

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Université Abou Bekr Belkaid
Tlemcen Algérie



جامعة أبي بكر بلقايد

تلمسان الجزائر

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université ABOU BEKR BELKAID –TLEMCEEN–

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

Département de Biologie

Laboratoire

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

Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de Master en Sciences Biologiques

Option : Biochimie

Thème :

**Etude phytochimique et évaluation de l'activité antioxydante et
antidiabétique des extraits bruts des pépins de raisin (*Vitis vinifera*) et de
leurs fractions riches en composés phénoliques**

Présenté par : Melle DAHMANE Abir

Soutenu le 30/06/2025 devant les membres de jury :

Président : Pr. AZZI Rachid	Professeur	Univ.Tlemcen
Encadrant : Dr. ABOU Fayza	MCB	Univ.Tlemcen
Examinatrice : Dr. MEDJDOUB Houria	MCA	Univ.Tlemcen

Année Universitaire : 2024/2025

Remerciement

Tout d'abord, nous exprimons nos profonds remerciements à Allah qui nous a guidés sur le droit chemin tout au long de ce travail et qui nous a donné la santé, le courage et la patience pour finir ce travail.

Nous tenons avant tout à spécifier notre remerciement à mon encadreur **Madame Abbou Fayza**, Maître de conférences Classe B au département de biologie, faculté des sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre et de l'univers, université Abou bekr Belkaïd Tlemcen pour ses conseils, sa compréhension, sa patience, ses encouragements et son attention ainsi que son enseignement et ses orientations que ce travail a pu être effectué.

Aussi nous souhaiterais remercier les membres du jury de notre mémoire qui ont accepté de juger ce travail. A **Monsieur Azzi Rachid** Professeur au département de biologie, faculté des sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre et de l'univers, université Abou bekr Belkaïd Tlemcen pour l'honneur qu'il nous a fait en acceptant de présider le jury de ce mémoire.

A **Madame Medjdoub Houria**, Maître de conférences Classe A au département de biologie, faculté des sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre et de l'univers, université Abou bekr Belkaïd Tlemcen d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Enfin nous remercions tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail et ma profonde gratitude A mes merveilleux parents **Dahmane Ali** et **Bouziane Fouzia** pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse, leur soutien et leurs prières tout au long de mes études.

A mes chère frère **Riad** et **Firass**, pour leur soutien et leur sourire, même dans les moments les plus difficiles.

A mes chères tantes **Hafsa, Hanane, Naima, Fatiha, Fatima, Malika, Rahima**, leurs mari et leurs enfants vous toujours encouragée à poursuivre mes rêves.

A mes chères oncles **Kader, Mohamed, Kamel** et leur enfants pour leurs encouragements permanent.

A mes grande mères **Houria, Dahmana, Zahra** à mes grande pères **Mohamed sghir, Benabdellah**, ma copine **Zineb**, à toute la promo de la biochimie avec tous mes sentiments de respect, d'amour, de gratitude et de reconnaissance.

À mes chers professeurs qui m'ont enseigné tout au long de mon parcours universitaire, primaire, collège et lycée.

À tous les membres de ma famille (**Bouziane** et **Dahmane**).

Une grande dédicace pour moi, pour tous mes efforts et ma patience.

Abir

ملخص

العنب (*Vitis vinifera*) هو نبات ينتمي إلى عائلة الكرمة، ويعتبر من أكثر الفواكه شهرة على مستوى العالم. وتتميز بذوره بغناها بالمركبات الفينولية المفيدة للصحة.

في هذه الدراسة، قمنا بإجراء دراسة فيتو كيميائية وتقييم النشاط المضاد للأكسدة والمضاد للسكري في المختبر للمستخلصات الخام لبذور العنب المحضرة عن طريق الغلي والنقع وأجزائها الغنية بالمركبات الفينولية.

بينت نتائج التحليل الكيميائي النباتي وجود الفلافونويدات والقلويدات والتانينات والكينونات الحرة والسكريات المختزلة. كشف قياس المركبات الفينولية أن جزء الأسيتات إيثيل للمستخلص المحضر عن طريق النقع يُعد الأغنى بالبوليفينولات والفلافونويدات الكلية بقيمة $709,16 \pm 0,42$ ميكروغرام مكافئ حمض الغاليك /ملغ من المستخلص و $3,85 \pm 463,63$ ميكروغرام مكافئ كاتشين /ملغ من المستخلص على التوالي.

في اختبار تثبيط الجذر الحر DPPH سُجل أفضل نشاط لدى جزء الأسيتات إيثيل للمستخلص المحضر عن طريق النقع (FAEM) بقيمة IC_{50} تبلغ 73.02 ± 0.37 ميكروغرام / مل، ويعدُّ هذا النشاط أفضل من حمض الأسكوربيك (98.62 ± 1.28 ميكروغرام / مل) و BHA (73.02 ± 3.60 ميكروغرام / مل). أما بالنسبة لإختبار قدرة إختزال الحديد، فقد أظهر المستخلص الخام المحضر عن طريق الغلي أفضل نشاط بقيمة EC_{50} تبلغ 121.95 ± 2.90 ميكروغرام / مل. هذه النتائج ضعيفة مقارنة بالجزئيات المرجعية (حمض الاسكوربيك و BHA) .

سُجل جزء الاسيتات إيثيل للمستخلص المحضر عن طريق النقع من بذور العنب (*Vitis vinifera*) أفضل نشاطاً مثبتاً للألفا اميلاز مقارنةً بالمستخلصات الأخرى بقيمة IC_{50} تبلغ 186.56 ± 0.72 ميكروغرام/مل. هذا النشاط أفضل من نشاط الأكاربوز ($IC_{50}=189.89 \pm 0.00$ ميكروغرام/مل).

وفقاً لهذه النتائج، يمكننا أن نؤكد أن العنب (*Vitis vinifera*) له تأثير مثبت على نشاط الفا اميلاز وبالتالي على تنظيم ارتفاع مستويات السكر في الدم من خلال تقليل امتصاص الجلوكوز في الأمعاء.

الكلمات المفتاحية: السكري، بذور العنب (*Vitis vinifera*)، المركبات الفينولية، النشاط المضاد للأكسدة، الفا اميلاز.

Résumé :

Le raisin (*Vitis vinifera*), est une plante appartenant à la famille des vitacées considéré comme l'un des fruits les plus populaires mondialement. Ses pépins sont reconnus pour leur richesse en composés phénoliques bénéfiques pour la santé.

Dans cette étude nous nous sommes intéressés à réaliser une étude phytochimique et à évaluer *in vitro* l'activité antioxydante et antidiabétique des extraits bruts de pépins de raisin préparés par décoction et macération et de leurs fractions riches en composés phénoliques.

Les résultats des tests phytochimique ont révélé la présence des flavonoïdes, des alcaloïdes, des tanins, des quinones libres et des sucres réducteurs. Le dosage des composés phénoliques montre que la fraction d'acétate d'éthyle de l'extrait préparé par macération est la plus riche en polyphénols et en flavonoïdes totaux avec des teneurs de $709,16 \pm 0,42 \mu\text{g Eq AG/ mg E}$ et $463,63 \pm 3,85 \mu\text{g Eq C/mg E}$, respectivement.

Pour le test de piégeage du radical libre DPPH la meilleure activité a été enregistrée dans la fraction d'acétate d'éthyle de l'extrait préparé par macération (FAEM) avec un IC_{50} de l'ordre de $73,02 \pm 0,37 \mu\text{g/ml}$. Cette activité est meilleur à celle de l'acide ascorbique ($98,62 \pm 1,28 \mu\text{g/ml}$) et BHA ($73,02 \pm 3,60 \mu\text{g/ml}$). Concernant le Test de pouvoir réducteur de fer l'extrait brut préparé par décoction a présenté la meilleure activité avec une valeur EC_{50} de l'ordre de $121,95 \pm 2,90 \mu\text{g/ml}$. Ces résultats sont faibles par rapport aux molécules de référence (acide ascorbique et BHA).

La fraction acétate d'éthyle de l'extrait préparé par macération de pépins de raisin (*Vitis vinifera*) a enregistré une meilleure activité inhibitrice vis-à-vis l' α -amylase par apport au autre extraits avec une IC_{50} de $186,56 \pm 0,72 \mu\text{g /ml}$. Cette activité est meilleur à celle de l'Acarbose ($\text{IC}_{50}=189,89 \pm 0,00 \mu\text{g /ml}$).

D'après ces résultats, nous pouvons affirmer que (*Vitis vinifera*) exerce un effet inhibiteur sur l'activité de l' α -amylase et donc sur la régulation de l'hyperglycémie en réduisant de l'absorption intestinale du glucose.

Mots clés : Diabète sucré, les pépins de raisin (*Vitis vinifera*), composés phénoliques, activité antioxydante, α -amylase.

Abstract:

The grape (*Vitis vinifera*) are a plant belonging to the vitaceae family, considered one of the most popular fruits worldwide. Its seeds are recognized for being richness in beneficial phenolic compounds for health.

In this work, we focused on the phytochemical study and evaluating *in vitro* the antioxidant and antidiabetic activity of crude grape seeds extracts prepared by decoction and maceration and their fractions rich in phenolic compounds.

The results of the phytochemical tests revealed the presence of flavonoids, alkaloids, tannins, free quinones, and reducing sugars. The dosage of phenolic compounds shows that the ethyl acetate fraction of the extract prepared by maceration is the richest in polyphenols and total flavonoids, with contents of $709.16 \pm 0.42 \mu\text{g Eq AG/mg E}$ and $463.63 \pm 3.85 \mu\text{g Eq C/mg E}$, respectively.

For the DPPH free radical scavenging test, the best activity was recorded for the ethyl acetate fraction of the extract prepared by maceration (FAEM) with an IC_{50} of $73.02 \pm 0.37 \mu\text{g/ml}$. This activity is better than that of ascorbic acid ($\text{IC}_{50} = 98.62 \pm 1.28 \mu\text{g/ml}$) and BHA ($\text{IC}_{50} = 73.02 \pm 3.60 \mu\text{g/ml}$). Iron reducing power test, the crude extract prepared by decoction showed the best activity with an EC_{50} value of $121.95 \pm 2.90 \mu\text{g/ml}$. These results are low compared to the reference molecules (ascorbic acid and BHA).

The ethyl acetate fraction of the extract prepared by maceration of grape seeds (*Vitis vinifera*) showed better inhibitory activity against α -amylase compared to other extracts with an IC_{50} of $186.56 \pm 0.72 \mu\text{g/ml}$. This activity is better than that of Acarbose ($\text{IC}_{50} = 189, 89 \pm 0.00 \mu\text{g/ml}$).

According to these results, we can affirm that (*Vitis vinifera*) exerts an inhibitory effect on the activity of α -amylase and thus on the regulation of hyperglycemia by reducing the intestinal absorption of glucose.

Keywords: Diabetes mellitus, grape seeds (*Vitis vinifera*), phenolic compounds, antioxidant activity, α -amylase.

Table des matières

Remerciement.....	
Dédicace.....	
ملخص.....	
Résumé.....	
Abstract.....	
Table des matières.....	
Liste de tableaux.....	
Listes de Figures.....	
Liste des abréviations.....	
Introduction générale.....	1

Synthèse Bibliographique

Chapitre I:Stress Oxydatif

1. Stress oxydatif.....	3
2. Les radicaux libres	3
3. Conséquences du stress oxydant	3
3.1. Peroxydation des lipides.....	3
3.2. Oxydation de l'ADN	3
3.3. Oxydation des protéines	4
4. Les antioxydants.....	4
4.1. Les antioxydante enzymatique.....	4
4.2. Les antioxydante non enzymatique.....	5

Chapitre II:Généralités sur le diabète sucré

1. Diabète sucré.....	6
2. Épidémiologie.....	6
3. La classification du diabète.....	6
3.1. Diabète type 1.....	6

3.2. Diabète type 2	6
3.3. Diabète gestationnel	6
4. Les complications du diabète sucré.....	7
5. Traitements du diabète sucré.....	7

Chapitre III:Alpha amylase

1. Définition.....	9
2. L'origine.....	9
3. Structure de l'alpha amylase.....	9
4. Les inhibiteurs de l'alpha amylase	10

Chapitre IV Plante étudiée *Vitis vinifera*

1. Généralité.....	12
2. Classification Taxonomique de <i>Vitis vinifera</i>	13
3. Répartition géographique	13
4 .Composition chimique.....	13
5. Utilisation traditionnelle.....	14
6. Propriétés biologiques	14
6.1. Activité antitumorale	14
6.2. Activité antioxydante.....	15
6.3. Activité antimicrobienne.....	15
6.4. Activité anti-inflammatoire.....	15
6.5. Activité antidiabétique.....	15

Matériel et Méthodes

1. Matériel végétal.....	17
2. Préparation des extraits.....	17
2.1. Dégraissage du matériel végétal.....	17
2.2. Préparation de l'extrait eau-méthanol par macération.....	18
2.3. Préparation de l'extrait eau-méthanol par Décoction.....	18

2.4. Fractionnement des extraits.....	18
2.5. Calcul du rendement.....	18
3. Les tests phytochimiques	18
3.1. Alcaloïdes	18
3.2. Les tanins.....	19
3.3. Les flavonoïdes.....	19
3.4. Les quinones libres	19
3.5. Anthraquinones.....	19
3.6. Les coumarines : Fluorescence UV	19
3.7. Les saponines : test de mousse	19
3.8. Terpénoïdes : Test de Slakowski	19
3.9. Les composés réducteurs.....	19
4. Dosage des composés phénoliques	20
4.1. Dosage des polyphénols totaux	20
4.2. Dosage des flavonoïdes totaux	21
5. Evaluation de l'activité antioxydante.....	23
5.1. Test de piégeage de radical libre DPPH.....	23
5.2. Test de pouvoir réducteur de fer (Ferric Reducing Antioxidant Power ; FRAP).....	24
6. Evaluation de l'activité antidiabétique.....	24
6.1. Recherche de l'effet inhibiteur des extraits de pépin de raisin (<i>Vitis vinifera</i>) sur l' α amylase.....	24
7. Analyse Statistique.....	26

Résultats et interprétation

1. Caractéristiques et rendement d'extraction.....	27
2. Tests phytochimiques.....	27
3. Dosage des composés phénoliques	28
4. L'activité antioxydante.....	30
4.1.Piégeage du radical libre DPPH.....	30
4.2.Pouvoir réducteur de fer	32
5. L'activité antidiabétique.....	34
5.1.L'effet inhibiteur vis-à-vis de l'alpha amylase.....	34
Discussion.....	37
Conclusion.....	40
Références bibliographiques	41

Liste de tableaux :

Tableau 1: Quelques antidiabétiques oraux et leurs caractéristiques.....	8
Tableau 2: Plantes médicinales à activité inhibitrice de l' α -amylase.....	11
Tableau 3: Principaux constituants chimiques des feuilles de <i>Vitis vinifera</i>	14
Tableau 4: Méthode de dosage des polyphénols totaux.....	21
Tableau 5: Méthode de dosage des flavonoïdes.....	22
Tableau 6: Les caractéristiques des extraits de pépin de raisin et de leurs fractions	27
Tableau 7: Les résultats des tests phytochimique des extraits de pépins de raisin (<i>Vitis vinifera</i>).....	28
Tableau 8 : Teneurs en polyphénols et en flavonoïdes totaux des extraits de pépins de raisin.....	30
Tableau 9: Les valeurs des CI50 des différents extraits de pépins de raisin par méthode DPPH	32
Tableau 10: Les valeurs des EC50 de l'acide ascorbique, de BHA des différents extraits de pépins de raisin (<i>Vitis vinifera</i>) par méthode FRAP.....	34
Tableau 11: Valeurs de l'IC50 des extraits préparés des pépins de raisin (<i>Vitis vinifera</i>) inhibitrice sur l' α amylase.....	36

Listes de Figures :

Figure 1: complications de diabète sucré.....	7
Figure 2: Structure 3D de l' α -amylase pancréatique humaine.....	10
Figure 3: Représentation de raisin (<i>Vitis vinifera</i>).....	12
Figure 4: Les pépins de raisin (<i>Vitis vinifera</i>) broyés (Photo personnelle).....	17
Figure 5: Réduction du radical DPPH	23
Figure 6: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux....	29
Figure 7: Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des flavonoïdes.....	29
Figure 8: Pourcentage d'inhibition du radical DPPH en fonction de différentes concentrations de l'acide ascorbique et de BHA.....	31
Figure 9: Pourcentage d'inhibition du radical DPPH en fonction des différentes concentrations d'EBM, FAEM, EBD, FAED.....	31
Figure 10: Pouvoir réducteur du fer de l'acide ascorbique et du BHA.....	33
Figure 11: Pouvoir réducteur de Fer en présence des extraits de pépins de raisin (<i>Vitis vinifera</i>) (EBM, FAEM, EBD, FAED).....	33
Figure 12: Pourcentage d'inhibition en fonction des différentes concentrations d'Acarbose...	35
Figure 13: Pourcentage d'inhibition en fonction des différentes concentrations d'extrait de pépin de raisin (EBM, FAEM, EBD, FAED).	35

Liste des abréviations

µg EAG/mg E : microgramme Equivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait.

µg Eq C/mg E : microgramme Equivalent catéchine par milligramme d'extrait.

ADN : Acide désoxyribonucléique.

AGPI : Acide gras polyinsaturés.

CAT : Catalase.

ERO : Les espèces réactives d'oxygène.

ERN : Les espèces réactives d'azote.

FID : Fédération internationale du diabète.

Gpx : Glutathion peroxydase.

GSH : Glutathion réduit.

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène.

HO° : Radical hydroxyl.

NO• : Monoxyde d'azote.

NOS : nitrique oxyde synthase.

O₂ : Oxygène singulier.

O₂• : Anion superoxyde.

OMS : Organisation mondiale de la santé.

ONOO- : Peroxynitrite.

ROO• : Radicaux peroxyde.

SOD : Superoxyde dismutase.

CI₅₀ : Concentrations qui inhibent 50% du radical libre DPPH.

DPPH : (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle).

EBD : Extrait brut hydro-méthanolique préparé par décoction.

EBM : Extrait brut hydro-méthanolique préparé par macération.

EC₅₀ : Concentration efficace à réduire 50% du fer.

FRAP : (Ferric Reducing Antioxidant Power).

I (%) : Pourcentage d'inhibition.

R₂ : Coefficient de corrélation.

FAED : Fraction d'acétate d'éthyle de décoction.

FAEM : Fraction d'acétate d'éthyle de macération.

CI₅₀ : Concentration inhibitrice de 50% de l'enzyme.

DNSA : Acide 3,5-dinitrosalicylique.

V/V : volume/volume.

UV : Ultraviolet.

Introduction Générale

Les plantes médicinales sont caractérisées par leur richesse avec métabolites secondaires, notamment les composés phénoliques, les stéroïdes et les alcaloïdes. Ces composés ont des effets biologiques bénéfiques pour la santé humaine, tels que les activités anticancéreuses, antimicrobiennes, anti-inflammatoires, antidiabétiques et antioxydants **(Trane et al., 2020)**.

Le stress oxydatif est une agression des cellules par les radicaux libres **(Sebbar, et al., 2023)**. Ce phénomène a été impliqué dans le développement de nombreuses maladies telles que les maladies cardiovasculaires, les maladies neurodégénératives, le cancer et le diabète sucré **(Baudin, 2020)**.

Le diabète sucré est une pathologie métabolique caractérisée par une hyperglycémie persistante liée à une déficience de la sécrétion de l'insuline soit de l'action de l'insuline soit les deux à la fois **(fagot campagna ,2010)**.

Un grand nombre de traitements sont employés pour traiter le diabète sucré y compris l'insuline et les antidiabétiques oraux **(ADA, 2020)** ainsi que les inhibiteurs de l'alpha-amylase qui permettent de ralentir la digestion des sucres ce qui réduit l'hyperglycémie post prandiale **(Farooq et al., 2021)**.

L 'Algérie est dotée d'une richesse florale très diversifiée, il existe environ 3000 espèces, soit 15% sont endémiques **(Karouche et al., 2022)**. Certaines de ces espèces constituent l'objectif de plusieurs études scientifiques qui s'intéressent à la mise en évidence de leurs propriétés thérapeutiques ; c'est le cas de (*Vitis vinifera*), une plante appartenant à la famille des vitacées, largement répandu dans divers pays de monde et utilisée en médecine traditionnelle pour leur propriétés thérapeutique **(Lorenzo et al., 2019 ; Di Pietro Fernandes et al., 2023)**. Dans ce contexte s'inscrire l'objectif de notre étude consacré à l'étude phytochimique et l'évaluation *in vitro* de l'activité antioxydante et antidiabétique des extraits de pépins de raisin (*Vitis vinifera*) récoltée dans la région de Ghazaouet, wilaya de Tlemcen.

Notre étude expérimentale regroupe deux parties,

- ❖ La première partie est consacrée à l'étude phytochimique qui consiste au screening phytochimique et au dosage de polyphénols et de flavonoïdes totaux des extraits bruts de pépins de raisin et de leurs fractions;
- ❖ La deuxième partie, est consacrée à l'étude *in vitro* des activités biologiques des extraits préparés dont nous nous sommes intéressées à l'étude de l'activité antioxydante en utilisant le test du pouvoir antiradicalaire sur le radical DPPH et le

test du pouvoir réducteur du fer (FRAP). L'étude de l'activité antidiabétique a été réalisée par l'évaluation de l'effet inhibiteur des extraits préparés vis-à-vis de l' α -amylase ;

Synthèse
Bibliographique

Chapitre I

Stress Oxydatif

1. Stress oxydatif

Le stress oxydatif est défini comme étant un déséquilibre entre la production des radicaux libres et les défenses antioxydants de l'organisme. Ce déséquilibre entraîne des dommages oxydatifs aux biomolécules (Acides nucléique, lipides, protéines) (**Forman et Zhang, 2021 ; Zhang et al., 2023**).

2. Les radicaux libres

Les radicaux libres sont des espèces chimiques instables ayant des électrons non appariés dans leurs orbitales externes. Ils sont hautement réactifs et repartis principalement en espèces réactives de l'oxygène (ERO) et en espèces réactives d'azotes (ERA) (**Di Meo et Venditti, 2020**).

Les ERO, sont espèces formées à partir de l'oxygène. Ils comprennent des dérivés radicalaires tels que l'ion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$), le peroxyde $ROO^{\cdot}$, le radical hydroxyle ($OH^{\cdot}$) ainsi que des dérivés non radicalaires comme le peroxyde hydrogène (H_2O_2) et l'oxygène singulet (O_2). Les ERA, sont espèces formées à partir de l'azote. Il existe deux espèces réactives très connues qui sont le peroxyde d'azote ($ONOO^{\cdot}$) et le monoxyde d'azote ($NO^{\cdot}$). Le monoxyde d'azote est synthétisé par le nitrique oxyde synthase (NOS) lors du métabolisme de l'arginine dans les conditions physiologiques et physiopathologiques. Le peroxyde d'azote est formé à partir de la combinaison de monoxyde d'azote avec l' O_2 (**Tanaka et Vécsei, 2020**).

3. Conséquences du stress oxydant

3.1. Peroxydation des lipides

Les résidus acides gras polyinsaturés (AGPI) des phospholipides membranaires sont les plus sensibles à l'oxydation par les radicaux libres. Ces lipides membranaires peuvent subir une peroxydation lipidique, entraînant une altération de la fonction membranaire, telle qu'une fluidité réduite, et la désactivation des enzymes et des récepteurs intégrés à la membrane (**Phaniendra et al., 2015 ; Krishnamurthy et al., 2024**).

3.2. Oxydation de l'ADN

Les ERO et les ERA peuvent endommager les acides nucléiques par oxydation, entraînant des substitutions, des additions, des délétions de bases et des mutations (**Guo et al., 2017**). Les ERO, en particulier le radical hydroxyle, réagissent directement avec les différents composants de l'ADN, notamment les bases puriques et pyrimidiques, ainsi que le squelette désoxyribose.

Cela entraîne des cassures des brins de l'ADN ou encore des liaisons entre la base et le désoxyribose). La plupart des modifications de l'ADN sont impliquées dans la cancérogenèse, le vieillissement, les maladies neurodégénératives, cardiovasculaires et auto-immunes (Phaniendra et al., 2015 ; Krishnamurty et al., 2024).

3.3. Oxydation des protéines

Les espèces oxydantes (ERO et ERA) endommagent les protéines soit par la rupture de la liaison peptidique en modifiant la chaîne peptidique, soit par la modification du peptide par l'addition des produits issus de la peroxydation lipidique comme le 4-hydroxynonanal ce qui provoque une dénaturation et conduit à la perte de la fonctionnalité des protéines (Durand et al., 2013 ; Phaniendra et al., 2015 ; Krishnamurty et al., 2024).

4. Les antioxydants

L'organisme dispose d'un système antioxydant comprenant les antioxydants qui aident à protéger les cellules des dommages induits par les ERO et les ERA. Selon leurs origines les antioxydants sont classés en antioxydants enzymatiques (endogène) et non enzymatiques (exogènes) (Sharma et al., 2022 ; Krishnamurty et al., 2024).

4.1. Les antioxydante enzymatique

La catalase (CAT), le superoxyde dismutase (SOD) et le glutathion peroxydase (GPX) sont les principaux antioxydants enzymatiques :

- ❖ **Superoxyde dismutase (SOD) :** Cette enzyme catalyse principalement la dismutation de $L'O_2^-$ en H_2O_2 et O_2 .
- ❖ **La Catalase :** est une enzyme ubiquitaire qui catalyse la réaction de réduction de peroxyde d'hydrogène en oxygène et en eau.
- ❖ **La glutathion peroxydase (GPx) :** est une oxydoréductase sélénio-dépendante responsable d'une part de la réduction de peroxyde d'hydrogène en oxygène et d'autre part de la réduction des hydro-péroxydes lipidique en alcool (Alfonso-Prieto et al., 2009 ; Sharifi-Rad et al., 2020).

4.2. Les antioxydante non enzymatique

Les antioxydants non enzymatiques sont des molécules apportés par l'alimentation incluent les vitamines (vitamines C et E), le glutathion (GSH), l'acide α - lipoïque, l'acide urique, les caroténoïdes et les composés phénoliques (Vona et al., 2021).

- ❖ **La Vitamine C** : également connu sous le nom d'acide ascorbique, c'est un antioxydant hydrosoluble et un piègeur puissant des espèces réactives de l'oxygène tels que H_2O_2 , OH et $1^{\circ}O_2$ (Haleng et al., 2007 ; Carr et Maggini, 2017).
- ❖ **La Vitamine E** : Il s'agit d'un antioxydant liposoluble qui capte le radical hydroxyle et l'anion superoxyde permettant ainsi d'inhiber efficacement la peroxydation lipidiques au niveau des membranes plasmiques (Kowalczyk, 2021).
- ❖ **Le glutathion (GSH)** : est un tripeptide composé de trois acides aminés (cystéine, glutamine et glycine). est un cofacteur de plusieurs enzymes antioxydants, il joue un rôle important dans la réparation des protéines oxydées (Forman et Zhang, 2021).
- ❖ **Les composés phénoliques** : sont des métabolites secondaires présents dans les plantes et qui constituent une famille importante d'antioxydants. Ces composés peuvent inclure des flavonoïdes, des anthocyanidines, des tanins, des lignanes et des acides phénoliques. Ils agissent en tant que piègeurs de radicaux libres, chélateurs de métaux de transition et comme donneurs d'hydrogène (Haleng et al., 2007 ; Hussain et al., 2016).

Chapitre II

Généralités sur le diabète sucré

1. Diabète sucré

Le diabète est une pathologie chronique qui survient lorsque le pancréas ne peut plus produire d'insuline ou que le corps ne peut pas utiliser suffisamment l'insuline. Cela entraîne une glycémie élevée, appelée hyperglycémie (FID, 2025).

2. Épidémiologie

Le diabète sucré représente un grand problème de santé mondiale, sa prévalence ayant augmenté de façon significative au cours des dernières années.

D'après la Fédération internationale du diabète (FID), en 2021, près de 537 millions d'adultes (de 20 à 79 ans) étaient atteints de diabète à travers le monde, soit 10,5 % de l'ensemble de la population adulte mondiale. Ce chiffre peut provoquer le décès de 643 millions d'ici 2030 et à 783 millions d'ici 2045 (FID, 2021).

3. Classification

3.1. Diabète type 1

Diabète type 1, est une pathologie auto-immune provoqué par la destruction des cellules β -pancréatique aboutissant à une carence absolue en insuline ce qui oblige les patients diabétiques de prendre l'insuline exogène pour maintenir la glycémie. Il représente 5 à 10% des diabétiques dans le monde (Daneman ,2006).

3.2. Diabète type 2

Le diabète de type 2, résulte d'une insulino-résistance ou une insulino-déficience qui entraînent une hyperglycémie (Jin, 2015). Il représente 90% des cas de diabète dans le monde. Il résulte de différents facteurs déclenchant, environnementaux, comportementaux (la sédentarité et la mauvaise hygiène de vie), le stress de la vie moderne et aussi la prédisposition génétique (OMS, 2016; Gashi et al., 2021).

3.3. Diabète gestationnel

Le diabète gestationnel est défini comme un trouble de la tolérance au glucose conduisant à une hyper-glycémie de sévérité variable, débutant pour la première fois pendant la grossesse et qui peut disparaître après l'accouchement. En effet, il touche entre 3 % et 20 % des femmes enceintes (FID ,2019 ; Norris, 2021).

4. Complications

Les complications diabétiques à long terme peuvent entraîner des problèmes microvasculaires et macrovasculaires :

- **Microvasculaires** : tels que l'insuffisance rénale (la néphropathie), la rétinopathie diabétique, la neuropathie, et le pied diabétique qui est causé par la présence d'ulcères au niveau des pieds en association avec une neuropathie, cela est lié à une atteinte des nerfs, à une maladie des artères et à des infections, ce qui en fait une cause principale d'amputation des membres inférieurs (Papatheodorou et Edmonds, 2017 ; Rawat et al., 2023).
- **Macrovasculaires** : ces complications affectent les gros vaisseaux sanguins telles que les accidents vasculaires cérébraux (AVC), les maladies vasculaires périphériques et les maladies coronariennes et les maladies cardiovasculaires (Papatheodorou et Edmonds, 2017 ; Rawat et al., 2023).

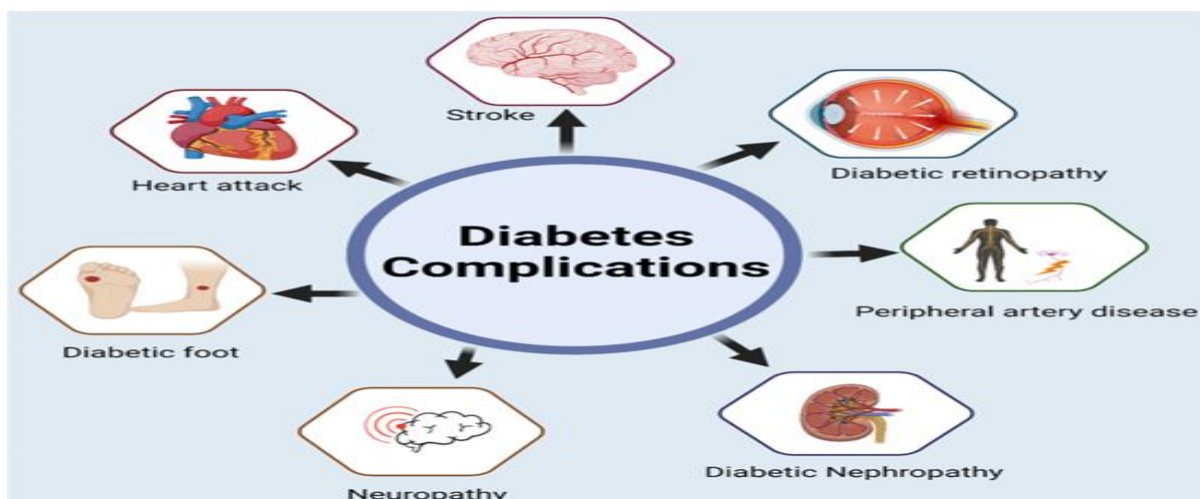


Figure 1:complications de diabète sucré (Rawat et al., 2023).

5. Traitements

Le traitement du diabète sucré associe à un régime alimentaire équilibré, une activité physique régulière, une gestion de poids et une surveillance continue de taux de glycémie (Yameny, 2024). Pour les patients atteints de diabète de type 1, le traitement est basé sur l'insuline, qui reste le moyen le plus efficace et le plus disponible à fin de composé le manque de production de cet hormone et réguler le taux de la glycémie (ADA, 2017). Le traitement du diabète de type 2 repose sur les médicaments antidiabétiques oraux (tableau 1) (Bauduceau et al., 2024).

Tableau 1: Quelques antidiabétiques oraux et leurs caractéristiques (**Pillon et al.,2014**).

Classe	Exemple de molécule	Mécanisme d'action
Insuline		Active directement le récepteur à l'insuline
Biguanides	Metformine	Diminution de l'insulinorésistance (effet extrapancréatique)
Sulfamides	Gliclazide Glibenclamide	Stimulation de la sécrétion d'insuline par les cellules β
Analogues des glucagon-like peptide-1(GPL-1)	Exénatide Liraglutide	Augmentation de la sécrétion d'insuline et suppression de la sécrétion du glucagon
Inhibiteurs des α – glucosidases	Acarbose Miglitol	Diminution de la dégradation des carbohydrates absorbables à l'intestin

Chapitre III
Alpha amylase

1. Définition

Les α -amylases (EC 3.2.1.1) sont des endo-amylase qui catalysant l'hydrolyse des liaisons α -(1,4)-glycosidiques dans les polysaccharides tels que l'amidon. Cette action enzymatique dégrade l'amidon en oligosaccharides de faible poids moléculaire, notamment le maltose, le maltotriose et des unités de glucose (Paul et al., 2021).

2. L'origine

Les α -amylase sont des enzymes ubiquitaire de différente origine humaines, animales, végétales, bactériennes et /ou champignons (Singh et al., 2025 ; Gayathri, 2025).

- **Origine animale :** les amylases animales sont généralement extraites de la salive humaine et de pancréas des mammifères tels que les porcs (Chatterton et al., 1996).
- **Origine végétale :** Les α -amylases d'origine végétale sont généralement obtenues par extraction à partir des céréales. Elles sont souvent formées au cours de la germination des grains, qui requiert des activités enzymatique très importante pour la mobilisation des réserves et le développement de l'embryon (Brown et Kelly, 1993). Le blé est une source naturelle d'alpha-amylase est principalement produit lors de la germination (Zhao et al., 2018).
- **Origine microbienne :** Cette origine est la plus utilisée dans le domaine de la biotechnologie, ainsi nous distinguons deux types de l'alpha amylase bactériennes parmi les bactéries productrices nous citons les bactéries du genre *Streptomyces* comme : *Streptomyces avermitilis* et *Streptomyces rochei* (Hwang et al., 2013) et du genre *Bacillus* qui est le plus étudié comme *Bacillus subtilis* et *Bacillus amyloliquefaciens* (Fattooq et al., 2021).

3. Structure de l'alpha amylase

L'alpha amylase est un enzyme constitué de 512 acides aminés regroupés dans une seule chaîne peptidique de poids moléculaires de 57,6 KDa. Elle est caractérisée par une structure tridimensionnelle à trois domaines (De Souza et al., 2010).

- ❖ **Domaine A :** caractérisé par une structure de tonneau (β/α) qui contient 8 feuillets plissés disposés de façon parallèle et 8 hélices α .
- ❖ **Domaine B :** composé de deux feuillets β opposés et une longue boucle à une structure hétérogène.
- ❖ **Domaine C :** présente une structure composée de 8 feuillets β antiparallèles liée au domaine A par une chaîne polypeptidique.

Cette enzyme constitue trois sites indispensables de leur activité: le site catalytique, le site de liaison du calcium et le site de liaison du chlorure. Le triplet catalytique constitué d'aspartate 300, de glutamate 233 et d'aspartate 197 est localisé dans le domaine A et pour le site de liaison de calcium est trouvé entre le feuillet $\beta 3$ du domaine B et l'hélice $\alpha 3$ du domaine A, dans lequel un ion de calcium est associé aux ligands des deux domaines (De Souza et al., 2010 ; Kalinovakil, 2023 ; Kashtoh et Baek, 2023).

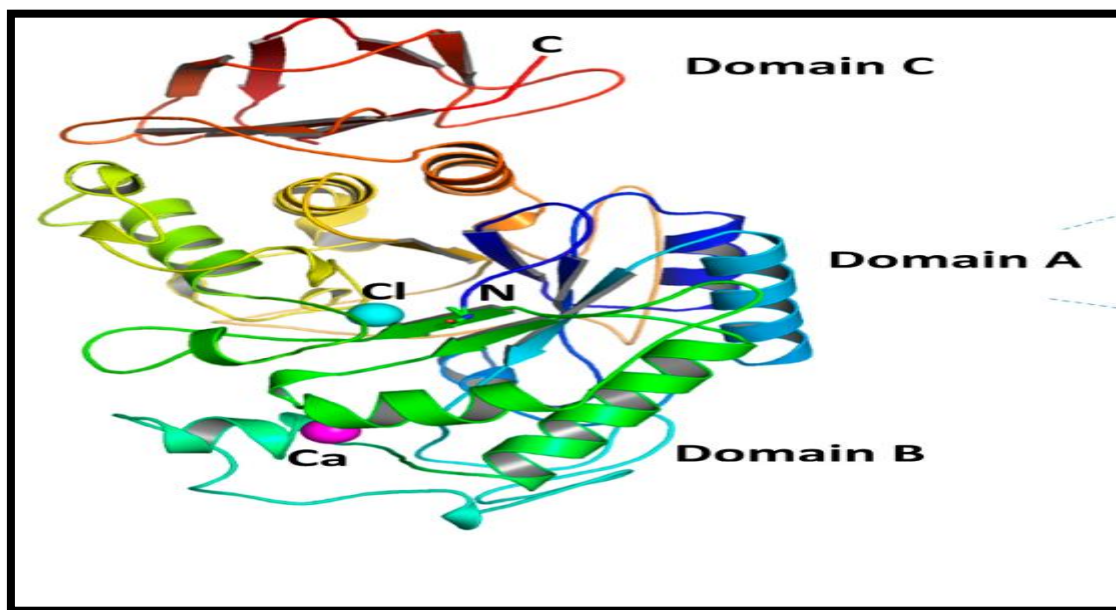


Figure 2: Structure 3D de l' α -amylase pancréatique humaine. Les trois domaines (A, B et C) sont indiqués et colorés comme suit : domaine A en bleu, vert, jaune et orange, le domaine B en vert, Domaine C en rouge, les extrémités N et C sont colorées en bleu et en rouge, respectivement. Un ion calcium est représenté par une sphère violet, tandis qu'un ion chlorure est indiqué par une sphère bleu clair (Kashtoh et Baek, 2023).

4. Les inhibiteurs de l'alpha amylase

L'activité des enzymes peut être modulée par des composés appelés effecteurs, qu'ils soient activateurs ou inhibiteurs, agissant de manière directe ou indirecte sur le site actif de l'enzyme. Les inhibiteurs sont des molécules ayant une structure similaire à celle du substrat de l'enzyme, qui ne réagissent pas ou réagissent beaucoup plus lentement (Garrett et Grisham, 2000).

L'inhibition de l' α -amylase est une stratégie importante pour contrôler la glycémie. Plusieurs études ont montré que les plantes médicinales ayant un effet inhibiteur vis-à-vis de l' α -amylase grâce à leurs composés phytochimiques (Garcia-Gurrola et al., 2024).

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

Tableau 2:Plantes médicinales à activité inhibitrice de l' α -amylase.

Plante	Partie utilisé	IC50	Références
<i>Pistacia lentiscus</i>	Feuilles	$8.9 \pm 0.14 \mu\text{g/ml}$	(Moussaoui et al., 2025)
<i>Santolina chamaecyparissus</i>	Partie aérienne	$11,2 \pm 0,7 \text{ mg/ml}$	(Abbou, 2022)
<i>Olea europaea</i>	Feuilles	$0,91 \pm 0,02 \text{ mg/ml}$	(Mezouar et al., 2021)

Chapitre IV
Plante étudiée
Vitis vinifera

1. Généralités

Le raisin (*Vitis vinifera*) est connu depuis longtemps par ses action bénéfique sur la santé humain grâce à sa richesse en composés bioactifs notamment les composés phénoliques, les vitamines, les minéraux, les fibres et les sucres facilement absorbable (**Demelin, 2012**).

Le raisin (*Vitis vinifera*) est l'un des fruits les plus connu dans le monde. Il existe environ 1000 variétés de raisin blanc et rouge cultivés à travers tout le monde (**Haseebet al., 2019**). Il pousse sous la forme de grappes, composées de deux parties : la rafle ou tige principale et les grappes de raisin, appelées aussi les baies. Cette dernière est constituée de la peau, de la pulpe et des pépins (**Bensaïd et Lechleche, 2021**).



Figure 3: Représentation de raisin (*Vitis vinifera*) (**Parihar et Sharma, 2021**).

La baie de raisin est constituée d'un péricarpe, qui forme la partie charnue de la baie, et des graines connues sous le nom des pépins (**Rousserie, 2019**). Ces derniers sont caractérisés par un embryon entouré d'un albumen, qui est enveloppé dans une coque ligneuse formée de différentes parties du tégument, et l'épiderme forme la couche externe du pépin (**Rombaut, 2013**).

Les feuilles sont alternées, à longs tiges, de forme concave à la base, avec 5 lobes, pointées et dentées, de couleur vert foncé sur le haut et blanche sur le bas (**Pierre et Lys, 2007**). Il y a 5 types de formes de feuilles : La forme cunéiforme, la forme en cœur, la forme tronquée, la forme sphérique et la forme réniforme (**Galet, 2000**). Les fleurs sont petites, de 2 à 7 mm. Les fleurs bisexuées sont composées de :

- Corolle formée de 5 pétales intercalés de sépales ;

- Des étamines composées de 5 étamines situées à l'opposé des pétales. Leurs filaments sont très longs et comportent une anthère à deux compartiments ;
- Disque contenant 5 vésicules biliaires jaunes (**Galet, 2000**).

2. Classification Taxonomique de *Vitis vinifera* (Parihar et Sharma, 2021).

- **Règne** *Plantae*
- **Clade** *Tracheophytes*
- **Clade** *Angiosperms*
- **Clade** *Eudicots*
- **Clade** *Rosids*
- **Ordre** *Vitales*
- **Famille** *Vitaceae*
- **Genre** *Vitis*
- **Espèces** *Vitis vinifera*

3. Répartition géographique

La plante *Vitis vinifera* est cultivée en Europe, elle présente 62% des vignobles mondiaux. Elle présente 12 % en Amérique et 19,5 % en Asie. En Afrique du sud (4,5% du vignoble mondial), au Maroc, en Tunisie et en Algérie (**Quelenis, 2008**).

La viticulture algérienne est localisée essentiellement à l'Ouest du pays, avec environ 8000 ha de vignes plantée. La Wilaya de Tlemcen, Sidi Bel Abbés et Ain Timouchent sont les principales villes productrices de la vigne, à l'Est ; Skikda et Bejaia et au centre se sont les collines de Sahel, Blida, Médéa, Mitidja et la Kabylie, la wilaya d'Ain Timouchent est la première wilaya viticole du pays (**Kali, 2010**).

4. Composition chimique

Le raisin est caractérisé par sa teneur élevée en composés bioactifs comprend principalement des flavonoïdes, des tanins condensés, des anthocyanes, des stilbénes, des terpènes, des glucides, des lipides, des minéraux, ainsi que des vitamines (Vitamine A, vitamine C, vitamine B1, vitamine B9, vitamine E) (**Dopico et al., 2008 ; Spacil et al., 2008**).

L'analyse chromatographique par HPLC réalisée sur les extraits méthanolique et acétonique de pépins de raisin a révélé la présence des acides phénoliques principalement l'acide gallique, l'acide p-coumarique, l'acide férulique et l'acide caféique et des flavonoïdes dont la catéchine et l'épicatéchine (**Weidner et al., 2013**).

Les pépins de raisin renferment également d'huile comestible qui représente à 5 à 10% du poids total du pépin. Cet huile est riche en acide linoléique (oméga-6), en acide oléique (oméga-9) ;

en tocophérol et en phytostérols, Tandis que les acides gras saturés (acide stéarique, acide myristique, acide palmitique) sont présents en plus petites quantités (**Shinagawa et al., 2015 ; Goetz, 2021**), et des composés phénoliques qui représentent 60 à 70% des constituants hydrophiles de l'huile (**Martin et al., 2020**).

Les constituants chimiques principaux des feuilles de *Vitis vinifera* sont présentés dans le **Tableau 3**.

Tableau 3: Principaux constituants chimiques des feuilles de *Vitis vinifera* (**Ghedira et al., 2012**).

Familles de constituants	Constituants chimiques
Chimiques	
Anthocyanosides	O-glucosides du cyanidol et du pénidol
Acide phénols	Acide monocaféyl-tartrique ,acides phénylpropanoïques
Tanins	Tanins hydrolysables (esters du glucose et des acides galliques et déhydrohexahydroxydiphénique
Hétérosides de flavonols	Glucosides de flavonols : quercétine -3-o- β -D glucuronide, isoquercitrine (quercitrine-3-o- β -glucoside), et kaempférol-3-glucoside

5. Utilisation traditionnelle

En médecine traditionnelle, les feuilles sont largement utilisées comme spasmolytique pour leurs effets vasorelaxant, ainsi que comme anti-hémorroïdes, antibactérien, antifongique, anti-inflammatoire, anti-diabétique et antiseptique (**Orhan et al., 2006 ; Fernandes et al., 2013**).

6. Propriétés biologiques

6.1. Activité antitumorale

Les proanthocyanidines présentes dans les pépins de raisin et leur huile, ont démontré une activité antitumorale en inhibant la prolifération des cellules cancéreuses, ainsi qu'en induisant l'apoptose (**Albogami, 2020; Lin et al., 2021**). De plus, des études suggèrent que les proanthocyanidines peuvent inverser la résistance aux médicaments dans les cellules cancéreuses multirésistantes en régulant négativement l'expression de gènes associés à cette résistance (**Lin et al., 2021**).

D'autres études récentes suggèrent que les extraits et les composés isolés de *Vitis vinifera* induisent une activité anticancéreuse via l'activation du système immunitaire dans les cellules

cancéreuses du côlon et bloque la prolifération des cellules cancéreuses de la prostate (**Sei-Ichi et al., 2019; Recinella et al., 2022**).

(**Tsantila et al., 2024**), ont montré que l'extrait éthanolique des pépins de raisin blanc a montré une activité anti-tumorale sur les cellules cancéreuses du sein MCF-7.

6.2. Activité antioxydante

Les pépins de raisin sont riches en composés phénoliques doués d'une activité antioxydante puissante. (**Felhi et al., 2016**), ont étudié l'activité antioxydante des extraits de pépins de raisin préparés par des solvants différents (hexane, dichlorométhane, acétate d'éthyle, éthanol, acétone) par méthode de DPPH et méthode de pouvoir réducteur de fer. Pour le test DPPH, ils ont enregistré des valeurs d'IC₅₀ entre 0,14 et 0,55 mg/ml, et des EC₅₀ entre 80 et 720 (µg/ml) pour la méthode du pouvoir réducteur de fer.

6.3. Activité antimicrobienne

Les extraits de pépins de raisin ont démontré une activité antimicrobienne significative contre divers agents pathogènes d'origine alimentaire. (**Silva et al., 2012 ; Ghafoor et al., 2020**). L'étude réalisée par (**Krasteva et al., 2023**) a montré que l'extrait éthanolique de pépins de raisin a enregistré une activité antibactérienne contre *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Bacillus cereus*. De plus les composés phénoliques de pépin de raisin sont capables d'endommager la membrane des bactéries, en particulier *E. coli*, par un processus oxydatif, sans altérer les cellules de l'hôte (**Subramanian et al., 2014 ; Garavaglia et al., 2016**).

6.4. Activité anti-inflammatoire

Les polyphénols présents dans l'huile de pépins de raisin sont capables d'inhiber la libération d'acide arachidonique, responsable de la production de leucotriènes et de prostaglandines, qui à leur tour activent la réponse inflammatoire (**Santangelo et al., 2007**). De même le β -sitostérol ; un phytostérol présent dans l'huile de pépins de raisin est capable d'inhiber la libération de médiateurs pro-inflammatoires émise par les macrophages dans des conditions spécifiques (**Kolar et al., 2019 ; Martin et al., 2020**).

6.5. Activité antidiabétique

L'utilisation des pépins de raisin peuvent améliorer la sensibilité à l'insuline, un effet qui est probablement dû à la présence des composés phénoliques (**Irandoost et al., 2013 ; Pinent et al., 2004**). Les procyanidines extraites de pépins de raisin possèdent des

propriétés insulino-mimétiques, aussi bien *in vivo* qu'*in vitro*. Ces composés ont notamment favorisé une augmentation du nombre de transporteurs de glucose insulino-sensibles (GLUT-4), ce qui a stimulé l'absorption cellulaire du glucose (**Irandoost et al., 2013 ; Pinent et al., 2004**).

(De Moura et al., 2012) a montré une augmentation de la sécrétion d'insuline chez des souris rendus diabétiques par l'alloxane et traitées avec de l'extrait des pépins de raisin.

Matériel et Méthodes

Notre Travail a été réalisé au sein de laboratoire de recherche « Antibiotiques, antifongiques, physico-chimie, synthèse et activité biologiques », département de biologie, faculté des sciences de la nature et de la vie, des sciences de la terre et de l'univers, université Abou Bekr Belkaïd, Tlemcen.

1. Matériel végétal

Le raisin (*Vitis vinifera*) a été récolté dans la région de Ghazouat wilaya de Tlemcen durant le mois de novembre 2023. Les pépins de raisin sont rassemblés puis séchés à température ambiante et à l'abri de la lumière. Après le séchage, le matériel végétal est broyé par un moulin électrique.



Figure 4: Les pépins de raisin (*Vitis vinifera*) broyés (Photo personnelle).

2. Préparation des extraits

2.1. Dégraissage du matériel végétal

Dans cette étude avant de préparé des extraits nous avons procédé à un dégraissage du matériel végétal en utilisant le Soxhlet et en suivant le mode opératoire ci-dessous ;

❖ Mode opératoire

- placer les pépins de raisin broyés dans la cartouche de l'appareil Soxhlet ;
- Ajouter 200 ml d'hexane dans le ballon du Soxhlet ;
- chauffer le ballon jusqu'à l'ébullition ;
- Maintenir la température stable pendant 3 heures de l'extraction ;

Le marc obtenu des pépins de raisin est laissé séché puis conservé pour la préparation des extraits bruts et leurs fractions acétate d'éthyle.

2.2. Préparation de l'extrait eau-méthanol par macération

10 g du matériel végétal dégraissé est mis en contact avec 100 ml d'un mélange méthanol/eau (80/20, v/v). Laisser le mélange macérer pendant 48 heures, à température ambiante et à l'obscurité. Après Filtration, le filtrat est évaporé à l'aide d'un Rotavapor.

2.3. Préparation de l'extrait eau-méthanol par Décoction

10 g du matériel végétal dégraissé est mis en contact avec 100 ml d'un mélange méthanol/eau (80/20, v/v). À une température d'ébullition stable pendant 45 minutes. Le filtrat est soumis à une évaporation à l'aide d'un Rotavapor.

2.4. Fractionnement des extraits

Les extraits hydro-méthanoliques (EBD et EBM) précédemment préparés ont subi un fractionnement par extraction liquide/liquide en utilisant l'acétate d'éthyle (v/v). Les deux phases aqueuses récupérées sont traitées 3 fois par l'acétate d'éthyle (v/v). Les phases organiques récupérées sont évaporées pour obtenir la fraction acétate d'éthyle de l'extrait préparé par macération (FAEM) et la fraction acétate d'éthyle de l'extrait préparé par décoction (FAED).

2.5. Calcul du rendement

Le rendement de chaque extrait est calculé par la formule suivante :

$$R (\%) = (m / M) \times 100$$

✓ **R (%)** : Rendement exprimé en %.

✓ **m** : Masse en gramme de l'extrait sec.

✓ **M** : Masse en gramme du matériel végétal utilisée.

3. Les tests phytochimiques

Pour le but de testé la présence ou l'absence des métabolites secondaires dans les extraits des pépins de raisin étudiées, nous avons réalisé une analyse qualitative basée sur des réactions de coloration et de précipitation et l'observation des rayonnements fluorescent UV. Cette analyse été effectué selon les techniques décrites par **Bruneton, (1999) et Harbone, (1998)**.

3.1. 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.

3.2. 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_3 (1%). Le mélange est incubé pendant 15 min à température ambiante. La présence des tanins est indiquée par une coloration verdâtre ou bleu noirâtre.

3.3. 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 ou rouge ou jaune prouve la présence des flavonoïdes.

3.4. Les quinones libres

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.

3.5. Anthraquinones

Dans un tube à essai, introduire 1 ml d'extrait à analyser et ajouter 1ml de NH_4OH (10%) puis agiter. L'apparition d'une coloration violette indique la présence des anthraquinones.

3.6. Les coumarines : Fluorescence UV

Dans deux tubes à essai, introduire 1ml de l'extrait à analyser, prendre le premier comme témoin et ajouter à l'autre 0,1 ml de NH_4OH (10%). Mettre deux taches sur un papier filtre et examiner sous la lumière UV à 366 nm. Une fluorescence intense indique la présence des coumarines.

3.7. 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. l'apparition d'une mousse persistante indique la présence de saponines.

3.8. Terpénoïdes : 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.

3.9. 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 phénoliques

4.1. Dosage des polyphénols totaux

➤ Principe

Les polyphénols totaux des extraits de pépin de raisin (*Vitis vinifera*) ont été dosés à l'aide de la méthode de réactif de Folin-Ciocalteu. Ce réactif est composé d'un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdène ($H_3PMO_{12}O_{40}$) de couleur jaune. L'oxydation des phénols réduit ce réactif à un mélange d'oxyde bleu de tungstène et de molybdène de couleur bleu. L'intensité de la coloration produite caractérisée par une absorbance maximale comprise entre 725 et 750 nm (**Vermerius et Nicholson, 2006**).

➤ Mode opératoire

- Mélanger 0,1 ml d'extrait (1mg/ml) avec 2 ml de la solution de carbonate de sodium Na_2CO_3 (2%) ;
- Agiter et incubé pendant 5 minutes ;
- Ajouter 0,1 ml de réactif Folin-Ciocalteu à 1N ;
- Incuber pendant 30 minutes à l'abri de la lumière et à température ambiante ;
- Mesurer l'absorbance est à 725 nm contre un blanc (**Tableau 4**) ;

En parallèle nous avons préparé une gamme d'étalonnage dans les mêmes conditions à partir d'acide gallique à différentes concentrations de (50 à 350 $\mu g/ml$).

Tableau 4: Méthode de dosage des polyphénols totaux.

	La gamme d'étalon (acide gallique)								Extraits (1mg/ml)			
									EBM	EBD	FAEM	FAED
[Acide gallique] µg/ml	Blanc	50	100	150	200	250	300	350	-	-	-	-
Acide gallique (ml)	-	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	-	-	-	-
Eau distillée (ml)	0,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Extraits (ml)	-	-	-	-	-	-	-	-	0,1	0,1	0,1	0,1
Na ₂ CO ₃ (2%) (ml)	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Agitation et incubation pendant 5 min												
Folin Ciocalteu (1N) (ml)	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Incubation à l'abri de la lumière et à température ambiante pendant 30 min												
Mesure de l'absorbance à 725 nm												

EBM : extrait brut hydro-méthanolique préparé par macération ; **EBD** : extrait brut hydrométhanolique préparé par décoction ; **FAEM** : Fraction Acétate d'éthyle d'extrait brut hydrométhanolique préparé par macération ; **FAED** : Fraction Acétate d'éthyle d'extrait brut hydrométhanolique préparé par décoction ;

❖ Expression des résultats

Les résultats sont exprimés en microgramme Equivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait (µg Eq AG/ mg E).

4.2. Dosage des flavonoïdes totaux

➤ Principe

Le taux des flavonoïdes dans les extraits préparés a été quantifié par la méthode colorimétrique de trichlorure d'aluminium (AlCl₃) et la soude (NaOH). Le principe de cette technique repose sur la présence du nitrite de sodium (NaNO₂) et le chlorure d'aluminium (AlCl₃) qui oxydent les flavonoïdes dans un milieu alcalin pour former un complexe de couleur rose qui absorbe à 510 nm (**Zhishen et al., 1999**). L'intensité de cette coloration est proportionnelle à la concentration des flavonoïdes présents dans l'extrait.

➤ Mode opératoire

250µl de l'extrait (1mg/ml) est mélangé avec 1 ml d'eau distillée et 75µl d'une solution de nitrite de sodium NaNO_2 à 15%, après incubation de 6 min à température ambiante 75µl du réactif de trichlorure d'aluminium AlCl_3 à 10% est ajouté. Après 6 min, ajouter 1 ml d'hydroxyde de sodium NaOH (4%) et compléter le volume total à 2,5 ml d'eau distillée. Après agitation et incubation de 15 min à température ambiante, l'absorbance est mesurée à 510 nm (**Tableau 5**) ;

Une gamme d'étalonnage est préparée dans les mêmes conditions avec la catéchine à différentes concentrations (50 à 350 µg/ml).

Tableau 5: Méthode de dosage des flavonoïdes totaux.

	La gamme d'étalon (catéchine)								Extraits (1mg/ml)			
									EBM	EBD	FAEM	FAED
[Catéchine] µg/ml	B	50	100	150	200	250	300	350	-	-	-	-
Catéchine (µl)	-	250	250	250	250	250	250	250	-	-	-	-
Extrait (µl)	-	-	-	-	-	-	-	-	250	250	250	250
ED (µl)	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000
NaNO_2 (15%) (µl)	75	75	75	75	75	75	75	75	75	75	75	75
1ère incubation pendant 6 min à température ambiante												
AlCl_3 (10%) (µl)	75	75	75	75	75	75	75	75	75	75	75	75
2ème incubation pendant 6 min à température ambiante												
NaOH (4%) (µl)	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000
ED (µl)	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
3ème incubation à l'obscurité pendant 30 min												
Mesure de l'absorbance à 510 nm												

EBM : extrait brut hydro-méthanolique préparé par macération ; **EBD** : extrait brut hydrométhanolique préparé par décoction ; **FAEM** : Fraction Acétate d'éthyle d'extrait brut hydrométhanolique préparé par macération ; **FAED** : Fraction Acétate d'éthyle d'extrait brut hydrométhanolique préparé par décoction ;

❖ Expression des résultats

Les résultats obtenus sont exprimés en microgramme équivalent catéchine par milligramme d'extrait (µg Eq C /mg E).

5. Evaluation de l'activité antioxydante

5.1. Test de piégeage de radical libre DPPH

➤ Principe

Le DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) est un radical azoté de couleur violette, caractérisé par son absorbance maximale à 515 nm. En présence d'un antioxydant, il passe à la forme réduite en formant le 2,2-diphényl-1-hydrazine (DPPHH) de couleur jaune (**Popovici et al., 2009**).

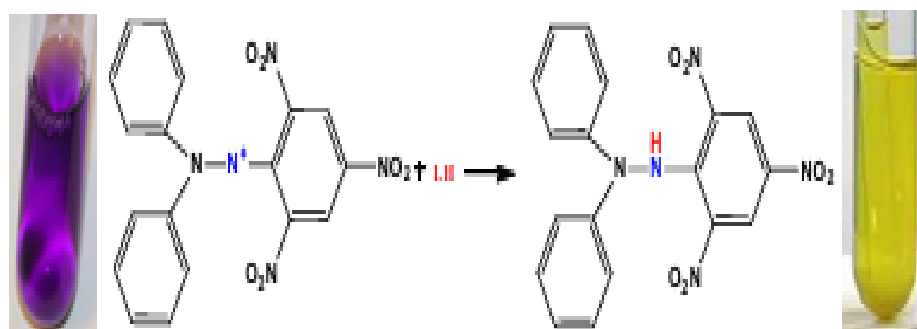


Figure 5:Réduction du radical DPPH (**Fazary et al .,2016**).

➤ Mode opératoire

Ajouter à chaque 50µl d'extraits, 1950µl d'une solution méthanolique de DPPH. Après agitation l'ensemble des tubes sont incubés à l'obscurité pendant 30 min. l'absorbance est mesurée à 517 nm contre un blanc pour chaque concentration d'extraits en mélangeant 50µl d'extraits avec 1950µl du méthanol. Un tube contrôle négatif est préparé en ajoutant 50µl de méthanol à 1950µl d'une solution méthanolique de DPPH ;

Dans les mêmes conditions expérimentales l'acide ascorbique et le BHA ont été utilisés comme molécules antioxydants de référence.

❖ Expression des résultats

Calculer le pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH (I%) selon la formule suivante:

$$I \% = [(A \text{ Témoin négatif} - A \text{ échantillon}) / A \text{ Témoin négatif}] \times 100$$

Déterminer la IC₅₀ : qui représente la concentration qui inhibe 50% du radical libre DPPH à partir de l'équation des courbes des pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations des extraits et des molécules de références;

5.2. Test de pouvoir réducteur de fer

➤ Principe

Le principe de cette méthode est basé sur la mesure de la capacité des extraits testés à transférer des électrons par des réactions d'oxydo-réduction et de réduire le fer ferrique (Fe^{3+}) présente dans le ferricyanure de potassium ($\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$) en ion ferreux (Fe^{2+}). Cette réaction est révélée par l'utilisation du (FeCl_3) qui forme avec le fer ferreux (Fe^{2+}) un complexe de couleur bleu-vert appelé le bleu de Prusse (Kumar et al., 2019).

➤ Mode opératoire

Mélanger 100 μl des extraits à différentes concentrations avec 250 μl d'une solution tampon phosphate 0,2 M (pH 6,6) et 250 μl d'une solution de ferricyanure de potassium $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ (1%). Incuber l'ensemble à 50°C pendant 20 minutes dans l'étuve. Laisser le mélange refroidir puis ajouter 250 μl de l'acide trichloracétique TCA (10%). Après centrifugation à 1000 tours/min pendant 10 min, 500 μl de surnageant est mélangé avec 500 μl d'eau distillée et 100 μl d'une solution aqueuse de chlorure de fer FeCl_3 (0,1%).

L'absorbance est mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre à 700 nm contre un blanc.

Dans les mêmes conditions expérimentales l'acide ascorbique et le BHA ont été utilisés comme molécules antioxydants de référence. Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés.

❖ Expression des résultats

- Tracer les courbes de régression linéaire des absorbances obtenues en fonction des différentes concentrations.
- Les résultats sont exprimés en valeur d' EC_{50} ; qui représente la concentration ayant une absorbance de 0,5.

6. Evaluation de l'activité antidiabétique

6.1. Recherche de l'effet inhibiteur des extraits de pépin de raisin (*Vitis vinifera*) sur l' α amylase

➤ Principe

Cette méthode permet d'évaluer l'effet inhibiteur des extraits de la plante étudiée vis-à-vis l'activité de l' α amylase. Dans ce test nous avons utilisé l'amidon comme substrat et l'acarbose comme témoin positif dans l'inhibition de cette enzyme.

En milieu alcalin et à chaud, l'oxydation des groupements aldéhydes et cétones libres des sucres provoque la réduction de l'acide 3,5-dinitrosalicylique (DNSA) de couleur jaune orange en acide 3-amino 5-nitrosalicylique de couleur rouge orange qui absorbe à 540 nm. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la quantité de sucres réducteurs présents dans le milieu réactionnel (Heidari et al., 2005 ; Thalapaneni et al., 2008).

➤ Préparation de la solution enzymatique

La solution d'enzyme utilisée dans cette technique a été préparée à 3,9 UI/mL par dissolution de 3 mg d'enzyme d'origine animal (pancréas du porc) dans 10 mL du tampon phosphate (0,02 M; 6,7 mM NaCl; pH 6,9).

➤ Préparation de la solution du substrat

Le substrat utilisé est l'amidon soluble de pomme de terre à 1% préparé à chaud et sous agitation (50-70°C) dans le tampon phosphate (0,02 M ; 6,7 mM NaCl; pH 6,9).

➤ Préparation de DNSA (acide 3,5-dinitrosalicylique)

30g du tartrate double de sodium et de potassium est solubilisé dans 20 mL de la solution NaOH (2N) préalablement chauffée à 60°C sous agitation. 1g du DNSA a été dissoute dans 40mL d'eau distillée préchauffée (Les deux solutions obtenues sont mélangées sous agitation pour obtenir un réactif limpide de couleur jaune-orange. Le volume final est ajusté à 100 ml avec de l'eau distillée. Le réactif obtenu est conservé à l'abri de la lumière et à 4°C.

➤ Mode opératoire

Le milieu réactionnel est constitué de 200µL de la solution d'extrait ou d'acarbose, et 200 µL de la solution d'enzyme. Après incubation pendant 10 min à 37°C, 200 µL du substrat (amidon) est additionné au milieu réactionnel. Une deuxième incubation est effectuée pendant 15 min à 37°C. Ensuite, 400 µL du DNSA est ajouté au mélange. Les tubes sont placés dans un bain-marie bouillant pendant 5 min. Cette réaction est arrêtée par un choc thermique, en plaçant les tubes directement dans un bain d'eau glacée. L'absorbance est mesurée à 540 nm contre un blanc (milieu réactionnel sans enzyme).

❖ Expression des résultats :

Le pourcentage d'inhibition (I%) est calculé par la formule suivante :

$$I\% = [(AA - AB) / AA] \times 100$$

✓ **AA** : l'absorbance de control négatif.

✓ **AB** : l'absorbance d'échantillon.

A partir des courbes tracées des pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations de chaque extrait ou standard les IC₅₀ sont calculées.

7. Analyse Statistique

Dans le but de faire une analyse statistique, les résultats obtenus dans cette étude sont analysés par Excel afin de pouvoir comparer les différents résultats qui sont exprimés sous forme de moyennes $\pm$ l'erreur standard à la moyenne.

❖ La moyenne

$$x = \frac{x_1 + x_2 + \dots + x_n}{n} = \frac{1 \sum x_i}{n}$$

❖ Erreur standard

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum (x_i - x)^2}{n-1}} / \sqrt{3}$$

Résultats et interprétation

1. Caractéristiques et rendement d'extraction

Selon les résultats résumés dans le tableau n°6 qui représente les caractéristiques et les rendements des extraits bruts hydrométhanolique de pépins de raisin (*Vitis vinifera*) préparés par macération et décoction (EBD, EBM) ainsi que leurs fractions acétate d'éthyle (FAEM et FAED). Nous avons remarqué que tous les extraits sont récupérés sous forme des cristaux de couleur marron et qui sont soluble dans le méthanol. La fraction acétate d'éthyle d'extrait brut hydrométhanolique préparé par décoction (FAED) a présenté le rendement le plus élevé (12,8 %), suivi par l'extrait brut hydrométhanolique préparé par décoction (EBD) (12,62 %), la fraction acétate d'éthyle brut hydrométhanolique de l'extrait préparé par macération (FEBM) (12,39 %) et l'extrait brut préparé par macération (EBM) (10,34 %).

Tableau 6: Les caractéristiques des extraits de pépin de raisin et de leurs fractions.

Les extraits	EBM	EBD	FAEM	FAED
Rendement(%)	10,34	12,62	12,39	12,8
Solubilité	Méthanol	Méthanol	Méthanol	Méthanol
Couleur	Marron	Marron	Marron	Marron
Aspect	Cristallisé	Cristallisé	Cristallisé	Cristallisé

EBM : extrait brut hydro-méthanolique préparé par macération ; **EBD** : extrait brut hydro-méthanolique préparé par décoction ; **FAEM** : Fraction Acétate d'éthyle d'extrait brut hydrométhanolique préparé par macération **FAED** : Fraction Acétate d'éthyle d'extrait brut hydrométhanolique préparé par décoction.

2. Tests phytochimiques

Les résultats des tests phytochimiques réalisés sur les extraits préparés des pépins de raisin sont indiqués dans le tableau n°7. L'apparition d'une précipitation et d'une coloration en utilisant des réactifs spécifiques indique la présence de certaines familles de composés phytochimiques.

Tableau 7: Les résultats des tests phytochimique des extraits de pépins de raisin (*Vitis vinifera*).

Métabolites secondaires		EBM	EBD	FAEM	FAED
Alcaloïdes	Mayer	+	+	-	-
	Wagner	+	+	-	-
Flavonoïdes		+	+	+	+
Terpénoïdes		+	+	+	+
Tanins		+	+	+	+
Quinones libres		+	+	-	+
Anthraquinones		-	-	-	-
Coumarines Fluorescence UV		-	-	-	-
Composés réducteurs		+	+	+	+
Saponines		-	-	-	-

Test positif (+) ; test négatif (-)

EBM : extrait brut hydro-méthanolique préparé par macération ; **EBD** : extrait brut hydro-méthanolique préparé par décoction ; **FAEM** : Fraction Acétate d'éthyle d'extrait brut hydrométhanolique préparé par macération **FAED** : Fraction Acétate d'éthyle d'extrait brut hydrométhanolique préparé par décoction.

À partir des résultats obtenus dans le tableau ci-dessus, nous avons remarqué la présence des terpénoïdes, des tanins, des flavonoïdes et des sucres réducteurs dans tous les extraits testés (EBM, EBD, FAEM et FAED). Les quinones libres sont présentes dans EBM, EBD et FAED. Tandis que les alcaloïdes sont présents que dans EBM et EBD.

Par contre, nous avons observé une absence des saponines et des anthraquinones dans tous les extraits testés.

3. Dosage des composés phénoliques

Les teneurs en polyphénols et en flavonoïdes totaux sont déterminées à partir des équations de régression linéaire de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique (Figure 6) et de la catéchine (Figure 7), respectivement. Les résultats sont exprimés en microgrammes équivalents d'acide gallique par milligramme d'extrait ($\mu\text{g Eq AG/ mg E}$) pour les polyphénols totaux et en

microgrammes équivalents de catéchine par milligramme d'extrait ($\mu\text{g Eq C/mg E}$) pour les flavonoïdes (tableau 8).

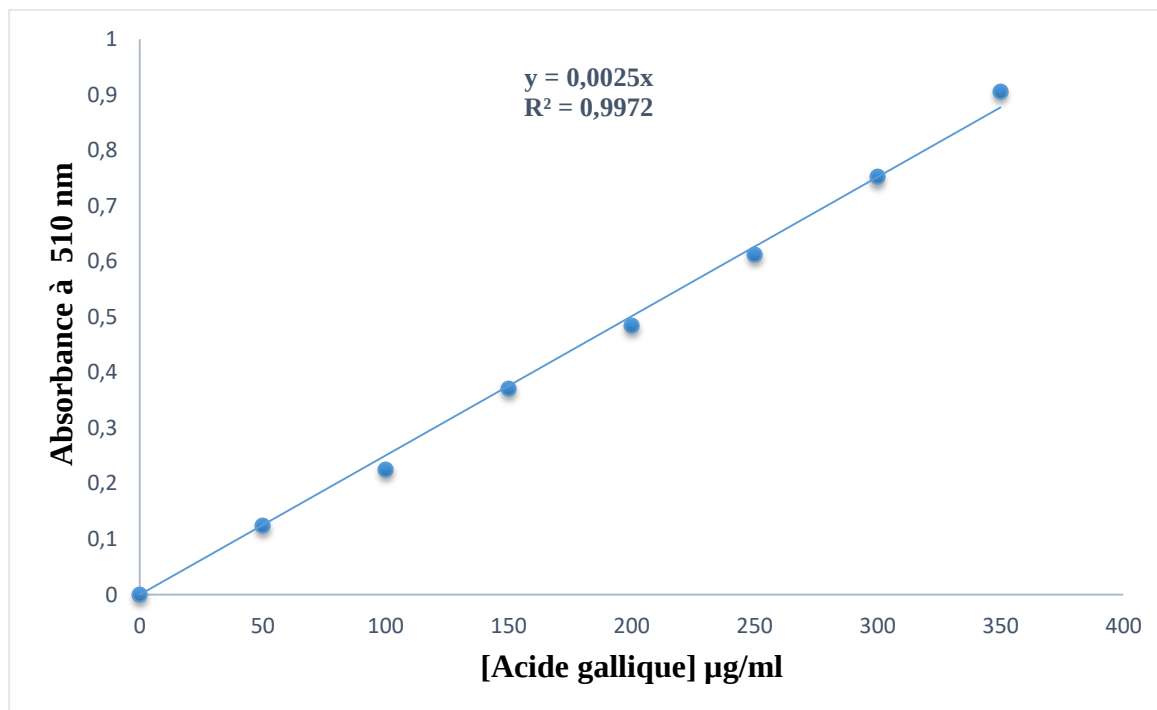


Figure 6: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux.

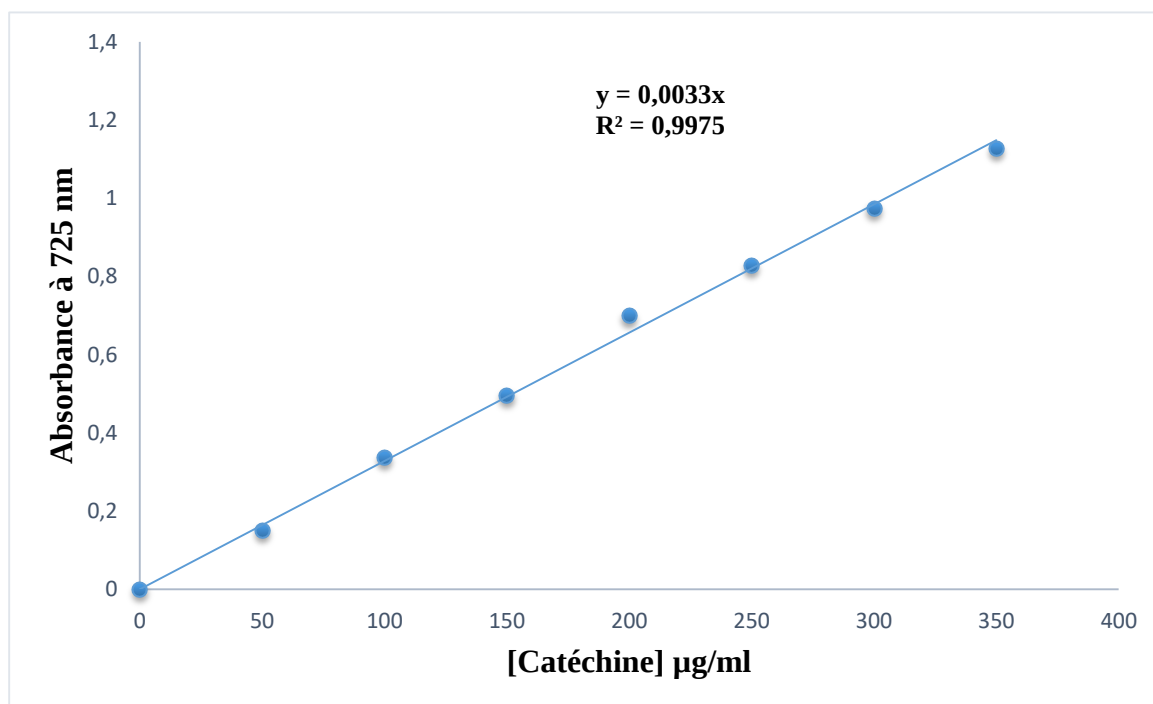


Figure 7: Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des flavonoïdes.

Tableau 8 : Teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes totaux des extraits de pépins de raisin.

	EBM	EBD	FAEM	FAED
Polyphénols totaux ($\mu\text{g Eq AG/ mg E}$)	$647,8 \pm 0,00$	$666,2 \pm 0,32$	$709,16 \pm 0,42$	$700,01 \pm 1,10$
Flavonoïdes ($\mu\text{g Eq C/mg E}$)	$325,63 \pm 4,75$	$351,9 \pm 3,85$	$463,63 \pm 3,85$	$321,12 \pm 6,38$

EBM : extrait brut hydro-méthanolique préparé par macération ; **EBD** : extrait brut hydro-méthanolique préparé par décoction ; **FAEM** : Fraction Acétate d'éthyle d'extrait brut hydrométhanolique préparé par macération **FAED** : Fraction Acétate d'éthyle d'extrait brut hydrométhanolique préparé par décoction.

Les résultats représentées dans le tableau 08 ont montré que la fraction acétate d'éthyle de l'extrait préparé par macération (FAEM) renferme les teneurs les plus élevées en polyphénols totaux ($709,16 \pm 0,42 \mu\text{g Eq AG/ mg E}$) et en flavonoïdes totaux ($463,63 \pm 3,85 \mu\text{g Eq C/ mg E}$). Par contre, la fraction acétate d'éthyle de l'extrait préparé par décoction (FAED) et l'extrait brut préparé par macération (EBM) a présenté les teneurs les plus faibles pour les flavonoïdes totaux et polyphénols totaux respectivement.

4. L'activité antioxydante

Pour évaluer l'activité antioxydante des extraits de pépins de raisin et de ses fractions, nous avons utilisé deux méthodes : le test de piégeage du radical libre DPPH et le test de pouvoir réducteur du fer.

4.1. Piégeage du radical libre DPPH

Les résultats obtenus sont exprimés en pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des concentrations des extraits (EBD, EBM, FAEM, FAED) et des molécules de référence (acide ascorbique et BHA) et illustrées dans la figure 08 et figure 09.

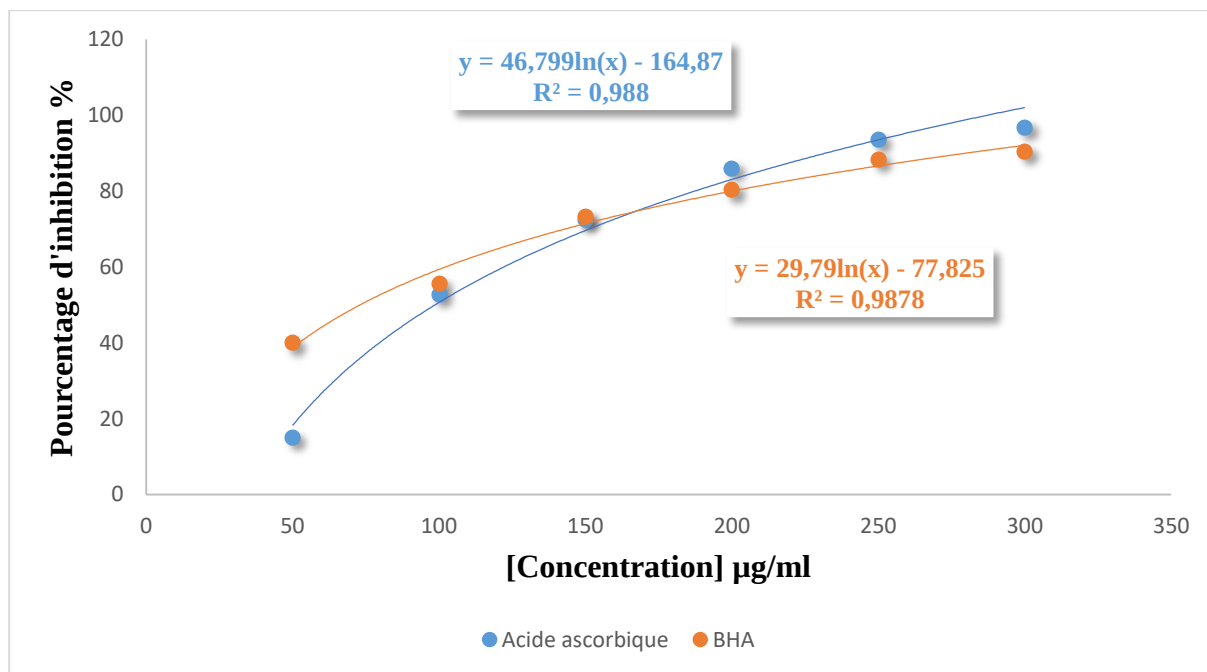


Figure 8: Pourcentage d'inhibition du radical DPPH en fonction de différentes concentrations de l'acide ascorbique et de BHA.

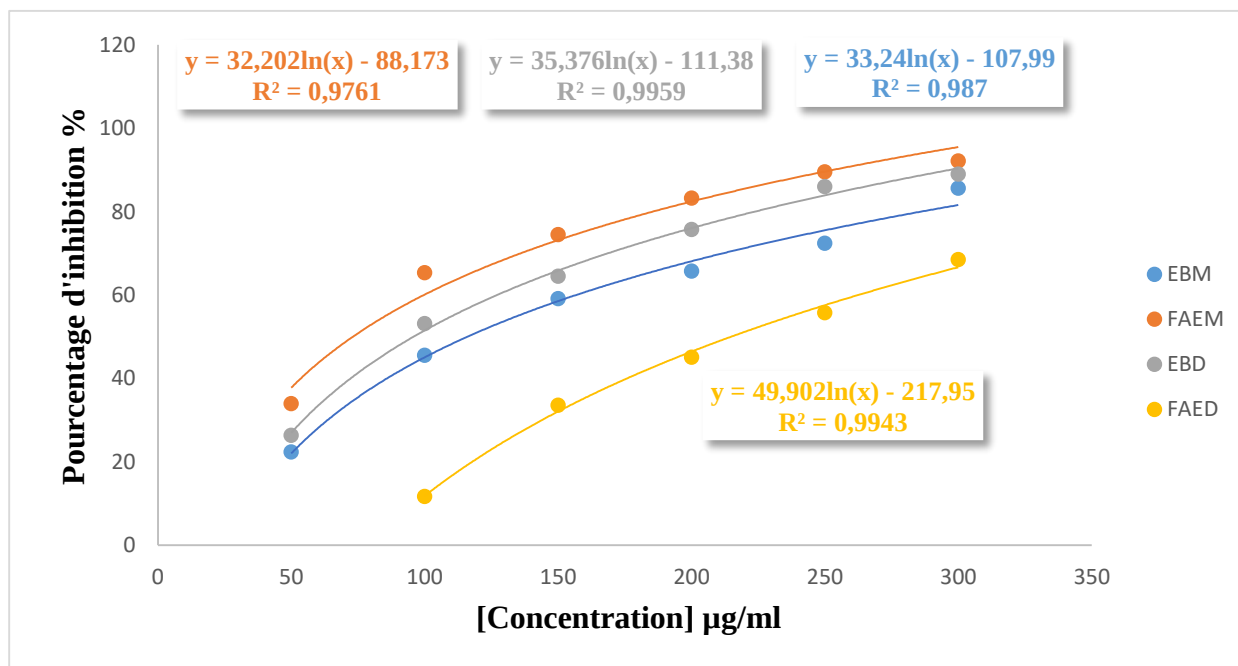


Figure 9: Pourcentage d'inhibition du radical DPPH en fonction des différentes concentrations d'EBM, FAEM, EBD, FAED.

Selon les données fournies par les figures 08 et 09 nous avons noté une augmentation proportionnelle du pourcentage d'inhibition du radical DPPH en fonction des concentrations des extraits de pépins de raisin, de leurs fractions et des molécules de référence.

Les IC_{50} sont déterminés à partir des équations des courbes de régression logarithmique présentées dans les figures 08 et 09.

Tableau 9: Les valeurs des IC_{50} des différents extraits de pépins de raisin par méthode DPPH et des molécules de référence.

Extraits /Référence	IC_{50} ($\mu\text{g} / \text{ml}$)
EBM	$115,93 \pm 0,30$
EBD	$95,76 \pm 1,62$
FAEM	$73,02 \pm 0,37$
FAED	$214,76 \pm 1,70$
Acide ascorbique	$98,62 \pm 1,28$
BHA	$73,02 \pm 3,60$

EBM : extrait brut hydro-méthanolique préparé par macération ; **EBD** : extrait brut hydro-méthanolique préparé par décoction ; **FAEM** : Fraction Acétate d'éthyle d'extrait brut hydrométhanolique préparé par macération **FAED** : Fraction Acétate d'éthyle d'extrait brut hydrométhanolique préparé par décoction.

D'après les résultats obtenus dans le tableau ci-dessus, nous avons constaté que la fraction acétate d'éthyle de l'extrait préparé par macération (FAEM) a enregistré l'activité anti-radicalaire la plus forte avec une IC_{50} de l'ordre de $73,02 \pm 0,37 \mu\text{g} / \text{ml}$. Cette activité est meilleur à celle de l'acide ascorbique ($IC_{50} = 98,62 \pm 1,28 \mu\text{g} / \text{ml}$) et de BHA ($IC_{50} = 73,02 \pm 3,60 \mu\text{g} / \text{ml}$). Tandis que la fraction acétate d'éthyle de l'extrait préparé par décoction (FAED) a montré l'activité anti-radicalaire la plus faible avec une IC_{50} de l'ordre $214,76 \pm 1,70 \mu\text{g} / \text{ml}$.

4.2. Pouvoir réducteur de fer

Pour déterminer le pouvoir réducteur des extraits préparés, nous avons utilisé la méthode de FRAP. Cette méthode est utilisée pour évaluer la capacité des extraits analysés à réduire le fer ferrique (Fe^{3+}) en ferreux (Fe^{2+}).

Les courbes de régression linéaire de l'absorbance en fonction des concentrations des extraits de pépins de raisin (*Vitis vinifera*) et des molécules de référence (acide ascorbique et BHA) sont illustrées dans les figures 10 et 11.

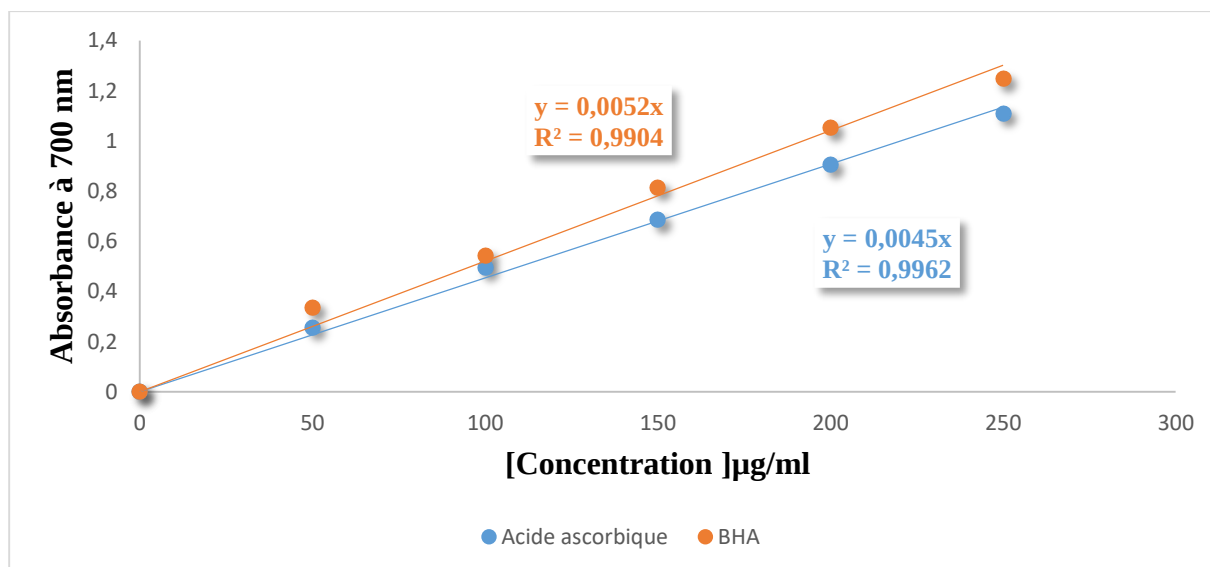


Figure 10:Pouvoir réducteur du fer de l'acide ascorbique et du BHA.

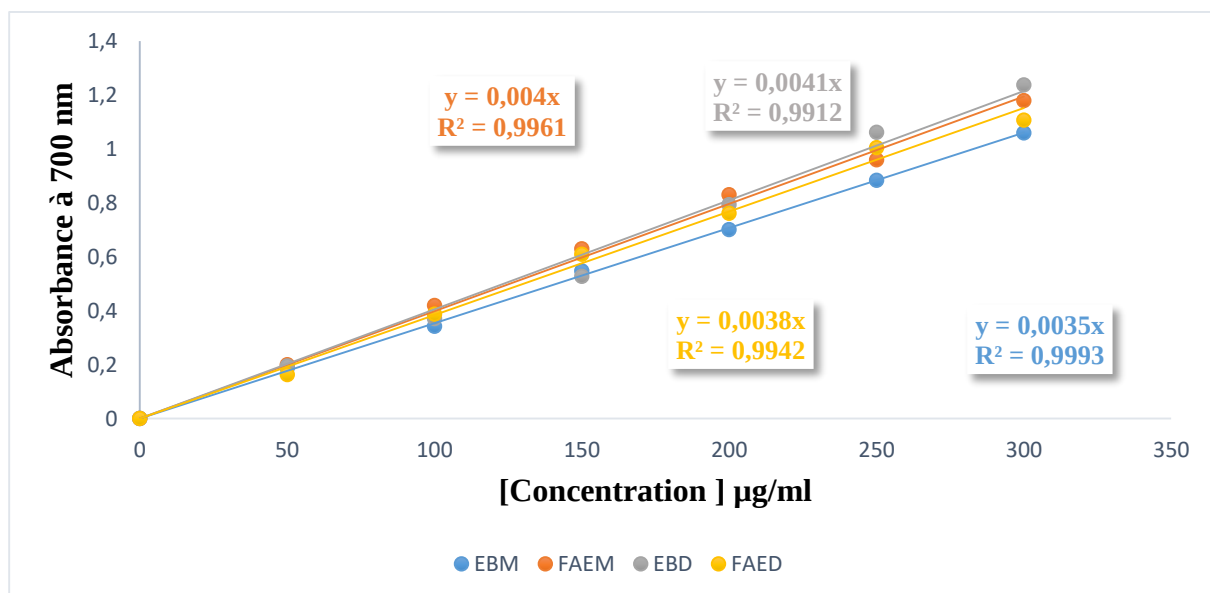


Figure 11:Pouvoir réducteur de Fer en présence des extraits de pépins de raisin (*Vitis vinifera*) (EBM, FAEM, EBD, FAED).

L'EC₅₀ est la valeur de concentration efficace pour laquelle l'absorbance est égale à 0,5 et elle est estimée graphiquement à partir de l'équation des courbes ci-dessus.

Tableau 10: Les valeurs des EC_{50} de l'acide ascorbique, de BHA et des différents extraits de pépins de raisin (*Vitis vinifera*) par méthode FRAP.

Extraits / Référence	EC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)
EBM	142,85 $\pm$ 2,72
EBD	121,95 $\pm$ 2,90
FAEM	125 $\pm$ 1,25
FAED	131,57 $\pm$ 1,12
Acide ascorbique	111,11 $\pm$ 0,84
BHA	96,15 $\pm$ 0,00

EBM : extrait brut hydro-méthanolique préparé par macération ; **EBD** : extrait brut hydro-méthanolique préparé par décoction ; **FAEM** : Fraction Acétate d'éthyle d'extrait brut hydrométhanolique préparé par macération **FAED** : Fraction Acétate d'éthyle d'extrait brut hydrométhanolique préparé par décoction.

Selon les résultats obtenus, nous avons noté que l'extrait préparé par décoction (EBD) a présenté l'activité réductrice de fer la plus puissante ($EC_{50} = 121,95 \pm 2,90 \mu\text{g/ml}$) par rapport aux autres extraits. Ces résultats sont faibles à ceux des molécules de référence (acide ascorbique et BHA).

5. L'activité antidiabétique

5.1. L'effet inhibiteur vis-à-vis de l'alpha amylase

Dans la présente étude nous avons évalué l'effet inhibiteur des extraits bruts hydrométhanoliques des pépins de raisin et leurs fractions vis-à-vis de l'alpha amylase en utilisant l'Acarbose comme contrôle positif.

Les courbes logarithmiques des pourcentages d'inhibition en fonction des différentes concentrations d'extraits préparés de pépins de raisin et de l'Acarbose sont représentées dans les figures (12 et 13) et les valeurs d' IC_{50} sont indiquées dans le tableau 11, respectivement.

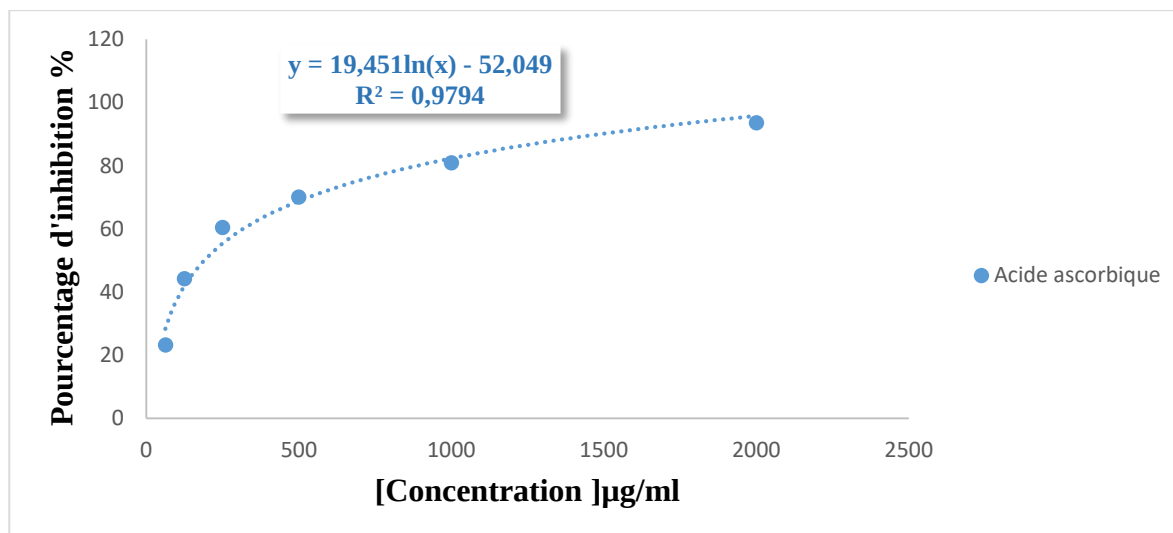


Figure 12: Pourcentage d'inhibition en fonction des différentes concentrations d'Acarbose.

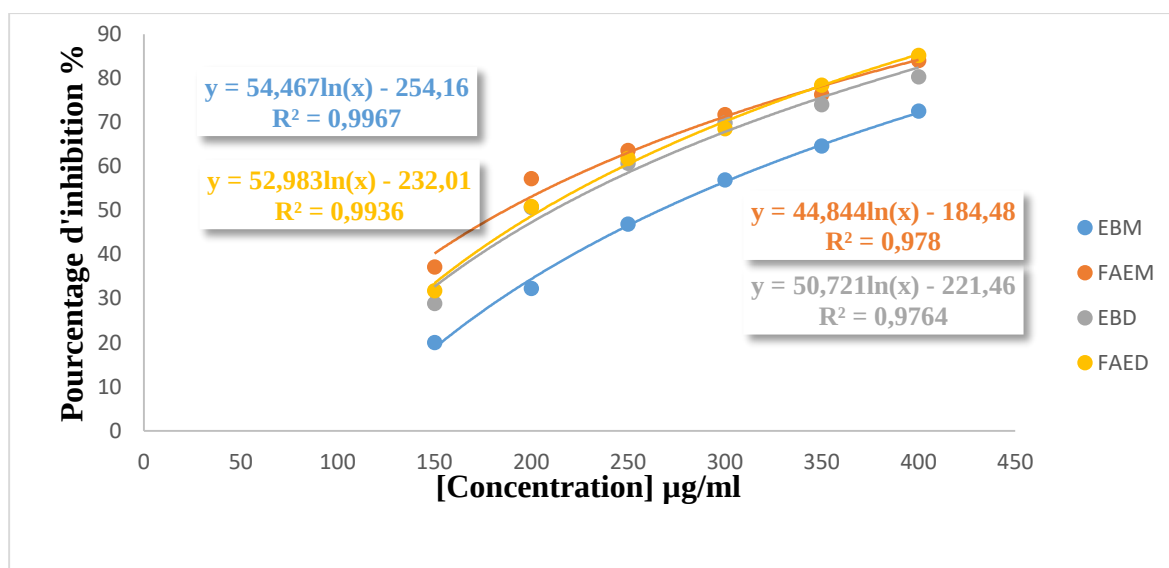


Figure 13: Pourcentage d'inhibition en fonction des différentes concentrations d'extrait de pépin de raisin (EBM, FAEM, EBD, FAED).

Selon les résultats obtenus, nous avons révélé que l'ensemble des extraits testés ont enregistré une activité inhibitrice puissante vis-à-vis de l' α -amylase. Cette activité augmente avec l'augmentation des concentrations des extraits et de l'Acarbose.

Tableau 11: Les valeurs de l' IC_{50} des extraits préparés des pépins de raisin (*Vitis vinifera*) et des molécules de référence inhibitrice sur l'alpha amylase.

Extraits / Référence	IC_{50} (μg /ml)
EBM	266,21 $\pm$ 1,79
EBD	211,03 $\pm$ 0,21
FAEM	186,56 $\pm$ 0,72
FAED	204,92 $\pm$ 0,59
Acarbose	189,89 $\pm$ 0,00

La meilleure activité inhibitrice a été enregistrée dans la fraction acétate d'éthyle de l'extrait préparé par macération (FAEM) avec une IC_{50} de 186,56 $\pm$ 0,72 μg /ml suivie par la fraction acétate d'éthyle de l'extrait préparé par décoction (FAED) (IC_{50} = 204,92 $\pm$ 0,59 μg /ml), l'extrais brut préparé par décoction (IC_{50} = 211,03 $\pm$ 0,21 μg /ml) et l'extrait préparé par macération (IC_{50} = 266,21 $\pm$ 1,79 μg /ml). Ces valeurs sont proche à celui de l'Acarbose (IC_{50} =189,89 $\pm$ 0,00 μg /ml).

Discussion

De nombreuses études ont révélé que les composés bioactifs présents dans le raisin (*Vitis vinifera*) possèdent des propriétés antioxydants, antidiabétiques, anticancéreux, antibactériens, antifongiques, antivirales, anticholinergiques, anti-hyperpigmentation et des propriétés cicatrisantes (**Chaudhary et al., 2021**).

Dans cette étude, nous nous sommes intéressés aux tests phytochimiques, au dosage des composés phénoliques, à l'évaluation de l'activité antioxydante et antidiabétique des extraits bruts hydro-méthanoliques de pépins de raisin (*Vitis vinifera*) cultivés dans la région de Ghazouat, wilaya de Tlemcen et de leurs fractions acétate d'éthyle.

Le calcul des rendements d'extractions nous a permis d'enregistrer des pourcentages différents d'ordre de 10,34 %, 12,62 %, 12,39 %, 12,8 % pour les extraits bruts (EBM et EBD) et leurs fractions acétate d'éthyle (FAEM et FAED) respectivement.

Les travaux réalisés par **Selka et al., (2016)** sur les extraits bruts méthanolique des feuilles de *Vitis vinifera* de la région de Tlemcen, d'Aflou et Sidi-Bel-Abbès ont montré des rendements d'ordre de 12,6 %, 12% et 11,6 % respectivement.

Par ailleurs, **Amara et Melouk (2016)** ont enregistré des rendements de l'ordre de 16,76 % dans l'extrait brut méthanolique des feuilles de *Vitis vinifera*.

Les tests phytochimiques effectuée sur les extraits bruts (EBM et EBD) et leur fraction acétate d'éthyle (FAEM et FAED) de notre plante, indique la présence des flavonoïdes, des terpénoïdes, des tanins et des sucres réducteurs. Par contre, nous avons enregistré la présence des alcaloïdes dans les extraits bruts (EBM, EBD). Les quinones libres ne sont présentes que dans l'extrait préparé par la FAED et l'extrait brut (EBM,EBD).

Nos résultats concordent avec d'autres travaux :

Les résultats de **Labrie et al., (2020)** ont montré la présence des flavonoïdes, des tanins, des coumarines, des saponosides et des composés réducteurs. Par contre, une absence totale d'alcaloïdes dans tous les extraits hydro-méthanolique de pépins de raisin a été enregistrée.

Buvaneswari et Sumayaa, (2020) ont indiqué la présence des flavonoïdes, des saponines, des terpénoïdes, des tanins dans les extraits éthanolique et méthanolique de pépins de raisin (*Vitis vinifera*) collecté en Inde.

De même, les tests phytochimique effectués par **Elgengaihi et al., (2013)** sur les différentes variétés de raisin (*Vitis vinifera*) de l'Égypte ont révélé que l'extrait éthanolique est riche en flavonoïdes et en tannins. En revanche, ont également noté l'absence des alcaloïdes, des saponines, des coumarines et des terpénoïdes.

D'après les résultats de l'analyse quantitative la fraction acétate d'éthyle préparé par macération a enregistré la teneur la plus élevée en polyphénols totaux et en flavonoïdes totaux d'ordre de $709,16 \pm 0,42 \mu\text{g Eq AG/mg E}$ et $463,63 \pm 3,85 \mu\text{g Eq C/mg E}$, respectivement.

Hanaa et al., (2015) ont enregistré des teneurs en flavonoïdes de l'ordre de $305 \pm 17,32 \mu\text{g Eq C/mg E}$ et $372,5 \pm 5,00 \mu\text{g Eq C/mg E}$ pour les extraits éthanolique et méthanolique de pépins de raisin, respectivement.

Le travail de **Radulescu et al., (2020)** ont déterminé des teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes dans les extraits des pépins de raisin de l'ordre de $55,69 \pm 3,18 \mu\text{g Eq AG/mg E}$ et $47,04 \pm 1,87 \mu\text{g Eq AG/mg E}$ pour les polyphénols totaux et $43,94 \pm 3,84 \mu\text{g Eq C/mg E}$ et $26,2 \pm 1,46 \mu\text{g Eq C/mg E}$ pour les flavonoïdes totaux respectivement.

L'activité antioxydante des extraits de pépins de raisin a été évaluée par la méthode de piégeage de radical DPPH et la méthode du pouvoir réducteur de fer. Pour la méthode DPPH, nous avons enregistré que la fraction acétate d'éthyle de l'extrait préparée par macération (FAEM) et l'extrait brut préparé par décoction (EBD) ont montré la meilleure activité antiradicalaire avec des IC_{50} de l'ordre de $73,02 \pm 0,37 \mu\text{g/ml}$ et $95,76 \pm 1,62 \mu\text{g/ml}$ respectivement. C'est résultats sont proche de celles des molécules de référence (acide ascorbique et BHA).

Ravipati et al., (2025) ont déterminé l'activité antiradicalaire par méthode DPPH, l'extrait éthanolique des pépins de raisin avec une valeur IC_{50} estimée à $40,60 \mu\text{g/ml}$.

De même **Benkhadher et al., (2022)** ont évalué l'activité antioxydante des extraits de pépins de raisin par la méthode de DPPH. Ils ont enregistré des valeurs d' IC_{50} d'ordre de $42,5 \pm 2,9 \mu\text{g/ml}$, $34,6 \pm 0,8 \mu\text{g/ml}$, $43,1 \pm 2,8 \mu\text{g/ml}$ pour les extraits éthanolique et méthanolique préparés par macération et la fraction acétate d'éthyle respectivement.

Dans la méthode de pouvoir réduction de fer, nous avons noté que l'EBD a enregistré la meilleure activité réductrice de fer avec une EC_{50} de $121,95 \pm 2,90 \mu\text{g/ml}$. Cette activité reste

faible par rapport à ceux de l'acide ascorbique ($EC_{50} = 111,11 \pm 0,84 \mu\text{g/ml}$) et BHA ($EC_{50} = 96,15 \pm 0,00 \mu\text{g/ml}$).

L'étude menée par **Pozzo et al., (2023)** a montré que l'extrait méthanolique de pépins de raisin a enregistré un pouvoir réducteur puissant avec une EC_{50} de $35,4 \pm 1,4 \mu\text{g/ml}$.

Concernant l'activité inhibitrice des extraits de pépins de raisin (*Vitis vinifera*) vis-à-vis de l' α -amylase, la fraction acétate d'éthyle préparé par macération (FAEM) a présenté une meilleure activité inhibitrice avec une IC_{50} d'ordre de $186,56 \pm 0,72 \mu\text{g/ml}$. Cette activité est meilleure à celle de l'Acarbose ($IC_{50} = 189,89 \pm 0,00 \mu\text{g/ml}$).

En comparaison avec d'autres études réalisées, l'activité inhibitrice de nos extraits étudiés est meilleure par rapport à celle obtenus par **Dar et al., (2022)** qui ont enregistré une activité inhibitrice pour l'extrait éthanolique avec IC_{50} d'ordre de $292,7 \mu\text{g/ml}$, suivie par les extraits acétate d'éthyle et éther de pétrole avec IC_{50} d'ordre de $318,2 \mu\text{g/ml}$ et $391,2 \mu\text{g/ml}$ respectivement.

L'étude menée par **Karageçili et al., (2023)** qui ont noté des IC_{50} d'ordre de $385,1 \mu\text{g/ml}$ et $567,6 \mu\text{g/ml}$ pour l'extrait aqueux et éthanolique des pépins de raisin respectivement.

Les résultats de notre travail sont légèrement différents par rapport aux travaux cités précédemment et cela peut être dû à plusieurs facteurs comme le solvant et la méthode d'extraction utilisée, la partie de plante utilisée, l'espèce des pépins de raisin utilisé et les conditions expérimentales

Conclusion

Dans la présente étude, nous nous sommes focalisés sur une analyse phytochimique qualitative et quantitative des extraits des pépins de raisin (*Vitis vinifera*) récoltée dans la région de Ghazouat, wilaya de Tlemcen, et de leur fractions riches en composés phénoliques ainsi qu'à l'évaluation *in vitro* de leurs activités biologiques, en particulier l'activité antioxydante et antidiabétique.

Les résultats obtenus au cours de cette recherche ont abouti aux conclusions suivantes :

- Les extraits bruts hydro-méthanoliques préparés par macération et décoction et leurs fractions acétate d'éthyle ont révélé des extraits cristallisés, de couleur marron, avec des rendements estimés de 10,34 %, 12,62 %, 12,39 % et 12,8 % respectivement.
- Les tests phytochimiques ont montré la présence des terpénoïdes, des tanins, des sucres réducteurs, des flavonoïdes, des quinones libres, des anthraquinones et l'absence des saponines et des coumarines.
- La fraction acétate d'éthyle préparé par macération a présenté la meilleure teneur en polyphénols et flavonoïde totaux.
- La fraction acétate d'éthyle de l'extrait brut préparé par macération et l'extrait brut préparé par décoction ont enregistré des meilleures activités antioxydant par le test de piégeage du radical libre DPPH et par le test de pouvoir réducteur du fer respectivement.
- Par ailleurs, les fractions acétate d'éthyle des extraits préparés par macération et décoction possèdent une activité inhibitrice élevée sur l' α -amylase.

Les différents points mis en évidence dans cette étude et les résultats obtenus ouvrent de nouvelles perspectives de recherche, dans ce qui suit :

- ✓ Utiliser d'autres solvants et changer la méthode d'extraction pour optimiser le rendement ;
- ✓ Evaluer d'autres activités biologiques des pépins de raisin (*Vitis vinifera*) telles que l'activité anti-inflammatoire, antimicrobienne et anticancéreuse... ;
- ✓ Evaluer l'activité antioxydante et antidiabétique *in vivo* ;

Références bibliographiques

1. **Abbou, F. (2022).** Etude phytochimique et évaluation de l'activité antioxydante, antidiabétique et anti-Alzheimer des extraits et des fractions riches en composés phénoliques préparés de *Mentha pulegium* L. et *Santolina chamaecyparissus* L. Thèse de doctorat, Université Abou Bekr Belkaïd, Tlemcen.
2. **Albogami, S. (2020).** Proanthocyanidins reduce cellular function in the most globally diagnosed cancers *in vitro*. 15:8: e 9910.
3. **Alfonso-Prieto, M., Biarnés, X., Vidossich, P., and Rovira, C. (2009).** The molecular mechanism of the catalase reaction. *Journal of American. Chemical. Society*. 131 (33), 11751–11761.
4. **Amara, N., & Melouk, F. Z. (2016).** Activité antimicrobienne des extraits des feuilles de la Vigne Sauvage (*Vitis vinifera sylvestris*). *Algerian Journal of Natural Products*, 4(3), 358-366.
5. **American Diabetes Association. (2020).** 3. Prevention or delay of type 2 diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes—2020. *Diabetes Care*, 43(Supplement_1), S32-S36.
6. **Baudin,B.(2020).** Stress oxydant et protections Antioxydantes. *Revue Francophone des Laboratoires*, (522), 22-30.
7. **Bauduceau, B., Bordier, L., & Doucet, J. (2024).** Les nouvelles classes médicamenteuses: un pas décisif dans l'amélioration de la prise en charge des personnes âgées vivant avec un diabète de type 2. *Bulletin de l'Académie Nationale de Médecine*, 208(1), 95-100. *Life*, 14, 228.
8. **Belhadj, M., Abrouk, S., Nadir-Azirou, D., Gari, S., Nicolucci A. (2016).** Une Clinique mobile pour évaluer le risque cardio-métabolique et détecter les complications du diabète en Algérie. *Médecine des maladies métaboliques* ; 10(2) : 175-182.
9. **Ben Khadher, T., Aydi, S., Mars, M., & Bouajila, J. (2022).** Study on the chemical composition and the biological activities of (*Vitis vinifera*) stem extracts. *Molecules*, 27(10), 3109.
10. **Ben Khadher, T., Aydi, S.; Mars, M.; Bouajila, J. (2022).** Study on the Chemical Composition and the Biological Activities of (*Vitis vinifera*) Stem Extracts. *Molecules*, 27, 3109.

11. **Benhaddou A. (2009).** Etude des propriétés antidiabétiques de *Negilla, Sativa*.
Thèse de doctorat en pharmacie, Maroc : 214p.
12. **Ben-Moussa, M. T., Khelil, K., Harkat, H., Lakehal, S., & Hadeif, Y. (2020).** Composition chimique, activité antimicrobienne et antioxydante de l'huile essentielle de *Brocchia cinerea* VIS d'Algérie. *Médecine Sciences*, 7(2), 122-8).
13. **Bensaïd, Z. K., & Lechleche, S. (2021).** Optimisation de l'Activité Antioxydante *in vitro* de l'Huile de Pépin de Raisin.
14. **Brown, S. H., & Kelly, R. M. (1993).** Characterization of amylolytic enzymes, having both α -1, 4 and α -1, 6 hydrolytic activity, from the thermophilic archaea *Pyrococcus furiosus* and *Thermococcus litoralis*. *Applied and environmental microbiology*, 59(8), 2614-2621.
15. **Bruneton J. (1999).** Pharmacognosie-Phytochimie-Plantes médicinales. 3ème édition. Paris: Tec & Doc. Lavoisier.
16. **Buvaneswari, K. M., & Sumayaa, S. (2019).** Qualitative phytochemical analysis of grape seed. *International Journal of Research and Analytical Reviews*, 6(2).
17. **Carr, A. C., & Maggini, S. (2017).** Vitamin C and immune function. *Nutrients*, 9(11), 1211.
18. **Chatterton Jr, R. T., Vogelsong, K. M., Lu, Y. C., Ellman, A. B., & Hudgens, G. A. (1996).** Salivary α -amylase as a measure of endogenous adrenergic activity. *Clinical physiology*, 16(4), 433-448.
19. **Daneman, D. (2006).** Type 1 diabetes. *The Lancet*, 367(9513), 847–858.
20. **De Souza, P. M., & d'Oliveira Magalhães, P. (2010).** Application of microbial α -amylase in industry—A review. *Brazilian journal of microbiology*, 41(4), 850-861.
21. **Demelin, E. (1986).** Le raisin et ses applications thérapeutiques. Thèse de Doctorat. Université de Limoges .
22. **Di Lorenzo, C., Colombo, F., Biella, S., Orgiu, F., Frigerio, G., Regazzoni, L., & Restani, P. (2019).** Phenolic profile and antioxidant activity of different grape (*Vitis vinifera* L) varieties. *In BIO Web of Conferences* (Vol. 12, p. 04005). EDP Sciences.
23. **Di Lorenzo, C., Colombo, F., Sangiovanni, E., Biella, S., Regazzoni, L., Peres de Sousa, L., Bavaresco, L., Tomasi, D., Bosso, A., Aldini, G., Dell'Agli, M., &**

- Restani, P. (2019).** Phenolic profile and biological activity of table grapes (*Vitis vinifera* L). *BIO Web of Conferences*, 15, Article 04005. <https://doi.org/10.1051/bioconf/20191504005>.
- 24. Di Meo, S., & Venditti, P. (2020).** Evolution of the knowledge of free radicals and other oxidants. *Oxidative medicine and cellular longevity*, (1), 9829176.
- 25. Di Pietro Fernandes, C., Santana, L. F., dos Santos, J. R., Fernandes, D. S., Hiane, P. A., Pott, A., Freitas, K. de C., Bogo, D., Nascimento, V. A. do, Filiú, W. F. de O., Asato, M. A., & Guimarães, R. de C. A. (2023).** Nutraceutical potential of grape (*Vitis vinifera* L) seed oil in oxidative stress, inflammation, obesity and metabolic alterations. *Molecules*, 28(23), 7811. <https://doi.org/10.3390/molecules28237811>.
- 26. Diabetes Complications (2025).** International Diabetes Federation 11th EDITION FID.
- 27. Dimitrina Krasteva, Yavor Ivanov, Zlatina Chengolova and Tzonka Godjevargova.(2023).** Antimicrobial Potential, Antioxidant activity, and Phenolic content of Grape Seed Extracts from Four Grape varieties. *Microorganisms*, 11,395.
- 28. Dopico-Garcia, M.S.; Figue, A.; Guerra, L.; Afonso, J.M.; Pereira, O.; Valentao, P., Andrade, P.B.; Seabra, R.M. (2008).** Principal components of phenolics to characterize red Vinho Verde grapes: Anthocyanins or non-coloured compounds? *Talanta* , 75, 1190–1202.
- 29. Durand, D., Damon, M., & Gobert, M. (2013).** Le stress oxydant chez les animaux de rente: principes généraux. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, 48(5), 218-224.
- 30. El Gengaihi, S., Ella, F. A., Hassan, E. M., Shalaby, E. A., & Baker, D. H. A. (2013).** Phytochemical investigation and radical scavenging activity of wastes of some grape varieties grown in Egypt. *Global Journal of Pharmacology*, 7(4), 465-473.
- 31. Evgenia Maria Tsantila , Nils Esslinger, Maria Christou , Panagiotis Papageorgis, Christiana M.(2024).** Neophytou. Antioxidant and Anticancer Activity of (*Vitis vinifera*). *Extracts in Breast Cell Lines. Life*, 14, 228.
- 32. Fagot-Campagna, A., Romon, I., Fosse, S., & Roudier, C. (2010).** Prévalence et incidence du diabète, et mortalité liée au diabète en France : Synthèse épidémiologique. *Saint-Maurice, France : Institut de veille sanitaire*. 1-11.

33. Farooq, M. A., Ali, S., Hassan, A., Tahir, H. M., Mumtaz, S., & Mumtaz, S. (2021). Biosynthesis and industrial applications of α -amylase: A review. *Archives of Microbiology*, 203, 1281-1292.
34. Favier, A. (2003). Le stress oxydant. *L'actualité chimique*, 108(10), 863-832.
35. Fazary, A. E., Ju, Y. H., Rajhi, A. Q., Alshihri, A. S., Alfaifi, M. Y., Alshehri, M. A., & Abd-Rabboh, H. S. (2016). Bioactivities of novel metal complexes involving B vitamins and glycine. *Open Chemistry*, 14(1), 287-298.
36. Felhi, S., Baccouch, N., Ben Salah, H., Smaoui, S., Allouche, N., Gharsallah, N., & Kadri, A. (2016). Nutritional constituents, phytochemical profiles, in vitro antioxidant and antimicrobial properties, and gas chromatography–mass spectrometry analysis of various solvent extracts from grape seeds (*Vitis vinifera* L). *Food science and biotechnology*, 25, 1537-1544 .
37. Fernandes, F., E. Ramalhosa, P. Pires, J. Verdial, P. Valentão, P. Andrade, A. Bento and J. A. Pereira (2013). (*Vitis vinifera*) leaves towards bioactivity. *Ind Crops Prod* 43: 434-440.
38. FID (Fédération Internationale Du Diabète) (2019) .Atlas du diabète 9eme Edition.
39. FID (Fédération Internationale Du Diabète) (2021).Atlas du diabète 10 eme Edition.
40. Forman, H. J., and Zhang, H. (2021). Targeting oxidative stress in disease: promise and limitations of antioxidant therapy. *Nature . Reviews. Drug Discovery*, 20 (9), 689–709.
41. FOUGERE, Édouard. (2019). Le diabète gestationnel. *Actualités Pharmaceutiques*, vol. 58, no 586, p. 57-59.
42. Galet, P. (2000). Dictionnaire encyclopédique des cépages. *Edition Hachette, France*, 1024pp.
43. Garavaglia J., Markoski M.M., Oliveira A., Marcadenti A. (2016). Composés d'huile de pépins de raisin : actions biologiques et chimiques pour la santé. *Nutrition and Metabolic .Insights*,9:59–64.
44. García-Gurrola, A., Martínez, A. L., Wall-Medrano, A., Olivas-Aguirre, F. J., Ochoa-Ruiz, E., & Escobar-Puentes, A. A. (2024). Phytochemistry, Anti-cancer, and Anti-diabetic Properties of Plant-Based Foods from Mexican Agrobiodiversity: A Review. *Foods*, 13(24), 4176.
45. GARRETT R. H., GRISHAM C. M. (2000). *Biochimie*: 1292.

46. **GASHI, Deborah et PIDOUX, Noémie. (2021).** Micronutrition et neuropathies diabétiques: quels effets sur les symptômes et la fonction nerveuse?.
47. **Gayathri, V. M., & Preetha, S. (2025).** Review on Scaling up α -Amylase Production by Bacterial Strains through Solid State Fermentation. IJSAT-International Journal on Science and Technology (16)1Key molecular scaffolds in the development of clinically viable α -amylase inhibitors Singls, R., Sindhu,J.,Singh D.,& Kumar ,P.Key.molecular scaffolds in the development of chimiclar viable α -amylase : inhibitor. *Future Medicinal chimistry* ,1-16.
48. **Ghafoor, K.; Uslu, N.; Özcan, M.; Juhaimi, F.; Babiker, E.; Ahmed, I.; Azmi, I.(2020).** Influence of grape variety on bioactive compounds, antioxidant activity, and phenolic compounds of some grape seeds grown in Turkey, 44, e14980. *Journal of Food Processing. Preservation*, 44, e14980.
49. **GOETZ, P. (2021).** (*Vitis vinifera* L). Huile de pépins de raisin. *Phytothérapie*, Vol. 19, p.114-116.
50. **Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J. O., Charlier, C., & Chapelle, J. P. (2007).** Le stress oxydant. *Revue médicale de Liège*, 62(10).
51. **Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J.O., Charlier, C., & Chapelle, J.P. (2007).** Le stress oxydatif. *Revue Médicale Liège* ,62 : 628-638.
52. **Hanaa, M., Elshafie, M., Ismail, H., Mahmoud, M., & Ibrahim, H. (2015).** Chemical studies and phytochemical screening of grape seeds (*Vitis Vinifera* L). *Minia Journal ofAgricultural. Research. Developepment*, 35, 313-325.
53. **Harbone, J.B. (1998).** Phytochemical Methods: A guide to modern techniques of plant analysis. 3éme Edition. *chapman and Hill*, p 303.
54. **Hari Krishnan Krishnamurthy, Michelle Pereira, Imbaasree Rajavelu,Vasanth Jayaraman, Karthik Krishna, Tianhao Wang, Kang Bei, John J. Rajasekaran.(2024).** Oxidative stress: fundamentals and advances in quantification techniques, *Frontiers in Chemistry*. volume (12).
55. **Haseeb, S.; Alexander, B.; Santi, R.L.; Liprandi, A.S.; Baranchuk, A. (2019).** What's in wine? A clinician's perspective. *Trends Cardiovascular. Medicine.*, 29, 97–106.
56. **Heidari, R., Zareae, S. & Heidarizadeh, M. (2005).** Extraction, purification, and inhibitory effect of alpha-amylase inhibitor from wheat (*Triticum aestivum* Var. Zarrin). *Pakistan Journal of Nutrition* , 4(2) : 101-105.

57. Hussain, T., Tan, B., Yin, Y., Blachier, F., Tossou, M. C., and Rahu, N. (2016). Oxidative stress and inflammation: what polyphenols can do for us? *Oxidative Med. Cell. Longev*, 7432797.
58. Hwang, S. Y., Nakashima, K., Okai, N., Okazaki, F., Miyake, M., Harazono, K., & Kondo, A. (2013). Thermal stability and starch degradation profile of α -amylase from *Streptomyces avermitilis*. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 77(12), 2449-2453.
59. Jin S-M, Kim T-H, Oh S, Baek J, Joung JY, Park S-M, et al.(2015). Association between the extent of urinary albumin excretion and glycaemic variability indices measured by continuous glucose monitoring. *Diabet Medicine Journal Brundaise Diabet Association*, 32:274–9. <https://doi.org/10.1111/dme.12607>.
60. Kalinovskii, A. P., Sintsova, O. V., Gladkikh, I. N., & Leychenko, E. V. (2023). Natural inhibitors of mammalian α -amylases as promising drugs for the treatment of metabolic diseases. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(22), 16514.
61. Ka-Na Lin, Wei Zhao¹, Shi-Ying Huang¹, Hao Li¹.(2021). Grape seed proanthocyanidin extract induces apoptosis of HL-60/ADR cells via the Bax/Bcl-2 caspase-3/9. *Signaling pathway Translational Cancer Research*,10(9):3939-3947.
62. Karageçili, H., İzol, E., Kireççi, E., & Gülçin, İ. (2023). Antioxidant, antidiabetic, antiglaucoma, and anticholinergic effects of Tayfi grape (*Vitis vinifera*): A phytochemical screening by LC-MS/MS analysis. *Open Chemistry*, 21(1), 20230120.
63. Karouche, S., Benbott, A., & Henouda, S. (2022). CONTENU PHENOLIQUE ET ACTIVITÉS BIOLOGIQUES DES FEUILLES DE L'ESPÈCE *Bunium mauritanicum*.
64. Kowalczyk, A. (2021). The Role of the Natural Antioxidant Mechanism in Sperm Cells. *Springer Science and Business Media LLC*.
65. Krasteva, D., Ivanov, Y., Chengolova, Z., & Godjevargova, T. (2023). Antimicrobial potential, antioxidant activity, and phenolic content of grape seed extracts from four grape varieties. *Microorganisms*, 11(2), 395.
66. Krishnamurthy, H. K., Pereira, M., Rajavelu, I., Jayaraman, V., Krishna, K., Wang, T., ... & Rajasekaran, J. J. (2024). Oxidative stress: fundamentals and advances in quantification techniques. *Frontiers in Chemistry*, 12, 1470458.
67. Labri, K., Moghrani, H., Kord, A., Doukara, A. B., Gueffai, A., & Assia, A. (2020). Phytochemical screening, antioxidant and antimicrobial activities of grape

- (*Vitis vinifera* L.) seed extracts from red globe and Valenci Algerian varieties. *Acta Period. Technoogyl*, 220(51), 137-147 .
- 68. Luisa Pozzo , Teresa Grande , Andrea Raffaelli , Vincenzo Longo 1, Stanisław Weidner, Ryszard Amarowicz, Magdalena Karama´c. (2023).** Characterization of Antioxidant and Antimicrobial Activity and Phenolic Compound Profile of Extracts from Seeds of Different (*Vitis Species*). *Molecules*, 28, 4924.
- 69. Luque-Rodríguez, J. M., De Castro, M. L., & Pérez-Juan, P. (2005).** Extraction of fatty acids from grape seed by superheated hexane. *Talanta*, 68(1), 126-130 .
- 70. Marchand L, Thivolet C. (2016).** Étiologie et physiopathologie du diabète de type 1. *EMC - Endocrinologie-Nutrition*,13(4):1-12 [Article 10-366-C-10].
- 71. Martin, M. E., Grao-Cruces, E., Millan-Linares, M. C., & Montserrat-De la Paz, S. (2020).** Grape (*Vitis vinifera* L) seed oil: A functional food from the winemaking industry. *Foods*, 9(10), 1360.
- 72. Mezouar, D., Azzi, R., Abbou, F., Mouderas, F., AISSAOUI, M., & Boucif, L. F. (2021).** Alpha-amylase inhibitory activity and antioxidant effect of *Olea var. europaea sylvestris* leaves extracts. *Genetics & Biodiversity Journal*, 5(2), 146-158.
- 73. Micheli, L., Mattoli, L., Maidecchi, A., Pacini, A., Ghelardini, C., Di Cesare Mannelli, L.(2018).** Effect of (*Vitis vinifera*) hydroalcoholic extract against oxaliplatin neurotoxicity: *in vitro* and *in vivo* evidence. *Sci. Rep*, 8, 14364.
- 74. Micheli, L., Mattoli, L., Maidecchi, A., Pacini, A., Ghelardini, C., Di Cesare Mannelli, L. (2018).** Effect of (*Vitis vinifera*) hydroalcoholic extract against oxaliplatin neurotoxicity: *in vitro* and *in vivo* evidence. *Scientific. Reports*, 8, 14364.
- 75. New Insights into the Latest Advancement in α -Amylase Inhibitors of Plant Origin with Anti-Diabetic Effects Kashtoh, H., & Baek, K. H. (2023).** New insights into the latest advancement in α -amylase inhibitors of plant origin with anti-diabetic effects. *Plants*, 12(16), 2944.
- 76. Norris, S. (2021).** Cent ans d'insuline: le diabète au Canada. Bibliothèque du Parlement.
- 77. Organisation mondiale de la Santé, Rapport mondial sur le diabète. (2016).** Genève.
- 78. Orhan N, Aslan M, Orhan DD, Ergun F, Yesilada E..(2006).** *In vivo* assessment of antidiabetic and antioxidant activities of grapevine leaves (*Vitis vinifera*) in diabetic rats. *Journal. Ethnopharmacol.* 108: 280-286.
- 79. Papatheodorou, K., & Edmonds, M. (2017).** Complications of Diabetes.

80. Paul, J. S., Gupta, N., Beliya, E., Tiwari, S., & Jadhav, S. K. (2021). Aspects and recent trends in microbial α -amylase: a review. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 193, 2649-2698.
81. Phaniendra, A., Jestadi, D. B., and Periyasamy, L. (2015). Free radicals: properties, sources, targets, and their implication in various diseases. *Indian J. Clin. Biochem. International Journal CentralBanking* 30 (1), 11–26.
82. Pierre , M., Lys, M. (2007). Secrets des plantes, Pour se soigner naturellement, Edition Artémis, Chamalières. 465pp.
83. Pillon, F., Tan ,K., Jouty ,P.(2014).Le traitement médicamenteux du diabète de type 2. *Act Pharmacie*, 541:23-8.
84. 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).
85. Quelenis, N. (2008). La vigne, Fiche technique n°20, CCI info agro-industrie, 31pp.
86. Radulescu, C., Buruleanu, L. C., Nicolescu, C. M., Olteanu, R. L., Bumbac, M., Holban, G. C., & Simal-Gandara, J. (2020). Phytochemical profiles, antioxidant and antibacterial activities of grape (*Vitis vinifera* L) seeds and skin from organic and conventional vineyards. *Plants*, 9(11), 1470.
87. Ravipati, S., Gogulamudi, M., Ropavath, S. D., Godavari, L. P., & Pulicherla, P. (2025). Evaluation of Antidiabetic and Antioxidant Properties of (*Vitis vinifera*) Seed Extract in Alloxan-Induced Diabetic Rats. *Journal of Pharma Insights and Research*, 3(2), 225-232.
88. Rawat, P., Sehar, U., Bisht, J., & Reddy, P. H. (2023). Support provided by caregivers for community-dwelling diabetic hispanic adults with intellectual disabilities and comorbid conditions. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(4), 3848.
89. Recinella, L., Chiavaroli, A., Veschi, S., Cama, A., Acquaviva, A., Libero, M. L., & Ferrante, C. (2022). A grape (*Vitis vinifera* L) pomace water extract modulates inflammatory and immune response in SW-480 cells and isolated mouse colon. *Phytotherapy research*, 36(12), 4620-4630.
90. Recinella, L.; Chiavaroli, A.; Veschi, S.; Cama, A.; Acquaviva, A.; Libero, M.L.; Leone, S.; Di Simone, S.C.; Pagano, E.; Zengin, G.; et al.(2022). A grape (*Vitis vinifera* L) pomace water extract modulates inflammatory and immune

- response in SW-480 cells and isolated mouse colon .*Phytotherapy .Research* , 36, 4620-4630.
91. **Rombaut, N. (2013).** Etude comparative de trois procédés d'extraction d'huile : aspects qualitatifs et quantitatifs : application aux graines de lin et aux pépins de raisin. Thèse de doctorat. Université de Compiègne .
 92. **Santangelo, C., Vari, R., Scazzocchio, B., Di Benedetto, R., Filesi, C., & Masella, R. (2007).** Polyphenols, intracellular signalling and inflammation. *Annali-istituto superiore di sanita*, 43(4), 394 .
 93. **Sebbar, E. H., Naji, I., El Mezgueldi, I., & Choukri, M. (2023).** Le stress oxydatif, une agression cellulaire. *Actualités Pharmaceutiques*, 62(626), 36-37.
 94. **Sei-Ichi, K.; Toda, K.; Matsumoto, K.; Ishihara, C.; Nonobe, S.; Matsunaga, C.; Gomi, Y.K.; Senga, S.; Kawaguchi, K.; Yamamoto, A.; et al. (2019).** Isolation and characterization of a novel oligomeric proanthocyanidin with significant anti-cancer activities from grape stems (*Vitis vinifera*). *Scientific. Reports*, 9, 12046.
 95. **Selka, M. A., Chenafa, A., Achouri, M. Y., Aoued, L., Tareb, S., Nourredine, M. A., & Toumi, H. (2016).** Activité antimicrobienne et antioxydante des feuilles de (*Vitis vinifera* L). *Phytothérapie*, 14(6), 363-369.
 96. **Sharifi-Rad, M., Anil Kumar, N. V., Zucca, P., Varoni, E. M., Dini, L., Panzarini, E., et al. (2020).** Lifestyle, oxidative stress, and antioxidants: back and forth in the pathophysiology of chronic diseases. *Frontiers. physiology* ,11, 694.
 97. **Sharma, S. K., Singh, D., Pandey, H., Jatav, R. B., Singh, V., & Pandey, D. (2022).** An Overview of Roles of Enzymatic and Nonenzymatic Antioxidants in Plant. *Springer Nature Singapore*.
 98. **Shinagawa F.B., De Santana F.C., Torres L.R.O., Mancini-Filho J.(2015).** L'huile de pepins de raisin : un aliment fonctionnel potentiel ? *Science alimentaire. Technol*, 35:399-406.
 99. **Shrotriya, S.; Deep, G.; Gu, M.; Kaur, M.; Jain, A.K.; Inturi, S.; Agarwal, R.; Agarwal, C.(2012).** Generation of reactive oxygen species by grape seed extract causes irreparable DNA damage leading to G2/M arrest and apoptosis selectively in head and neck squamous cell carcinoma cells. *Carcinogenesis*, 33, 848–858.
 100. **Shweta Parihar & Devender Sharma. (2021).** A Breif Overview on (*Vitis vinifera*). *Scholars Academic Journal of Pharmacy*, Dec 10(12): 231-239.
 101. **Silva, A.; Silva, V.; Igrejas, G.; Gaivão, I.; Aires, A.; Klibi, N.; Dapkeviciu, M.; Valentão, P.; Falco, V.; Poeta, P.(2021).** Valorization of Winemaking By-

- Products as a Novel Source of Antibacterial Properties: New Strategies to Fight Antibiotic Resistance. *Molecules*, 26, 2331.
102. **Singh, R., Sindhu, J., Singh, D., & Kumar, P. (2025).** Key molecular scaffolds in the development of clinically viable α -amylase inhibitors. *Future Medicinal Chemistry*, 1-16.
 103. **Soares De Moura, R.; da Costa, G.F.; Moreira, A.S.B.; Queiroz, E.F.; Moreira, D.D.C.; Garcia-Souza, E.P.; Resende, Â.C.; Moura, A.S.; Teixeira, M.T. (2012).** (*Vitis vinifera* L). grape skin extract activates the insulin-signalling cascade and reduces hyperglycaemia in alloxan-induced diabetic mice. *Journal. Pharmacol*, 64, 268-276.
 104. **Spacil, Z.; Novakova, L.; Solich, P.(2008).** Analysis of phenolic compounds by high performance liquid chromatography and ultra performance liquid chromatography. *Talanta*, 76, 189–199.
 105. **Subramanian.M,Goswami M, Chakraborty S, Jawali N. (2014).**Resveratrol induced inhibition of Escherichia coli proceeds via membrane oxidation and independent of diffusible reactive oxygen species generation. *Redox Biology*, 2:865–872.
 106. **Tanaka, M., & Vécsei, L. (2020).** Monitoring the Redox Status in Multiple Sclerosis. *Biomedicines*, 8(10), 406.
 107. **Thalapaneeni, N.R., Chidambaram, K.A., Ellappan, T., Sabapathi, M.L. & Mandal, S.C. (2008).** Integrative medicine. *Journal of Complementary and Integrative Medicine* , 5 : 11.
 108. **TRAN, Ngan, PHAM, Bao, et LE, Ly. (2020).** Bioactive compounds in anti-diabetic plants: From herbal medicine to modern drug discovery. *Biology*, vol. 9, no 9, p. 252.
 109. **Vona, R., Pallotta, L., Cappelletti, M., Severi, C., and Matarrese, P. (2021).** The impact of oxidative stress in human pathology: focus on gastrointestinal disorders. *Antioxidants Basel, Switz.* 10 (2), 201.
 110. **Weidner, S.; Rybarczyk, A.; Karamac, M.; Krol, A.; Mostek, A.; Grebosz, J.; Amarowicz, R.(2013).** Differences in the phenolic composition and antioxidant properties between (*Vitis coignetiae*) and (*Vitis vinifera*) seeds extracts. *Molecules*, 18, 3410–3426.
 111. **Yameny, A. A. (2024).** Diabetes Mellitus Overview 2024. *Journal of Bioscience and Applied Research*, 10(3), 641-645.

112. Zhan, W., Gao, J., Lu, L., Bold, T., Li, X., Wang, S., & Tang, J. (2021). Intracellular GSH/GST antioxidants system change as an earlier biomarker for toxicity evaluation of iron oxide nanoparticles. *NanoImpact*, 23, 100338.
113. Zhang, Z., Huang, Q., Zhao, D., Lian, F., Li, X., & Qi, W. (2023). The impact of oxidative stress-induced mitochondrial dysfunction on diabetic microvascular complications. *Frontiers in Endocrinology*, 14, 1112363.
114. Zhao, Y., Ma, W. (2018) .Wheat Alpha Amylase. *JSM Biotechnol Bioeng* 5(2): 1086.