properties of phenolic-rich fractions from the aerial parts of *Mentha pulegium* L. *South African Journal of Botany*, 146, 196-204.
- Abdelli, I., Benariba, N., Adjdir, S., Fekhikher, Z., Daoud, I., Terki, M., Benramdane, H., & Ghalem, S. (2021). *In silico* evaluation of phenolic compounds as inhibitors of A-amylase and A-glucosidase. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 39(3), 816-822.
- Abel, A., Mahoud, S., Adamu, M., & CT, A. (2023). Anti-Tumor Activities/Alternative Therapy of Some Selected Nigerian Medicinal Plants. *IDOSR J. Sci. Res.*, 8, 152-164.
- Abu-Izneid, T., Rauf, A., Akram, Z., Naz, S., Wadood, A., Muhammad, N., Hayat C., Al-Awthani Y.S., & Bahattab, O. S. (2024). Discovery of new  $\alpha$ -glucosides, antiglycation agent, and *in silico* study of 2-(3, 4-dihydroxyphenyl)-7, 8-dihydroxy-3-methoxy-4H-chromen-4-one isolated from *Pistacia chinensis*. *Heliyon*, 10(5).
- ADA, American Diabetes Association (2005). Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*, 35 (1) : 64-71.
- Agarwal, V. I. P. I. N., Sharma, A. K., Upadhyay, A. N. S. H. U., Singh, G., & Gupta, R. A. J. I. V. (2012). Hypoglycemic effects of *Citrullus colocynthis* roots. *Acta Pol Pharm*, 69(1), 75-9.
- Agustini, K., Kusumaningrum, S., Firdayani, S. A., & Wink, M. (2023). Estrogenic activity of *Bryonia dioica* Jacq. through *in silico* and *in vitro* studies on pS2 gene expression in the breast cancer cell line MCF-7. *Pharmacia* 70 (4), 951–958.
- Ahangarpour, A., Sayahi, M., & Sayahi, M. (2019). The antidiabetic and antioxidant properties of some phenolic phytochemicals: A review study. *Diabetes and Metabolic Syndrome: Clinical Research and Reviews*, 13(1), 854-857.
- Ahmed, M., Ji, M., Qin, P., Gu, Z., Liu, Y., Sikandar, A., Iqbal, M. F., & Javeed, A. (2019). Phytochemical screening, total phenolic and flavonoids contents and antioxidant activities of *Citrullus colocynthis* L. and *Cannabis sativa* L. *Applied Ecology & Environmental Research*, 17(3).
- Aït Youcef, M., Brette J.P. (2006). Plantes médicinales de Kabylie. *Éditions Ibispress, Paris, France*, p75.
- Akdad, M., & Eddouks, M. (2024). Glucose uptake: A promising target of medicinal plants. In *Antidiabetic Medicinal Plants* (pp. 409-440). Academic Press.
- Anwar, S., Khan, S., Almatroudi, A., Khan, A. A., Alsahli, M. A., Almatroodi, S. A., & Rahmani, A. H. (2021). A review on mechanism of inhibition of advanced glycation end products formation by plant derived polyphenolic compounds. *Molecular Biology Reports*, 48(1), 787-805.
- Apak, R., Özyürek, M., Güçlü, K., & Çapanoğlu, E. (2016). Antioxidant activity/capacity measurement. I. Classification, physicochemical principles, mechanisms, and electron transfer (ET)-based assays. *Journal of agricultural and food chemistry*, 64(5), 997-1027.
- Aramouni, K., Assaf, R., Shaito, A., Fardoun, M., Al-Asmakh, M., Sahebkar, A., & Eid, A. H. (2023). Biochemical and cellular basis of oxidative stress: implications for disease onset. *Journal of Cellular Physiology*, 238(9), 1951-1963.

- Aranda-Rivera, A. K., Cruz-Gregorio, A., Arancibia-Hernández, Y. L., Hernández-Cruz, E. Y., & Pedraza-Chaverri, J. (2022). RONS and oxidative stress: An overview of basic concepts. *Oxygen*, 2(4), 437-478.
- Asgary, S., Naderi, G. H., & Askari, N. (2005). Protective effect of flavonoids against red blood cell hemolysis by free radicals. *Experimental & Clinical Cardiology*, 10(2), 88.
- Assefa, S. T., Yang, E. Y., Chae, S. Y., Song, M., Lee, J., Cho, M. C., & Jang, S. (2019). Alpha glucosidase inhibitory activities of plants with focus on common vegetables. *Plants*, 9(1), 1-17.
- Awasthi, S., & Saraswathi, N. T. (2016). Sinigrin, a major glucosinolate from cruciferous vegetables restrains non-enzymatic glycation of albumin. *International journal of biological macromolecules*, 83, 410-415.
- Banoglu, E., Çelikoğlu, E., Völker, S., Olgaç, A., Gerstmeier, J., Garscha, U., Çalışkan, B., Schubert, U.S., Carotti, A., Macchiarulo A., & Werz, O. (2016). 4, 5-Diarylisoaxazol-3-carboxylic acids: A new class of leukotriene biosynthesis inhibitors potentially targeting 5-lipoxygenase-activating protein (FLAP). *European Journal of Medicinal Chemistry*, 113, 1-10.
- Barau, C., Pons, S., Ghaleh, B., & Atkinson, C. (2016). Médicaments antidiabétiques. *Pharmacologie Cardio-Vasculaire et Respiratoire*, 179-186.
- Barghamdi, B., Ghorat, F., Asadollahi, K., Sayehmiri, K., Peyghambari, R., & Abangah, G. (2016). Therapeutic effects of *Citrullus colocynthis* fruit in patients with type II diabetes: A clinical trial study. *Journal of Pharmacy & Bioallied Sciences*, 8(2).
- Barker, E. C., Gatbonton-Schwager, T. N., Han, Y., Clay, J. E., Letterio, J. J., & Tochtrop, G. P. (2010). Bryonolic acid: a large-scale isolation and evaluation of heme oxygenase 1 expression in activated macrophages. *Journal of natural products*, 73(6), 1064-1068.
- Barnig, C. (2016). Médiateurs lipidiques pro-résolvant dans l'inflammation allergique. *Revue Française d'Allergologie*, 56(1), 38-42.
- Barreira, J. C., Pereira, E., Dueñas, M., Carvalho, A. M., Santos-Buelga, C., & Ferreira, I. C. (2013). *Bryonia dioica*, *Tamus communis* and *Lonicera periclymenum* fruits: characterization in phenolic compounds and incorporation of their extracts in hydrogel formulations for topical application. *Industrial Crops and Products*, 49, 169-176.
- Barros, L., Dueñas, M., Ferreira, I. C., Carvalho, A. M., & Santos-Buelga, C. (2011). Use of HPLC–DAD–ESI/MS to profile phenolic compounds in edible wild greens from Portugal. *Food Chemistry*, 127(1), 169-173.
- Basli, A., Chibane, M., Madani, K., & Oukil, N. (2012). Activité antibactérienne des polyphénols extraits d'une plante médicinale de la flore d'Algérie: *Origanum glandulosum* Desf. *Phytothérapie*, 1(10), 2-9.
- Bekhechi, A., Malti, C. E. W., Babali, B., Bouafia, M., Bekhechi, C., Casanova, J., Paoli, M., & Tomi, F. (2024). Chemical Variability and Anti-Inflammatory Activity of *Rosmarinus officinalis* L. Leaf Essential Oil from Algerian Sahara. *Chemistry & Biodiversity*, 21(4), e202302077.
- Ben Hsouna, A., & Alayed, A. S. (2012). Gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) analysis and *in vitro* evaluation of antioxidant and antimicrobial activities of various solvent extracts from *Citrullus colocynthis* (L.) roots to control pathogen and spoilage bacteria. *African journal of biotechnology*, 11(47), 10753-10760.

- Benarba, B. (2015). Ethnomedicinal study of *Bryonia dioica*, a plant used as anti-breast cancer herbal therapy in North West Algeria. *Journal of Medicinal Herbs and Ethnomedicine*, 1, 113-115.
- Benarba, B., & Belhouala, K. (2024). The Genus *Bryonia* L.(Cucurbitaceae): A Systematic Review of Its Botany, Phytochemistry, Traditional Uses, and Biological Activities. *Sci*, 6(1), 7.
- Benarba, B., Elmallah, A., & Pandiella, A. (2019). *Bryonia dioica* aqueous extract induces apoptosis and G2/M cell cycle arrest in MDA-MB 231 breast cancer cells. *Molecular Medicine Reports*, 20(1), 73-80.
- Benarba, B., Meddah, B., & Aoues, A. (2012). *Bryonia dioica* aqueous extract induces apoptosis through mitochondrial intrinsic pathway in BL41 Burkitt's lymphoma cells. *Journal of ethnopharmacology*, 141(1), 510-516.
- Benariba, N., Djaziri, R., Bellakhdar, W., Belkacem, N., Kadiata, M., Malaisse, W. J., & Sener, A. (2013). Phytochemical screening and free radical scavenging activity of *Citrullus colocynthis* seeds extracts. *Asian Pacific journal of tropical biomedicine*, 3(1), 35-40.
- Benariba, N., Louchami, K., Djaziri, R., Sener, A., & Malaisse, W. J. (2023). Effects of *Citrullus colocynthis* Seed Aqueous Extracts upon Sodium Transport across A6 Kidney Cell Monolayers. *Clinical Complementary Medicine and Pharmacology*, 3(1), 100076.
- Bennett, J. M., Reeves, G., Billman, G. E., & Sturmborg, J. P. (2018). Inflammation–nature's way to efficiently respond to all types of challenges: implications for understanding and managing “the epidemic” of chronic diseases. *Frontiers in medicine*, 5, 316.
- Benramdane, H., Benariba, N., Silva, C.F.M., Catarino, M.D., Bartolomeu, M.D., Fekhikher, Z. & Pinto, D. (2024). Phytochemical Profile, Antioxidant, Anti-Alzheimer, And  $\alpha$ -Glucosidase Inhibitory Effect Of Algerian *Peganum harmala* Seeds Extract. *Chem. Biodiversity*, e202401308.
- Berdi, F., Ifezouane, J., Tadlaoui, Y., Zakariya, I., & Lamsaouri, J. (2020). Mise au point sur le traitement de diabète type 2. *Batna Journal of Medical Sciences*, 7(1), 15-18.
- Bernfeld, P. (1955). Amylase, alfa and beta. *Methods in Enzymology*, 149-158.
- Bessada, S., Barreira, J., Oliveira, M. (2015). Asteraceae Specis With Most Prominent Bioactivity And Their Potential Applications. *A Review Industrial Crops And Products*, 76, 604-615.
- Bhuiyan, M. N. I., Mitsuhashi, S., Sigetomi, K., & Ubukata, M. (2017). Quercetin inhibits advanced glycation end product formation via chelating metal ions, trapping methylglyoxal, and trapping reactive oxygen species. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 81(5), 882-890.
- Bonarska-Kujawa, D., Pruchnik, H., Cyboran, S., Żyłka, R., Oszmiański, J., & Kleszczyńska, H. (2014). Biophysical mechanism of the protective effect of blue honeysuckle (*Lonicera caerulea* L. var. *kamtschatica* Sevest.) polyphenols extracts against lipid peroxidation of erythrocyte and lipid membranes. *The Journal of membrane biology*, 247, 611-625.
- Bonnaillie, C., Salacs, M., Vassiliova, E., & Saykova, I. (2012). Etude de l'extraction de composés phénoliques à partir de pellicules d'arachide (*Arachis hypogaea* L.). *Revue de génie industriel*, 7, 35-45.
- Bonnefont-Rousselot, D., Beaudeau, J. L., Thérond, P., Peynet, J., Legrand, A., & Delattre, J. (2004, May). Diabète sucré, stress oxydant et produits de glycation avancée. In *Annales pharmaceutiques françaises* (Vol. 62, No. 3, pp. 147-157). Elsevier Masson.

- Bourhia, M., Bari, A., Ali, S. S., Benbacer, L., & Khilil, N. (2019). Phytochemistry and toxicological assessment of *Bryonia dioica* roots used in north-African alternative medicine. *Open Chemistry*, *17*(1), 1403-1411.
- Bourhia, M., Bouothmany, K., Bakrim, H., Hadrach, S., Salamatullah, A. M., Alzahrani, A., Khalil Alyahya, H., Albadr, N.A., Gmouh, S., Laglaoui, A., El Mzibri, M., & Benbacer, L. (2021). Chemical profiling, antioxidant, antiproliferative, and antibacterial potentials of chemically characterized extract of *Citrullus colocynthis* L. seeds. *Separations*, *8*(8), 114.
- Boustié J., Caubet A., Paris M. (2002). Atlas des intoxications d'origine végétale. *EMCPathologie*.
- Bouterfas, K., Mehdadi, Z., Elaoufi, M. M., Latreche, A., & Benchiha, W. (2016). Antioxidant activity and total phenolic and flavonoids content variations of leaves extracts of white Horehound (*Marrubium vulgare* Linné) from three geographical origins. In *Annales pharmaceutiques francaises* (Vol. 74, No. 6, pp. 453-462). Elsevier Masson.
- Brahmi, F., Lounis, N., Mebarakou, S., Guendouze, N., Yalaoui-Guellal, D., Madani, K., Boulekbache-Makhlouf, L., & Duez, P. (2022). Impact of growth sites on the phenolic contents and antioxidant activities of three algerian mentha species (*M. pulegium* L., *M. rotundifolia* (L.) Huds., and *M. spicata* L.). *Frontiers in Pharmacology*, *13*, 886337.
- Bruneton J. (1999). Pharmacognosie : phytochimie, plantes médicinales. 2<sup>ème</sup>Ed. Paris, Lavoisier Tech et Doc.
- Buchholz, T., Chen, C., Zhang, X. Y., & Melzig, M. F. (2016). Pancreatic lipase and  $\alpha$ -amylase inhibitory activities of plants used in Traditional Chinese Medicine (TCM). *Die Pharmazie-An International Journal of Pharmaceutical Sciences*, *71*(7), 420-424.
- Burcelin, R., & Bertolini, M. (2013). Caractéristiques physiologiques et pharmacologiques des agonistes des récepteurs au GLP-1 pour le traitement du diabète de type 2. *Médecine des maladies Métaboliques*, *7*(4), 331-339.
- Bureau, A., Lahet, J. J., Lenfant, F., Bouyer, F., Petitjean, M., Chaillot, B., & Freysz, M. (2005). Optimization of a model of red blood cells for the study of anti-oxidant drugs, in terms of concentration of oxidant and phosphate buffer. *Biomedicine & pharmacotherapy*, *59*(7), 341-344.
- Bursal, E., & Köksal, E. (2011). Evaluation of reducing power and radical scavenging activities of water and ethanol extracts from sumac (*Rhus coriaria* L.). *Food Research International*, *44*(7), 2217-2221.
- Burton, G. J., & Jauniaux, E. (2011). Oxidative stress. *Best practice & research Clinical obstetrics & gynaecology*, *25*(3), 287-299.
- Buysschaert, M. (2018). Les sulfamidés hypoglycémiantes en 2018: généralités et spécificités. *Louvaine médicale*, *137*, 1-6.
- Cattel, L., Balliano, G., Caputo, O., & Viola, F. (1981). Biosynthesis of cucurbitacins in *Bryonia dioica* seedlings. *Planta medica*, *41*(04), 328-336.
- Chang, C. C., Yang, M. H., Wen, H. M., & Chern, J. C. (2002). Estimation of Total Flavonoid Content in Propolis by Two Complementary Colorimetric Methods. *Journal of Food and Drug Analysis*, *10*(3), 178-182.
- Chatelain, C., Medjahdi, B., & Benhouhou, S. S. (2018). eFlore du Maghreb, une flore électronique basée sur la Nouvelle flore d'Algérie de P. Quézel et S. Santa/eFlore of Magreb, an electronic flora based on the new flora of P. Quézel & S. Santa. *ecologia mediterranea*, *44*(2), 131-136.

- Chattopadhyay, R. R., Sarkar, S. K., Ganguly, S., Banerjee, R. N., & Basa, T. K. (1992). Effect of Extract of Leaves of *Vinca rosea* Linn. on Glucose Utilization and Glycogen Deposition by Isolated Rat Hemidiaphragm. *Indian Journal of Physiology and Pharmacology*, 36 (2), 137–138.
- Chekroun, E., Bechiri, A., Azzi, R., Adida, H., Benariba, N., & Djaziri, R. (2017). Antidiabetic activity of two aqueous extracts of two cucurbitaceae: *Citrullus colocynthis* and *Bryonia dioica*. *Phytothérapie*, 15(2), 57-66.
- Chekroun, E., Benariba, N., Adida, H., Bechiri, A., Azzi, R., & Djaziri, R. (2015). Antioxidant activity and phytochemical screening of two Cucurbitaceae: *Citrullus colocynthis* fruits and *Bryonia dioica* roots. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 5(8), 632-637.
- Chiasson, J. L., Josse, R. G., Gomis, R., Hanefeld, M., Karasik, A., & Laakso, M. (2002). Acarbose for prevention of type 2 diabetes mellitus: the STOP-NIDDM randomised trial. *THE LANCET*, 359(9323), 2072-2077.
- Chidambaram, K., John, C. M., Das, S. C., Venkatesan, K., & Siddalingam, R. (2020). Modulation of glucose transporter proteins by polyphenolic extract of *Ichnocarpus frutescens* (L.) WT Aiton in experimental type 2 diabetic rats. *Indian Journal of Experimental Biology*, 58, 172-180.
- Chinchansure, A. A., Korwar, A. M., Kulkarni, M. J., & Joshi, S. P. (2015). Recent development of plant products with anti-glycation activity: a review. *RSC Advances*, 5(39), 31113-31138.
- Chocieł, P., Foss, K., Jabłońska, M., Ustarbowska, M., & Sawicki, T. (2024). The Profile and Content of Polyphenolic Compounds and Antioxidant and Anti-Glycation Properties of Root Extracts of Selected Medicinal Herbs. *Plant Foods for Human Nutrition*, 1-6.
- Chokki, M., Cudăbeanu, M., Zongo, C., Dah-Nouvlessounon, D., Ghinea, I. O., Furdui, B., Raclea, R., Savadogo, A., Baba-Moussa, L., Avamescu, S.M., Dinica, R.M., & Baba-Moussa, F. (2020). Exploring antioxidant and enzymes (A-amylase and B-Glucosidase) inhibitory activity of *Morinda lucida* and *Momordica charantia* leaves from Benin. *Foods*, 9(4), 434.
- Choudhary, D. K., Chaturvedi, N., Singh, A., & Mishra, A. (2020). Characterization, inhibitory activity and mechanism of polyphenols from faba bean (gallic-acid and catechin) on  $\alpha$ -glucosidase: Insights from molecular docking and simulation study. *Preparative biochemistry & biotechnology*, 50(2), 123-132.
- Chukwuma, C. I., Matsabisa, M. G., Ibrahim, M. A., Erukainure, O. L., Chabalala, M. H., & Islam, M. S. (2019). Medicinal plants with concomitant anti-diabetic and anti-hypertensive effects as potential sources of dual acting therapies against diabetes and hypertension: A review. *Journal of ethnopharmacology*, 235, 329-360.
- Costa, E. V., Soares, L. N., Pinheiro, M. L., Maia, B. H., Marques, F. A., Barison, A., Almeida, J.R., Sousa, I.L., Galaverna, R.S., Heerdt, G., Morgon, N.H., Acho, L.D.R., Lima, E.S., da Silva, F.M. A., & Koolen, H. H. (2018). Guaianolide sesquiterpene lactones and aporphine alkaloids from the stem bark of *Guatteria friesiana*. *Phytochemistry*, 145, 18-25.
- Czubowicz, K., Czapski, G. A., Cieřlik, M., & Strosznajder, R. P. (2010). Lipoxigenase inhibitors protect brain cortex macromolecules against oxidation evoked by nitrosative stress. *Folia Neuropathologica*, 48(4), 283-292.
- Dai, F., Miao, Q., Zhou, B., Yang, L., & Liu, Z. L. (2006). Protective effects of flavonols and their glycosides against free radical-induced oxidative hemolysis of red blood cells. *Life Sciences*, 78(21), 2488-2493.
- Dai, S., Wu, R., Fu, K., Li, Y., Yao, C., Liu, Y., Zhang, F., Zhang, S., Guo, Y., Yao, Y., & Li, Y. (2024). Exploring the effect and mechanism of cucurbitacin B on cholestatic liver injury based on network pharmacology and experimental verification. *Journal of ethnopharmacology*, 322, 117584.

- Dariya, B., & Nagaraju, G. P. (2020). Advanced glycation end products in diabetes, cancer and phytochemical therapy. *Drug Discovery Today*, 25(9), 1614-1623.
- de Freitas, L., Valli, M., Dametto, A. C., Pennacchi, P. C., Andricopulo, A. D., Maria-Engler, S. S., & Bolzani, V. S. (2020). Advanced Glycation End Product Inhibition by Alkaloids from *Ocotea paranapiacabensis* for the Prevention of Skin Aging. *J. Nat. Prod.*, 83, 649-656.
- Deepa, B., & Anuradha, C. V. (2011). Linalool, a plant derived monoterpene alcohol, rescues kidney from diabetes-induced nephropathic changes via blood glucose reduction. *Diabetologia Croatica*, 40(4), 121-138.
- DeFronzo R.A., Ferrannini E., Alberti K.G.M.M., Zimmet P. & Alberti G. (2015). – International Textbook of Diabetes Mellitus, 2 volume Set. John Wiley & Sons. p. 1228.
- Dejob, M. (2013). *Études structurales et fonctionnelles d'alpha-glucosidases bactériennes* (Doctoral dissertation, Université Claude Bernard-Lyon I).
- Dey, L., Attele, A. S., & Yuan, C. S. (2002). Alternative therapies for type 2 diabetes. *Alternative medicine review*, 7(1), 45-58.
- Dhouioui, M., Boulila, A., Jemli, M., Schiets, F., Casabianca, H., & Zina, M. S. (2016). Fatty acids composition and antibacterial activity of *Aristolochia longa* L. and *Bryonia dioica* Jacq. growing wild in Tunisia. *Journal of oleo science*, 65(8), 655-661.
- Ding, H., Ni, M., Zhang, G., Liao, Y., Hu, X., Zhang, Y., & Gong, D. (2020). The inhibition of oleanolic acid on protein non-enzymatic glycation. *LWT*, 125, 109253.
- Dos Santos, C. H. C., Talpo, T. C., Motta, B. P., Kaga, A. K., Baviera, A. M., Castro, R. N., da Silva, V.C., de Sousa-Junior, P.T., Wessjohann, L., & de Carvalho, M. G. (2019). New compounds of *Siolmatra brasiliensis* and inhibition of *in vitro* protein glycation damage. *Fitoterapia*, 133, 109-119.
- Drissi, F., Lahfa, F., Gonzalez, T., Peiretti, F., Tanti, J. F., Haddad, M., Fabre, N., & Govers, R. (2021). A *Citrullus colocynthis* fruit extract acutely enhances insulin-induced GLUT4 translocation and glucose uptake in adipocytes by increasing PKB phosphorylation. *Journal of Ethnopharmacology*, 270, 113772.
- Duke A.J., Bogenschutz-Godwin M.J., Cellier J.D., Duke K.P. (2002). Handbook of Medicinal Herbs. Second edition, *CRC Press USA*, pp : 210-621.
- Endale, H. T., Tesfaye, W., & Mengstie, T. A. (2023). ROS induced lipid peroxidation and their role in ferroptosis. *Frontiers in cell and Developmental Biology*, 11, 1226044.
- Evans, J. F., Ferguson, A. D., Mosley, R. T., & Hutchinson, J. H. (2008). What's all the FLAP about?: 5-lipoxygenase-activating protein inhibitors for inflammatory diseases. *Trends in pharmacological sciences*, 29(2), 72-78.
- Faure, S. (2017)a. Les insulinosécréteurs, sulfamides et glinides. *Actualités Pharmaceutiques*, 56(571), 7-11.
- Faure, S. (2017)b. Les inhibiteurs des alpha-glucosidases. *Actualités pharmaceutiques*, 56(571), 18-20.
- Favier, A. (2003). Le stress oxydant. *L'actualité chimique*, 108(10), 863-832.
- Favier, A. (2006, November). Stress oxydant et pathologies humaines. In *Annales pharmaceutiques françaises* (Vol. 64, No. 6, pp. 390-396). Elsevier Masson.

- FID (Fédération Internationale du Diabète) (2017). Atlas de Diabète 8ème édition.
- FID (Fédération Internationale du Diabète) (2021). Atlas de Diabète 10ème édition.
- FID (Fédération Internationale du Diabète) (2025). Atlas du Diabète, 11ème édition. Bruxelles, Belgique : <https://diabetesatlas.org>
- Filosa, R., Peduto, A., Aparoy, P., Schaible, A. M., Luderer, S., Krauth, V., Petronzi, C., Massa, A., de Rosa, M., Reddanna, P., & Werz, O. (2013). Discovery and biological evaluation of novel 1, 4-benzoquinone and related resorcinol derivatives that inhibit 5-lipoxygenase. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 67, 269-279.
- Foti, M. C., & Amorati, R. (2009). Non-phenolic radical-trapping antioxidants. *Journal of pharmacy and pharmacology*, 61(11), 1435-1448.
- Funk, C. D. (2005). Leukotriene modifiers as potential therapeutics for cardiovascular disease. *Nature reviews. Drug Discovery*, 4(8), 664-672.
- Gadoum, S., & Didier, B. (2008). *Andrena florea* et al bryone. *Insectes Pollinisateurs*, 150, 23-24.
- Gardner, H. W. (1979). Lipid hydroperoxide reactivity with proteins and amino acids: a review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 27(2), 220-229.
- Gargouri, M., Drouet, P., Hervagault, J. F., & Legoy, M. D. (1996). Investigation of behavior of an enzyme in a biphasic system: Soybean lipoxygenase-1. *Biotechnology and bioengineering*, 51(5), 573-580.
- Garnier, G., Bézanger-Beauquesne, L., & Debranx, G. (1961). Ressources médicinales de la flore française Tome 1 et Tome 2. Paris VIème Vigot Frères.
- Gawlak, S. L., Neubauer, M., Klei, H. E., Chang, Einspahr, H. M., & Siegall, C. B. (1997). Molecular, biological, and preliminary structural analysis of recombinant bryodin 1, a ribosome-inactivating protein from the plant *Bryonia dioica*. *Biochemistry*, 36(11), 3095-3103.
- Ghalem, M., Merghache, S., & Belarbi, M. (2014). Study on the antioxidant activities of root extracts of *Zizyphus lotus* from the western region of Algeria. *Pharmacognosy Journal*, 6(4), 32-42.
- Ghansenyuy, S. Y., Eyong, K. O., Yemback, P., Mehreen, L., Vincent de Paul, N. N., Ali, M. S., & Folefoc, G. N. (2023). Lipoxygenase inhibition and molecular docking studies of secondary metabolites from the leaves of *Alstonia scholaris*. *European Journal of Medicinal Chemistry Reports*, 9, 100108.
- Ghauri, A. O., Ahmad, S., & Rehman, T. (2020). *In vitro* and *in vivo* anti-diabetic activity of *Citrullus colocynthis* pulpy flesh with seeds hydro-ethanolic extract. *Journal of Complementary and Integrative Medicine*, 17(2), 20180228.
- Ghedadba, N., Hambaba, L., Ayachi, A., Aberkane, M. C., Bousselfela, H., & Oueld-Mokhtar, S. M. (2015). Polyphénols totaux, activités antioxydante et antimicrobienne des extraits des feuilles de *Marrubium deserti* de Noé. *Phytothérapie*, 13(2), 118-129.
- Gholivand, M. B., & Piryaeei, M. (2012). The antioxidant activity, total phenolics and total flavonoids content of *Bryonia dioica* Jacq. *Biologija*, 58(3).
- Gottschalk, A. (1972). Glycoproteins. (Elsevier, New York), Part A., 141-157.
- Gribble, F. M., & Reimann, F. (2003). Sulphonylurea action revisited: the post-cloning era. *Diabetologia*, 46(7), 875-891.

Gurudeeban, S., Satyavani, K., & Ramanathan, T. (2010). Bitter apple (*Citrullus colocynthis*): An overview of chemical composition and biomedical potentials. *Asian Journal of plant sciences*, 9(7), 394-401.

Gurudeeban, S., Satyavani, K., & Ramanathan, T. (2012). Alpha-glucosidase inhibitory effect and enzyme kinetics of coastal medicinal plants. *Bangladesh Journal of Pharmacology*, 7(3), 186-191.

Gutierrez-Lugo, M. T., Deschamps, J. D., Holman, T. R., Suarez, E., & Timmermann, B. N. (2004). Lipoygenase inhibition by ananthoflavone, a new flavonoid from the aerial parts of *Anadenanthera colubrina*. *Planta Medica*, 70(3), 263-265.

Ha, T. J., Shimizu, K., Ogura, T., & Kubo, I. (2010). Inhibition Mode of Soybean Lipoygenase-1 by Quercetin. *Chemistry & Biodiversity*, 7(8), 1893-1903.

Habza-Kowalska, E., Kaczor, A. A., Bartuzi, D., Piłat, J., & Gawlik-Dziki, U. (2021). Some dietary phenolic compounds can activate thyroid peroxidase and inhibit lipoygenase-preliminary study in the model systems. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(10), 5108.

Haenen, G. R., Paquay, J. B., Korthouwer, R. E., & Bast, A. (1997). Peroxynitrite scavenging by flavonoids. *Biochemical and biophysical research communications*, 236(3), 591-593.

Halayal, R. Y., Bagewadi, Z. K., Maliger, R. B., Al Jadidi, S., & Deshpande, S. H. (2023). Network pharmacology based anti-diabetic attributes of bioactive compounds from *Ocimum gratissimum* L. through computational approach. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 30(9), 103766.

Hamel, T., de Belair, G., Saci, A., Slimani, A., Boulemtafes, A., Boutabia, L., & Telailia, S. (2023). Aperçu sur la connaissance actuelle de la flore vasculaire de la région de Filfila (Nord-est algérien). *Lejeunia, Revue de Botanique*.

Hammiche, V., Merad, R., Azzouz, M., & GOETZ, P. (2013). *Plantes toxiques à usage médicinal du pourtour méditerranéen*. Springer Paris, 8, 97-107.

Hammouda F.M., Ismail S.I., Abdel-Azim N.S., Shams K.A. (2005). *Citrullus colocynthis*. In A Guide to Medicinal Plants in North Africa (Malaga, Spain).

Harbone J.B. (1998). *Phytochemical Methods: A guide to modern techniques of plant analysis*. 3ème Ed. Chapman and Hill: 303.

Henrotin, Y., Deby-Dupont, G., & Reginster, J. Y. (2001). Les médiateurs biochimiques de l'inflammation. *Revue Médicale de Liège*, 56(6).

Hermans, C. (2017). Bénéfices, risques et indications des anti-inflammatoires COX-2 sélectifs revisités: focus sur le Célécoxib. *www.louvainmedical.be*, 302.

Hiai, S., Oura, H., & Nakajima, T. (1976). Color reaction of some sapogenins and saponins with vanillin and sulfuric acid. *Planta medica*, 29(2), 116-122.

<https://www.qcm-svt.fr/QCM/public-QCM-verification.php?niveau=1ere-Spe-SVT&idQCM=966>

Hu, C., & Ma, S. (2018). Recent development of lipoygenase inhibitors as anti-inflammatory agents. *MedChemComm*, 9(2), 212-225.

Huseini, H. F., Darvishzadeh, F., Heshmat, R., Jafariazar, Z., Raza, M., & Larijani, B. (2009). The clinical investigation of *Citrullus colocynthis* (L.) schrad fruit in treatment of Type II diabetic patients: a randomized, double blind, placebo-controlled clinical trial. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 23(8), 1186-1189.

- Hussain, A. I., Rathore, H. A., Sattar, M. Z., Chatha, S. A., Sarker, S. D., & Gilani, A. H. (2014). *Citrullus colocynthis* (L.) Schrad (bitter apple fruit): A review of its phytochemistry, pharmacology, traditional uses and nutritional potential. *Journal of ethnopharmacology*, 155(1), 54-66.
- Hussain, A. I., Rathore, H. A., Sattar, M. Z., Chatha, S. A., ud din Ahmad, F., Ahmad, A., & Johns, E. J. (2013). Phenolic profile and antioxidant activity of various extracts from *Citrullus colocynthis* (L.) from the Pakistani flora. *Industrial crops and products*, 45, 416-422.
- Iftikhar, N., Hussain, A. I., Fatima, T., Alsuwayt, B., & Althaiban, A. K. (2023). Bioactivity-Guided Isolation and Antihypertensive Activity of *Citrullus colocynthis* Polyphenols in Rats with Genetic Model of Hypertension. *Medicina*, 59(10), 1880.
- Ighodaro, O. M., & Akinloye, O. A. (2018). First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *Alexandria Journal of Medicine*, 54(4), 287-293.
- Indrianingsih, A. W., Tachibana, S., Dewi, R. T., & Itoh, K. (2015). Antioxidant and  $\alpha$ -glucosidase inhibitor activities of natural compounds isolated from *Quercus gilva* Blume leaves. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 5(9), 748-755.
- Jadhav, R., & Puchchakayala, G. (2012). Hypoglycemic and antidiabetic activity of flavonoids: boswellic acid, ellagic acid, quercetin, rutin on streptozotocin-nicotinamide induced type 2 diabetic rats. *Group*, 1, 100g.
- Jaisson, S., & Gillery, P. (2018). Les produits de glycation avancée des protéines. *Revue Francophone des laboratoires*, 2018(502), 48-55.
- Jaisson, S., & Gillery, P. (2019). Les produits de glycation comme biomarqueurs. *Médecine des Maladies Métaboliques*, 13(7), 588-594.
- Jeon, J. H., & Lee, H. S. (2014). Biofunctional constituent isolated from *Citrullus colocynthis* fruits and structure–activity relationships of its analogues show acaricidal and insecticidal efficacy. *Journal of agricultural and food chemistry*, 62(34), 8663-8667.
- Jouzeau, J. Y., Daouphars, M., Benani, A., & Netter, P. (2004). Pharmacologie et classification des inhibiteurs de la cyclooxygénase. *Gastroentérologie clinique et biologique*, 28, 7-17).
- Juan, C. A., Pérez de la Lastra, J. M., Plou, F. J., & Pérez-Lebeña, E. (2021). The chemistry of reactive oxygen species (ROS) revisited: outlining their role in biological macromolecules (DNA, lipids and proteins) and induced pathologies. *International journal of molecular sciences*, 22(9), 4642.
- Kadhim, E. J. (2014). Phytochemical investigation and hepato-protective studies of Iraqi *Bryonia dioica* (Family Cucurbitaceae). *Int J Pharm Pharm Sci*, 6(4), 187-90.
- Kadri, A., Zarai, Z., Békir, A., Gharsallah, N., Damak, M., & Gdoura, R. (2011). Chemical composition and antioxidant activity of *Marrubium vulgare* L. essential oil from Tunisia. *African journal of biotechnology*, 10(19), 3908-3914.
- Kajaria, D., Tripathi, J., Tripathi, Y. B., & Tiwari, S. (2013). *In-vitro*  $\alpha$  amylase and glycosidase inhibitory effect of ethanolic extract of antiasthmatic drug—Shirishadi. *Journal of advanced pharmaceutical technology & research*, 4(4), 206.
- Kan, L., Capuano, E., Fogliano, V., Verkerk, R., Mes, J. J., Tomassen, M. M., & Oliviero, T. (2021). Inhibition of  $\alpha$ -glucosidases by tea polyphenols in rat intestinal extract and Caco-2 cells grown on Transwell. *Food Chemistry*, 361, 130047.

- Karagözler, A. A., Erdağ, B., Emek, Y. Ç., & Uygun, D. A. (2008). Antioxidant activity and proline content of leaf extracts from *Dorystoechas hastata*. *Food Chemistry*, *111*(2), 400-407.
- Khamees, A. H., Kadhim, E. J., Sahib, H. B., & Mutlag, S. H. (2017). *In vitro* analysis of antioxidant and antimicrobial activity of Iraqi *Bryonia dioica*. *Int J Pharm Sci Rev Res*, *43*(1), 248-52.
- Khanal, P., & Patil, B. M. (2020). Gene ontology enrichment analysis of  $\alpha$ -amylase inhibitors from *Duranta repens* in diabetes mellitus. *Journal of Diabetes & Metabolic Disorders*, *19*, 735-747.
- Kim, M. Y., Kim, Y. C., & Chung, S. K. (2005). Identification and *in vitro* biological activities of flavonols in garlic leaf and shoot: inhibition of soybean lipoxygenase and hyaluronidase activities and scavenging of free radicals. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *85*(4), 633-640.
- Kim, Y. C., Choi, D., Zhang, C., Liu, H. F., & Lee, S. (2018). Profiling cucurbitacins from diverse watermelons (*Citrullus* spp.). *Horticulture, Environment, and Biotechnology*, *59*, 557-566.
- Kim, Y. M., Jeong, Y. K., Wang, M. H., Lee, W. Y., & Rhee, H. I. (2005). Inhibitory effect of pine extract on  $\alpha$ -glucosidase activity and postprandial hyperglycemia. *Nutrition*, *21*(6), 756-761.
- Kokate C. K., Gokhale S. B., Purohit A. P. (2009). A Textbook of Pharmacognosy. Nirali Prakashan, 29th ed., 635.
- Koleva, I. I., Van Beek, T. A., Linssen, J. P., Groot, A. D., & Evstatieva, L. N. (2002). Screening of plant extracts for antioxidant activity: a comparative study on three testing methods. *Phytochemical Analysis: An International Journal of Plant Chemical and Biochemical Techniques*, *13*(1), 8-17.
- Koneri, R. B., Samaddar, S., & Ramaiah, C. T. (2014). Antidiabetic activity of a triterpenoid saponin isolated from *Momordica cymbalaria* Fenzl. *Indian Journal of Experimental Biology*, *52*, 46-52.
- Kravchenko, L. V., Morozov, S. V., & Tutel'Yan, V. A. (2003). Effects of flavonoids on the resistance of microsomes to lipid peroxidation *in vitro* and *ex vivo*. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, *136*, 572-575.
- Ksouri, R., Megdiche, W., Falleh, H., Trabelsi, N., Boulaaba, M., Smaoui, A., & Abdelly, C. (2008). Influence of biological, environmental and technical factors on phenolic content and antioxidant activities of Tunisian halophytes. *Comptes Rendus Biologies*, *331*(11), 865-873.
- Kulkarni, S., Dwivedi, P., Danappanvar, A. N., Subhash, B. A., & Patil, B. M. (2021). Identification of  $\alpha$ -amylase inhibitors from flavonoid fraction of *Feronia elephantum* and its integration with *in-silico* studies. *In Silico Pharmacology*, *9*(1), 50.
- Kumar, S., & Pandey, A. K. (2013). Chemistry and biological activities of flavonoids: an overview. *The scientific world journal*, *2013*(1), 162750.
- Kumar, S., Kumar, D., Saroha, K., Singh, N., & Vashishta, B. (2008). Antioxidant and free radical scavenging potential of *Citrullus colocynthis* (L.) Schrad. methanolic fruit extract. *Acta Pharmaceutica*, *58*(2), 215-220.
- Kumaran, A., & Karunakaran, R. J. (2007). *In vitro* antioxidant activities of methanol extracts of five *Phyllanthus* species from India. *LWT-Food Science and Technology*, *40*(2), 344-352.
- Kumaraswamy, M. V., & Satish, S. (2008). Antioxidant and anti-lipoxygenase activity of *Thespesia lampas* Dalz & Gibs. *Advances in Biological Research*, *2*(3-4), 56-59.
- Kumari, R., Meyyappan, A., Selvamani, P., Mukherjee, J., & Jaisankar, P. (2011). Lipoxygenase inhibitory activity of crude bark extracts and isolated compounds from *Commiphora berryi*. *Journal of ethnopharmacology*, *138*(1), 256-259.

- Laguerre, M., López-Giraldo, L. J., Lecomte, J., Pina, M., & Villeneuve, P. (2007). Outils d'évaluation *in vitro* de la capacité antioxydante. *Oléagineux, Corps gras, Lipides*, 14(5), 278-292.
- Lahfa, F. B., Azzi, R., Mezouar, D., & Djaziri, R. (2017). Hypoglycemic effect of *Citrullus colocynthis* extracts. *Phytothérapie*, 15(2), 50-56.
- Landberg, R., Sunnerheim, K., & Dimberg, L. H. (2020). Avenanthramides as lipoxygenase inhibitors. *Heliyon*, 6(6).
- Laoufi, H., Benariba, N., Adjdir, S., & Djaziri, R. (2017). *In vitro*  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activity of *Ononis angustissima* extracts. *Journal of applied pharmaceutical science*, 7(2), 191-198.
- Lascar, N., Brown, J., Pattison, H., Barnett, A. H., Bailey, C. J., & Bellary, S. (2018). Type 2 diabetes in adolescents and young adults. *The lancet Diabetes & endocrinology*, 6(1), 69-80.
- Lee, C. Y., Sharma, A., Semenya, J., Anamoah, C., Chapman, K. N., & Barone, V. (2020). Computational study of ortho-substituent effects on antioxidant activities of phenolic dendritic antioxidants. *Antioxidants*, 9(3), 189.
- Lee, H. S. (2005). Cuminaldehyde: aldose reductase and  $\alpha$ -glucosidase inhibitor derived from *Cuminum cyminum* L. seeds. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53(7), 2446-2450.
- Li, H. B., Wong, C. C., Cheng, K. W., & Chen, F. (2008). Antioxidant properties *in vitro* and total phenolic contents in methanol extracts from medicinal plants. *LWT-Food Science and Technology*, 41(3), 385-390.
- Li, Q. Y., Munawar, M., Saeed, M., Shen, J. Q., Khan, M. S., Noreen, S., Alagawany, M., Naveed, M., Madni, A., & Li, C. X. (2022). *Citrullus colocynthis* (L.) Schrad (Bitter Apple Fruit): Promising traditional uses, pharmacological effects, aspects, and potential applications. *Frontiers in Pharmacology*, 12, 791049.
- Li, W., Yuan, G., Pan, Y., Wang, C., & Chen, H. (2017). Network Pharmacology Studies on the Bioactive Compounds and Action Mechanisms of Natural Products for the Treatment of Diabetes Mellitus: A Review. *Frontiers in Pharmacology*, 8, 74-74.
- Li, X., Zheng, T., Sang, S., & Lv, L. (2014). Quercetin inhibits advanced glycation end product formation by trapping methylglyoxal and glyoxal. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(50), 12152-12158.
- Limem, S., Banlipo, D., & Karmous, T. (2016). Phytochemical composition and antioxidant power of *Citrullus colocynthis* from Togo. *Int. J. Pharm. Phytochem. Res*, 8, 531-536.
- Lo Piparo, E., Scheib, H., Frei, N., Williamson, G., Grigorov, M., & Chou, C. J. (2008). Flavonoids for controlling starch digestion: structural requirements for inhibiting human  $\alpha$ -amylase. *Journal of medicinal chemistry*, 51(12), 3555-3561.
- Lončarić, M., Strelec, I., Moslavac, T., Šubarić, D., Pavić, V., & Molnar, M. (2021). Lipoxygenase inhibition by plant extracts. *Biomolecules*, 11(2), 152.
- Mahmoud, M. F., El Ashry, F. E. Z. Z., El Maraghy, N. N., & Fahmy, A. (2017). Studies on the antidiabetic activities of *Momordica charantia* fruit juice in streptozotocin-induced diabetic rats. *Pharmaceutical biology*, 55(1), 758-765.
- Maillard, L. C. (1912). Action des acides aminés sur les sucres; formation des melanoidies par voie methodique. *CR. Acad. Sci.*, 154, 66-68.

- Manda, G., Rojo, A. I., Martínez-Klimova, E., Pedraza-Chaverri, J., & Cuadrado, A. (2020). Nordihydroguaiaretic acid: From herbal medicine to clinical development for cancer and chronic diseases. *Frontiers in Pharmacology*, *11*, 151.
- Martínez, V., Ugartondo, V., Vinardell, M. P., Torres, J. L., & Mitjans, M. (2012). Grape epicatechin conjugates prevent erythrocyte membrane protein oxidation. *Journal of agricultural and food chemistry*, *60*(16), 4090-4095.
- Martins, N., Barros, L., Dueñas, M., Santos-Buelga, C., & Ferreira, I. C. (2015). Characterization of phenolic compounds and antioxidant properties of *Glycyrrhiza glabra* L. rhizomes and roots. *RSC Advances*, *5*(34), 26991-26997.
- Martins-Gomes, C., Steck, J., Keller, J., Bunzel, M., Santos, J. A., Nunes, F. M., & Silva, A. M. (2023). Phytochemical Composition and Antioxidant, Anti-Acetylcholinesterase, and Anti- $\alpha$ -Glucosidase Activity of *Thymus carnosus* Extracts: A Three-Year Study on the Impact of Annual Variation and Geographic Location. *Antioxidants*, *12*(3), 668.
- Marzouk, B., Marzouk, Z., Décor, R., Edziri, H., Haloui, E., Fenina, N., & Aouni, M. (2009). Antibacterial and anticandidal screening of Tunisian *Citrullus colocynthis* Schrad. from Medenine. *Journal of ethnopharmacology*, *125*(2), 344-349.
- Marzouk, B., Marzouk, Z., Haloui, E., Fenina, N., Bouraoui, A., & Aouni, M. (2010). Screening of analgesic and anti-inflammatory activities of *Citrullus colocynthis* from southern Tunisia. *Journal of ethnopharmacology*, *128*(1), 15-19.
- Masferrer, J. L., Zweifel, B. S., Hardy, M., Anderson, G. D., Dufield, D., Cortes-Burgos, L., Pufahl, R.A., & Graneto, M. (2010). Pharmacology of PF-4191834, a novel, selective non-redox 5-lipoxygenase inhibitor effective in inflammation and pain. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, *334*(1), 294-301.
- Matsuda, H., Nakashima, S., Abdel-Halim, O. B., Morikawa, T., & Yoshikawa, M. (2010). Cucurbitane-type triterpenes with anti-proliferative effects on U937 cells from an egyptian natural medicine, *Bryonia cretica*: structures of new triterpene glycosides, bryoniaosides A and B. *Chemical and pharmaceutical bulletin*, *58*(5), 747-751.
- Meenakshi, K., Nayak, R., Colah, R., & Chattopadhyay, S. (2013). Attenuation of oxidative hemolysis of human red blood cells by the natural phenolic compound, allylpyrocatechol. *Free Radical Research*, *47*(9), 710-717.
- Meenatchi, P., Purushothaman, A., & Maneemegalai, S. (2017). Antioxidant, antiglycation and insulinotropic properties of *Coccinia grandis* (L.) *in vitro*: Possible role in prevention of diabetic complications. *Journal of traditional and complementary medicine*, *7*(1), 54-64.
- Mehmood, T., Kousar, K., Arshad, H., Iqbal, M., & Zeshan. (2021). Effect of Solvents on Extraction of Bioactive Substances from *Citrullus colocynthis* and Their Antioxidant, Antimicrobial and Antiglycation Activities. *Pharmaceutical Chemistry Journal*, *55*, 275-283.
- Mehta, A., Srivastva, G., Kachhwaha, S., Sharma, M., & Kothari, S. L. (2013). Antimycobacterial activity of *Citrullus colocynthis* (L.) Schrad. against drug sensitive and drug resistant *Mycobacterium tuberculosis* and MOTT clinical isolates. *Journal of ethnopharmacology*, *149*(1), 195-200.
- Meidinna, H. N., & Fatchiyah, F. (2019). The Potential Role of Rosmarinic Acid and Sinensetin as  $\alpha$ -Amylase Inhibitor: *In Silico* Study. *The Journal of Pure and Applied Chemistry Research*, *8*(1), 73-79.
- Miao, M., Jiang, B., Jiang, H., Zhang, T., & Li, X. (2015). Interaction mechanism between green tea extract and human  $\alpha$ -amylase for reducing starch digestion. *Food chemistry*, *186*, 20-25.

- Migdal, C., & Serres, M. (2011). Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant. *Médecine /sciences*, 27(4), 405-412.
- Mohadjerani, M., & Shokohsaljoghi, E. (2014). Evaluation of antioxidant activity of *Citrullus colocynthis* (L.) Schrad. extracts and their effect on urease activity. *Journal of Ethno-Pharmaceutical products*, 1(1), 53-58.
- Mohiuddin, M., Arbain, D., Islam, A. S., Ahmad, M. S., & Ahmad, M. N. (2016). Alpha-glucosidase enzyme biosensor for the electrochemical measurement of antidiabetic potential of medicinal plants. *Nanoscale research letters*, 11, 1-12.
- Moulahoum, H., Ghorbanizamani, F., Khiari, Z., Toumi, M., Benazzoug, Y., Tok, K., Timur, S., & Zihnioglu, F. (2022). Artemisia alleviates AGE-induced liver complications via MAPK and RAGE signaling pathways modulation: a combinatorial study. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 477(10), 2345-2357.
- Morales, P., Carvalho, A. M., Sánchez-Mata, M. C., Cámara, M., Molina, M., & Ferreira, I. C. (2012). Tocopherol composition and antioxidant activity of Spanish wild vegetables. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 59, 851-863.
- More, T. A., Kulkarni, B. R., Nalawade, M. L., & Arvindekar, A. U. (2014). Antidiabetic activity of linalool and limonene in streptozotocin-induced diabetic rat: A combinatorial therapy approach. *Int. J. Pharm. Pharm. Sci*, 6(8), 159-163.
- Muhammad, A., Tel-Çayan, G., Öztürk, M., Duru, M. E., Nadeem, S., Anis, I., Weng, S., & Shah, M. R. (2016). Phytochemicals from *Dodonaea viscosa* and their antioxidant and anticholinesterase activities with structure–activity relationships. *Pharmaceutical Biology*, 54(9), 1649-1655.
- Mukhopadhyay, N., Shukla, A., Makhal, P. N., & Kaki, V. R. (2023). Natural product-driven dual COX-LOX inhibitors: Overview of recent studies on the development of novel anti-inflammatory agents. *Heliyon*, 9(3).
- Murphy, R. C., & Gijón, M. A. (2007). Biosynthesis and metabolism of leukotrienes. *Biochemical Journal*, 405(3), 379-395.
- Nagai, R., Murray, D. B., Metz, T. O., & Baynes, J. W. (2012). Chelation: A Fundamental Mechanism of Action of AGE Inhibitors, AGE Breakers, and Other Inhibitors of Diabetes Complications. *Diabetes*, 61(3), 549.
- Najafi, S., Sanadgol, N., Nejad, B. S., Beiragi, M. A., & Sanadgol, E. (2010). Phytochemical screening and antibacterial activity of *Citrullus colocynthis* (Linn.) Schrad against *Staphylococcus aureus*. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4(22), 2321-2325.
- Narendra, K., Swathi, J., Sowjanya, K. M., Reddi, K. R., Varaprasad, M. M., Padmavathi, C., Rao, G.V., & Satya, A. K. (2015). Studies on Chemical and Biological properties of *Bryonia epigaea* (Rottler). *Journal of Medicinal Plants Research*, 9(22), 664-673.
- Narvaez, J. J. U., & Campos, M. R. S. (2022). Combination therapy of bioactive compounds with acarbose: A proposal to control hyperglycemia in type 2 diabetes. *Journal of food biochemistry*, 46(10), e14268.
- Naveau, B. (2005). Dual inhibition of cyclo-oxygenases and 5-lipoxygenase: a novel therapeutic approach to inflammation?. *Joint Bone Spine*, 72(3), 199-201.
- Nayab, D., Ali, D., Arshad, N., Malik, A., Choudhary, M. I., & Ahmed, Z. (2006). Cucurbitacin glucosides from *Citrullus colocynthis*. *Natural Product Research*, 20(05), 409-413.

- Nayab, D., Perveen, S., Ahmed, Z., & Malik, A. (2010). New Pentacyclic Cucurbitane Glucosides from the Fruits of *Citrullus colocynthis* Schrad. *Helvetica Chimica Acta*, 93(5), 1012-1018.
- Ncube, N. S., Afolayan, A. J., & Okoh, A. I. (2008). Assessment techniques of antimicrobial properties of natural compounds of plant origin: current methods and future trends. *African journal of biotechnology*, 7(12).
- Neha, K., Haider, M. R., Pathak, A., & Yar, M. S. (2019). Medicinal prospects of antioxidants: A review. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 178, 687-704.
- Nehdi, I. A., Sbihi, H., Tan, C. P., & Al-Resayes, S. I. (2013). Evaluation and characterisation of *Citrullus colocynthis* (L.) Schrad seed oil: Comparison with *Helianthus annuus* (sunflower) seed oil. *Food chemistry*, 136(2), 348-353.
- Nessa, F., & Khan, S. A. (2014). Evaluation of antioxidant and xanthine oxidase inhibitory activity of different solvent extracts of leaves of *Citrullus colocynthis*. *Pharmacognosy research*, 6(3), 218.
- Nmila, R., Gross, R., Rchid, H., Roye, M., Manteghetti, M., Petit, P., Tijane, M., Ribes, G., & Sauvaire, Y. (2000). Insulinotropic effect of *Citrullus colocynthis* fruit extracts. *Planta Medica*, 66(05), 418-423.
- Oboh, G., Akinyemi, A., & Ademiluyi, A. (2012). Inhibition of  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase activities by ethanolic extract of *Telfairia occidentalis* (fluted pumpkin) leaf. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2(9), 733–738.
- OMS, Organisation Mondiale de la Santé (1999). Définition, diagnostique et classification de diabète mellitus et ses complications.
- OMS, Organisation Mondiale de la Santé (1997). The expert committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. Report of The Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care*, 20 : 1183-1197.
- OMS, Organisation mondiale de la Santé (2016). Rapport mondial sur le diabète.
- OMS, Organisation mondiale de la Santé (2022). L'OMS crée le Centre mondial de médecine traditionnelle en Inde.
- Oobayashi, K., Yoshikawa, K., & Arihara, S. (1992). Structural revision of bryonoside and structure elucidation of minor saponins from *Bryonia dioica*. *Phytochemistry*, 31(3), 943-946.
- Orafaie, A., Mousavian, M., Orafai, H., & Sadeghian, H. (2020). An overview of lipoxygenase inhibitors with approach of *in vivo* studies. *Prostaglandins & Other Lipid Mediators*, 148, 106411.
- Oso, B., Agboola, O., & Olaoye, I. (2023). Glycation Inhibition of Bovine Serum Albumin by Extracts of *Momordica charantia* L. using Spectroscopic and Computational Methods. *Avicenna Journal of Medical Biotechnology*, 15(3), 180-187.
- Ott, C., Jacobs, K., Haucke, E., Navarrete Santos, A., Grune, T., & Simm, A. (2014). Role of advanced glycation end products in cellular signaling. *Redox Biology*, 2(1), 411-429.
- Ouznadji, A., & Desmons, A. (2020). Les réactions d'oxydation des protéines et leurs biomarqueurs. *Revue Francophone des Laboratoires*, 2020(522), 31-38.
- Palanissami, G., & Paul, S. F. (2018). RAGE and Its Ligands: Molecular Interplay Between Glycation, Inflammation, and Hallmarks of Cancer—a Review. *Hormones & Cancer*, 9(5), 295.

- Panchamoorthy, R., Mohan, U., & Muniyan, A. (2022). *Apium graveolens* reduced phytofabricated gold nanoparticles and their impacts on the glucose utilization pattern of the isolated rat hemidiaphragm. *Heliyon*, 8(1).
- Papadopoulou, A., Green, R. J., & Frazier, R. A. (2005). Interaction of flavonoids with bovine serum albumin: a fluorescence quenching study. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53(1), 158-163.
- Parcheta, M., Świsłocka, R., Orzechowska, S., Akimowicz, M., Choińska, R., & Lewandowski, W. (2021). Recent developments in effective antioxidants: The structure and antioxidant properties. *Materials*, 14(8), 1984.
- Parveen, R., Khan, N., Zahiruddin, S., Ibrahim, M., Anjum, V., Parveen, B., & Khan, M. A. (2020). TLC-bioautographic evaluation for high-throughput screening and identification of free radical scavenging and antidiabetic compounds from traditional unani medicinal plant: *Citrullus colocynthis* Schrad. *Journal of AOAC International*, 103(3), 669-677.
- Patel, S. B., Santani, D., Patel, V., & Shah, M. (2015). Anti-diabetic effects of ethanol extract of *Bryonia laciniosa* seeds and its saponins rich fraction in neonatally streptozotocin-induced diabetic rats. *Pharmacognosy Research*, 7(1), 92-99.
- Perveen, S., Ashfaq, H., Ambreen, S., Ashfaq, I., Kanwal, Z., & Tayyeb, A. (2021). Methanolic extract of *Citrullus colocynthis* suppresses growth and proliferation of breast cancer cells through regulation of cell cycle. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 28(1), 879-886.
- Pham, T. M. H., Ngo, D. H., Ngo, D. N., & Vo, T. S. (2019). Investigation of biological activities of wild bitter melon (*Momordica charantia* Linn. var. *abbreviata* ser.). *Biomolecules*, 9(6), 211.
- Pietta, P. G. (2000). Flavonoids as antioxidants. *Journal of natural products*, 63(7), 1035-1042.
- Pillon, F., Tan, K., Jouty, P., & Frullani, Y. (2014). Le traitement médicamenteux du diabète de type 2. *Actualités pharmaceutiques*, 53(541), 23-28.
- Pirot, P., Cardozo, A. K., & Eizirik, D. L. (2008). Mediators and mechanisms of pancreatic beta-cell death in type 1 diabetes. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia*, 52, 156-165.
- Pisoschi, A. M., & Pop, A. (2015). The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. *European journal of medicinal chemistry*, 97, 55-74.
- Pohlmann, J. (1975). Die Cucurbitacine in *Bryonia alba* und *Bryonia dioica*. *Phytochemistry*, 14(7), 1587-1589.
- Poljsak, B., Šuput, D., & Milisav, I. (2013). Achieving the balance between ROS and antioxidants: when to use the synthetic antioxidants. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2013(1), 956792.
- Poovitha, S., & Parani, M. (2016). *In vitro* and *in vivo*  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase inhibiting activities of the protein extracts from two varieties of bitter gourd (*Momordica charantia* L.). *BMC complementary and alternative medicine*, 16, 1-8.
- Popovici, C., Saykova, I., & Tylkowski, B. (2009). Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *Revue de génie industriel*, 4(8), 26-39.
- Praticò, D. (2002). Lipid peroxidation and the aging process. *Science of Aging Knowledge Environment*, 2002(50), re5-re5.
- Premakumara, G. A. S., & Abeysekera, W. K. S. M. (2023). Anti-protein glycation and free-radical scavenging properties of Sri Lankan antidiabetic medicinal plant *Salacia reticulata* L.(Kothala Himbutu). *BMC Complementary Medicine and Therapies*, 23(1), 394.

- Rafael, M., Barros, L., Carvalho, A. M., & Ferreira, I. C. (2011). Topical anti-inflammatory plant species: Bioactivity of *Bryonia dioica*, *Tamus communis* and *Lonicera periclymenum* fruits. *Industrial crops and products*, 34(3), 1447-1454.
- Ramakrishna, D., Suvarchala, V., Chaitanya, G., & Shastree, T. (2019). Preliminary phytochemical screening of a medicinally important cucurbit *Citrullus colocynthis* (L.) Schard. *Res J Chem Environ*, 23(11), 41-55.
- Ramzi, S., & Sahragard, A. (2013). A lectin extracted from *Citrullus colocynthis* L. (Cucurbitaceae) inhibits digestive  $\alpha$ -amylase of *Ectomyelois ceratoniae* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae). *Journal of Entomological and Acarological Research*, 45(3), 20.
- Rashedinia, M., Rasti Arbabi, Z., Sabet, R., Emami, L., Poustforoosh, A., & Sabahi, Z. (2023). Comparison of protective effects of phenolic acids on protein glycation of BSA supported by *in vitro* and docking studies. *Biochemistry Research International*, 2023(1), 9984618.
- Rashid, M., Ahmad, F. J., Alam, S., Iqbal, M. A., & Sindhu, R. K. (2023). Cucurbitacin: a comprehension of nature's therapeutic bioactive compound. *Plant Archives* (09725210), 23(2).
- Rasouli, H., Hosseini-Ghazvini, S. M. B., Adibi, H., & Khodarahmi, R. (2017). Differential  $\alpha$ -amylase/ $\alpha$ -glucosidase inhibitory activities of plant-derived phenolic compounds: A virtual screening perspective for the treatment of obesity and diabetes. *Food & function*, 8(5), 1942-1954.
- Ravi, S., Sadashiva, C. T., Tamizmani, T., Balasubramanian, T., Rupeshkumar, M., & Balachandran, I. (2009). *In vitro* glucose uptake by isolated rat hemidiaphragm study of *Aegle marmelos* Correa root. *Bangladesh Journal of Pharmacology*, 4(1), 65-68.
- Raymondjean, M. (2007). Les mécanismes de l'inflammation périphérique. *Revue Francophone des Laboratoires*, 2007(389), 21-28.
- Rigalleau, V., Lang, J., & Gin, H. (2007). Étiologie et physiopathologie du diabète de type 2. *Endocrinologie-Nutrition*, 10, 10-366.
- Ronsisvalle, S., Panarello, F., Longhitano, G., Siciliano, E. A., Montenegro, L., & Panico, A. (2020). Natural flavones and flavonols: Relationships among antioxidant activity, glycation, and metalloproteinase inhibition. *Cosmetics*, 7(3), 71.
- Roques, H. (1959). *Précis de botanique pharmaceutique*. Librairie Maloine, Paris, 2.
- Roussel, A. M., & de Biochimie, E. (2016). Inflammation chronique de bas grade: la prise en charge micronutritionnelle comme alternative aux traitements médicamenteux. *L'institut eropéen de physionutrition et phytothérapie*, (23), 2.
- Saboo, S. S., Thorat, P. K., Tapadiya, G. G., & Khadabadi, S. S. (2013). Ancient and recent medicinal uses of cucurbitaceae family. *International Journal of Therapeutic Applications*, 9, 11-19.
- Sadeer, N. B., Montesano, D., Albrizio, S., Zengin, G., & Mahomoodally, M. F. (2020). The versatility of antioxidant assays in food science and safety—chemistry, applications, strengths, and limitations. *Antioxidants*, 9(8), 1-39.
- Sadou, H., Sabo, H., Alma, M. M., Saadou, M., & Leger, C. L. (2007). Chemical content of the seeds and physico-chemical characteristic of the seed oils from *Citrullus colocynthis*, *Coccinia grandis*, *Cucumis metuliferus* and *Cucumis prophetarum* of Niger. *Bulletin of the Chemical Society of Ethiopia*, 21(3), 323-330.
- Safari, M. R., Azizi, O., Heidary, S. S., Kheiripour, N., & Ravan, A. P. (2018). Antiglycation and antioxidant activity of four Iranian medical plant extracts. *Journal of pharmacopuncture*, 21(2), 82.

- Salama, H. M. (2012). Alkaloids and flavonoids from the air dried aerial parts of *Citrullus colocynthis*. *J Med Plants Res*, 6(38), 5150-5155.
- Salehi, B., Ata, A., V. Anil Kumar, N., Sharopov, F., Ramírez-Alarcón, K., Ruiz-Ortega, A., ... & Sharifi-Rad, J. (2019). Antidiabetic potential of medicinal plants and their active components. *Biomolecules*, 9(10), 551.
- Sallam, A. A., Hitotsuyanagi, Y., Mansour, E. S. S., Ahmed, A. F., Gedara, S., Fukaya, H., & Takeya, K. (2010). Cucurbitacins from *Bryonia cretica*. *Phytochemistry Letters*, 3(3), 117-121.
- Sato, Y., Sato, K., & Suzuki, Y. (1999). Mechanism of free radical-induced hemolysis of human erythrocytes: comparison of calculated rate constants for hemolysis with experimental rate constants. *Archives of biochemistry and biophysics*, 366(1), 61-69.
- Scheen, A. J. (2015)a. Antidiabétiques oraux dans le traitement du diabète de type 2: perspectives historique et médico-économique. *Médecine des maladies Métaboliques*, 9(2), 186-197.
- Scheen, A. J. (2015)b. SGLT2 inhibition: efficacy and safety in type 2 diabetes treatment. *Expert opinion on drug safety*, 14(12), 1879-1904.
- Scheen, A., & Paquot, N. (2005). Les insulinosensibilisateurs. *Revue Médicale de Liège*, 60(5-6), 409-413.
- Scheen, A., Radermecker, R., Philips, J., Rorive, M., De Flines, J., & Ernest, P. (2007). Le traitement du diabète de type 2: entre insulinosensibilisateurs et insulinosécrétagogues. *Revue médicale de Liège*, 62, 40-46.
- Schlienger, J. L. (2013). Complications du diabète de type 2. *La presse médicale*, 42(5), 839-848.
- Seeger, C., Sturm, S., Mair, M. E., Ellmerer, E. P., & Stuppner, H. (2005). 1H and 13C NMR signal assignment of cucurbitacin derivatives from *Citrullus colocynthis* (L.) Schrader and *Ecballium elaterium* L.(Cucurbitaceae). *Magnetic Resonance in Chemistry*, 43(6), 489-491.
- Sergi, D., & Williams, L. M. (2020). Potential relationship between dietary long-chain saturated fatty acids and hypothalamic dysfunction in obesity. *Nutrition reviews*, 78(4), 261-277.
- Shahid, W., Ejaz, S. A., Al-Rashida, M., Saleem, M., Ahmed, M., Rahman, J., Riaz, N., & Ashraf, M. (2021). Identification of NSAIDs as lipoxygenase inhibitors through highly sensitive chemiluminescence method, expression analysis in mononuclear cells and computational studies. *Bioorganic Chemistry*, 110, 104818.
- Sharma, A., Shahzad, B., Rehman, A., Bhardwaj, R., Landi, M., & Zheng, B. (2019). Response of phenylpropanoid pathway and the role of polyphenols in plants under abiotic stress. *Molecules*, 24(13), 2452.
- Shawkey, A. M., Rabeh, M. A., & Abdellatif, A. O. (2014). Biofunctional molecules from *Citrullus colocynthis*: An HPLC/MS analysis in correlation to antimicrobial and anticancer activities. *Adv. Life Sci. Technol*, 17, 51-61.
- Shinde, U. A., Kulkarni, K. R., Phadke, A. S., Nair, A. M., Mungantiwar, A. A., Dikshit, V. J., & Saraf, M. N. (1999). Mast cell stabilizing and lipoxygenase inhibitory activity of *Cedrus deodara* (Roxb.) Loud. wood oil. *Indian journal of experimental biology*, 37(3), 258-261.
- Sies, H., Berndt, C., & Jones, D. P. (2017). Oxidative stress. *Annual review of biochemistry*, 86(1), 715-748.

- Sik, B., Ajtony, Z., Lakatos, E., & Székelyhidi, R. (2022). The effects of extraction conditions on the antioxidant activities, total polyphenol and monomer anthocyanin contents of six edible fruits growing wild in Hungary. *Heliyon*, 8(12).
- Sindhu, H. A., Afzal, M., & Shahid, I. (2023). Pharmacological Activities and *In-Silico* Studies of Bioactive Compounds Identified in Organic Fractions of the Methanolic Extract of *Citrullus Colocynthis*. *Dose-Response*, 21(3), 15593258231187357.
- Singh, H., & Mukhtar, H. M. (2020). Evaluation of lipoxigenase inhibitory activity of fruits of *Citrullus colocynthis*. *Plant Archives*, 20(2), 3421-3425.
- Singh, P., Jayaramaiah, R. H., Agawane, S. B., Vannuruswamy, G., Korwar, A. M., Anand, A., Dhaygude, V.S., Shaikh, M.L., Joshi, R.S., Boppana, R., Kulkarni, M.J., Thulasiram, H.V., & Giri, A. P. (2016). Potential dual role of eugenol in inhibiting advanced glycation end products in diabetes: proteomic and mechanistic insights. *Scientific reports*, 6(1), 18798.
- Song, Q., Liu, J., Dong, L., Wang, X., & Zhang, X. (2021). Novel advances in inhibiting advanced glycation end product formation using natural compounds. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 140(January), 111750.
- Soufane S. (2018). Etude de la toxicité des fruits du *Citrullus colocynthis*. Thèse de doctorat. Université Ferhat Abbes Sétif 1. Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie. p52-53.
- Spagnuolo, L., Della Posta, S., Fanali, C., Dugo, L., & De Gara, L. (2021). Antioxidant and antiglycation effects of polyphenol compounds extracted from hazelnut skin on advanced glycation end-products (AGEs) formation. *Antioxidants*, 10(3), 424.
- Spinas, G. A., & Lehmann, R. (2001). Diabète sucré: Diagnostic, classification et pathogénèse. In *Forum Med Suisse* (Vol. 20, pp. 519-525).
- Srilatha, B. R., & Ananda, S. (2014). Antidiabetic effects of *Mukia maderaspatana* and its phenolics: An *in vitro* study on gluconeogenesis and glucose uptake in rat tissues. *Pharmaceutical biology*, 52(5), 597-602.
- Sturm, S., & Stuppner, H. (2000). Analysis of cucurbitacins in medicinal plants by high-pressure liquid chromatography-mass spectrometry. *Phytochemical Analysis*, 11(2), 121-127.
- Sudha, A., & Srinivasan, P. (2015). *In vitro*, fluorescence-quenching and computational studies on the interaction between lipoxygenase and 5-hydroxy-3', 4', 7-trimethoxyflavone from *Lippia nodiflora* L. *Journal of receptor and signal transduction research*, 35(6), 569-577.
- Sultana, B., Anwar, F., & Ashraf, M. (2009). Effect of extraction solvent/technique on the antioxidant activity of selected medicinal plant extracts. *Molecules*, 14(6), 2167-2180.
- Sun, L., Warren, F. J., & Gidley, M. J. (2019). Natural products for glycaemic control: Polyphenols as inhibitors of alpha-amylase. *Trends in Food Science & Technology*, 91, 262-273.
- Suresh, P. S., Singh, P. P., Padwad, Y. S., & Sharma, U. (2021). Steroidal saponins from *Trillium govanianum* as  $\alpha$ -amylase,  $\alpha$ -glucosidase, and dipeptidyl peptidase IV inhibitory agents. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 73(4), 487-495.
- Tadera, K., Minami, Y., Takamatsu, K., & Matsuoka, T. (2006). Inhibition of  $\alpha$ -glucosidase and  $\alpha$ -amylase by flavonoids. *Journal of nutritional science and vitaminology*, 52(2), 149-153.
- Tannin-Spitz, T., Grossman, S., Dovrat, S., Gottlieb, H. E., & Bergman, M. (2007). Growth inhibitory activity of cucurbitacin glucosides isolated from *Citrullus colocynthis* on human breast cancer cells. *Biochemical pharmacology*, 73(1), 56-67.






















- Terki, M., Benariba, N., Fekhikher, Z., El Haci, I. A., Barek, S., Bensouici, C., Adjdir, S., Benramdane, H., Brixi Gormat, R., Belarbi, M., & Djaziri, R. (2023). Antimicrobial, antibiofilm and antioxidant activities of *Citrullus colocynthis* fruit extracts. *International Journal of Minor Fruits, Medicinal and Aromatic Plants*, 9 (1) : 01-13.
- Thbayh, D. K., & Fiser, B. (2022). Computational study of synthetic and natural polymer additives—Antioxidant potential of BHA, TBHQ, BHT, and curcumin. *Polymer Degradation and Stability*, 201, 109979.
- Timothy, J.N. (1993) : New opportunities in the cucurbitaceae. In : Jarala J. Simon J. E (eds.), *New corps*. Wiley, New York. pp : 538-546.
- Tiwari, P., Kumar, B., Kaur, M., Kaur, G., & Kaur, H. (2011). Phytochemical screening and extraction: a review. *Internationale pharmaceutica sciencia*, 1(1), 98-106.
- Trott, O., & Olson, A. J. (2010). AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. *Journal of computational chemistry*, 31(2), 455-461.
- Ukiya, M., Akihisa, T., Yasukawa, K., Tokuda, H., Toriumi, M., Koike, K., Kimura, Y., Nikaido, T., Aoi, W., Nishino, H., & Takido, M. (2002). Anti-inflammatory and anti-tumor-promoting effects of cucurbitane glycosides from the roots of *Bryonia dioica*. *Journal of natural products*, 65(2), 179-183.
- Valgimigli, L. (2023). Lipid peroxidation and antioxidant protection. *Biomolecules*, 13(9), 1291.
- Vatier, C., & Fève, B. (2010). Place des produits de glycation avancés (AGEs) dans les complications du diabète: Advanced glycation end products (AGEs) and diabetic complications. *Médecine des maladies Métaboliques*, 4(6), 637-642.
- Vermerris, W., & Nicholson, R. (2006). Families of phenolic compounds and means of classification. *Phenolic compound biochemistry*, 1-34.
- Vicaș, S. I., Chedea, V. S., & Socaciu, C. (2011). Inhibitory effects of isoflavones on soybean lipoxygenase-1 activity. *Journal of Food Biochemistry*, 35(2), 613-627.
- Vina, D.; Albumin, H. S.; S. Octanoate, et al. (2020).How To Perform. Docking Specif. Binding Site Using autoDock Vina ?,”, 1–13.
- Vinson, J. A., & Howard III, T. B. (1996). Inhibition of protein glycation and advanced glycation end products by ascorbic acid and other vitamins and nutrients. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 7(12), 659-663.
- Wachinger, M., Samtleben, R., Gerhäuser, C., Wagner, H., & Erfle, V. (1993). Bryodin, a single-chain ribosome-inactivating protein, selectively inhibits the growth of HIV-1-infected cells and reduces HIV-1 production. *Research in experimental medicine*, 193, 1-12.
- Wang, L., Xu, H., Li, X., Chen, H., Zhang, H., Zhu, X., Lin, Z., Guo, S., Bao, Z., Rui, H., He, W., & Zhang, H. (2023). Cucurbitacin E reduces IL-1 $\beta$ -induced inflammation and cartilage degeneration by inhibiting the PI3K/Akt pathway in osteoarthritic chondrocytes. *Journal of Translational Medicine*, 21(1), 880.
- Wang, Q., Luo, J., Liu, H., Brennan, C. S., Liu, J., & Zou, X. (2019). Protective effects of the flavonoid fraction obtained from pomelo fruitlets through ultrasonic-associated microwave extraction against AAPH-induced erythrocyte hemolysis. *RSC advances*, 9(28), 16007-16017.





























- Wang, X., Liu, J., Yang, Y., & Zhang, X. (2020). An update on the potential role of advanced glycation end products in glycolipid metabolism. *Life sciences*, 245, 117344.
- Wang, Y., Yang, Y., Shi, M., Li, Y., Zhang, Y., & Zhang, Z. (2012). Effect of cucumber extract on soybean lipoxygenase activity and the functional properties of soybean protein concentrate. *International Journal of Biology*, 4(1), 111.
- Watcharachaisoponsiri, T., Sornchan, P., Charoenkiatkul, S., & Suttisansanee, U. (2016). The [alpha]-glucosidase and [alpha]-amylase inhibitory activity from different chili pepper extracts. *International Food Research Journal*, 23(4), 1439.
- Wautier, M. P., Tessier, F. J., & Wautier, J. L. (2014). Les produits de glycation avancée: un risque pour la santé humaine. *Annales pharmaceutiques françaises*, 72(6), 400-408. . Elsevier Masson.
- Weletnsae, T., Hintsä, K., Tadege, T., Gopalakrishnan, V. K., Hagos, Z., Tekluu, B., & Chaithanya, K. K. (2019). Phytochemical analysis and *In vitro* screening of putative dual COX-2/5-LOX inhibitors from *Cucumis ficifolius* root as an Anti-inflammatory agent. *Research Journal of Pharmacy and Technology*, 12(11), 5240-5246.
- Werber, J., Wang, Y. J., Milligan, M., Li, X., & Ji, J. A. (2011). Analysis of 2, 2'-azobis (2-amidinopropane) dihydrochloride degradation and hydrolysis in aqueous solutions. *Journal of pharmaceutical sciences*, 100(8), 3307-3315.
- Werz, O., & Steinhilber, D. (2006). Therapeutic options for 5-lipoxygenase inhibitors. *Pharmacology & therapeutics*, 112(3), 701-718.
- Wisastra, R., & Dekker, F. J. (2014). Inflammation, cancer and oxidative lipoxygenase activity are intimately linked. *Cancers*, 6(3), 1500-1521.
- Wojdyło, A., Oszmiański, J., & Czemerys, R. (2007). Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. *Food chemistry*, 105(3), 940-949.
- Wood, I. P., Elliston, A., Ryden, P., Bancroft, I., Roberts, I. N., & Waldron, K. W. (2012). Rapid quantification of reducing sugars in biomass hydrolysates: Improving the speed and precision of the dinitrosalicylic acid assay. *Biomass and bioenergy*, 44, 117-121.
- Wu, H., Xi, H., Lai, F., Ma, J., & Liu, H. (2018). Chemical and cellular antioxidant activity of flavone extracts of *Labisia pumila* before and after *in vitro* gastrointestinal digestion. *RSC advances*, 8(22), 12116-12126.
- Wu, P., Meng, X., Zheng, H., Zeng, Q., Chen, T., Wang, W., Zhang, X., & Su, J. (2018). Kaempferol attenuates ROS-induced hemolysis and the molecular mechanism of its induction of apoptosis on bladder cancer. *Molecules*, 23(10), 2592.
- Xie, Y., & Chen, X. (2013). Structures required of polyphenols for inhibiting advanced glycation end products formation. *Current drug metabolism*, 14(4), 414-431.
- Yacine, A., Ali, M. Z., Alharbi, A. B., Alanaz, H. Q., Alrahili, A. S., & Alkhdairi, A. A. (2025). Chronic Inflammation: A Multidisciplinary Analysis of Shared Pathways in Autoimmune, Infectious, and Degenerative Diseases. *Cureus*, 17(4).
- Yao, X., Zhu, L., Chen, Y., Tian, J., & Wang, Y. (2013). *In vivo* and *in vitro* antioxidant activity and  $\alpha$ -glucosidase,  $\alpha$ -amylase inhibitory effects of flavonoids from *Cichorium glandulosum* seeds. *Food Chemistry*, 139(1-4), 59-66.
- Yasir, M., Sultana, B., Nigam, P. S., & Owusu-Apenten, R. (2016). Antioxidant and genoprotective activity of selected cucurbitaceae seed extracts and LC-ESIMS/MS identification of phenolic components. *Food chemistry*, 199, 307-313.

























- Yeh, W. J., Hsia, S. M., Lee, W. H., & Wu, C. H. (2017). Polyphenols with antiglycation activity and mechanisms of action: A review of recent findings. *Journal of food and drug analysis*, 25(1), 84-92.
- Yen, D. T. H., Yen, P. H., Hop, N. Q., Hung, N. A., Tran, H. T. T., Huu Tai, B., Xuan Nhiem, N., & Van Kiem, P. (2022). Charantoside L, a new cucurbitane-type glycoside from *Momordica charantia* L. with  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activities. *Natural Product Communications*, 17(1), 1934578X211068924.
- Yoon, S. R., & Shim, S. M. (2015). Inhibitory effect of polyphenols in *Houttuynia cordata* on advanced glycation end-products (AGEs) by trapping methylglyoxal. *LWT-Food Science and Technology*, 61(1), 158-163.
- Zarzuelo, A., Jiménez, I., Gámez, M. J., Utrilla, P., Fernandez, I., Torres, M. I., & Osuna, I. (1996). Effects of luteolin 5-O- $\beta$ -rutinoside in streptozotocin-induced diabetic rats. *Life Sciences*, 25(58), 2311-2316.
- Zeb, A. (2020). Concept, mechanism, and applications of phenolic antioxidants in foods. *Journal of Food Biochemistry*, 44(9), e13394.
- Zeghal, K. M., & Sahnoun, Z. (2013). La réaction inflammatoire et le stress oxydant. In *Abrégé de physiologie à l'usage des acupuncteurs et des réflexothérapeutes* (pp. 47-53). Springer, Paris.
- Zhang, B., Pan, C., Feng, C., Yan, C., Yu, Y., Chen, Z., Guo, C., & Wang, X. (2022). Role of mitochondrial reactive oxygen species in homeostasis regulation. *Redox Report*, 27(1), 45-52.
- Zhang, H., & Tsao, R. (2016). Dietary polyphenols, oxidative stress and antioxidant and anti-inflammatory effects. *Current Opinion in Food Science*, 8, 33-42.
- Zhang, H., Xu, J., Wang, M., Xia, X., Dai, R., & Zhao, Y. (2020). Steroidal saponins and sapogenins from fenugreek and their inhibitory activity against  $\alpha$ -glucosidase. *Steroids*, 161, 108690.
- Zhang, Y. Y., Thakur, K., Wei, C. K., Wang, H., Zhang, J. G., & Wei, Z. J. (2019). Evaluation of inhibitory activity of natural plant polyphenols on Soybean lipoxygenase by UFLC-mass spectrometry. *South African Journal of Botany*, 120, 179-185.
- Zhang, Y., Wu, S., Qin, Y., Liu, J., Liu, J., Wang, Q., Ren, F., & Zhang, H. (2018). Interaction of phenolic acids and their derivatives with human serum albumin: Structure–affinity relationships and effects on antioxidant activity. *Food chemistry*, 240, 1072-1080.
- Zhishen, J., Mengcheng, T., & Jianming, W. (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food chemistry*, 64(4), 555-559.
- Zhou, G., Myers, R., Li, Y., Chen, Y., Shen, X., Fenyk-Melody, J., Wu, M., Ventre, J., Doebber, T., Fujii, N., Musi, N., Hirshman, M.F., Goodyear, L.J., & Moller, D. E. (2001). Role of AMP-activated protein kinase in mechanism of metformin action. *The Journal of Clinical Investigation*, 108(8), 1167-1174.

# **Annexes**
























**Annexe 01:** Analyse par docking moléculaire de l'interaction de certains composés phytochimiques de *B. dioica* et *C. colocynthis* avec l' $\alpha$ -amylase






























	S-score (kcal/mol)	Noun	Color	Distance (Å)	Category	Type	From	From chemistry	To	To chemistry
<b>Cucurbitacin B</b>	<b>-16.4</b>	LIG:O - ASP300:O D2		5.56	Electrostatic	Attractive Charge	LIG:O	Positive	ASP300:O D2	Negative
		ILE235:N - LIG1:O		3.31	Hydrogen Bond	ConventionalHydrogen Bond	ILE235:N	H-Donor	LIG1:O	H-Acceptor
		ALA198:CA - LIG1:O		3.65	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond	ALA198:CA	H-Donor	LIG1:O	H-Acceptor
<b>Bryogenin</b>	<b>-14.5</b>	ARG195:NH2 - LIG:O		3.35	Hydrogen Bond	ConventionalHydrogen Bond	ARG195:NH2	H-Donor	LIG1:O	H-Acceptor
		ASP300:O D1 - LIG		4.02	Electrostatic	Pi-Anion	ASP300:O D1	Negative	LIG	Pi-Orbitals
		LIG:O - TRP59		3.60	Hydrogen Bond	Pi-Donor Hydrogen Bond	LIG:O	H-Donor	TRP59	Pi-Orbitals
		LIG - TYR62		4.07	Hydrophobic	Pi-Pi Stacked	LIG	Pi-Orbitals	TYR62	Pi-Orbitals
		TRP59 - LIG		4.13	Hydrophobic	Pi-Alkyl	TRP59	Pi-Orbitals	LIG	Alkyl
		TRP59 - LIG		3.60	Hydrophobic	Pi-Alkyl	TRP59	Pi-Orbitals	LIG	Alkyl
		ARG195:NH2 - LIG:O		3.37	Hydrogen Bond	ConventionalHydrogen Bond	LIG:O	H-Donor	LIG:O	H-Acceptor
<b>Isovitexin</b>	<b>-11.6</b>	ARG195:NH2 - :LIG:O		3.30	Hydrogen Bond	ConventionalHydrogen Bond	LIG:O	H-Donor	LIG:O	H-Acceptor
		LIG:O - A:TRP59:O		3.36	Hydrogen Bond	ConventionalHydrogen Bond	LIG:O	H-Donor	TRP59:O	H-Acceptor
		LIG:O - HIS299:NE2		2.92	Hydrogen Bond	ConventionalHydrogen Bond	LIG:O	H-Donor	HIS299:NE2	H-Acceptor
		LIG:O - ASP300:O D1		3.14	Hydrogen Bond	ConventionalHydrogen Bond	LIG:O	H-Donor	ASP300:O D1	H-Acceptor
		LIG:O - ASP197:O D1		3.19	Hydrogen Bond	ConventionalHydrogen Bond	LEU165	H-Donor	ASP197:O D1	H-Acceptor
		LIG:O - HIS299:NE2		3.34	Hydrogen Bond	ConventionalHydrogen Bond	TRP59	H-Donor	HIS299:NE2	H-Acceptor
		LIG:O - ASP300:O D2		2.98	Hydrogen Bond	ConventionalHydrogen Bond	LIG:O	H-Donor	ASP300:O D2	H-Acceptor
		LIG:O - ASP197:O D1		2.94	Hydrogen Bond	ConventionalHydrogen Bond	LIG:O	H-Donor	ASP197:O D1	H-Acceptor
		LIG:O - GLU233:OE1		2.80	Hydrogen Bond	ConventionalHydrogen Bond	LIG:O	H-Donor	GLU233:OE1	H-Acceptor
		LIG1:O - TYR62		3.39	Hydrogen Bond	Pi-Donor Hydrogen Bond	LIG:O	H-Donor	TYR62	Pi-Orbitals
LEU165 -		4.51	Hydrophobic	Alkyl	LIG:O	Alkyl	LIG	Alkyl		


		LIG							
		TRP59 - LIG		5.46	Hydrogen Bond	Pi-Alkyl	LEU165	Pi-Orbitals	LIG Alkyl
<b>Vitexin</b>	<b>-12.1</b>	LIG:O - ASP353:O D2		5.55	Electrostatic	Attractive Charge	LIG:O	Positive	ASP353:O D2 Negative
		THR314:O G1 - LIG:O		2.95	Hydrogen Bond	ConventionalHydrogen Bond	HR314:O G1	H-Donor	LIG:O H-Acceptor
		LIG:O - ARG303:O		3.34	Hydrogen Bond	ConventionalHydrogen Bond	LIG:O	H-Donor	ARG303:O H-Acceptor
		LIG:O - ASP353:O D2		2.93	Hydrogen Bond	ConventionalHydrogen Bond	LIG:O	H-Donor	ASP353:O D2 H-Acceptor
		LIG:O - ILE312:O		2.73	Hydrogen Bond	ConventionalHydrogen Bond	LIG:O	H-Donor	ILE312:O H-Acceptor
		ARG346:C D - LIG:O		3.71	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond	ARG346:CD	H-Donor	LIG:O H-Acceptor
		ALA310 - LIG		4.81	Hydrophobic	Alkyl	ALA310	Alkyl	LIG Alkyl
<b>Colocynthisid A</b>	<b>-16.3</b>	LIG:O - ASP300:O D1		4.79	Electrostatic	Attractive Charge	LIG:O	Positive	ASP300:O D1 Negative
		LIG:O - ASP197:O D2		5.55	Electrostatic	Attractive Charge	LIG:O	Positive	ASP197:O D2 Negative
		LIG:O - ASP300:O D1		5.08	Electrostatic	Attractive Charge	LIG:O	Positive	ASP300:O D1 Negative
		LIG:O - GLN63:OE 1		2.99	Hydrogen Bond	ConventionalHydrogen Bond	LIG:O	H-Donor	GLN63:O E1 H-Acceptor
		LIG:O - ASP197:O D1		3.17	Hydrogen Bond	ConventionalHydrogen Bond	LIG:O	H-Donor	ASP197:O D1 H-Acceptor
		LIG:O - TRP59		4.85	Electrostatic	Pi-Cation	LIG:O	Positive	TRP59 Pi-Orbitals
		LIG:O - TRP59		4.10	Hydrogen Bond	Pi-DonorHydrogen Bond	LIG:O	H-Donor	TRP59 Pi-Orbitals
<b>Cucurbitacin C</b>	<b>-15.9</b>	LIG:O - ASP197:O D1		4.22	Electrostatic	Attractive Charge	LIG:O	Positive	ASP197:O D1 Negative
		LIG:O - GLU233:O E1		4.79	Electrostatic	Attractive Charge	LIG:O	Positive	GLU233:O E1 Negative
		LIG:O - ASP300:O D2		4.75	Electrostatic	Attractive Charge	LIG:O	Positive	ASP300:O D2 Negative
		LIG:O - TRP59		3.80	Electrostatic	Pi-Cation	LIG:O	Positive	TRP59 Pi-Orbitals
		LIG:O - TRP59		3.67	Electrostatic	Pi-Cation	LIG:O	Positive	TRP59 Pi-Orbitals
		LIG:O - TRP59		4.35	Electrostatic	Pi-Cation	LIG:O	Positive	TRP59 Pi-Orbitals
<b>Cucurbitacin E</b>	<b>-15.1</b>	LIG:O - ASP197:O D1		4.25	Electrostatic	Attractive Charge	LIG:O	Positive	ASP197:O D1 Negative
		LIG:O - GLU233:O E1		4.84	Electrostatic	Attractive Charge	LIG:O	Positive	GLU233:O E1 Negative
		LIG:O - ASP300:O D2		4.81	Electrostatic	Attractive Charge	LIG:O	Positive	ASP300:O D2 Negative
		LIG:O - TYR62:O		3.19	Hydrogen Bond	ConventionalHydrogen Bond	LIG:O	H-Donor	TYR62:O H-Acceptor
		LIG:C - TRP59		3.68	Hydrophobic	Pi-Sigma	LIG:C	C-H	TRP59 Pi-Orbitals
<b>Colocynthisid</b>	<b>-14.8</b>	LIG:O - ASP300:O D1		5.05	Electrostatic	Attractive Charge	LIG:O	Positive	ASP300:O D1 Negative
		LIG:O - ASP197:O		5.25	Electrostatic	Attractive Charge	LIG:O	Positive	ASP197:O D2 Negative

Acarbose	-11.4	D2	LIG:O - ASP197:O		4.92	Electrostatic	Attractive Charge	LIG:O	Positive	ASP197:O D2	Negative
		LIG:O - ASP300:O D1		4.61	Electrostatic	Attractive Charge	LIG:O	Positive	ASP300:O D1	Negative	
		HIS305:ND 1 - LIG:O		3.01	Hydrogen Bond	ConventionalHydrogen Bond	HIS305:ND1	H-Donor	LIG:O	H-Acceptor	
		HIS305:ND 1 - LIG:O		2.80	Hydrogen Bond	ConventionalHydrogen Bond	HIS305:ND1	H-Donor	LIG:O	H-Acceptor	
		LIG:O - ASP197:O D2		2.97	Hydrogen Bond	ConventionalHydrogen Bond	LIG:O	H-Donor	ASP197:O D2	H-Acceptor	
		LIG:O - ASP300:O D2		3.21	Hydrogen Bond	ConventionalHydrogen Bond	LIG:O	H-Donor	ASP300:O D2	H-Acceptor	
		LIG:O - HIS305:O		2.81	Hydrogen Bond	ConventionalHydrogen Bond	LIG:O	H-Donor	HIS305:O	H-Acceptor	
		LIG:O - ASP197:O D1		2.72	Hydrogen Bond	ConventionalHydrogen Bond	LIG:O	H-Donor	ASP197:O D1	H-Acceptor	
		LIG:O - HIS305:O		2.75	Hydrogen Bond	ConventionalHydrogen Bond	LIG:O	H-Donor	HIS305:O	H-Acceptor	
		LIG:O - TRP59		4.82	Electrostatic	Pi-Cation	LIG:O	Positive	TRP59	Pi-Orbitals	
		LIG:O - TRP59		4.74	Electrostatic	Pi-Cation	LIG:O	Positive	TRP59	Pi-Orbitals	
		LIG:O - TRP59		4.95	Electrostatic	Pi-Cation	LIG:O	Positive	TRP59	Pi-Orbitals	
		LIG:O - ASP300:O D1		5.36	Electrostatic	Attractive Charge	LIG:O	Positive	ASP300:O D1	Negative	
		LIG:N - ASP197:O D1		5.60	Electrostatic	Attractive Charge	LIG:N	Positive	ASP197:O D1	Negative	
		LIG:N - GLU233:O E2		5.17	Electrostatic	Attractive Charge	LIG:N	Positive	GLU233:OE2	Negative	
		LIG:N - ASP300:O D2		3.23	Electrostatic	Attractive Charge	LIG:N	Positive	ASP300:O D2	Negative	
		GLN63:HE 22 - :LIG:O		2.06	Hydrogen Bond	ConventionalHydrogen Bond	GLN63:HE22	H-Donor	LIG:O	H-Acceptor	
		GLN63:HE 22 - LIG:O		2.59	Hydrogen Bond	ConventionalHydrogen Bond	GLN63:HE22	H-Donor	LIG:O	H-Acceptor	
		GLN63:HE 22 - LIG:O		2.24	Hydrogen Bond	ConventionalHydrogen Bond	GLN63:HE22	H-Donor	LIG:O	H-Acceptor	
		LIG:O - GLU233:O E2		2.84	Hydrogen Bond	ConventionalHydrogen Bond	LIG:O	H-Donor	GLU233:OE2	H-Acceptor	
LIG:O - ASP300:O D2		2.70	Hydrogen Bond	ConventionalHydrogen Bond	LIG:O	H-Donor	ASP300:O D2	H-Acceptor			
LIG:O - LIG1:O		2.94	Hydrogen Bond	ConventionalHydrogen Bond	LIG:O	H-Donor	LIG:O	H-Acceptor			
LIG:O - GLU233:O E2		2.70	Hydrogen Bond	ConventionalHydrogen Bond	LIG:O	H-Donor	GLU233:OE2	H-Acceptor			
LIG:O - ASP300:O D1		3.20	Hydrogen Bond	ConventionalHydrogen Bond	LIG:O	H-Donor	ASP300:O D1	H-Acceptor			

**Annexe 02 : Analyse par docking moléculaire de l'interaction de certains composés phytochimiques de *B. dioica* et *C. colocynthis* avec l' $\alpha$ -glucosidase**

	S-score (kcal/mol)	Noun	Color	Distance (Å)	Category	Types	From	From chemistry	To	To chemistry
<b>Cucurbitacin B</b>	<b>-14.2</b>	ASN153:HD22 - LIG:O		2.11	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond	ASN153:HD22	H-Donor	LIG:O	H-Acceptor
		LIG:O - ASP119:OD2		2.75	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond	LIG:O	H-Donor	ASP119:OD2	H-Acceptor
		LIG:O - TYR296:OH		3.30	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond	LIG:O	H-Donor	TYR296:OH	H-Acceptor
		LIG:O - PHE238		4.10	Electrostatic	Pi-Cation	LIG:O	Positive	PHE238	Pi-Orbitals
<b>Bryogenin</b>	<b>-12.8</b>	LIG:O - PHE238:O		3.38	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond	LIG:O	H-Donor	PHE238:O	H-Acceptor
		:LIG:O - ASP260:OD1		3.32	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond	LIG:O	H-Donor	ASP260:OD1	H-Acceptor
<b>isovitexin</b>	<b>-11.5</b>	SER13:HN - LIG:O		2.74	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond	SER13:HN	H-Donor	LIG:O	H-Acceptor
		ARG44:HH12 - LIG:O		2.70	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond	ARG44:HH12	H-Donor	LIG:O	H-Acceptor
		ARG44:HH12 - LIG:O		2.09	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond	ARG44:HH12	H-Donor	LIG:O	H-Acceptor
		ARG44:HH22 - LIG:O		2.61	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond	ARG44:HH22	H-Donor	LIG:O	H-Acceptor
		ARG44:HH22 - LIG:O		2.68	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond	ARG44:HH22	H-Donor	LIG:O	H-Acceptor
		MET86:HN - LIG:O		2.44	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond	MET86:HN	H-Donor	LIG:O	H-Acceptor
		LIG:O - GLY10:O		2.78	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond	LIG:O	H-Donor	GLY10:O	H-Acceptor
		LIG:O - ASP39:OD2		2.99	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond	LIG:O	H-Donor	ASP39:OD2	H-Acceptor
		LIG:O - MET86:O		2.88	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond	LIG:O	H-Donor	MET86:O	H-Acceptor
		GLY10:CA - LIG:O		3.41	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond	GLY10:CA	H-Donor	LIG:O	H-Acceptor
LIG:O - TYR131		3.95	Hydrogen Bond	Pi-Donor Hydrogen Bond	LIG:O	H-Donor	TYR131	Pi-Orbitals		
<b>Vitexin</b>	<b>-10,5</b>	:LIG:O - ASP260:OD1		3.32	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond	LIG:O	H-Donor	ASP260 : OD1	H-Acceptor
		LIG:O - ASP260:OD1		3.98	Electrostatic	Attractive Charge	LIG:O	Positive	ASP260 :OD1	Negative
		LIG:O - PHE238		4.10	Electrostatic	Pi-Cation	LIG:O	Positive	PHE238	Pi-Orbitals
		HIS175:CE1 - :LIG:O		3.57	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond	HIS175: CE1	H-Donor	LIG: O	H-Acceptor
		GLY176:HN - LIG:O		2.87	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond	GLY176: HN	H-Donor	LIG: O	H-Acceptor
		LIG:O - GLN241:O		2.68	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond	LIG:O	H-Donor	GLN241: O	H-Acceptor

Colocynthisid A	-14.7	LIG:O - ASP240:OD1		3.12	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond	LIG:O	H-Donor	ASP240: OD1	H-Acceptor
		LIG:O ASP260:OD1		3.65	Electrostatic	Attractive Charge	LIG:O	Positive	ASP260:OD1	Negative
		LIG:O - ASP119:OD1		5.51	Electrostatic	Attractive Charge	LIG:O	Positive	ASP119:OD1	Negative
		LIG:O - ASP260:OD1		4.20	Electrostatic	Attractive Charge	LIG:O	Positive	ASP260:OD1	Negative
		ASN153:HD22 - LIG:O		2.30	Hydrogen Bond	ConventionalHydrogen Bond	ASN153:HD22	H-Donor	LIG:O	H-Acceptor
		ASN236:HD22 - LIG:O		2.24	Hydrogen Bond	ConventionalHydrogen Bond	ASN236:HD22	H-Donor	LIG:O	H-Acceptor
		GLN337:HE21 - LIG:O		2.93	Hydrogen Bond	ConventionalHydrogen Bond	GLN337:HE21	H-Donor	LIG:O	H-Acceptor
		GLN337:HE22 - LIG:O		2.60	Hydrogen Bond	ConventionalHydrogen Bond	GLN337:HE22	H-Donor	LIG:O	H-Acceptor
		LIG:O - ASP119:OD2		2.73	Hydrogen Bond	ConventionalHydrogen Bond	LIG:O	H-Donor	ASP119:OD2	H-Acceptor
		LIG:O - TYR296:OH		2.70	Hydrogen Bond	ConventionalHydrogen Bond	LIG:O	H-Donor	TYR296:OH	H-Acceptor
Cucurbitacin C	-14.0	LIG:O - ASP260:OD1		4.15	Electrostatic	Attractive Charge	LIG:O	Positive	ASP260:OD1	Negative
		LIG:O - ASP260:OD1		5.07	Electrostatic	Attractive Charge	LIG:O	Positive	ASP260:OD1	Negative
		GLY259:CA - LIG:O		3.24	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond	GLY259:CA	H-Donor	LIG:O	H-Acceptor
Cucurbitacin E	-13,5	LIG:O - ASP260:OD1		4.20	Electrostatic	Attractive Charge	LIG:O	Positive	ASP260:OD1	Negative
		LIG:O - ASP260:OD1		5.04	Electrostatic	Attractive Charge	LIG:O	Positive	ASP260:OD1	Negative
		GLY259:CA - LIG:O		3.25	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond	GLY259:CA	H-Donor	LIG:O	H-Acceptor
Colocynthisid B	-14.6	LIG:O - GLU182:OE1		3.59	Electrostatic	Attractive Charge	LIG:O	Positive	GLU182:OE1	Negative
		LIG:O - GLU182:OE1		4.12	Electrostatic	Attractive Charge	LIG:O	Positive	GLU182:OE1	Negative
		LIG:O - ASP260:OD2		5.36	Electrostatic	Attractive Charge	LIG:O	Positive	ASP260:OD2	Negative
		LIG:O - GLU354:OE2		5.13	Electrostatic	Attractive Charge	LIG:O	Positive	GLU354:OE2	Negative
		HIS175:HD1 - LIG:O		1.74	Hydrogen Bond	ConventionalHydrogen Bond	HIS175:HD1	H-Donor	LIG:O	H-Acceptor
		HIS175:HD1 - LIG:O		2.11	Hydrogen Bond	ConventionalHydrogen Bond	HIS175:HD1	H-Donor	LIG:O	H-Acceptor
		ASN239:HD21 - LIG:O		2.12	Hydrogen Bond	ConventionalHydrogen Bond	ASN239:HD21	H-Donor	LIG:O	H-Acceptor
		ASP240:HN - LIG:O		3.03	Hydrogen Bond	ConventionalHydrogen Bond	ASP240:HN	H-Donor	LIG:O	H-Acceptor
		ASP240:HN - LIG:O		2.51	Hydrogen Bond	ConventionalHydrogen Bond	ASP240:HN	H-Donor	LIG:O	H-Acceptor
		GLN241:HN - LIG:O		2.42	Hydrogen Bond	ConventionalHydrogen Bond	GLN241:HN	H-Donor	LIG:O	H-Acceptor
		ASP260:HN - LIG:O		2.71	Hydrogen Bond	ConventionalHydrogen Bond	ASP260:HN	H-Donor	LIG:O	H-Acceptor
		LIG:O - PHE238:O		3.14	Hydrogen Bond	ConventionalHydrogen Bond	LIG:O	H-Donor	PHE238:O	H-Acceptor
		LIG:O - HIS175:O		3.00	Hydrogen Bond	ConventionalHydrogen Bond	LIG:O	H-Donor	HIS175:O	H-Acceptor

Acarbose	-10.8	LIG:O - PHE238:O		2.93	Hydrogen Bond	ConventionalHydrogen Bond	LIG:O	H-Donor	PHE238:O	H-Acceptor
		LIG:O- ASP260:OD2		3.15	Hydrogen Bond	ConventionalHydrogen Bond	LIG:O	H-Donor	ASP260:OD2	H-Acceptor
		LIG:O - TYR178		3.97	Electrostatic	Pi-Cation	LIG:O	Positive	TYR178	Pi-Orbitals
		ARG44:HH11 - LIG:O		2.29	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond	ARG44:HH11	H-Donor	LIG:O	H-Acceptor
		ARG44:HH22 - LIG:O		2.84	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond	ARG44:HH22	H-Donor	LIG:O	H-Acceptor
		ARG44:HH22 - LIG:O		2.40	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond	ARG44:HH22	H-Donor	LIG:O	H-Acceptor
		HIS90:HN - LIG:O		2.46	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond	HIS90:HN	H-Donor	LIG:O	H-Acceptor
		GLY301:HN - LIG:O		2.88	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond	GLY301:HN	H-Donor	LIG:O	H-Acceptor
		LIG:O - ASP39:OD2		2.91	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond	LIG:O	H-Donor	ASP39:OD2	H-Acceptor
		LIG:O - LIG:O		2.70	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond	LIG:O	H-Donor	LIG:O	H-Acceptor
		LIG:O - GLN297:O		2.72	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond	LIG:O	H-Donor	GLN297:O	H-Acceptor
		GLY10:CA - LIG:O		3.45	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond	GLY10:CA	H-Donor	LIG:O	H-Acceptor
		GLY10:CA - LIG:O		3.61	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond	GLY10:CA	H-Donor	LIG:O	H-Acceptor
ARG44:CD - LIG:O		3.58	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond	ARG44:CD	H-Donor	LIG:O	H-Acceptor		
LIG:C - LIG:O		3.46	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond	LIG:C	H-Donor	LIG:O	H-Acceptor		

# **Publications et communications**

## Publications

**Zohra, F.**, Nabila, B., Gormat, R. B., Reda, H., Imen, A., Fatima, Z. S., ... & Sara, A. (2025). Evaluating the in vitro anti-diabetic activity of *Bryonia dioica* root extracts supported by molecular docking analysis. *Digital Chinese Medicine*, 8(2), 219-233. DOI: 10.1016/j.dcmed.2025.05.008

## Communications

**FEKHIKHER Zohra**, BENARIBA Nabila, BENRAMDANE Hanane, BRIXI GORMAT Radia, ADJDIR Sara, TERKI Mohammed, LAOUEDJ Nadia, (2023), Antioxydant and antidiabetic effect of *Citrullus colocynthis* fruit extract, First international seminar on sustainable management of natural resources in arid and semi-arid areas, Naama (Algeria).

**FEKHIKHER Zohra**, BRIXI GORMAT Radia, BENRAMDANE Hanane, BENARIBA Nabila, LAOUEDJ Nadia, (2024), Phytochemical composition and some biological activities of *Bryonia dioica* and *Citrullus colocynthis* extracts, International seminar on beekeeping-plant and innovative technology, Khemis Miliana (Algeria).

**FEKHIKHER Zohra**, BENRAMDANE Hanane, ADJDIR Sara, Brixii Gormat Radia, BENARIBA Nabila, (2022), Dosage de polyphénols et pouvoir antioxydant de l'extrait aqueux des racines de *Bryonia dioica*, Séminaire national sur la valorisation des bioressources végétales en Algérie, Khenchela (Algérie).

**FEKHIKHER Zohra**, BENARIBA Nabila, BENRAMDANE Hanane, BRIXI GORMAT Radia, TERKI Mohammed, LAOUEDJ Nadia, (2023), Effet cytoprotecteur des globules rouges et sur la peroxydation lipidique de l'extrait aqueux du fruit de *Citrullus colocynthis*, La 3ème édition du Séminaire National Sciences d'Interfaces Chimie-Biologie (hybride), Souk Ahras (Algérie).

**FEKHIKHER Zohra**, BENARIBA Nabila, BRIXI GORMAT Radia, BENRAMDANE Hanane, ADJDIR Sara, TERKI Mohammed, LAOUEDJ Nadia, (2024), Chromatographical analysis of *Citrullus colocynthis* seed extracts, Première journée nationale de Biochimie et Microbiologie médicale, Tlemcen (Algérie).

## Autres publications et communications

Abdelli, I., Benariba, N., Adjdir, S., **Fekhikher, Z.**, Daoud, I., Terki, M., ... & Ghalem, S. (2021). In silico evaluation of phenolic compounds as inhibitors of A-amylase and A-glucosidase. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 39(3), 816-822.

Adjdir, S., Benariba, N., Adida, H., Kamila, G., El Hacı, I. A., Terki, M., **Fekhikher, Z.**, Benramdane, H., Atik Bekkara, F. & Djaziri, R. (2021). Phenolic compounds and antimicrobial activity of *Ziziphus jujuba* Mill. fruit from Tlemcen. *Journal Of Biochemical Technology*, 12(1-2021), 40-44.

Benariba, N., **Fekhikher, Z.**, Brixii-Gormat, R., Benramdane, H., Youbi, H., Kouar, I., ... & Azz, R. (2023). In vitro antioxidant and antidiabetic activities of the hydro-acetone extracts of *Ricinus communis* and *Teucrium polium* from Tlemcen area. *Journal of Natural Product Research and Applications*, 3(02), 34-46.

Benramdane, H., Benariba, N., Silva, C.F.M., Catarino, M.D., Bartolomeu, M.D., **Fekhikher, Z.** & Pinto, D. (2024). Phytochemical Profile, Antioxidant, Anti-Alzheimer, And  $\alpha$ -Glucosidase Inhibitory Effect Of Algerian Peganum harmala Seeds Extract. *Chem. Biodiversity*, e202401308.

Terki, M., Benariba, N., **Fekhikher, Z.**, El Hacı, I. A., Barek, S., Bensouici, C., ... & Djaziri, R. (2023). Antimicrobial, antibiofilm and antioxidant activities of *Citrullus colocynthis* fruit extracts. *International Journal of Minor Fruits, Medicinal and Aromatic Plants*, 9 (1) : 01-13.

Benariba Nabila, Abdelli Imene, Adjdir Sara, **Fekhikher Zohra**, Daoud Ismail, Terki Mohammed, Berramdane Hanane, Ghalem Said, (2020), Inhibition de l' $\alpha$ -amylase et de l' $\alpha$ -glucosidase par les composés phénoliques : étude *in silico* de la relation structure-activité, Congrès de la Société Francophone du Diabète 2020, Bruxelles.

Benariba Nabila, Terki Mohammed, Adjdir Sara, **Fekhikher Zohra**, (2020), Evaluation *in vitro* de l'effet inhibiteur des extraits de quelques plantes médicinales sur l'activité de l' $\alpha$ -amylase, Congrès de la Société Francophone du Diabète 2020, Bruxelles.

Benramdane Hanane, Benariba N., Malek F., Latti N., El Yazid A., **Fekhikher Z.**, (2020), Antibacterial and antibiofilm activity of *Pinus halepensis* and *Ammi visnaga* extracts, the Sixth MGBIR International Workshop of Aromatic, Medicinal and condiment plants Virtues and development prospects, Tlemcen (Algeria).

Brix Gormat Radia, Azzi Rachid, Benariba Nabila, Mahdi Souad, **Fekhikher Zohra**, (2022), Screening phytochimique et évaluation de l'activité antioxydante des extraits de *Mentha spicata* L., Séminaire national sur la valorisation des bioressources végétales en Algérie, Khenchela (Algérie).

Brix Gormat Radia, Benariba Nabila, **Fekhikher Zohra**, Benramdane Hanane, (2023), Etude *in vitro* de l'effet antioxydant et l'effet d'adsorption du glucose de l'extrait eau-méthanol de *Artemisia herba alba*, National conference on phytobiotechnology, El-Tarf (Algeria).

Brix Gormat Radia, Benariba Nabila, **Fekhikher Zohra**, Benramdane Hanane, (2024), Phytochimie Et Activités Biologiques D'un Extrait Hydroalcoolique d'*Artemesia Herba Alba*, International seminar on beekeeping-plant and innovative technology, Khemis Miliana (Algeria).

Brix Gormat Radia, **Fekhikher Zohra**, Benramdane Hanane, Benariba Nabila, (2024), Composition phytochimique et évaluation *in vitro* de l'activité antidiabétique de l'extrait polyphénolique d'*Artemesia herba alba*, Première journée nationale de Biochimie et Microbiologie Médicale, Tlemcen (Algérie).

Chebika Sara, Kherrar Kawther Lamy, Khelifi Soumia, Koraib Marwa, Metalsi Marwa, Benbachir Alia, Bendjalti Linda, Khelifi Soumia, Brix Gormat Radia, **Fekhikher Zohra**, Lila Zazoua, Habi Salim, Chaouche Tarik M., Hassain-Lahfa Imen, Adjdir Sara, Benariba Nabila, (2024), Recherche des propriétés antioxydante et antidiabétique des extraits des déchets alimentaires, The 5th National Seminar MGBIR between Student and Investor, Tlemcen (Algeria).

Laouedj Nadia, Azzi Rachid, Abdelfatteh Seghir, Zahia Boucherit Otmani, Ouffai Khaoula, **Fekhikher Zohra**, Abbou Fayza, Hafsa Lakhel, (2024), Évaluation de l'activité Anti-hémolytique des extraits de feuilles de *Ruta graveolens* L. (Fidjel) de la région de Tlemcen, The 5th National Seminar MGBIR between Student and Investor, Tlemcen (Algeria).



## Evaluating the *in vitro* anti-diabetic activity of *Bryonia dioica* root extracts supported by molecular docking analysis

Zohra Fekhikher<sup>a</sup>, Nabila Benariba<sup>a\*</sup>, Brixi Gormat Radia<sup>a</sup>, Reda Hassain<sup>b</sup>, Imen Abdelli<sup>c</sup>, Fatima Z. Sekkal<sup>d</sup>, Youssef Kachekouche<sup>e</sup>, Warda Taibi<sup>f</sup>, Sohayb Bekkal Brikci<sup>g</sup>, Mohammed Terki<sup>a</sup>, Hanane Benramdane<sup>a</sup>, Sara Adjdir<sup>a</sup>

a. Laboratory of Antibiotic, Antifungal, Physical Chemistry, Synthesis and Biological Activity, Department of Biology, Faculty of Nature and Life Sciences (SNV-STU), Abou Bekr Belkaïd University, Tlemcen 13000, Algeria

b. Center for Scientific and Technical Research in Physico-Chemical Analysis (CRAPC), Bou-Ismaïl, Tipaza 42004, Algeria

c. Ecole Supérieure en Sciences Appliquées (ESSA-Tlemcen), Algeria and Laboratory of Natural and Bioactive Substances, Faculty of Science, University of Tlemcen, Tlemcen 13000, Algeria

d. Department of Biotechnology, Faculty of Natural and Life Sciences, Abdelhamid Ibn Badis University of Mostaganem, Mostaganem 27000, Algeria

e. Analytical Chemistry and Electrochemistry Laboratory, Department of Biology, Hassiba Benbouali University of Chlef, Chlef 02000, Algeria

f. Laboratory of Applied Genetics in Agriculture, Ecology and Public Health (GenApAgIE), Faculty of Nature and Life Sciences (SNV-STU), Abou Bekr Belkaïd University, Tlemcen 13000, Algeria

g. Laboratory of Ecology and Management of Natural Ecosystems, Faculty of Nature and Life Sciences (SNV-STU), Abou Bekr Belkaïd University, Tlemcen 13000, Algeria

### ARTICLE INFO

### ABSTRACT

#### Article history

Received 22 December 2024

Accepted 28 April 2025

Available online 25 June 2025

#### Keywords

*Bryonia dioica*

Glucose uptake

Protein glycation

$\alpha$ -Amylase

$\alpha$ -Glucosidase

Molecular docking

Interaction network

**Objective** To evaluate the *in vitro* anti-diabetic effects of *Bryonia dioica* roots extracts, including water-acetone extracts and their ethyl acetate and butanol fractions, and chloroform-methanol extracts.

**Methods** The total phenolic, flavonoid, flavonol, and saponin contents in the *Bryonia dioica* root extracts (chloroform-methanol extracts, water-acetone extracts and their ethyl acetate and butanol fractions) were determined using colorimetric methods with Folin-Ciocalteu, aluminum trichloride, and vanillin reagents, respectively. The *in vitro* anti-diabetic activity was evaluated by measuring the half-maximal inhibitory concentration (IC<sub>50</sub>) values of these root extracts against  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase activities, evaluating their effects on  $\alpha$ -amylase kinetics, quantifying the inhibition of bovine serum albumin (BSA) glycation using fluorometry to assess advanced glycation end products (AGE) production, and determining glucose uptake by isolated rat hemidiaphragm. Additionally, molecular docking analysis was conducted to investigate the binding affinity and interaction types between *Bryonia dioica* ligands (cucurbitacin B, bryogénin, vitexin, and isovitexin) and target enzymes, and a phytochemical-targets interaction network was constructed.

**Results** For  $\alpha$ -amylase inhibition, ethyl acetate fraction demonstrated the most potent activity (IC<sub>50</sub> = 145.95  $\mu$ g/mL), followed by chloroform-methanol extract (IC<sub>50</sub> = 300.86  $\mu$ g/mL). Water-acetone root extracts and their ethyl acetate and butanol fractions inhibited the  $\alpha$ -glucosidase activity with IC<sub>50</sub> values ranging from 562.88 to 583.90  $\mu$ g/mL. Both ethyl

\*Corresponding author: Nabila Benariba, E-mail: [nabila.benariba@univ-tlemcen.dz](mailto:nabila.benariba@univ-tlemcen.dz).

Peer review under the responsibility of Hunan University of Chinese Medicine.

DOI: 10.1016/j.dcmcd.2025.05.008

**Citation:** FEKHIKHER Z, BENARIBA N, RADIA BG, et al. Evaluating the *in vitro* anti-diabetic activity of *Bryonia dioica* root extracts supported by molecular docking analysis. Digital Chinese Medicine, 2025, 8(2): 219-233.

acetate and butanol fractions strongly inhibited non-enzymatic BSA glycation ( $IC_{50} = 318.26$  and  $323.12 \mu\text{g/mL}$ , respectively). The incubation of isolated rat hemidiaphragms with the ethyl acetate fraction ( $5 \text{ mg/mL}$ ) significantly increased glucose uptake ( $35.16\%$ ;  $P < 0.0001$ ), exceeding the effects of insulin ( $29.27\%$ ), chloroform-methanol extract ( $24.07\%$ ), and catechin ( $15.27\%$ ). Molecular docking revealed that cucurbitacin B exhibited the strongest docking scores against  $\alpha$ -amylase ( $-16.4 \text{ kcal/mol}$ ), and  $\alpha$ -glucosidase ( $-14.2 \text{ kcal/mol}$ ). Compared with other ligands, isovitexin formed the maximum number of hydrogen bonds with the  $\alpha$ -amylase active site residues (Asp300, Asp197, and Glu233),  $\alpha$ -glucosidase residues (Ser13, Arg44, Met86, Gly10, Asp39, and Tyr131) and other residues (Arg195, Trp59, His299, and Tyr62). Network analysis identified 36 overlapping targets between *Bryonia dioica* phytochemicals and type 2 diabetes mellitus-associated genes, with cucurbitacins and polyphenols interacting with  $\alpha$ -amylase,  $\alpha$ -glucosidase, and Glut4 translocation pathway targets.

**Conclusion** *Bryonia dioica* root extracts demonstrated promising *in vitro* anti-diabetic activity through multiple mechanisms, including the inhibitory effect on digestive enzymes, protein antiglycation potential, and enhancement of glucose uptake, suggesting their potential as a source for anti-diabetic drugs development.

## 1 Introduction

Diabetes mellitus, the most common endocrine disorder globally, is characterized by chronic hyperglycemia resulting from defects in insulin secretion, insulin action, or both [1]. As one of the most severe epidemics affecting both developed and developing countries, this disease exhibits alarming prevalence and severity. The International Diabetes Federation (IDF) reported that diabetes prevalence is escalating rapidly: in 2024, it affected 589 million adults aged 20 – 79 years, and the figure was projected to reach 853 million individuals by 2050 [2]. Chronic hyperglycemia, along with other risk factors, drives diabetic complications through oxidative stress pathways. Specifically, prolonged hyperglycemia induces glucose oxidation, non-enzymatic glycosylation of proteins and lipids, and subsequent free radical generation, thereby amplifying diabetes progression and its complications [3]. Pharmacological treatment of diabetes, mainly type 2 diabetes mellitus, primarily targets hyperglycemia through mechanisms, including stimulation of insulin secretion, insulin sensitivity, and the inhibition of intestinal glucose digestion and absorption [4]. However, synthetic antidiabetic agents not only impose significant economic burdens on patients in developing countries but are also linked to adverse gastrointestinal effects, including diarrhea, flatulence, abdominal spasms, nausea, lactic acidosis, and neurological symptoms like dizziness and hypoglycemia [5]. These limitations have spurred extensive research efforts to discover novel hypoglycemic agents, with natural products emerging as a predominant focus [1, 6].

In traditional medicine, several studies document the global use of medicinal plants in diabetes management. Natural resources exhibit well-documented anti-diabetic properties, including metformin, a frontline commercial anti-diabetic agent that was first discovered from *Galega officinalis*. Inhibition of  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase

digestive enzymes is a critical therapeutic strategy for type 2 diabetes mellitus. Notably, various natural compounds including terpenoids, alkaloids, polysaccharides, phenolic derivatives, and flavonoids demonstrate enzyme-inhibitory activities, with flavonoids exhibiting superior inhibitory efficacy [7]. Algeria, renowned for its rich diversity of medicinal plants in traditional medicine, hosts several species recognized for the powerful anti-diabetic applications [8, 9]. *Bryonia dioica* (white bryony) occupies a prominent position among these ethnomedicinal resources, particularly its roots (the most utilized plant part), which are administered orally in minute doses or applied externally to manage infections (cough, bronchitis, influenza, and pneumonia), inflammatory conditions (rheumatism), ulcerative pathologies, hypertension, diabetes mellitus, and neoplastic disorders [10, 11].

*Bryonia dioica* is a herbaceous, perennial, and climbing plant in the Cucurbitaceae family, native to Western Asia, temperate Europe, and North Africa [12]. Phytochemical studies have been conducted on *Bryonia dioica*, and several components have been identified in different parts of this plant (stem, leaf, and fruit tissues), including bryonoside, bryodiosides, saponarin, cucurbitacin, and kaempferol 3,7-di-O-rhamnoside [13]. Literature reviews revealed correlations between its phytochemical composition and diverse biological properties, notably antioxidant [14], anti-inflammatory [10], antimicrobial [15], anticancer [16], and hepatoprotective effects [11]. Few scientific studies have focused on the anti-diabetic properties of bryony. The sole *in vivo* investigation of anti-diabetic effects of *Bryonia dioica* demonstrated that the root aqueous extract ( $30 \text{ mg/kg}$  body weight) significantly reduces hyperglycemia in streptozotocin-induced neonatal diabetic rats over the short term (3 h follow-up) and medium-term evaluations (3 weeks follow-up) [17].

This study aimed to investigate the *in vitro* anti-diabetic effects of *Bryonia dioica* extracts by measuring their

effects on the activity of the digestive enzymes  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase, on protein glycation, and on glucose uptake. A molecular dynamics simulation was also conducted to determine the structural stability of certain *Bryonia dioica* phytochemicals in complex with  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase. Additionally, an interaction network was established between selected *Bryonia dioica* compounds and type 2 diabetes mellitus-associated targets to systematically visualize molecular mechanisms.

## 2 Materials and methods

### 2.1 Plant materials and extraction

Botanical authentication of *Bryonia dioica* was carried out at the laboratory of Ecology and Natural Ecosystems Management, Tlemcen University (Algeria). Root specimens were collected from Tlemcen area (northern Algeria), followed by cleaning, air-drying in darkness, and homogenization to obtain root powder. A total of 50 g of the ground roots were decocted in acetone-water mixture (80 : 20, v/v) for 1 h to prepare water-acetone crude extract. Another extraction was carried out using acetone-water, and the aqueous phase was split with ethyl acetate (1 : 1, v/v) to recover the ethyl acetate fraction, then followed by butanol to recover the butanol fraction. Moreover, 100 g of ground roots were macerated for 48 h in a chloroform-methanol mixture (50 : 50, v/v) at room temperature, and then the filtered extract was evaporated to dryness to obtain the chloroform-methanol extract.

### 2.2 Quantitative determination of bioactive compounds in *Bryonia dioica* root extracts

Total polyphenol and flavonoid contents were determined in the set extract (water-acetone, ethyl acetate, butanol, and chloroform-methanol) using standardized colorimetric methods [18, 19]. For the determination of polyphenol components, a mixture was prepared by combining 2000  $\mu$ L of 2% sodium carbonate ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) solution with 100  $\mu$ L of each prepared extract (1 mg/mL). This mixture underwent 5-min incubation at room temperature followed by addition of 100  $\mu$ L of Folin-Ciocalteu reagent (0.2 mol/L). After 30-min light-excluded incubation, absorbance at 700 nm was measured against a reagent blank. Results were reported as micrograms of gallic acid equivalents per milligram of dry extract ( $\mu$ g GAE/mg DE). For the quantification of flavonoid components, 500  $\mu$ L extract (1 mg/mL) was mixed with 200  $\mu$ L distilled water and 150  $\mu$ L 15% sodium nitrite ( $\text{NaNO}_2$ ). Following 6-min incubation at room temperature, 150  $\mu$ L 10% solution of aluminum chloride hexahydrate ( $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ) was introduced to initiate oxidation. After subsequent 6 min incubation, 200  $\mu$ L of 4% sodium hydroxide and 200  $\mu$ L of distilled water were added. The

mixture was incubated in darkness for 15 min before measuring the absorbance at 510 nm against a blank. Catechin served as the standard, with results reported in micrograms of catechin equivalents per milligram of dry extract ( $\mu$ g CE/mg DE).

However, total flavonol content was measured in all extracts using a modified protocol [20]: 2 000  $\mu$ L of each extract was mixed with 2 000  $\mu$ L of aluminum chloride (10%) and 3 000  $\mu$ L of sodium acetate (5%). The mixture was incubated for 150 min at 20 °C prior to absorbance measurement at 440 nm. Quercetin served as the reference standard, with results expressed as micrograms of quercetin equivalents per milligram of dry extract ( $\mu$ g QE/mg DE). In parallel, the determination of total saponins in the tested extracts was performed according to colorimetric procedures [21, 22]. Briefly, 50  $\mu$ L of each extract was mixed with 500  $\mu$ L of 8% vanillin solution and 5 000  $\mu$ L of 72% sulfuric acid. The reaction mixture was agitated and incubated in a water bath (60 °C) for 10 min, followed by 15 min cooling in an ice bath. Absorbance at 544 nm was recorded, and oleanolic acid was used as the reference standard (micrograms oleanolic acid per milligram of equivalents,  $\mu$ g EOA/mg DE).

### 2.3 Inhibition assay for $\alpha$ -amylase activity

The  $\alpha$ -amylase inhibitory activity was evaluated in previously prepared extracts with protocol modifications [18, 23]. Briefly, 200  $\mu$ L of porcine pancreatic  $\alpha$ -amylase solution (3.9 U/mL in 20 mmol/L sodium phosphate buffer with 6.7 mmol/L NaCl; pH 6.9) was preincubated at 37 °C for 10 min with 200  $\mu$ L of each extract [tested at different concentrations (33 – 1000  $\mu$ g/mL) to achieve an optimum effect] water acetone, ethyl acetate, butanol, and chloroform-methanol extract. The reaction was initiated by adding 200  $\mu$ L soluble starch solution (0.5%, w/v), followed by incubation at 37 °C for 15 min. The reaction was subsequently stopped by the addition of 600  $\mu$ L of 3,5-dinitrosalicylic acid (DNSA) reagent. The reaction mixture was boiled for 15 min in a boiling water bath, then diluted with 1 000  $\mu$ L of distilled water in an ice bath. The absorbance was measured at 540 nm. Acarbose (7 – 33  $\mu$ g/mL) was used as a standard inhibitor [18]. The inhibitory activity was measured in percent inhibition and the  $\text{IC}_{50}$  of extracts was determined by plotting the inhibition percentage against the concentration of the samples.

### 2.4 Kinetics of inhibition against $\alpha$ -amylase

The inhibition modes of *Bryonia dioica* extracts (ethyl acetate and chloroform-methanol) against  $\alpha$ -amylase activity were measured by varying concentrations of starch (1, 5, and 7 mg/mL) as a substrate in the absence or presence of ethyl acetate fraction and chloroform-methanol extract at different concentrations (0.100 – 0.333 mg/mL) selected according to  $\text{IC}_{50}$  values

determined in the  $\alpha$ -amylase activity inhibition assay. Likewise, acarbose, the standard inhibitor, was tested at the concentration interval of 0.002 to 0.015 mg/mL. Inhibition type was determined by Lineweaver-Burk plot analysis of the data, using a double reciprocal plot of the substrate concentration and velocity ( $1/V$  vs.  $1/[S]$ ).  $K_m$  and  $V_{max}$  values were calculated according to Michaelis-Menten kinetics using the double inverted curve equation:  $V_{max} = 1/b$ ;  $K_m = a \times V_{max}$ .

## 2.5 Inhibition assay for $\alpha$ -glucosidase activity

This study involved animal experimentation on seven Wistar rats (170 – 250 g, both sexes) sourced from the animal facility of the University of Tlemcen's Nature and Life Sciences (SNV-STU) faculty, conducted in compliance with the Declaration of Helsinki and approved by the Tlemcen University Ethics Committee [Laboratory Authorization for Animal Experimentation-Biochemistry LAPSAB-759 (Laboratory of Antibiotic, Antifungal, Physical Chemistry, Synthesis and Biological Activity)]. Rats were housed under controlled conditions (12-h light/dark cycle, 25 °C, 50% humidity) with ad libitum access to standard chow and water.

After overnight starvation, animals were sacrificed under intraperitoneal pentobarbital anesthesia injection (30 mg/kg). According to previous protocols [18, 24, 25],  $\alpha$ -glucosidase was isolated from the small intestines of the rats rinsed with ice-cold saline, and the intestinal brush border mucosa was carefully scraped and sonicated in 15 volumes (w/v) of phosphate buffer (67 mmol/L, pH 6.8). The homogenate was centrifuged at 6000 rpm for 20 min at 4 °C and the supernatant was retained as a crude enzyme solution.

The inhibitory effect of *Bryonia dioica* extracts (water-acetone, ethyl acetate, butanol, and chloroform-methanol) on  $\alpha$ -glucosidase activity was determined with the following method with slight modifications [18]: 200  $\mu$ L of a crude enzyme solution of rat intestinal  $\alpha$ -glucosidase (53.80 U/mL) was mixed with 200  $\mu$ L of *Bryonia dioica* extract (235 – 588  $\mu$ g/mL) or acarbose (92 – 735  $\mu$ g/mL) solutions, and 1 mL of phosphate buffer (67 mmol/L, pH 6.8). These intervals of concentration have been selected to achieve maximum effect. The medium was incubated at 37 °C for 10 min, and then 300  $\mu$ L of p-nitrophenyl- $\alpha$ -D-glucopyranoside (p-NPG) substrate solution (10 mmol/L) was added for reaction. The mixture was incubated at 37 °C for 40 min. Then 3 mL of sodium carbonate solution (100 mmol/L) was added to stop the enzymatic reaction. p-Nitrophenol, released from p-NPG, was measured at 400 nm to determine  $\alpha$ -glucosidase activity. The inhibitory activity was expressed in percent inhibition, and the  $IC_{50}$  of extracts was determined by plotting the inhibition percentage against the concentration of the samples.

## 2.6 Assay for nonenzymatic BSA glycation

The antiglycation activity of bovine serum albumin (BSA; Sigma Aldrich A7906-10G) was performed using fluorometry to assess advanced glycation end products (AGE) production as previously reported with slight modifications [26, 27]. Under sterile conditions, 400  $\mu$ L of BSA (10 mg/mL) prepared in phosphate buffer (100 mmol/L; pH 7.4) was mixed with 400  $\mu$ L of various concentrations of extracts and 400  $\mu$ L of glucose (22 mmol/L) and fructose (22 mmol/L), then 100  $\mu$ L of 0.02% sodium azide were added to the medium and the reaction mixture was incubated at 37 °C for 3 weeks. The fluorescence intensity of the produced AGE was measured at an excitation wavelength of 335 nm and an emission wavelength of 440 nm. The effect of *Bryonia dioica* extracts (water-acetone, ethyl acetate, butanol, and chloroform-methanol) (77 – 3 077  $\mu$ g/mL), aminoguanidine and ascorbic acid (15 – 1 000  $\mu$ g/mL) as positive controls, was determined by comparing the percentage inhibition with the maximal glycation induced by glucose and fructose.  $IC_{50}$  was determined by plotting the inhibition percentage against the concentration of the samples.

## 2.7 Glucose uptake by isolated rat hemidiaphragm assay

The effect of *Bryonia dioica* extracts (ethyl acetate and chloroform-methanol) on glucose uptake was evaluated using the rat hemidiaphragm methods with previously reported protocol modifications [28, 29]. The Wistar rats ( $n = 14$ ) of either sex (180 – 250 g), obtained from the animal facility of the SNV-STU faculty at the University of Tlemcen and maintained under the same breeding and ethical conditions outlined in Section 2.5, were fasted overnight and sacrificed under intraperitoneal pentobarbital anesthesia injection (30 mg/kg). The diaphragms were dissected out and rinsed with Tyrode solution (without glucose) until obtaining a clear pink color, then divided into equal halves (hemidiaphragms). In plates of 12 wells, the hemidiaphragms were placed with the samples and incubated at 37 °C for 45 min in an atmosphere of 100%  $O_2$ , with shaking at 60 rpm. Two hemidiaphragms from the same animal were not used for the same sample. Plates were divided into nine groups (three hemidiaphragms for each group). Group 1 served as control medium and contained 4 mL of Tyrode solution with 2% glucose. Group 2 and 3 contained 3.5 mL of Tyrode solution with 2% glucose, and 0.5 mL of insulin at 0.2 and 0.4 U/mL, respectively. Group 4 and 5 contained 3.5 mL of Tyrode solution with 2% glucose, and 0.5 mL of *Bryonia dioica* ethyl acetate extract at 2.5 and 5 mg/mL, respectively. Group 6 and 7 contained 3.5 mL of Tyrode solution with 2% glucose, and 0.5 mL of *Bryonia dioica* chloroform-methanol extract at 2.5 and 5 mg/mL, respectively. These concentrations were chosen to obtain

maximum effect. Group 8 and 9 contained 3.5 mL of Tyrode solution with 2% glucose, and 0.5 mL of catechin at 2.5 and 5 mg/mL, respectively. Following incubation, the hemidiaphragms were taken out and glucose content of the incubated medium was measured by glucose oxidase (GOD)/peroxidase (POD) enzymatic method. Glucose uptake was calculated as the difference between the initial and final glucose content in the incubation medium at  $T_{15 \text{ min}}$ ,  $T_{30 \text{ min}}$ ,  $T_{45 \text{ min}}$ , respectively, and the results were expressed as percentages.

## 2.8 Network construction

### 2.8.1 Phenolic and saponin contents and tested proteins network

The network between the phenolic and saponin contents amounted in *Bryonia dioica* extracts (water-acetone, ethyl acetate, butanol, and chloroform-methanol), and the different  $IC_{50}$  values experimentally determined for the following proteins,  $\alpha$ -amylase,  $\alpha$ -glucosidase, and BSA, was built using the Flourish online tool (<https://flourish.studio/visualisations/network-charts/>) accessed on 27 February 2025.

**2.8.2 Phytochemical-targets interaction network** The phytochemicals derived from *Bryonia dioica* were chosen based on existing literature. Their canonical simplified molecular input-line entry system (SMILES) were subsequently obtained from the PubChem database (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>), and entered into both the Comparative Toxicogenomics Database (CTD) (<https://www.ctdbase.org/>) and the BindingDB database (<https://www.bindingdb.org/>), utilizing “homo sapiens” mode to identify various targets associated with the compounds. The genetic names corresponding to these identified targets were sourced from the UniProtKB (<https://www.uniprot.org/>) and Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM) (<https://www.omim.org/>) databases, specifically selecting the human organism option. Additionally, targets pertinent to diabetes mellitus were compiled from the GeneCards (<https://www.genecards.org/>) disease gene database by employing the search term “type 2 diabetes mellitus”. The gathered compound targets and disease-related targets were then analyzed using Venny v2.1.0 (<https://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/>) to identify and select overlapping targets. Ultimately, the resulting data were integrated into Cytoscape v3.10.3 software to visualize and construct a network interaction between phytochemical compounds and their targets.

## 2.9 Molecular docking investigation

**2.9.1 Softwares and databases** All software and databases used in this study were freely accessible for academic purposes. Protein three-dimensional (3D) structures were retrieved from the Protein Data Bank (<https://www.rcsb.org/>).

Ligand structures, including cucurbitacin B, bryogenin, vitexin, isovitexin, and acarbose, were obtained from PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>). Python v3.9.1 (<https://www.python.org/downloads/>) served as the programming environment. Molecular visualization and analysis were conducted using Discovery Studio Visualizer 2021 (<https://discover.3ds.com/discovery-studio-visualizer-download>) and MGLTools v1.5.7 (<https://ccsb.scripps.edu/projects/visualization/>). AutoDock Vina v4.2.6 (<https://ccsb.scripps.edu/projects/docking/>) was employed for protein-ligand docking simulations. The software programs were installed in a Windows-based computer system with the following features: installed memory: 32 GB; processor: AMD Ryzen5 3600XT 6-Core.

**2.9.2 Preparation of receptor files** The 3D structures of  $\alpha$ -amylase [Protein Data Bank (PDB) Identifier (ID): 3BAJ] and  $\alpha$ -glucosidase (PDB ID: 1OBB) proteins (receptors) were downloaded from the PDB. Load the protein structure file into Discovery Studio and execute molecular cleanup to retain only protein components. This involved removing non-protein entities such as water molecules and ligands through atomic selection filters. Finally, the processed structure was saved in the .pdb file format using the Save As function with standardized coordinate formatting.

**2.9.3 Grid setting and file preparation** The MGLTools v1.5.7 was used for setting the grid parameter on the receptors. The protein file with the .pdb extension was opened in the MGLTools, the polar hydrogen atoms were added to the protein molecules, and then the selected proteins were saved as macromolecules in the .pdbqt file. After that, the ligands were added, the torsion angle was set, and the ligands were saved in the .pdbqt file.

**2.9.4 Preparation of conf .txt file** The conf .txt file was prepared with all the center axes and size axes of set grid were written with the receptor, ligand, and output files extension. The grid size of  $\alpha$ -amylase receptors was set at  $x = 40$ ,  $y = 40$ ,  $z = 40$  points, and the grid center was designated at  $x = 8.32$ ,  $y = 28.602$ , and  $z = 50.437$  dimensions, and at  $x = 40$ ,  $y = 40$ , and  $z = 40$  points, and the grid center was designated at  $x = 26.187$ ,  $y = 38.705$ , and  $z = 22.132$  dimensions for  $\alpha$ -glucosidase receptors.

**2.9.5 Molecular docking** Molecular docking was performed using AutoDock Vina, which attempts a set of different ligand conformers to obtain the best disposition of the molecule's atoms for maximizing the scoring function that quantifies ligand-receptor interaction. This software gave the best orientation of ligands with protein. The AutoDock Vina performed the molecular docking between receptor and ligand according to previous procedures<sup>[30,31]</sup>.

Prepared protein files in .pdbqt format were put in the Vina folder. The Vina configuration file was created with

the Notepad application and saved with the name config.txt. Molecular docking was carried out according to the validation results of molecular docking. Molecular docking commands were carried out using the “cmd” command prompt program. The programming command to run molecular docking was “C:\vina.exe. --config config.txt. -out output.pdbqt”, and then press enter. The results of molecular docking could be seen in the output document with the .pdbqt format and log files, which can be opened using the Discovery Studio Visualizer software. The log file is a document that contains data on  $\Delta G$  values in units of kcal/mol. The interaction of protein and ligands was visualized by Discovery Studio Visualizer 2021.

### 2.10 Statistical analysis

Data were represented as mean  $\pm$  standard deviations (SD) of three replicated determinations. Statistical significance was evaluated using one-way analysis of variance (ANOVA), and the Tukey’s test was carried out to measure significant differences between the groups at  $P < 0.05$ , which was considered statistically significant. Principal component analysis (PCA) was carried out using R software. ChiPlot (<https://www.chiplot.online/>) was used to produce the correlation heatmap (accessed on 20 January 2025).

## 3 Results

### 3.1 Determination of total polyphenol and saponin contents

The contents of total polyphenols and saponins in the various extracts, water-acetone, ethyl acetate, butanol, and chloroform-methanol, are reported in Table 1. According to the obtained results, the chloroform-methanol extract showed the highest levels of total polyphenols, flavonoids, flavonols, and saponins, followed by the ethyl acetate fraction ( $P < 0.0001$ ). The water-acetone extract, which showed a low polyphenol content compared with the butanol fraction, had high level of flavonoids, flavonols, and saponins ( $P < 0.0001$ ). However, the butanol fraction had the lowest levels of flavonoids, flavonols, and saponins.

### 3.2 Inhibition of $\alpha$ -amylase, $\alpha$ -glucosidase, and non-enzymatic BSA glycation activities

All tested extracts (water-acetone, ethyl acetate, butanol, and chloroform-methanol), exhibited concentration-dependent inhibitory activity. According to the results shown in Table 2, the ethyl acetate fraction showed the most potent inhibition, with a statistically significant lowest  $\alpha$ -amylase  $IC_{50}$  compared with other extracts ( $P < 0.0001$ ), followed by the chloroform-methanol extract. However, the butanol fraction and the water-acetone extract displayed comparatively weaker activity. The extracts

**Table 1** Total polyphenol and saponin contents in *Bryonia dioica* root extracts

Extract	Total polyphenol ( $\mu\text{g GAE/mg DE}$ )	Flavonoid ( $\mu\text{g CE/mg DE}$ )	Flavonol ( $\mu\text{g QE/mg DE}$ )	Saponin ( $\mu\text{g OAE/mg DE}$ )
Water-acetone	87.56 $\pm$ 0.02 <sup>d</sup>	6.01 $\pm$ 0.01 <sup>c</sup>	6.33 $\pm$ 0.02 <sup>c</sup>	0.40 $\pm$ 0.01 <sup>c</sup>
Ethyl acetate	157.01 $\pm$ 0.01 <sup>b</sup>	8.64 $\pm$ 0.001 <sup>b</sup>	24.67 $\pm$ 0.03 <sup>b</sup>	0.90 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>
Butanol	134.86 $\pm$ 0.02 <sup>c</sup>	2.93 $\pm$ 0.004 <sup>d</sup>	2.35 $\pm$ 0.01 <sup>d</sup>	0.18 $\pm$ 0.01 <sup>d</sup>
Chloroform-methanol	299.51 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>	49.09 $\pm$ 0.00 <sup>a</sup>	26.27 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup>	0.58 $\pm$ 0.01 <sup>b</sup>

Data were represented as mean  $\pm$  SD ( $n = 3$ ). <sup>a-d</sup> Values with different superscript letters within the same column are significantly different at  $P < 0.0001$  as determined by one-way ANOVA followed by Tukey’s test, and represent a classification of groups according to experimental values from the highest to the lowest.

**Table 2** *In vitro* anti-diabetic activity of *Bryonia dioica* roots extracts

Extract	$\alpha$ -Amylase $IC_{50}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )	$\alpha$ -Glucosidase $IC_{50}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )	BSA antiglycation $IC_{50}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )
Water-acetone	963.06 $\pm$ 0.05 <sup>a</sup>	562.88 $\pm$ 0.01 <sup>c</sup>	550.78 $\pm$ 4.10 <sup>b</sup>
Ethyl acetate	145.95 $\pm$ 0.01 <sup>d</sup>	583.90 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>	318.26 $\pm$ 0.81 <sup>c</sup>
Butanol	566.08 $\pm$ 0.02 <sup>b</sup>	564.22 $\pm$ 0.02 <sup>b</sup>	323.12 $\pm$ 1.37 <sup>c</sup>
Chloroform-methanol	300.86 $\pm$ 0.04 <sup>c</sup>	nd	608.69 $\pm$ 2.45 <sup>a</sup>
Acarbose	13.46 $\pm$ 0.03 <sup>e</sup>	115.05 $\pm$ 0.02 <sup>d</sup>	nt
Ascorbic acid	nt	nt	143.01 $\pm$ 1.12 <sup>d</sup>
Aminoguanidine	nt	nt	66.36 $\pm$ 3.96 <sup>e</sup>

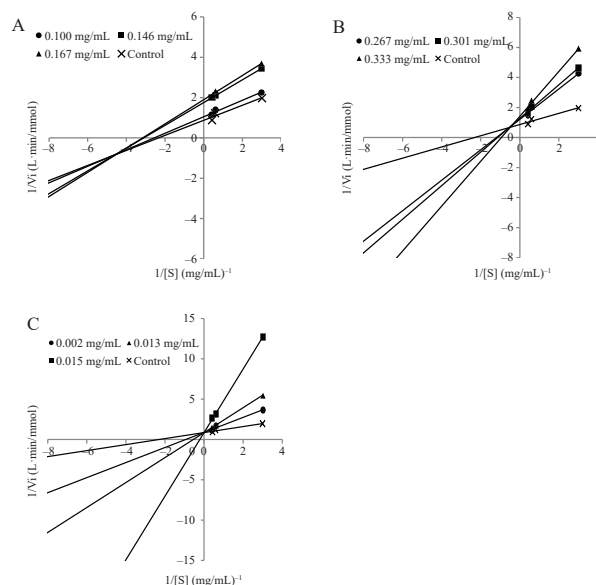
Data were represented as mean  $\pm$  SD ( $n = 3$ ). <sup>a-e</sup> Values with different superscript letters within the same column are significantly different at  $P < 0.0001$  as determined by one-way ANOVA followed by Tukey’s test, and represent a classification of groups according to experimental values from the highest to the lowest. nd, not determined. nt, not tested.

effect was significantly less than the effect of the  $\alpha$ -amylase inhibitor acarbose ( $P < 0.0001$ ).

Based on these findings, the ethyl acetate fraction and the chloroform-methanol extract were selected for kinetic studies of  $\alpha$ -amylase inhibition. As shown in Figure 1, both extracts showed mixed competitive and uncompetitive inhibition of porcine pancreatic  $\alpha$ -amylase; also, the kinetic parameters of the ethyl acetate fraction  $V_{max}$  and  $K_m$  decreased, while in the presence of chloroform-methanol extract,  $V_{max}$  decreased whereas  $K_m$  increased (Table 3).

Regarding  $\alpha$ -glucosidase activity, the water-acetone extract and both its ethyl acetate and butanol fractions provided an  $IC_{50}$  value varying between 562.88 and 583.90  $\mu\text{g/mL}$ , which remained significantly ( $P < 0.0001$ ) higher than that of acarbose (Table 2).

The effect of *Bryonia dioica* extracts (water-acetone, ethyl acetate, butanol, and chloroform-methanol) on BSA glycation, tested by their ability to inhibit AGE formation in the reactive medium, exhibited a concentration-dependent inhibition, of which the ethyl acetate and butanol fractions showed the lowest  $IC_{50}$  values of 318.26



**Figure 1** Lineweaver-Burk plots of  $\alpha$ -amylase inhibition by various samples

A, *Bryonia dioica* ethyl acetate fraction. B, chloroform-methanol extract. C, acarbose.

**Table 3** Effects of *Bryonia dioica* root extracts on pancreatic  $\alpha$ -amylase inhibition kinetics

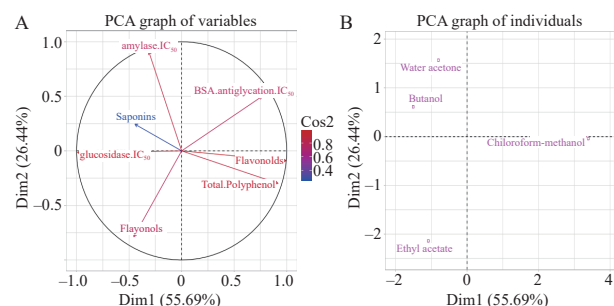
Extract	Concentration (mg/mL)	$V_{max}$ [mmol/(L·min)]	$K_m$ (mg/mL)	Inhibitory mode
Ethyl acetate	0.100	0.96	0.39	Mixed inhibition
	0.146	0.57	0.32	
	0.167	0.53	0.32	
Chloroform-methanol	0.267	0.83	0.84	Mixed inhibition
	0.301	0.78	0.87	
	0.333	0.70	1.05	
Acarbose	0.002	1.14	1.06	Competitive inhibition
	0.013	1.16	1.80	
	0.015	1.15	4.53	
Control (no inhibitor)	0	1.15	0.43	No inhibition

and 323.12  $\mu\text{g/mL}$ , respectively (Table 2). The crude water-acetone and chloroform-methanol extracts showed higher  $IC_{50}$  values ranging from 550.78 to 608.69  $\mu\text{g/mL}$ .

### 3.3 Heatmap and principal component analysis

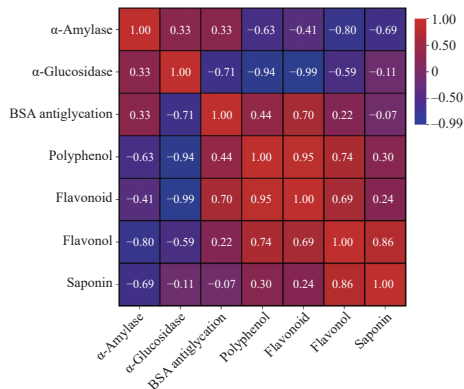
An alternative method for assessing the obtained results involved the application of principal PCA heatmap analysis. The PCA provided a clear visualization of the data (Figure 2). The graphical interpretation of the PCA results was mainly displayed with the two-axis plane. These axes reached 55.69% (Dim1) and 26.44% (Dim2) of variance. Therefore, they represented 82.13% of the total variance. The scores plot showed Dim clearly defined clusters, which may signify the presence of subgroups within the data presented. On one hand, these findings imply that the variables exhibit independent correlations and may vary across each subgroup. The variables “flavonoids” and “total polyphenols” were strongly correlated, as were the variables “ $\alpha$ -amylase  $IC_{50}$ ” and “saponins”. In contrast, a

negative correlation between “saponins” and “total polyphenols” was revealed. Besides, the group corresponding to the chloroform-methanol extract showed high values for the variables “flavonoids” and “total polyphenols”, as well as the variable “BSA antiglycation  $IC_{50}$ ”. On the other hand, butanol, water-acetone, and



**Figure 2** Graphical representation of variables and extracts using PCA

A, variables. B, extracts.

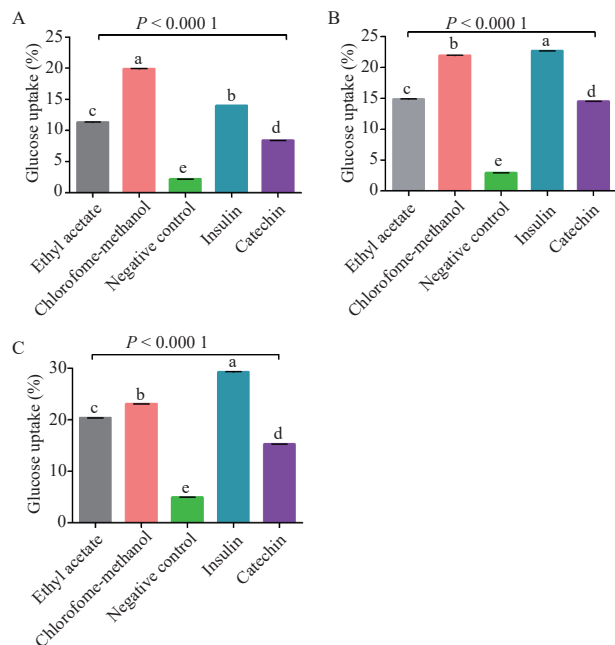


**Figure 3** The correlation heatmap among the measured biological activities and phytochemical contents of *Bryonia dioica* extracts

ethyl acetate extracts were grouped based on the variables saponins,  $\alpha$ -amylase  $IC_{50}$ , and flavonols, respectively. Likewise, the correlation heatmap (Figure 3) revealed a strong positive correlation between polyphenols and flavonoids (Pearson's  $r = 0.95$ ) and a negative correlation between  $\alpha$ -amylase and saponins (Pearson's  $r = -0.63$ ). Flavonoids correlated strongly with  $\alpha$ -glucosidase and BSA antiglycation but weakly with  $\alpha$ -amylase. However, polyphenols showed a strong negative correlation with  $\alpha$ -glucosidase and  $\alpha$ -amylase. Flavonols were found to have a high correlation with  $\alpha$ -amylase and saponins and a moderate correlation with  $\alpha$ -glucosidase.

### 3.4 Stimulation of glucose uptake by isolated rat hemidiaphragm

The study investigated the *in vitro* glucose uptake capacity of the rat hemidiaphragm in the presence or absence of ethyl acetate fraction and chloroform-methanol extract from *Bryonia dioica*. Hemidiaphragms incubation with the extracts (Figure 4 and 5) showed a concentration- and time-dependent increase in glucose uptake compared with the untreated control hemidiaphragms and the hemidiaphragms treated with insulin (0.4 U/mL). Insulin-induced glucose uptake increased from 13.99% after 15 min incubation to 29.27% after 45 min incubation, while glucose uptake by the control hemidiaphragm ranged from 2.19% to 4.97%. The ethyl acetate fraction and chloroform-methanol extract significantly ( $P < 0.0001$ ) increased glucose uptake. At 2.5 mg/mL, chloroform-methanol extract enhanced glucose uptake (19.91% – 23.08%) compared with the ethyl acetate fraction (11.33% – 20.35%) and catechin (8.40% – 15.27%) used as a control molecule but was lower than the effect of insulin (13.99% – 29.27%). At high concentrations of 5 mg/mL (Figure 5), *Bryonia dioica* extracts, particularly the ethyl acetate fraction (35.16%) significantly increased glucose uptake ( $P < 0.0001$ ) and were found to be more effective than insulin (29.27%) and catechin (15.27%). These results suggested that the ethyl acetate fraction and



**Figure 4** Effects of *Bryonia dioica* root extracts on glucose uptake by isolated rat hemidiaphragm

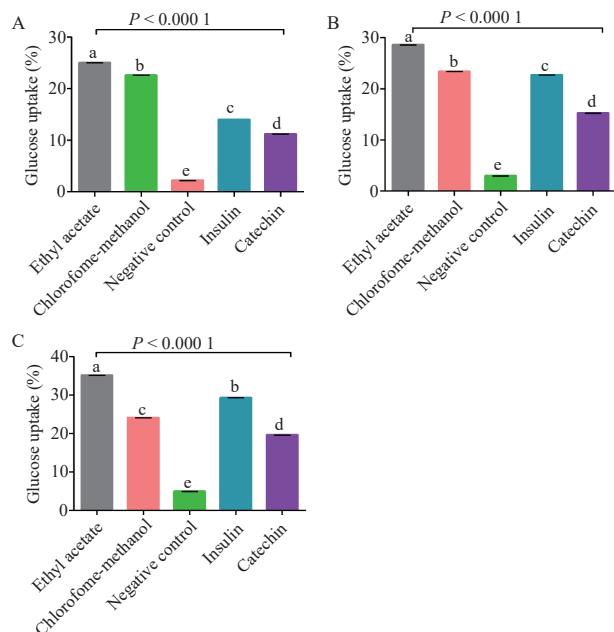
A, uptake at 15 min. B, uptake at 30 min. C, uptake at 45 min. Data were represented as mean  $\pm$  SD ( $n = 3$ ). <sup>a-e</sup> Samples not connected by the same letter are significantly different at  $P < 0.0001$  as determined by Tukey's test, and represent a classification of groups according to experimental values from the highest to the lowest.

chloroform-methanol from *Bryonia dioica* may have a direct insulin-like activity that improves peripheral glucose utilization and expresses an extra-pancreatic effect.

### 3.5 Phytochemical-target interaction network construction

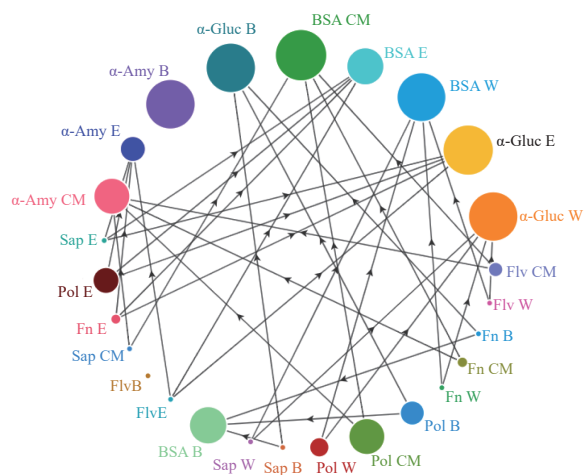
The network integrated phenolic and saponin compounds with *in vitro*  $IC_{50}$  values, visualized through nodes (colored by entity type) and links (representing interactions). As illustrated in Figure 6, source nodes included polyphenol, flavonoid, flavonol, and saponin, while target nodes consisted of  $\alpha$ -amylase,  $\alpha$ -glucosidase, and BSA. Node size correlated with phytochemical abundance and  $IC_{50}$  values: larger nodes indicated higher  $IC_{50}$  values ranging from 550.78 to 608.69  $\mu$ g/mL. Conversely, the smaller nodes represented the lowest values, which include saponins, flavonol, and flavonoid contents from the tested extracts, water-acetone, ethyl acetate, butanol, and chloroform-methanol.

In parallel, the construction of phytochemicals-targets interaction network using various bioinformatics tools revealed that compounds under investigation interacted with 67 distinct targets, while type 2 diabetes mellitus was associated with 595 gene targets. The overlap between these two sets of targets identified 36 genes that may be targeted by *Bryonia dioica*-selected compounds (Venn map of overlapped targets). The network, shown in



**Figure 5** Effects of *Bryonia dioica* ethyl acetate and chloroform-methanol root extracts (5 mg/mL) on glucose uptake by isolated rat hemidiaphragm

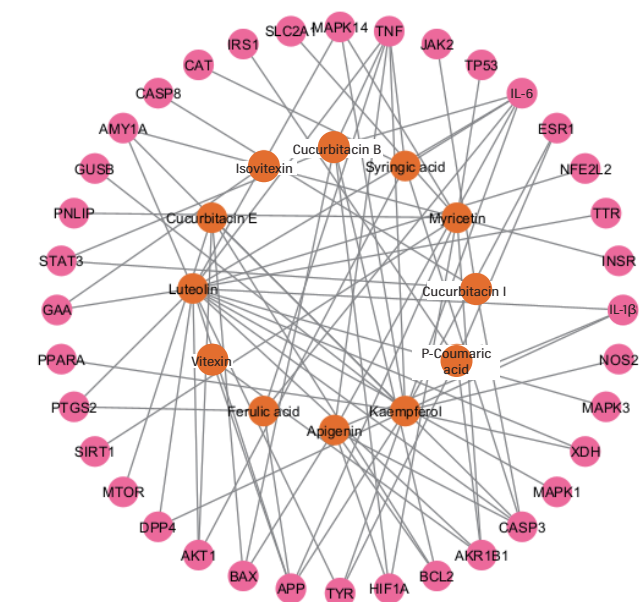
A, uptake at 15 min. B, uptake at 30 min. C, uptake at 45 min. Data were represented as mean  $\pm$  SD ( $n = 3$ ). <sup>a-e</sup> Samples not connected by the same letter are significantly different at  $P < 0.0001$  as determined by Tukey's test, and represent a classification of groups according to experimental values from the highest to the lowest.



**Figure 6** Interaction network of polyphenols and saponins in *Bryonia dioica* extracts with  $\alpha$ -amylase,  $\alpha$ -glucosidase, and BSA

W, water-acetone. E, ethyl acetate. B, butanol. CM, chloroform-methanol. Pol, polyphenol. Flv, flavonoid. Fn, flavonol. Sap, saponin.  $\alpha$ -Amy,  $\alpha$ -amylase.  $\alpha$ -Gluc,  $\alpha$ -glucosidase.

**Figure 7**, formed by twelve chosen compounds and diverse targets associated with type 2 diabetes mellitus, comprised 48 nodes and 79 edges. The network illustrated varying interactions and notable identified targets, including  $\alpha$ -amylase 1A (AMY1A),  $\alpha$ -glucosidase (GAA), signal transducer and activator of transcription 3



**Figure 7** *Bryonia dioica* selected phytochemical compounds and targets interaction network

SLC2A1, solute carrier family 2 member 1. TNF, tumor necrosis factor, JAK2, janus kinase 2. TP53, tumor protein P53. IL-6, interleukin-6. ESR1, estrogen receptor. NFE2L2, NFE2 like bZIP transcription factor 2. TTR, transthyretin. INSR, insulin receptor. IL-1 $\beta$ , interleukin-1 $\beta$ . NOS2, nitric oxide synthase 2. XDH, xanthine dehydrogenase. CASP3, caspase 3. AKR1B1, aldo-keto reductase family I member B1. BCL2, BCL2 apoptosis regulator. HIF1A, hypoxia inducible factor 1 subunit  $\alpha$ . TYR, tyrosinase. APP, amyloid- $\beta$  precursor protein. BAX, BCL2 associated X, apoptosisregulator. AKT1, AKT serine/threonine kinase 1. DPP4, dipeptidyl peptidase 4. MTOR, mechanistic target of rapamycin kinase. SIRT1, sirtuin 1. PTGS2, prostaglandin G/H synthase2. PPARA, peroxisome proliferator activated receptor  $\alpha$ . PNLIP, pancreatic triacylglycerol lipase. GUSB, glucuronidase  $\beta$ . CASP8, caspase 8. CAT, catalase. IRS1, insulin receptor substrate 1.

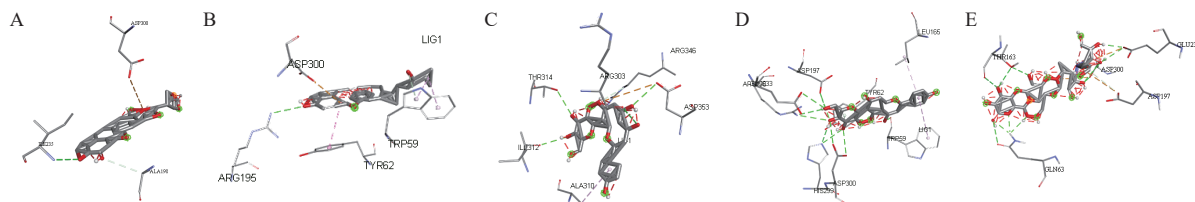
(STAT3), mitogen-activated protein kinase 1 (MAPK1), mitogen-activated protein kinase 3 (MAPK3), mitogen-activated protein kinase 14 (MAPK14), insulin receptor (INSR), and others, of which AMY1A was specifically targeted by luteolin, kaempferol, and myricetin, whereas  $\alpha$ -glucosidase was the target of luteolin and isovitexin compounds. Luteolin, kaempferol, and myricetin represent the hub nodes with the highest degrees, 18, 13, and 10 edges, respectively. However, apigenin and cucurbitacin B, respectively, interacted with 7 and 6 targets, followed by cucurbitacin E and syringic acid, which were associated with 5 targets. Likewise, cucurbitacin I, p-coumaric acid, and ferulic acid were connected with 4 targets, while isovitexin and vitexin demonstrated the least interactions with only 1 and 2 connections, respectively.

### 3.6 Molecular docking study with $\alpha$ -amylase and $\alpha$ -glucosidase

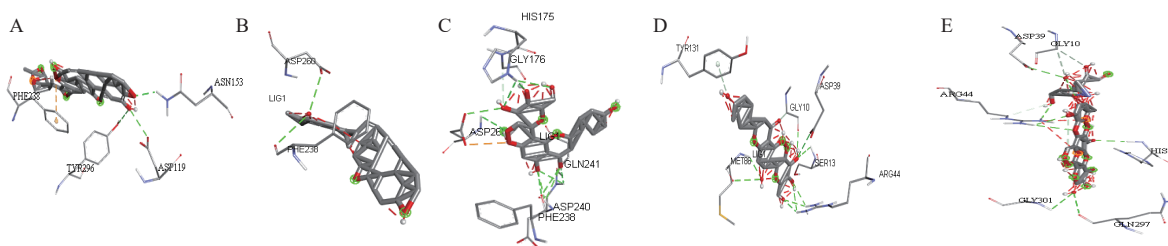
All tested molecules gave a higher binding energy score to  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase than acarbose

(Supplementary Table S1 and S2). The binding energies of the selected molecules with  $\alpha$ -amylase ranged from  $-16.4$  to  $-11.6$  kcal/mol, the binding energies being in the following order: acarbose ( $-11.4$  kcal/mol) < vitexin ( $-11.6$  kcal/mol) < isovitexin ( $-12.1$  kcal/mol) < bryogenin ( $-14.5$  kcal/mol) < cucurbitacin B ( $-16.4$  kcal/mol). Whereas, the binding energies with  $\alpha$ -glucosidase varied between  $-14.2$  and  $-10.5$  kcal/mol, in the following binding energies obtained being as follows: vitexin ( $-10.5$  kcal/mol) < acarbose ( $-10.8$  kcal/mol) < isovitexin ( $-11.5$  kcal/mol) < bryogenin ( $-12.8$  kcal/mol) < cucurbitacin B ( $-14.2$  kcal/mol). Details of the molecular docking analysis in this study are illustrated in Supplementary Table S1 and S2, and Figure 8 and 9. Cucurbitacin B showed an electrostatic interaction (positive charge attraction) with Asp300 at the  $\alpha$ -amylase catalytic site, and two hydrogen bonds with Ile235 and Ala198. For  $\alpha$ -glucosidase, cucurbitacin B exhibited three hydrogen bonds with Asn153, Asp119, and Tyr296, and an electrostatic bond (pi-cation) with Phe238. The molecular docking analysis revealed that bryogenin interacted more with  $\alpha$ -amylase than with  $\alpha$ -glucosidase. It provided one

electrostatic bond (pi-anion) with Asp300 and five hydrogen bonds with Arg195, Trp59 (pi-donor hydrogen bond; pi-alkyl), and Tyr62 (pi-pi stacked). Whereas with  $\alpha$ -glucosidase bryogenin formed hydrogen bond with Phe238 and with Asp260. Compared with other ligands, isovitexin provided the maximum interactions with the enzymes, creating eleven hydrogen bonds, three bonds with the active site residues of  $\alpha$ -amylase Asp300, Asp197, and Glu233, others with residues Arg195, Trp59, His299, and Tyr62, and one hydrophobic interaction (Alkyl) with Leu165. However, the hydrogen bonds of isovitexin were established with Ser13, Arg44, Met86, Gly10, Asp39, and Tyr131 of  $\alpha$ -glucosidase. The interactions of vitexin were mainly hydrogen bonds with residues outside the active site of  $\alpha$ -amylase (Asp353, Thr314, Arg303, Ile312, and Arg346) and of  $\alpha$ -glucosidase (Gly176, Gln241, Asp26, Asp240, and Phe238). Acarbose, used as a control, established hydrogen bonds with residues Gln63, Glu233, and Asp300, and electrostatic bonds with  $\alpha$ -amylase active site residues Asp300, Asp197, and Glu233, while its interaction with  $\alpha$ -glucosidase showed only hydrogen bonds with residues Arg44, His90, Gly301, Asp39, Gln297, and Gly10.



**Figure 8** 3D predicted binding modes of cucurbitacin (A), bryogenin (B), vitexin (C), and isovitexin (D) from *Bryonia dioica*, and acarbose (E) with  $\alpha$ -amylase (3BAJ)



**Figure 9** 3D predicted binding modes of cucurbitacin (A), bryogenin (B), vitexin (C), and isovitexin (D) from *Bryonia dioica*, and acarbose (E) with  $\alpha$ -glucosidase (1OBB)

#### 4 Discussion

Bryony's antidiabetic potential remains underexplored, with limited scientific investigations. Phytochemical analyses confirm *Bryonia dioica* is rich in C-glycosylated flavonoids (vitexin, isovitexin, apigenin 6-C-glucoside-7-O-glucoside, luteolin 6-C-glucoside-7-O-glucoside) and triterpenoid saponins (bryoniosides A-G, cabenoside, bryoamaride) [32, 33], which may mechanistically underpin its observed bioactivity.

Certain phytochemicals such as terpenes, alkaloids, polyphenols, and mainly flavonoids and phenolic acids,

have been identified as potent inhibitors of  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase [34, 35]. Momordicosides (0.67–0.87 mmol/L), cucurbitacin triterpenes isolated from fresh fruit of *Momordica charantia*, significantly inhibited the activity of  $\alpha$ -amylase (61%–70%) and  $\alpha$ -glucosidase (35%–56%) [36, 37]. In addition, vitexin and isovitexin isolated from *Ficus deltoidea* leaves showed significant inhibition of  $\alpha$ -amylase [38].

*Bryonia dioica* extracts displayed a mixed inhibition mode in the kinetics of  $\alpha$ -amylase. This type of inhibition may arise from simultaneous action of multiple phytoconstituents with both catalytic and allosteric sites of the

enzyme. Previous findings reported that acarbose and vitexin exhibit synergistic inhibition of  $\alpha$ -glucosidase, while vitexin alone provides non-competitive inhibition of this enzyme and leads to changes in its conformation [39]. In addition, gallic acid competitively inhibited  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase by interacting with their active site residues [40].

Concerning BSA antiglycation activity, the significant effect registered is mainly related to phenolic compounds and saponin, suggesting their preventive role against hyperglycemia-induced protein glycation. The inhibitory effects of polyphenols on the formation of AGEs have garnered considerable scientific attention. Polyphenols' antiglycation capacity is structurally dependent, with hydroxylation at A/B rings enhancing inhibition, while C-ring hydroxylation and flavonoid glycosylation reduce efficacy. Notably, vitexin and isovitexin (100  $\mu$ mol/L) suppressed glucose-induced BSA glycation by more than 85% [41]. Similarly, other flavonoids demonstrated an inhibitory capacity on AGEs production, such as rutin, quercetin, kaempferol, epigallocatechin, and luteolin [42].

This study provides the first report on *Bryonia dioica* root extracts effects on glucose uptake in rat hemidiaphragm, precluding direct comparison with existing literature. Previous studies have documented phytochemicals and plant extracts enhancing glucose uptake, though typically at higher concentrations [e.g., *Hybanthus enneaspermus* (25 mg/mL), *Pedaliium murex* (25 mg/mL), *Maerua pseudopetalosa* (100 mg/mL)] [43, 44]. In contrast, our extracts demonstrated significant glucose uptake enhancement at low concentrations (2.5 and 5 mg/mL). According to the literature, cucurbitacins and flavonoids, such as quercetin, catechin, epicatechin, kaempferol, rutin, naringenin, anthocyanidins, and vitexin enhance glucose uptake *in vitro* by stimulating the glucose transporter Glut4 translocation via phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K)/AKT serine/threonine kinase (AKT), Cb1-associated protein (CAP)/Cb1 proto-oncogene (Cb1)/lipid-raft-associated protein TC10 (TC10), and AMP-activated protein kinase (AMPK) pathways in adipocyte and muscle cell lines [45-47].

*Bryonia dioica* is reported to be rich in flavonoids and cucurbitacins, which were prioritized for molecular docking analysis to investigate their interactions with  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase enzymes. Specifically, cucurbitacin B, bryogenin, vitexin, and isovitexin were examined in our study. The complexes formed by cucurbitacin B/ $\alpha$ -amylase and bryogenin/ $\alpha$ -amylase have the lowest energy scores compared with the control complex acarbose/ $\alpha$ -amylase. Similarly, these compounds demonstrated superior binding affinities to  $\alpha$ -glucosidase versus other tested molecules and acarbose. Cucurbitacin B and bryogenin showed an electrostatic interaction with Asp300 of the  $\alpha$ -amylase catalytic site. These compounds exhibited, respectively, three (Asn153, Asp119, and

Tyr296) and two (Phe238 and Asp260) hydrogen bonds with  $\alpha$ -glucosidase. Isovitexin provided the maximum interactions with both enzymes, creating eleven hydrogen bonds. The molecular docking findings are in agreement with PCA and correlation heatmap analysis.

Previous study has shown that inhibitors can bind directly to Asp197, Glu233, and Asp300 amino acid side chains of  $\alpha$ -amylase active site [48]. Other residues, through their side chains, can also interact with the ligand Trp59, Tyr62, Gln63, Val98, His101, Leu162, Thr163, Leu165, Asp197, Ala198, and Glu233, whereas the residues for  $\alpha$ -glucosidase are Asp203, Thr204, Thr205, Tyr299, Asp327, Ile328, Ile364, Asp366, Trp406, Trp441, Asp443, Met444, Ser448, Phe450, Arg526, Trp539, Asp571, Phe575, Arg598, and His600 [49]. According to an earlier investigation, momordicosides, cucurbitacin compounds from fresh *Momordica charantia* fruit, provided hydrogen and Van Der Waals bonds with crucial residues of the domain A of  $\alpha$ -amylase, such as Asp300, Glu233, Glu240, Asp197, Gly308, Gly306, Gly238, Trp58, Trp59, His201, His305, Val163, Leu162, Lys200, and Ile235 [37]. Also, the triterpenoid cucurbitacins from the roots of *Siraitia grosvenorii*, have shown a high binding affinity for  $\alpha$ -glucosidase, with the formation of hydrogen bonds with the following residues: Gln279, Arg315, Asp352, Gly309, and Arg442, and hydrophobic interactions with Val319, Phe321, Asp325, Asp307, and Val308 [50]. Recent molecular docking studies have highlighted anti-diabetic potential of many natural compounds on protein targets. Cucurbitacin B, cucurbitacin E, and oleanolic acid compounds from *Luffa acutangula* (Cucurbitaceae family) were reported as potential anti-diabetic with high binding energy to insulin receptor, aldose reductase, and protein tyrosine phosphatase [51]. Flavonoids including diosmin, biochanin A, hesperidin, quercetin, and hesperetin, revealed significant affinities with phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K), with some noncovalent interactions of Lys833, Asp964, Asp841, Val882, Met953, and Ile879 residues [52]. Theaflavin 3,3'-O-digallate, naringin 4'-O-glucoside, and naringin 6'-malonate exhibit a significant number of dynamic features, such as stability, flexibility, and binding energy with protein tyrosine phosphatases PTP1B, which they may potentially be used in type 2 diabetes management [53].

While biochemical and molecular analysis may fail to identify the active compound responsible for observed effects of a raw plant extract. However, targeted screening method through various databases facilitates more rapid and straightforward identification of protein effects and pathways compared to conventional single-component analysis [54]. Multi-component drugs are increasingly prevalent for complex diseases like diabetes mellitus, as these drugs exert their effects across various systemic, tissue, and cellular levels. Network pharmacology has proven to be highly effective in elucidating the signaling

pathways by integrating experimental data to map compound-target interactions and therapeutic pathways. This approach is based on experimental data sourced from existing research literature. It may offer a comprehensive view of structural relationships between compounds and their therapeutic targets, which can be instrumental in natural compounds screening and understanding their mechanisms of action [54]. In the current study, a network investigation was carried out to visualize interactions between *Bryonia dioica* phytochemicals and targets related to diabetes mellitus. The limited number of phytochemical compounds from *Bryonia dioica* and their targets associated with diabetes mellitus are supported by limited scientific work published on *in vivo* and *in vitro* molecular studies of anti-diabetic effect of this plant. The main published work focuses on the anti-inflammatory and anti-cancer properties of *Bryonia dioica* extracts, which were revealed in our network analysis with high interactions of cucurbitacins and polyphenols with the following targets: TNF, IL-6, IL-1 $\beta$ , JAK2, STAT3, CASP3, and CASP8. Meanwhile, the phytochemical-targets network findings revealed an interaction of cucurbitacin and phenolic compounds with  $\alpha$ -amylase,  $\alpha$ -glucosidase, and Glut4 translocation signaling pathway, which confirms our promising experimental results. This investigation highlighted cucurbitacins, polyphenols, and flavonoids as promising anti-diabetic phytoconstituents, which corroborate previous reports [55, 56]. Comparative target analysis highlighted luteolin and kaempferol as top interactors with type 2 diabetes mellitus targets (vs. minimal vitexin interactions) [54].

In summary, our findings indicate that *Bryonia dioica* root extracts can effectively mitigate hyperglycemia and its complications through multifaceted mechanisms. *Bryonia dioica* root extracts can inhibit digestive enzyme  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase, inhibit AGE production, as well as enhance glucose uptake by peripheral tissues. Molecular docking and network analysis demonstrated that *Bryonia dioica* phytocompounds exert their effects by bonding with enzyme active sites through hydrogen bonding and modulating the Glut4 translocation signaling pathway. This study, considered to be the first report on the *in vitro* evaluation of anti-diabetic effects, provides experimental information on the effectiveness of *Bryonia dioica* in treating type 2 diabetes mellitus. Our focus on enzymatic inhibitory activity, protein antiglycation, and glucose utilization, offers important perspectives on the anti-diabetic properties of *Bryonia dioica in vitro*. However, it is essential to recognize certain limitations. For instance, mechanisms such as insulin secretagogue activity and glucose utilization in 3T3-L1 adipocytes remain unexplored. Further investigations into additional molecular targets, signaling pathways, and cell models are warranted to fully elucidate the therapeutic scope of *Bryonia dioica*.

## 5 Conclusion

This study reported the *in vitro* anti-diabetic effect of *Bryonia dioica* root extracts. *In vitro* results revealed an impact on glucose uptake by the isolated rat hemidiaphragm, a significant inhibition of BSA glycation, as well as a promising inhibitory capacity against  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase activities with a mixed inhibition mode of  $\alpha$ -amylase's kinetics. Molecular docking analysis revealed that major constituents of *Bryonia dioica* roots, such as cucurbitacins and flavonoids, interact within and outside the active sites of  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase. The results are further substantiated by a phytochemical-targets interaction network, which indicated interactions between cucurbitacin and phenolic compounds with  $\alpha$ -amylase,  $\alpha$ -glucosidase, and the signaling pathway targets involved in Glut4 translocation. Therefore, *Bryonia dioica* may provide a potential source for new anti-diabetic agent development and may offer a better therapeutic approach for treating hyperglycemia and its complications.

## Competing interests

The authors declare no conflict of interest.

## References

- [1] LANKATILLAKE C, HUYNH T, DIAS DA. Understanding glycaemic control and current approaches for screening antidiabetic natural products from evidence-based medicinal plants. *Plant Methods*, 2019, 15: 105.
- [2] International Diabetes Federation. IDF Diabetes Atlas, 11th ed. Belgium: 2025. Available from: <https://diabetesatlas.org>.
- [3] OYEBODE OA, ERUKAINURE OL, CHUKWUMA CI, et al. Boerhaavia diffusa inhibits key enzymes linked to type 2 diabetes *in vitro* and *in silico*; and modulates abdominal glucose absorption and muscle glucose uptake *ex vivo*. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2018, 106: 1116–1125.
- [4] SRINIVASAN K, RAMARAO P. Animal models in type 2 diabetes research: an overview. *The Indian Journal of Medical Research*, 2007, 125(3): 451–472.
- [5] DILEEP KV, NITHIYANANDAN K, REMYA C. Binding of acarbose, an anti-diabetic drug to lysozyme: a combined structural and thermodynamic study. *Journal of Biomolecular Structure & Dynamics*, 2018, 36(13): 3354–3361.
- [6] MADARIAGA-MAZÓN A, NAVEJA JJ, MEDINA-FRANCO JL, et al. DiaNat-DB: a molecular database of antidiabetic compounds from medicinal plants. *RSC Advances*, 2021, 11(9): 5172–5178.
- [7] SUN LJ, WARREN FJ, GIDLEY MJ. Natural products for glycaemic control: polyphenols as inhibitors of alpha-amylase. *Trends in Food Science & Technology*, 2019, 91: 262–273.

- [8] BENARBA B, BELABID L, RIGHI K, et al. Ethnobotanical study of medicinal plants used by traditional healers in Mascara (North West of Algeria). *Journal of Ethnopharmacology*, 2015, 175: 626–637.
- [9] BOUAFIA M, AMAMOU F, GHERIB M, et al. Ethnobotanical and ethnomedicinal analysis of wild medicinal plants traditionally used in Naâma, southwest Algeria. *Vegetos*, 2021, 34(3): 654–662.
- [10] BENARBA B, MEDDAH B, AOUES A. *Bryonia dioica* aqueous extract induces apoptosis through mitochondrial intrinsic pathway in BL41 Burkitt's lymphoma cells. *Journal of Ethnopharmacology*, 2012, 141(1): 510–516.
- [11] KADHIM EJ. Phytochemical investigation and hepato-protective studies of Iraqi *Bryonia dioica* (Family Cucurbitaceae). *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 2014, 6(4): 187–90.
- [12] SALLAM AA, HITOTSUYANAGI Y, MANSOUR ES, et al. Cucurbitacins from *Bryonia cretica*. *Phytochemistry Letters*, 2010, 3(3): 117–121.
- [13] KUMAR S, MADAAN R, GAHLOT K, et al. The genus *Bryonia*: A review. *Pharmacognosy Reviews*, 2008, 2(4): 392.
- [14] CHEKROUN E, BENARIBA N, ADIDA H, et al. Antioxidant activity and phytochemical screening of two Cucurbitaceae: *Citrullus colocynthis* fruits and *Bryonia dioica* roots. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 2015, 5(8): 632–637.
- [15] KHAMEES AH, KADHIM EJ, SAHIB HB, et al. *In vitro* analysis of antioxidant and antimicrobial activity of Iraqi *Bryonia dioica*. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 2017, 43(1): 248–252.
- [16] BENARBA B, ELMALLAH A, PANDIELLA A. *Bryonia dioica* aqueous extract induces apoptosis and G2/M cell cycle arrest in MDA-MB 231 breast cancer cells. *Molecular Medicine Reports*, 2019, 20(1): 73–80.
- [17] CHEKROUN E, BECHIRI A, AZZI R, et al. Antidiabetic activity of two aqueous extracts of two Cucurbitaceae: *Citrullus colocynthis* and *Bryonia dioica*. *Phytothérapie*, 2017, 15(2): 57–66.
- [18] LAOUFI H, BENARIBA N, ADJDIR S, et al. *In vitro*  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activity of *Ononis angustissima* extracts. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 2017, 7(2): 191–198.
- [19] ADJDIR S, BENARIBA N, EL HACI IA, et al. Antioxidant activity and phenolic compounds identification of *Micromeria inodora* (Desf.) Benth. from Western Algeria. *Natural Product Research*, 2021, 35(17): 2963–2966.
- [20] KUMARAN A, JOEL KARUNAKARAN R. *In vitro* antioxidant activities of methanol extracts of five *Phyllanthus* species from India. *LWT-Food Science and Technology*, 2007, 40(2): 344–352.
- [21] HIAI S, OURA H, NAKAJIMA T. Color reaction of some saponin and saponins with vanillin and sulfuric acid. *Planta Medica*, 1976, 29(2): 116–122.
- [22] PATEL SB, SANTANI D, PATEL V, et al. Anti-diabetic effects of ethanol extract of *Bryonia laciniosa* seeds and its saponins rich fraction in neonatally streptozotocin-induced diabetic rats. *Pharmacognosy Research*, 2015, 7(1): 92–99.
- [23] KIM YM, JEONG YK, WANG MH, et al. Inhibitory effect of pine extract on  $\alpha$ -glucosidase activity and postprandial hyperglycemia. *Nutrition*, 2005, 21(6): 756–761.
- [24] LEE HS. Cuminaldehyde: aldose reductase and  $\alpha$ -glucosidase inhibitor derived from *Cuminum cyminum* L. seeds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2005, 53(7): 2446–2450.
- [25] YAO XC, ZHU L, CHEN YX, et al. *In vivo* and *in vitro* antioxidant activity and  $\alpha$ -glucosidase,  $\alpha$ -amylase inhibitory effects of flavonoids from *Cichorium glandulosum* seeds. *Food Chemistry*, 2013, 139(1/2/3/4): 59–66.
- [26] VINSON JA, HOWARD TB. Inhibition of protein glycation and advanced glycation end products by ascorbic acid and other vitamins and nutrients. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 1996, 7(12): 659–663.
- [27] YOON SR, SHIM SM. Inhibitory effect of polyphenols in *Houttuynia cordata* on advanced glycation end-products (AGEs) by trapping methylglyoxal. *LWT-Food Science and Technology*, 2015, 61(1): 158–163.
- [28] CHATTOPADHYAY RR, SARKAR SK, GANGULY S, et al. Effect of extract of leaves of *Vinca rosea* Linn. on glucose utilization and glycogen deposition by isolated rat hemidiaphragm. *Indian Journal of Physiology and Pharmacology*, 1992, 36(2): 137–138.
- [29] RAVI S, SADASHIVA CT, TAMIZMANI T, et al. *In vitro* glucose uptake by isolated rat hemidiaphragm study of *Aegle marmelos* Correa root. *Bangladesh Journal of Pharmacology*, 2009, 4(1): 65–68.
- [30] TROTT O, OLSON AJ. AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. *Journal of Computational Chemistry*, 2010, 31(2): 455–461.
- [31] VINA D, ALBUMIN HS, OCTANOATE S, et al. How to perform docking specific binding site using AutoDock Vina? 2020. Available from: [https://bioinformaticsreview.com/20161214/how-to-perform-docking-in-a-specific-binding-site-using-autodock-vina/?utm\\_source=chatgpt.com](https://bioinformaticsreview.com/20161214/how-to-perform-docking-in-a-specific-binding-site-using-autodock-vina/?utm_source=chatgpt.com).
- [32] BARREIRA JCM, PEREIRA E, DUEÑAS M, et al. *Bryonia dioica*, *Tamus communis* and *Lonicera periclymenum* fruits: characterization in phenolic compounds and incorporation of their extracts in hydrogel formulations for topical application. *Industrial Crops and Products*, 2013, 49: 169–176.
- [33] RAFAEL M, BARROS L, CARVALHO AM, et al. Topical anti-inflammatory plant species: bioactivity of *Bryonia dioica*, *Tamus communis* and *Lonicera periclymenum* fruits. *Industrial Crops and Products*, 2011, 34(3): 1447–1454.

- [34] TUNDIS R, LOIZZO MR, MENICHINI F. Natural products as alpha-amylase and alpha-glucosidase inhibitors and their hypoglycaemic potential in the treatment of diabetes: an update. *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*, 2010, 10(4): 315–331.
- [35] YIN ZH, ZHANG W, FENG FJ, et al.  $\alpha$ -Glucosidase inhibitors isolated from medicinal plants. *Food Science and Human Wellness*, 2014, 3(3/4): 136–174.
- [36] PERERA WH, SHIVANAGOUDRA SR, PÉREZ JL, et al. Anti-inflammatory, antidiabetic properties and *in silico* modeling of cucurbitane-type triterpene glycosides from fruits of an Indian cultivar of *Momordica charantia* L. *Molecules*, 2021, 26(4): 1038.
- [37] SHIVANAGOUDRA SR, PERERA WH, PEREZ JL, et al. Cucurbitane-type compounds from *Momordica charantia*: isolation, *in vitro* antidiabetic, anti-inflammatory activities and *in silico* modeling approaches. *Bioorganic Chemistry*, 2019, 87: 31–42.
- [38] ABU BAKAR AR, MANAHARAN T, MERICAN AF, et al. Experimental and computational approaches to reveal the potential of *Ficus deltoidea* leaves extract as  $\alpha$ -amylase inhibitor. *Natural Product Research*, 2018, 32(4): 473–476.
- [39] ABDULAI IL, KWOFIE SK, GBEWONYO WS, et al. Multitargeted effects of vitex in and isovitexin on diabetes mellitus and its complications. *The Scientific World Journal*, 2021, 2021: 6641128.
- [40] KOKILA NR, MAHESH B, RAMU R, et al. Inhibitory effect of gallic acid from *Thunbergia mysorensis* against  $\alpha$ -glucosidase,  $\alpha$ -amylase, aldose reductase and their interaction: inhibition kinetics and molecular simulations. *Journal of Biomolecular Structure & Dynamics*, 2023, 41(20): 10642–10658.
- [41] WU XQ, ZHANG GW, HU X, et al. Inhibitory effect of epicatechin gallate on protein glycation. *Food Research International*, 2019, 122: 230–240.
- [42] ZHAO WB, CAI PJ, ZHANG N, et al. Inhibitory effects of polyphenols from black chokeberry on advanced glycation end-products (AGEs) formation. *Food Chemistry*, 2022, 392: 133295.
- [43] PATEL DK, KRISHNAMURTHY S, HEMALATHA S. Evaluation of glucose utilization capacity of bioactivity guided fractions of *Hybanthus enneaspermus* and *Pedaliium murex* in isolated rat hemidiaphragm. *Journal of Acute Disease*, 2013, 2(1): 33–36.
- [44] SULAIMAN HE, ELHADYAH T, HAMED WH, et al. The effect of *Maerua pseudopetalosa* ethanolic extract on glucose tolerance and glucose uptake in rat hemidiaphragm. *International Journal of Multidisciplinary Research and Development*, 2015, 11: 359–362.
- [45] SOK YEN F, QIN CS, XUAN STS, et al. Hypoglycemic effects of plant flavonoids: a review. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2021, 2021: 2057333.
- [46] DRISSI F, LAHFA F, GONZALEZ T, et al. A *Citrullus colocynthis* fruit extract acutely enhances insulin-induced GLUT4 translocation and glucose uptake in adipocytes by increasing PKB phosphorylation. *Journal of Ethnopharmacology*, 2021, 270: 113772.
- [47] GAYATHRI GA, KAVYA P, ASHWINI D, et al. Vitexin isolated from *Acanthus ilicifolius* L. leaf enhances GLUT-4 translocation in experimental diabetic rats. *Aquaculture International*, 2023, 31(6): 3159–3187.
- [48] OGBOYE RM, PATIL RB, FAMUYIWA SO, et al. Novel  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase inhibitors from selected Nigerian antidiabetic plants: an *in silico* approach. *Journal of Biomolecular Structure & Dynamics*, 2022, 40(14): 6340–6349.
- [49] ABDELLI I, BENARIBA N, ADJDIR S, et al. *In silico* evaluation of phenolic compounds as inhibitors of  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 2021, 39(3): 816–822.
- [50] LU FL, SUN JY, JIANG XH, et al. Identification and isolation of  $\alpha$ -glucosidase inhibitors from *Siraitia grosvenorii* roots using bio-affinity ultrafiltration and comprehensive chromatography. *International Journal of Molecular Sciences*, 2023, 24(12): 10178.
- [51] HASAN R, HEROWATI R, WIDODO GP. Molecular docking and pharmacokinetic prediction of potential compounds from *Luffa acutangula* as antidiabetic candidates. *Pharmacy*, 2023, 20(1): 71.
- [52] HASSAN MA, ELMAGEED GMA, EL-QAZAZ IG, et al. The synergistic influence of polyflavonoids from *Citrus aurantifolia* on diabetes treatment and their modulation of the PI3K/AKT/FOXO1 signaling pathways: molecular docking analyses and *in vivo* investigations. *Pharmaceutics*, 2023, 15(9): 2306.
- [53] KABRA U & KHONA P. Molecular docking and dynamic simulation analysis of natural polyphenols for identifying potential PTP1B inhibitors for type 2 diabetes. *Indian Journal of Chemistry*, 2024, 63(5): 506–517.
- [54] MOULAHOUH H, GHORBANIZAMANI F, KHIARI Z, et al. *Artemisia* alleviates AGE-induced liver complications via MAPK and RAGE signaling pathways modulation: a combinatorial study. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 2022, 477(10): 2345–2357.
- [55] SINGH P, JAYARAMAIAH RH, AGAWANE SB, et al. Potential dual role of eugenol in inhibiting advanced glycation end products in diabetes: proteomic and mechanistic insights. *Scientific Reports*, 2016, 6: 18798.
- [56] HALAYAL RY, BAGEWADI ZK, MALIGER RB, et al. Network pharmacology based anti-diabetic attributes of bioactive compounds from *Ocimum gratissimum* L. through computational approach. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 2023, 30(9): 103766.

## 基于分子对接的泻根提取物体外抗糖尿病活性研究

Zohra Fekhikher<sup>a</sup>, Nabila Benariba<sup>a\*</sup>, Brixi Gormat Radia<sup>a</sup>, Reda Hassain<sup>b</sup>, Imen Abdelli<sup>c</sup>, Fatima Z. Sekkal<sup>d</sup>, Youssef Kachekouche<sup>e</sup>, Warda Taibif<sup>f</sup>, Sohayb Bekkal Brikci<sup>g</sup>, Mohammed Terki<sup>a</sup>, Hanane Benramdane<sup>a</sup>, Sara Adjdir<sup>a</sup>

*a. Laboratory of Antibiotic, Antifungal, Physical Chemistry, Synthesis and Biological Activity, Department of Biology, Faculty of Nature and Life Sciences (SNV-STU), Abou Bekr Belkaïd University, Tlemcen 13000, Algeria*

*b. Center for Scientific and Technical Research in Physico-Chemical Analysis (CRAPC), Bou-Ismaïl, Tipaza 42004, Algeria*

*c. Ecole Supérieure en Sciences Appliquées (ESSA-Tlemcen), Algeria and Laboratory of Natural and Bioactive Substances, Faculty of Science, University of Tlemcen, Tlemcen 13000, Algeria*

*d. Department of Biotechnology, Faculty of Natural and Life Sciences, Abdelhamid Ibn Badis University of Mostaganem, Mostaganem 27000, Algeria*

*e. Analytical Chemistry and Electrochemistry Laboratory, Department of Biology, Hassiba Benbouali University of Chlef, Chlef 02000, Algeria*

*f. Laboratory of Applied Genetics in Agriculture, Ecology and Public Health (GenApAgiE), Faculty of Nature and Life Sciences (SNV-STU), Abou Bekr Belkaïd University, Tlemcen 13000, Algeria*

*g. Laboratory of Ecology and Management of Natural Ecosystems, Faculty of Nature and Life Sciences (SNV-STU), Abou Bekr Belkaïd University, Tlemcen 13000, Algeria*

**【摘要】目的** 评价泻根根部水-丙酮提取物及其乙酸乙酯组分和丁醇组分，以及氯仿-甲醇提取物的体外抗糖尿病作用。**方法** 分别用福-乔试剂、三氯化铝和香草醛试剂采用比色法测定泻根提取物（氯仿-甲醇提取物、水-丙酮提取物及其乙酸乙酯和丁醇组分）中的总酚、黄酮、黄酮醇和皂苷含量。通过测定这些提取物对 $\alpha$ -淀粉酶和 $\alpha$ -葡萄糖苷酶活性的半抑制浓度（ $IC_{50}$ ）值，评价其对 $\alpha$ -淀粉酶动力学的影响，评价其体外抗糖尿病活性。采用荧光测定法定量测定对牛血清白蛋白（BSA）糖基化的抑制作用，以评估晚期糖基化终末产物的生成，并通过离体大鼠半隔膜测定葡萄糖摄取。此外，进行了分子对接分析，以研究泻根配体（葫芦素 B、泻根苦素、牡荆素和异牡荆素）与 $\alpha$ -淀粉酶和 $\alpha$ -葡萄糖苷酶之间的结合亲和力和相互作用类型。同时构建了植物化学-靶标相互作用网络。**结果** 对于 $\alpha$ -淀粉酶抑制作用，乙酸乙酯部分表现出最强的活性（ $IC_{50} = 145.95 \mu\text{g/mL}$ ），其次是氯仿-甲醇提取物（ $IC_{50} = 300.86 \mu\text{g/mL}$ ）。水-丙酮根提取物及其组分对 $\alpha$ -葡萄糖苷酶活性有抑制作用， $IC_{50}$  值为 562.88 - 583.90  $\mu\text{g/mL}$ 。乙酸乙酯和丁醇组分强烈抑制非酶 BSA 糖基化， $IC_{50}$  分别为 318.26 和 323.12  $\mu\text{g/mL}$ 。离体大鼠膈肌与乙酸乙酯组分（5 mg/mL）孵育显著增加葡萄糖摄取（35.16%），超过胰岛素（0.4 IU/mL；29.27%）、氯仿-甲醇提取物（24.07%）和儿茶素（15.27%）的作用。葫芦素 B 与 $\alpha$ -淀粉酶（-16.4 kcal/mol）和 $\alpha$ -葡萄糖苷酶（-14.2 kcal/mol）的对接评分最强。与其他配体相比，异牡荆素与 $\alpha$ -淀粉酶活性位点残基（Asp300、Asp197 和 Glu233）和 $\alpha$ -葡萄糖苷酶残基（Ser13、Arg44、Met86、Gly10、Asp39 和 Tyr131）以及其他残基（Arg195、Trp59、His299 和 Tyr62）形成最大数量的氢键。网络分析发现泻根植物化学成分与 2 型糖尿病相关基因之间存在 36 个重叠靶点，其中葫芦素类和多酚类化合物与 $\alpha$ -淀粉酶、 $\alpha$ -葡萄糖苷酶以及 Glut4 转位通路靶点发生相互作用。**结论** 体外研究表明，泻根提取物具有较好抗糖尿病活性。对消化酶的抑制作用、蛋白抗糖基化潜能和葡萄糖摄取的增强提示了泻根提取物可能通过调节高血糖及其并发症的机制。该种属可能成为管理 2 型糖尿病的新型抗糖尿病药物的潜在来源。

**【关键词】** 泻根；葡萄糖摄取；蛋白质糖基化； $\alpha$ -淀粉酶； $\alpha$ -葡萄糖苷酶；分子对接；相互作用网络

تعد دراسة التأثيرات البيولوجية لمستخلصات النباتات الطبية والعطرية مجالاً واعداً للغاية في مجال البحث. ومن هذا المنطلق يتمحور هدف هذه الدراسة حول التحليل الكيميائي النباتي والبحث المختبري عن النشاط المضاد للأكسدة، المضاد للسكري والمضاد للإلتهاب للمستخلصات المائية والعضوية المحضرة من جذور نبتة عنب الديب *Bryonia dioica* وثمار الحنظل *Citrullus colocynthis*. أظهرت نتائج التحليل النباتي الكيميائي للمستخلصات المختلفة لـ *B. dioica* مستويات عالية من البوليفينول (82.06 إلى 299.51 مكغ معادل لحمض غاليك/مغ المستخلص) ومعتدلة من الفلافونويد (3.76 إلى 49.09 مكغ معادل كاتشين/مغ المستخلص). تتراوح هذه المعدلات في *C. colocynthis* بين 81.98 و 266.32 مكغ معادل لحمض غاليك/مغ المستخلص و 4.75 إلى 99.82 معادل كاتشين/مغ المستخلص. في حين سجلت مستويات منخفضة من الفلافونول والصونين في جميع المستخلصات. وقد سمح التحليل الكروماتوغرافي LC-MS بتحديد بعض الفلافونويدات ومشتقات الكومارين في مستخلص أسيتات الإيثيل ومستخلص الكلوروفورم-ميثانول من نبتة عنب الديب، على غرار الكريسبين O-7-نيوهيسبيريدوسيد، البيوسبيريرين O-7-نيوهيسبيريدوسيد والإيزوروفولين. بينما تم تحديد كامفيرول وغلوكوزيد وأبيجينين وغلوكوزيد ومشتقات الكومارين في مستخلصات الحنظل. من جهة أخرى، أظهرت نتائج النشاط المضاد للأكسدة قدرة المستخلصات المحضرة من *B. dioica* و *C. colocynthis* على: التقاط الجذور الحرة (DPPH)  $IC_{50} \geq 293$  (مكغ/مل)، إرجاع الحديد (FRAP)  $EC_{50} \geq 535.91$  (مكغ/مل)، تثبيط تبييض  $\beta$ -كاروتين  $IC_{50} \geq 222.05$  (مكغ/مل) وحماية أغشية خلايا الدم الحمراء من هجوم الجذور الحرة الناتجة عن التفكك الحراري لأAPH  $IC_{50} \geq 8.78$  (مكغ/مل). كما أظهر النشاط المضاد للسكري الذي تم تقييمه في المختبر تثبيطاً يعتمد على الجرعة لنشاط  $\alpha$  أميلاز بواسطة مستخلصات *B. dioica*  $IC_{50} \geq 145.95$  (مكغ/مل) و *C. colocynthis*  $IC_{50} \geq 63.75$  (مكغ/مل)، خاصة مستخلصات أسيتات الإيثيل من مستخلصات ماء-أسيتون ومستخلصات الكلوروفورم-ميثانول لكلا النوعين، والتي ضمننت تثبيطاً مختلطاً لحركية  $\alpha$ -أميلاز. وبالمثل، تم تثبيط نشاط  $\alpha$ -جلوكوزيداز بواسطة مستخلصات *B. dioica*  $IC_{50} \geq 449.80$  (مكغ/مل) و *C. colocynthis*  $IC_{50} \geq 287.65$  (مكغ/مل). فيما يتعلق بالتأثير المثبط للغلوكوزيد غير الإنزيمية للألبومين، أظهرت المستخلصات المختبرة تأثيراً مثبطاً مرتفعاً بشكل ملحوظ ( $p \leq 0.0001$ ) لمستخلصات *C. colocynthis*  $IC_{50} \geq 84.36$  (مكغ/مل) و *B. dioica*  $IC_{50} \geq 228.12$  (مكغ/مل). كما حفزت مستخلصات الكلوروفورم-ميثانول ومستخلصات أسيتات الإيثيل بشكل يعتمد على الجرعة (2.5 و 5 مكغ/مل) امتصاص الجلوكوز بواسطة الحجاب الحاجز (11.33 إلى 46.17٪)، وهذا التأثير مهم مقارنة بتأثير الأنسولين (0.4 وحدة دولية/مل؛ 29.27٪) والكاتشين (5 مكغ/مل؛ 19.60٪). كما سجل تأثير مضاد للإلتهابات بنحو مرتفع في مستخلص أسيتات الإيثيل من *B. dioica* الذي أدى إلى تثبيط كبير ( $p \leq 0.0001$ ) لنشاط الليبوكسيجيناز  $IC_{50} = 20.48$  (مكغ/مل) مقارنة بتأثير مستخلص الكلوروفورم-ميثانول من *C. colocynthis*  $IC_{50} = 205.70$  (مكغ/مل)، وهو ما يماثل تأثير حمض الغاليك ( $IC_{50} = 19.35$  مكغ/مل) وحمض النورديبيدروغواياريتيك ( $IC_{50} = 36.49$  مكغ/مل). كشف تحليل الخواص الحرارية عن وجود ارتباط قوي بين البوليفينول والفلافونويد ومعظم الأنشطة البيولوجية في النبتتين المدروستين. وقد تأكدت هذه النتائج من خلال تحليل الانحمام الجزيئي الذي كشف عن تفاعل الفلافونويدات مع الموقع التحفيزي لـ  $\alpha$ -أميلاز ( $Asp^{300}$ ،  $Ile^{235}$  و  $Ala^{198}$ ) و- $\alpha$  جلوكوزيداز ( $Tyr^{131}$ ،  $Asp^{39}$ ،  $Gly^{10}$ ،  $Met^{86}$ ،  $Arg^{44}$ ،  $Ser^{13}$ ). وبالمثل، أظهرت نتائج تحليل شبكة التفاعل (Network) بين المكونات الفيتوكيميائية للنوعين المدروسين والإنزيمات والبروتينات الرئيسية المشاركة في المسارات الأيضية والإشارات الخاصة بمرض السكري والإجهاد التأكسدي والإلتهابات، تفاعلاً مع  $\alpha$ -أميلاز و- $\alpha$  جلوكوزيداز، انتقال GLUT 4، IL-6، TNF، MAPK و STAT3. في الختام، أكدت جميع النتائج التي تم الحصول عليها في المختبر وحاسوبياً الخصائص المضادة لمرض السكري والمضادة للأكسدة والمضادة للإلتهابات لـ *B. dioica* و *C. colocynthis*، مما يمنح هذين النوعين إمكانية أن يشكلوا مصدراً للجزيئات العلاجية البديلة.

**الكلمات المفتاحية:** *Bryonia dioica*، *Citrullus colocynthis*، التحليل الكروماتوغرافي LC-MS، مضاد للأكسدة، مضاد للسكري، مضاد للإلتهابات.

## Résumé

La mise en valeur des effets biologiques des extraits de plantes médicinales et aromatiques constitue une voie de recherche très prometteuse. Dans cette optique s'articule l'objectif de la présente étude, qui porte sur l'analyse phytochimique et la recherche *in vitro* de l'activité antioxydante, antidiabétique et anti-inflammatoire des extraits aqueux, chloroforme-méthanol ainsi que les extraits hydro-acétone et leurs fractions acétate d'éthyle et n-butanol, préparés à partir des racines de *Bryonia dioica* et des fruits de *Citrullus colocynthis*. Les résultats de l'analyse phytochimique des différents extraits et fractions de *B. dioica* ont révélé des taux élevés en polyphénols (82,06 à 299,51  $\mu\text{g Eq AG/mgE}$ ) et modérés en flavonoïdes (3,76 à 49,09  $\mu\text{g Eq C/mgE}$ ). Dans *C. colocynthis* ces taux varient entre 81,98 et 266,32  $\mu\text{g Eq AG/mgE}$  ; et de 4,75 à 99,82  $\mu\text{g Eq C/mgE}$ . Cependant, les différents extraits des plantes étudiées ont enregistré de faibles teneurs en flavonols et en saponins. L'analyse chromatographique LC-MS a permis d'identifier dans la fraction acétate d'éthyle et l'extrait chloroforme-méthanol de la bryone certains flavonoïdes et dérivés de coumarines, la chrysin 7-O-néohesperidoside ; la pinocembrine 7-O-néohesperidoside et l'isorhoifolin. Tandis que, le kaempférol glucoside, l'apigénine glucoside et les dérivés de coumarines ont été identifiés dans les extraits de la coloquinte. Les résultats de l'activité antioxydante, ont montré la capacité des extraits et fractions de *B. dioica* et de *C. colocynthis* à piéger le radical libre le DPPH ( $293 \leq IC_{50} \leq 867,08 \mu\text{g/mL}$ ), réduire le fer ferrique ( $535,91 \leq EC_{50} \leq 1668 \mu\text{g/mL}$ ), inhiber le blanchiment de la  $\beta$ -carotène ( $22,05 \leq IC_{50} \leq 175,19 \mu\text{g/mL}$ ), et à protéger les membranes des globules rouges contre l'attaque radicalaire induite par le radical APPH ( $8,78 \leq IC_{50} \leq 119,90 \mu\text{g/mL}$ ). L'activité antidiabétique évaluée *in vitro* a révélé une inhibition dose-dépendante de l'activité de l' $\alpha$ -amylase par les extraits de *B. dioica* ( $145,95 \leq IC_{50} \leq 963,06 \mu\text{g/mL}$ ) et *C. colocynthis* ( $63,75 \leq IC_{50} \leq 594 \mu\text{g/mL}$ ), en particulier les fractions acétate d'éthyle des extraits eau-acétone et les extraits chloroforme-méthanol des deux espèces, qui ont assuré une inhibition mixte de la cinétique de l' $\alpha$ -amylase. De même, l'activité de l' $\alpha$ -glucosidase a été inhibée par les extraits de *B. dioica* ( $449,80 \leq IC_{50} \leq 583,90 \mu\text{g/mL}$ ) et *C. colocynthis* ( $287,65 \leq IC_{50} \leq 575,22 \mu\text{g/mL}$ ). En ce qui concerne l'effet inhibiteur de la glycation non enzymatique de BSA, les extraits testés ont révélé un effet inhibiteur significativement élevé ( $p \leq 0,0001$ ) des extraits de *C. colocynthis* ( $84,36 \leq IC_{50} \leq 220,78 \mu\text{g/mL}$ ) et de *B. dioica* ( $228,12 \leq IC_{50} \leq 3545,27 \mu\text{g/mL}$ ). Les extraits chloroforme-méthanol et les fractions acétate d'éthyle ont stimulé de manière dose dépendante (2,5 et 5mg/mL) la captation du glucose par l'hémi-diaphragme (11,33 à 46,17%), cet effet est intéressant par rapport à l'effet de l'insuline (0,4 UI/mL; 29,27%) et de la catéchine (5mg/mL; 19,60 %). Un effet anti-inflammatoire significatif a été également enregistré dans la fraction acétate d'éthyle de *B. dioica* qui a inhibé ( $p \leq 0,0001$ ) l'activité de la lipoxygénase ( $IC_{50} = 20,48 \mu\text{g/mL}$ ), ce dernier a été meilleur que l'effet de l'extrait chloroforme-méthanol de *C. colocynthis* ( $IC_{50} = 205,70 \mu\text{g/mL}$ ), et comparable à l'effet de l'acide gallique ( $IC_{50} = 19,35 \mu\text{g/mL}$ ) et l'acide nordihydroguaiarétique ( $IC_{50} = 36,49 \mu\text{g/mL}$ ). L'analyse des cartes thermiques a mis en évidence au niveau des deux plantes étudiées une forte corrélation entre les polyphénols et les flavonoïdes et la majorité des activités biologiques. Cette analyse a été confirmée par l'analyse du docking moléculaire qui a révélé une interaction des flavonoïdes avec les résidus du site catalytique et hors le site catalytique de l' $\alpha$ -amylase ( $Asp^{300}$ ,  $Ile^{235}$  et  $Ala^{198}$ ) et de l' $\alpha$ -glucosidase ( $Ser^{13}$ ,  $Arg^{44}$ ,  $Met^{86}$ ,  $Gly^{10}$ ,  $Asp^{39}$ , et  $Tyr^{131}$ ). De même, l'analyse des résultats du réseau d'interaction (Network) des phytoconstituants des espèces étudiées avec les enzymes et les protéines clés impliquées dans les voies métaboliques et de signalisations du diabète sucré, du stress oxydatif, et de l'inflammation, a enregistré une interaction avec l' $\alpha$ -amylase, l' $\alpha$ -glucosidase, la translocation des GLUT 4, IL-6 et TNF, MAPK et STAT3. En conclusion l'ensemble des résultats obtenus *in vitro* et *in silico* ont potentiellement confirmé les propriétés antidiabétique, antioxydante, et anti-inflammatoire de *B. dioica* et *C. colocynthis*, ce qui confère à ces espèces l'éventualité de constituer une source de molécules thérapeutiques alternatives.

**Mots clés :** *Bryonia dioica*, *Citrullus colocynthis*, analyse LC-MS, antioxydant, antidiabétique, anti-inflammatoire.

## Abstract

Enhancing the biological effects of medicinal and aromatic plant extracts is a highly promising area of research. The aim of the present study is to investigate the phytochemical and *in vitro* antioxidant, antidiabetic and anti-inflammatory activity of aqueous, chloroform-methanol, hydro-acetone extracts and the ethyl acetate and n-butanol fractions prepared from the roots of *Bryonia dioica* and the fruits of *Citrullus colocynthis*. Phytochemical analysis of the various *B. dioica* extracts and fractions revealed high levels of polyphenols (82.06 to 299.51  $\mu\text{g Eq GA/mgE}$ ) and moderate levels of flavonoids (3.76 to 49.09  $\mu\text{g Eq C/mgE}$ ). In *C. colocynthis*, these levels range from 81.98 to 266.32  $\mu\text{g Eq AG/mgE}$ ; and from 4.75 to 99.82  $\mu\text{g Eq C/mgE}$ . However, the various extracts studied showed low levels of flavonols and saponins. LC-MS chromatographic analysis identified certain flavonoids and coumarin derivatives such as chrysin 7-O-neohesperidoside, pinocembrin 7-O-neohesperidoside and isorhoifolin in the ethyl acetate fraction and the chloroform-methanol extract of bryony. Kaempferol glucoside, apigenin glucoside and coumarin derivatives have been identified in the extracts of colocynth. The results of the antioxidant activity showed the ability of extracts and fractions of *B. dioica* and *C. colocynthis* to: scavenge the free radical DPPH ( $293 \leq IC_{50} \leq 867.08 \mu\text{g/mL}$ ), reduce ferric iron ( $535.91 \leq EC_{50} \leq 1668 \mu\text{g/mL}$ ), inhibit  $\beta$ -carotene bleaching ( $22.05 \leq IC_{50} \leq 175.19 \mu\text{g/mL}$ ), and protect red blood cell membranes against APPH radical-induced free radical attack ( $8.78 \leq IC_{50} \leq 119.90 \mu\text{g/mL}$ ). Antidiabetic activity assessed *in vitro* revealed dose-dependent inhibition of  $\alpha$ -amylase activity by the extracts of *B. dioica* ( $145.95 \leq IC_{50} \leq 963.06 \mu\text{g/mL}$ ) and *C. colocynthis* ( $63.75 \leq IC_{50} \leq 594 \mu\text{g/mL}$ ), in particular the ethyl acetate fractions of the water-acetone extracts and the chloroform-methanol extracts of both species, which provided mixed inhibition of  $\alpha$ -amylase kinetics. Similarly,  $\alpha$ -glucosidase activity was inhibited by *B. dioica* extracts ( $449.80 \leq IC_{50} \leq 583.90 \mu\text{g/mL}$ ) and *C. colocynthis* extracts ( $287.65 \leq IC_{50} \leq 575.22 \mu\text{g/mL}$ ). With regard to the non-enzymatic glycation inhibitory effect of BSA, the extracts tested revealed a significantly high inhibitory effect ( $p \leq 0.0001$ ) of extracts from *C. colocynthis* ( $84.36 \leq IC_{50} \leq 220.78 \mu\text{g/mL}$ ) and *B. dioica* ( $228.12 \leq IC_{50} \leq 3545.27 \mu\text{g/mL}$ ). The chloroform-methanol extracts and the ethyl acetate fractions stimulated glucose uptake by the hemi-diaphragm in a dose-dependent manner (2.5 and 5mg/mL) (11.33 to 46.17%), this effect being significant compared to the insulin (0.4 IU/mL; 29.27%) and catechin (5mg/mL; 19.60%). A significant anti-inflammatory effect was also recorded in the ethyl acetate fraction of *B. dioica*, which inhibited ( $p \leq 0.0001$ ) lipoxigenase activity ( $IC_{50} = 20.48 \mu\text{g/mL}$ ), this latter was important than the effect of the chloroform-methanol extract of *C. colocynthis* ( $IC_{50} = 205.70 \mu\text{g/mL}$ ), and comparable to the effect of gallic acid ( $IC_{50} = 19.35 \mu\text{g/mL}$ ) and nordihydroguaiaretic acid ( $IC_{50} = 36.49 \mu\text{g/mL}$ ). Heat map analysis revealed a strong correlation between polyphenols and flavonoids with the majority of biological activities. This analysis was confirmed by molecular docking study, which revealed flavonoid interaction with the catalytic and non-catalytic residues of  $\alpha$ -amylase ( $Asp^{300}$ ,  $Ile^{235}$  and  $Ala^{198}$ ) and  $\alpha$ -glucosidase ( $Ser^{13}$ ,  $Arg^{44}$ ,  $Met^{86}$ ,  $Gly^{10}$ ,  $Asp^{39}$ , and  $Tyr^{131}$ ). Similarly, the network analysis, which examined the interaction of phytoconstituents from the species studied interact with the key enzymes and proteins involved in the metabolic and signalling pathways of diabetes mellitus, oxidative stress, and inflammation, recorded interaction with  $\alpha$ -amylase,  $\alpha$ -glucosidase, translocation of GLUT 4, IL-6 and TNF, MAPK and STAT3. In conclusion, all the *in vitro* and *in silico* results potentially confirmed the antidiabetic, antioxidant and anti-inflammatory properties of *B. dioica* and *C. colocynthis*, making these species a potential source of alternative therapeutic molecules.

**Key words:** *Bryonia dioica*, *Citrullus colocynthis*, LC-MS analysis, antioxidant, antidiabetic, anti-inflammatory.