



Université de Ghardaïa

N° d'ordre :
N° de série :

Faculté des sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre
Département de Biologie

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de

MASTER

Domaine : Sciences de la nature et de la vie

Filière : sciences biologiques

Spécialité : Biochimie appliquée

Par : Mr. BENSALAH Bachir

M^{elle} ABBAS Ibtissam

Thème

**Activités biologiques des extraits aqueux de
Marrubium deserti récoltée dans deux régions
(Ghardaïa et Djanet)**

Soutenu publiquement le : 24/05/2017

Devant le jury :

M. BENBEKHTI Z.

Maître Assistant A

Univ. Ghardaïa **Président**

M^{elle} TELLI A.

Maître Assistant A

Univ. Ghardaïa **Encadreur**

M. BELHACHEMI M. H.

Maître Assistant A

Univ. Ghardaïa **Examineur**

M^{elle} KEBILI Z.

Maître Assistant B

Univ. Ghardaïa **Examinatrice**

Année universitaire 2016/2017

Dédicaces

A mes très chers parents, qui m'ont toujours accompagné tout au long de mes études, et m'ont permis de devenir ce que je suis, avec toute ma reconnaissance

A mes adorables sœurs, Fella, Sarah, Hadjer, Nessailba, Assia et Oumaima, avec toute mon affection et mon amour.

A mes chers grands-parents,

A mes oncles et tantes et toute ma famille

A mes amis, Fella, Safia, Souad, Soraya et Hafida.

A ma petite famille de la cité universitaire de Ghardaïa

A tous mes amis, mes enseignants et camarades de classes au primaire, collège, lycée, medersa d'ELFATH, université de Ghardaïa.

Je dédie affectueusement ce travail

Ntissam

Remerciements

Avant toute chose, nous remercions Dieu, le tout puissant, pour nous avoir donné la force, le courage et la patience pour réaliser ce travail.

Nous tenons à adresser notre très sincères remerciements à Notre directrice de mémoire M^{elle} Telli Alia qui nous a guidé dans notre travail, Merci pour nous avoir accordé votre temps, Merci d'avoir été très patiente avec nous, Merci pour d'avoir mis votre expérience à notre profit.

Nous exprimons nos profondes reconnaissances à Monsieur Benbekhti Z., qui nous fait l'honneur de présider ce jury.

Nous tenons à présenter notre sincère et vif remerciement aux membres de jury Mr. Belhachemi M. H. et M^{elle} Kebili Z., qui ont accepté de juger Notre travail.

Nous remercions chaleureusement tous les enseignants du département de la biologie et spécialement Mr. Benbakhti Z., Mr. Krimat M. et Melle Bensania W., sans oublier Mr. Adamou Y. et Mr. Afou D., du département de ST pour leurs soutiens et leurs aides.

Un grand merci est adressé aux techniciens de laboratoire : Messitfa N., Benhammouda H., Belkouz C., Moulay Omar A.

Nous remercions toutes les personnes qui nous ont soutenues de près ou de loin au cours de la réalisation de ce travail, particulièrement nos collègues de promotion de Master Biochimie appliquée (2017).

Activités biologiques des extraits aqueux de *Marrubium deserti* récoltée dans deux régions (Ghardaïa et Djanet)

Résumé

Cette étude est enregistrée dans le cadre de la recherche d'une nouvelle source d'antioxydants naturels et des inhibiteurs efficaces des enzymes digestives, en particulier l' α -amylase. Pour cela, le pouvoir antioxydant et l'activité inhibitrice de l' α -amylase sont évalués pour les différents extraits aqueux de la partie aérienne de *M. deserti* obtenus selon les modes traditionnels de préparation (décoction et infusion). La plante est récoltée dans deux régions différentes (Ghardaïa et Djanet). La quantification des polyphénols totaux et de certaines classes des composés phénoliques (flavonoïdes, acides-phénols et tanins condensés) est effectuée par des méthodes colorimétriques. Les résultats obtenus ont montré que la décoction de *M. deserti* de la région de Djanet a les taux les plus élevés en polyphénols totaux, en flavonoïdes, en acides phénols et en tanins condensés qui sont de l'ordre de 294,42 mg EAG/g, 20,73 mg ER/g, 8 mg EAC/g et 17,35 mg EC/g en matière sèche respectivement. L'évaluation de l'activité antioxydante est effectuée par trois méthodes différentes à savoir : ABTS, DPPH et FRAP. Le pouvoir anti-radicalaire d'ABTS le plus important est obtenu avec l'infusion de *M. deserti* de la région de Ghardaïa qui est de l'ordre de $IC_{50}=0,22$ mg/ml. Ces résultats restent faibles en comparaison avec l'antioxydant standard, le Trolox qui a une IC_{50} égale à 0,10 mg/ml. En ce qui concerne l'activité inhibitrice de l' α -amylase, les différents extraits aqueux de *M. deserti* ont une capacité très remarquable à inhiber l' α -amylase. L' IC_{50} la plus importante est enregistrée pour la décoction de *M. deserti* de la région de Djanet qui est de l'ordre de 0,011 mg/ml. Ces résultats ont confirmé l'utilisation traditionnelle de cette plante pour traiter le diabète.

Les mots clés : *Marrubium deserti*, infusion, décoction, composés phénoliques, Activité antioxydante, α -amylase

Biological activities of aqueous extracts of *Marrubium deserti* harvested in two regions (Ghardaia and Djanet).

Abstract

This study is registered in the framework of research a new source of natural antioxidants and effective inhibitors of digestive enzymes, in particular α -amylase. For this purpose, the antioxidant power and the inhibitory activity of α -amylase are evaluated for the various aqueous extracts of the aerial part of *M. deserti* obtained according to the traditional methods of preparation (decoction and infusion). The plant is harvested in two different regions (Ghardaia and Djanet). Quantification of total polyphenols and certain classes of phenolic compounds (flavonoids, acid phenols and condensed tannins) is carried out by colorimetric methods. The results obtained showed that the decoction of *M. deserti* from the Djanet region had the highest levels of total polyphenols, flavonoids, phenol acids and condensed tannins, which were of the order of 294,42 mg EAG/g, 20,73 mg ER/g, 8 mg EAC/g and 17,35 mg EC/g respectively. Evaluation of the antioxidant activity is carried out by three different methods, namely: ABTS, DPPH and FRAP. The most important anti-radical effect of ABTS is obtained with the infusion of *M. deserti* from the region of Ghardaïa which is of the order of $IC_{50} = 0,22$ mg /ml. These results remain low in comparison with the standard antioxidant Trolox, which has an IC_{50} equal to 0,10 mg / ml. As regards the inhibitory activity of α -amylase, the various aqueous extracts of *M. deserti* have a very remarkable ability to inhibit α -amylase. The most important IC_{50} is recorded for the *M. deserti* decoction of the Djanet region, which is on the order of 0,011 mg/ml. These results confirmed the traditional use of this plant to treat diabetes.

Keywords: *Marrubium deserti*, infusion, decoction, phenolics compounds, Antioxidant activity, α -amylase.

الأنشطة البيولوجية للمستخلصات المائية لنبته المريوة التي تم حصدها من منطقتين مختلفتين (غرداية وجانت)

ملخص

في إطار الحصول على مصادر جديدة لمضادات الاكسدة الطبيعية و مثبطات اكثر فعالية للإنزيمات الهاضمة أجريت هذه الدراسة بهدف تقييم الخصائص البيولوجية للمستخلصات المائية المتحصل عليها وفق طرق التحضير التقليدية (النقع و الغلي) لنبته المريوة *Marrubium deserti* التي تم حصدها من منطقتين مختلفتين (غرداية و جانت).

تم معايرة المركبات الفينولية الكلية و البعض من أقسام المركبات الفينولية (الفلافونويدات، الأحماض الفينولية و الدباغ)، بحيث أظهرت التحاليل معدلات مرتفعة خاصة في مستخلص النبتة التي تم حصدها من منطقة جانت والذي تم تحضيره عن طريق الغلي، حيث قدرت هذه المعدلات بـ 294,42 ملغ مكافئ حمض الغاليك/غ، 20,73 ملغ مكافئ ريتين/غ، 8 ملغ مكافئ حمض الكافيك/غ و 17,35 ملغ مكافئ كاتيشين/غ من المادة الجافة على التوالي.

وأيضا تم تقييم الخاصية المضادة للأكسدة للمستخلصات المائية لنبته المريوة باستعمال ثلاثة اختبارات: DPPH، ABTS و FRAP، حيث أظهر مستخلص النبتة التي تم حصدها من منطقة غرداية والمتحصل عليه عن طريق النقع النشاط المضاد للأكسدة ABTS الأكثر فعالية، والذي قدر بتركيز يعادل 0,22 ملغ/مل.

وأثبتت نتائج الدراسة أن المستخلصات المائية لنبته المريوة تمتلك خاصية تثبيط فعالة لإنزيم الهضم ألفا أميلاز بحيث سجل المستخلص المحضر بالغلي لمنطقة جانت التركيز الأمثل والذي قدر بـ 0,011 ملغ/مل. هذه النتائج تؤكد أيضا الإستعمال التقليدي لهذه النبتة في معالجة مرض داء السكري.

الكلمات المفتاحية: نبتة المريوة، غلي، نقع، مركبات فينولية، النشاط المضاد للأكسدة، ألفا أميلاز.

Liste des tableaux

N°	Titre	Page
1	IC ₅₀ de l'activité antioxydante des extraits aqueux de <i>M. deserti</i> déterminée par le test d'ABTS.	27
2	IC ₅₀ de l'activité antioxydante des extraits aqueux de <i>M. deserti</i> déterminée par le test DPPH.	28
3	IC ₅₀ de l'activité antioxydante des extraits aqueux de <i>M. deserti</i> évaluée par le test FRAP.	30
4	IC ₅₀ de l'effet inhibiteur d' α -amylase des extraits de <i>M. deserti</i> et de l'Acarbose.	32

Liste des figures

N°	Titre	Page
1	<i>Marrubium deserti</i> dans son écotype.	11
2	Partie aérienne de <i>Marrubium deserti</i> .	11
3	Mécanisme réactionnel intervenant entre ABTS et un antioxydant.	15
4	Mécanisme réactionnel intervenant lors du test DPPH entre l'espèce radicalaire DPPH et un antioxydant.	16
5	Mécanisme réactionnel intervenant lors du test FRAP entre le complexe tri-pyridyl tri-azine ferrique Fe(III)- TPTZ et un antioxydant.	17
6	Rendement d'extraction des différents extraits aqueux de <i>M. deserti</i> .	21
7	Teneurs en PPT des différentes préparations de <i>M. deserti</i> .	22
8	Teneur en flavonoïdes des différents extraits <i>M. deserti</i> .	23
9	Teneur en acides-phénols des différentes préparations de <i>M. deserti</i> .	24
10	Teneur en tanins condensés des différents extraits de <i>M. deserti</i> .	25
11	Activité antioxydante exprimée en μM en équivalent de Trolox pour le test ABTS.	26
12	Activité antioxydante exprimée en μM en équivalent de Trolox pour le test DPPH.	28
13	Pouvoir réducteur de Fer exprimée en μM en équivalent de Trolox.	30

Liste des annexes

N°	Titre	Page
1	Gamme d'étalonnage de l'acide gallique.	I
2	Gamme d'étalonnage de rutine.	I
3	Gamme d'étalonnage de l'acide caféique.	I
4	Gamme d'étalonnage de catéchine	II
5	Gamme d'étalonnage de Trolox pour le test ABTS.	II
6	Gamme d'étalonnage de Trolox pour le test DPPH.	II
7	Gamme d'étalonnage de Trolox pour le test FRAP.	III
8	Résultats de test de variance des teneurs en polyphénols totaux.	III
9	Résultats de test de variance des teneurs en Flavonoïdes.	III
10	Résultats de test de variance des teneurs en Acides phénols.	III
11	Résultats de test student (t-test) des teneurs en Tanins condensés.	IV
12	Résultats de test de variance de potentiel antioxydant ABTS (μM).	IV
13	Résultats de test de variance de potentiel antioxydant DPPH (μM).	IV
14	Résultats de test de variance de potentiel antioxydant FRAP (μM).	IV
15	Matrice de corrélation entre les teneurs en composés phénoliques et les activités antioxydantes.	V
16	Corrélation entre les teneurs en polyphénols totaux et pouvoir antioxydant de ABTS.	V
17	Corrélation entre les teneurs en polyphénols et pouvoir antioxydant de DPPH.	VI
18	Corrélation entre les teneurs en polyphénols et pouvoir antioxydant de FRAP.	VI
19	Résultats de test de Variance pour l'effet inhibiteur de α -amylase.	VII

Liste des abréviations

RL : Radicaux libres.

IR : Insulinorésistance.

DT2 : Diabète de type 2.

GPP : Glycémie postprandiale.

PPT : Polyphénols totaux.

EAG : Equivalent en acide gallique.

PS : Poids sec.

ER : Equivalent en rutine.

EC : Equivalent en catéchine.

EAC : Equivalent en acide caféique.

ET : Equivalent en Trolox.

DNSA : Acide 3,5-dinitrosalicylique.

ABTS: 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic) acid.

DPPH: 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl.

FRAP: Ferric reducing ability of plasma.

TPTZ : Tri-pyridyl tri-azine

Table des matières

Dédicaces

Remerciements

Résumé

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des annexes

Liste des abréviations

Introduction.....	1
I. Matériel et méthodes.....	11
I.1 Matériel végétal.....	11
I.1.1 Choix du matériel végétal	11
I.1.2 Description botanique	11
I.1.3 Position systématique de l'espèce <i>M. deserti</i>	12
I.1.4 Répartition géographique	12
I.1.5 Récolte	12
I.1.6 Séchage.....	12
I.2 Réactifs chimiques.....	13
I.3 Méthodes	13
I.3.1 Extraction.....	13
I.3.1.1 Décoction	13
I.3.1.2 Infusion.....	13
I.3.2 Détermination de rendement	13
I.3.3 Quantification de certaines classes des composés phénoliques.....	14
I.3.3.1 Dosage des polyphénols totaux.....	14
I.3.3.2 Dosage des flavonoïdes	14
I.3.3.3 Dosage des acides-phénols.....	14
I.3.3.4 Dosage des tanins condensés.....	14
I.3.4 Evaluation des activités biologiques.....	15
I.3.4.1 Activité antioxydante	15
I.3.4.1.1 Test à l'ABTS (2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid)	15

I.3.4.1.2	Test de piégeage du radical de DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)	16
I.3.4.1.3	Pouvoir réducteur du fer (FRAP: Ferric reducing ability of plasma)	16
I.3.4.2	Activité inhibitrice de l' α -amylase	17
I.3.5	Analyse statistique	18
II.	Résultats et discussion.....	21
II.1	Rendement d'extraction	21
II.2	Quantification de certaines classes des composés phénoliques	22
II.2.1	Teneur en polyphénols totaux	22
II.2.2	Teneur en flavonoïdes	23
II.2.3	Teneur en acides phénols.....	24
II.2.4	Teneur en tanins condensés ou proantocyanidines.....	25
II.3	Activités biologiques	26
II.3.1	Activité antioxydante.....	26
II.3.1.1	Test à l'ABTS.....	26
II.3.1.2	Piégeage du radical de DPPH.....	28
II.3.1.3	Pouvoir réducteur du fer (FRAP : Ferric reducing ability of plasma).....	29
II.3.2	Effet inhibiteur des extraits aqueux de <i>M. deserti</i> sur l'enzyme α -amylase.....	31
Conclusion	35
Références bibliographiques.....		37
Annexe	I	

Introduction

La médecine traditionnelle est « l'ensemble des connaissances, compétences et pratiques qui sont fondées sur les théories, les croyances et les expériences propres aux différentes cultures, et qui sont utilisées dans le maintien de l'être humain en bonne santé, aussi dans la prévention, le diagnostic, l'amélioration ou le traitement des maladies physiques et mentales » (OMS, 2017).

Il existe de nombreux systèmes de médecine traditionnelle, tels que la médecine chinoise et arabe, où la philosophie et les pratiques de chacun sont influencées par les conditions dominantes, l'environnement et la zone géographique dans lesquels elle a évolué (Engebretson, 2002 ; Conboy *et al.*, 2007 ; Rishton, 2008 ; Schmidt *et al.*, 2008).

Depuis que l'homme est sur la terre, il a appris à utiliser les plantes de son environnement pour se nourrir et se soigner. La pratique d'utiliser les plantes pour guérir et traiter certains problèmes de la santé a été abandonnée après l'apparition de la médecine conventionnelle occidentale. Ces dernières années, la médecine traditionnelle ou parallèle a regain leur recours. En effet, de plus en plus des patients, se tournent vers ce genre de traitements. Les raisons les plus courantes pour utiliser la médecine traditionnelle sont qu'il est plus abordable, plus proche de l'idéologie du patient (plus humain), faire disparaître les inquiétudes concernant les effets indésirables des médicaments chimiques (synthétiques). L'utilisation majeure des médicaments à base de plantes est pour la promotion de la santé et de la thérapie des maladies chroniques. Toutefois, l'utilisation des remèdes traditionnels augmente lorsque la médecine conventionnelle est inefficace dans le traitement de certaines maladies, telles que les cas avancés du cancer et les maladies infectieuses. En outre, les plantes médicinales sont largement perçues comme naturels et sûrs, c'est-à-dire moins toxiques ; ceci n'est pas forcément vrai, car la prise des herbes avec des médicaments sur ordonnance ou des médicaments en vente libre peuvent être toxique (Qato *et al.*, 2008 ; Loya *et al.*, 2009 ; Cohen et Ernst, 2010).

Le règne végétal représente une source importante d'aliments et de composés bioactifs ayant des effets curatifs bénéfiques reconnues depuis les temps anciens (Djahra, 2014). Les caractéristiques et les effets thérapeutiques des composés bioactifs naturels, en particulier à partir de sources végétales, y compris les plantes médicinales, ont été largement étudiés. Les produits phytochimiques sont des composés importants trouvés dans les plantes médicinales qui offrent des prestations de santé pour l'homme plus loin que celles attribuées aux macronutriments et les micronutriments (Zaabat *et al.*, 2011).

En effet, les herbes et les plantes peuvent être prises de différentes façons et formes, en comprenant l'herbe entière, thé, sirop, huiles essentielles, pommades, gélules et comprimés qui

contiennent soit la poudre, soit l'extrait de la plante. Les extraits des plantes sont obtenus par multiples méthodes en différentes conditions telles que la macération, les tisanes, l'infusion et la décoction (Iris *et al.*, 2011).

Au cours de ce dernier siècle, le développement et la production de médicaments synthétisés ont révolutionné les soins de la santé dans la plupart des parties du monde. Toutefois, la majorité de la population des pays en développement comptent toujours sur les praticiens traditionnels et les médicaments à base de plantes pour leurs soins primaires. Jusqu'à 90% en Afrique et 70% en Inde de la population dépend de la médecine traditionnelle qui répond à leurs besoins de soins de la santé. En Chine, plus de 90% des hôpitaux généraux disposent d'unités de médecine traditionnelle où les extraits obtenus à partir des végétaux représentent plus de 85% des traitements utilisés (Ghasemzadeh *et al.*, 2015).

Cependant, le potentiel des plantes comme sources pour la production de nouveaux médicaments est largement inexploité par rapport au nombre d'espèces des plantes supérieures (angiospermes et gymnospermes) sur la planète qui est estimé à 250.000 espèces. En effet, sur ce nombre, seulement 6% ont été testées pour leur activité biologique et 15 % ont été évaluées sur le plan phytochimique (Bidie *et al.*, 2011).

Actuellement, l'évolution de nos modes de vie, et plus particulièrement de nos habitudes alimentaires, avec la surconsommation d'aliments gras et sucrés, couplée à une diminution drastique de la dépense énergétique joue indéniablement un rôle dans l'explosion mondiale des maladies chroniques telles que le diabète et l'obésité (Bulló *et al.*, 2011). Dans ces conditions, les mécanismes de défenses antioxydants vont se trouver dépassés, et laissent s'installer un stress oxydant, qui pourrait constituer un trait d'union entre surconsommation énergétique, insulino-résistance (IR) et diabète de type 2 (DT2) (Hokayem *et al.*, 2012).

Le stress oxydant provient d'un déséquilibre entre la production de RL et les capacités antioxydantes cellulaires. Produits en excès, les RL vont altérer les macromolécules, favorisant ainsi la fragmentation de l'ADN, la peroxydation lipidique ou la carbonylation des protéines. Cependant, les RL, bien connus pour leur implication dans le stress oxydant, sont également des molécules indispensables pour de nombreuses réactions biologiques, au nombre desquelles on compte la transduction du signal de l'insuline et l'interviennent en particulier dans la défense de l'organisme contre les invasions microbiennes (Bisbal *et al.*, 2010).

Le stress oxydant est un dénominateur commun rencontré dans les multiples formes d'insulino-résistance. Il a fait l'objet de beaucoup d'intérêt ces dernières années (Samocha-Bonet *et*

al., 2010 ; Hoehn *et al.*, 2009) et des études suggèrent que la production mitochondriale d'anions superoxyde pourrait constituer un mécanisme central dans la physiopathologie d'insulinorésistance (IR) et faire le lien entre surconsommation alimentaire et IR (Bonnard *et al.*, 2008). L'insulinorésistance (IR) qui est considérée comme la cause principale du diabète de type II, est définie comme une diminution de l'action de l'insuline, d'une part sur la capture cellulaire du glucose par le muscle et le tissu adipeux et, d'autre part, sur l'inhibition de la production hépatique du glucose (Bisbal, 2010).

Le diabète sucré est un déséquilibre métabolique, d'étiologie multiple caractérisé par une hyperglycémie chronique avec des perturbations du métabolisme des glucides, des lipides et des protéines résultant soit de défauts de sécrétion d'insuline, soit d'action de l'insuline ou des deux (Bisbal, 2010). Selon l'Atlas du diabète de la Fédération Internationale du Diabète (FID), la prévalence du diabète en 2015 est présentée sous forme de chiffres inquiétants. Pour la première fois, selon les estimations, plus d'un demi-million d'enfants de moins de 14 ans sont désormais atteints de diabète de type 1. Selon les estimations également, 415 millions d'adultes, âgés de 20 à 79 ans, sont aujourd'hui atteints de diabète dans le monde, dont 193 millions non diagnostiqués. Si cette progression n'est pas arrêtée, 642 millions de personnes seront atteintes de cette maladie d'ici 2040 (FID, 2015).

Le diabète de type II représente environ 90 à 95% des cas. Les principaux composants du diabète de type II sont le dysfonctionnement des cellules β provoquant une sécrétion d'insuline altérée et un besoin accru d'insuline en raison de la résistance à l'insuline (Arif *et al.*, 2014). La cause du diabète reste mystérieuse, bien que la génétique et les facteurs environnementaux tels que l'obésité, l'évolution du style de vie, les habitudes alimentaires et la sédentarité semblent jouer un rôle. Le traitement de ce type de diabète est effectué par les agents hypoglycémisants oraux et dans les cas les plus sévères par l'insuline (Mishra, 2003).

Différents mécanismes d'action des hypoglycémisants oraux ont été largement décrits. Ceux-ci comprennent la stimulation de la sécrétion de l'insuline à partir de cellules bêta des îlots de Langerhans, la réduction de la résistance à l'insuline. Le troisième mécanisme d'action est celui des inhibiteurs des enzymes α -glucosidase et α -amylase (Boudjedour et Bertil, 2016). Cette approche thérapeutique permet de retarder l'absorption du glucose postprandiale via des inhibitions de ces enzymes (Kumar *et al.*, 2011).

L'enzyme α -amylase est l'un des principaux produits sécrétoires du pancréas et des glandes salivaires, jouant un rôle dans la digestion de l'amidon et du glycogène. L' α -amylase catalyse l'étape

initiale dans l'hydrolyse de l'amidon en un mélange d'oligosaccharides plus petits consistant en maltose, maltotriose et oligosaccharides ramifiés d'oligoglucans α - (1-6) et α - (1-4). Ceux-ci sont métabolisés par les α -glucosidases et encore dégradés en glucose qui, lors de l'absorption, pénètre dans la circulation sanguine. La dégradation rapide de l'amidon alimentaire par l' α -amylase conduit à une hyperglycémie postprandiale élevée (GPP) (Kamtekar *et al.*, 2014).

L'inhibition de l' α -amylase limite les taux du glucose postprandiale en retardant le processus d'hydrolyse et d'absorption d'hydrates de carbone. Une autre perspective surtout soulignée est le potentiel antioxydant des plantes qui ont des effets bénéfiques sur la prévention des complications du diabète. Les antioxydants provenant de sources naturelles jouent un rôle principal en stimulant les antioxydants endogènes pour neutraliser le stress oxydatif. Les plantes contiennent généralement des métabolites secondaires comme les composés phénoliques, les flavonoïdes, les glycosides, les coumarines, les saponines, les terpénoïdes, les alcaloïdes, ...etc., ayant des propriétés physico-chimiques très caractéristiques qui attribuent à leurs propriétés pharmacologiques (Sudha *et al.*, 2011 ; Paul et Banerjee, 2013).

Récemment, plusieurs études sur l'inhibition de l' α -amylase ont été menées dans le but de découvrir de nouveaux médicaments potentiels, capables de réduire l'hyperglycémie postprandiale, qui pourraient être utilisés dans le traitement du diabète. Les inhibiteurs de cette enzyme réduisent l'hyperglycémie postprandiale en retardant la digestion des glucides et en réduisant l'absorption intestinale du glucose (Ali *et al.*, 2006). Les plantes continuent à jouer un rôle important dans le traitement du diabète, en particulier dans les pays en voie de développement (Oliveira *et al.*, 2005). Cependant, peu d'études ont investigué l'activité hypoglycémique des plantes médicinales utilisées traditionnellement dans le traitement du diabète ainsi que l'isolement des composés actifs sur l' α -amylase (Silva *et al.*, 2009). Donc, il est important d'orienter la recherche vers d'autres sources, en particulier d'origine végétale, de molécules naturelles ayant des activités antioxydantes et un effet inhibiteur de l' α -amylase (Ghedadba, *et al.*, 2014).

Les propriétés médicinales des plantes sont dues à des composés chimiques. Les plantes synthétisent de nombreux composés appelés métabolites primaires qui sont indispensables à leur existence et une gamme extraordinaire d'autres composés appelés métabolites secondaires. Ces derniers ont pour fonction notamment la protection contre les microorganismes, les animaux et même d'autres plantes. Ces métabolites jouent donc un rôle primordial dans la lutte contre diverses maladies et herbivores (Junio *et al.*, 2011).

Les métabolites secondaires sont le fruit d'un métabolisme complexe. Ils sont synthétisés en réponse aux contraintes de l'environnement, à des stades précis du développement ; permettent à la plante de se défendre contre les pathogènes ou des prédateurs. Aussi, ces métabolites assurent une protection contre les radiations solaires et facilitent la dispersion du pollen et des graines. Ces métabolites sont en revanche très nombreux et variés, plus de 100.000 molécules, mais produits souvent en très faibles quantités. Ces métabolites sont regroupés en trois grandes classes : les composés aromatique ou polyphénols (acides phénoliques, flavonoïdes, anthocyanidines, tanins), les terpénoïdes et leurs dérivés et enfin les alcaloïdes (Hopkins, 2003).

Les composés phénoliques est une famille de métabolites secondaires issues de la voie de synthèse des acides aminés aromatiques est habituellement connue sous le nom de composés phénoliques, polyphénols où plus de 8000 espèces moléculaires sont connues (Hopkins, 2003). Ces composés suscitent un grand intérêt de par leurs nombreux effets bénéfiques pour la santé : prévention et traitement de certains cancers, traitement des maladies inflammatoires, cardiovasculaires et neurodégénératives. Certains d'entre eux sont également utilisés comme additifs pour les industries agroalimentaire, pharmaceutique et cosmétique (Hadj Salem, 2009).

Les flavonoïdes constituent la classe la plus vaste des composés phénoliques avec 4000 molécules ont été isolées et identifiées jusqu'à nos jours. Ils sont connus par leurs propriétés antioxydantes, antibactériennes, antivirales, antiinflammatoires, antiprolifératives, régulatrices de systèmes enzymatiques..., etc. Ces activités sont le plus souvent liées à leur activité antioxydante et notamment leur capacité à piéger les radicaux libres, à chélater les ions métalliques ou à inhiber les enzymes responsables de la formation des radicaux libres (Hadj Salem, 2009).

Les acides phénoliques qui sont des dérivés de l'acide cinnamique ou de l'acide benzoïque, possédant un caractère antioxydant très intéressant. Ils sont largement répandus dans le règne végétal et diversifiés par le nombre de fonction OH et par la nature des autres substituants de la molécule. Parmi les acides phénols les plus actifs, on cite l'acides rosmarinique, l'acide gallique, l'acide caféique, l'acide dihydrocaféique et chlorogénique (Claudette, 2006).

Les tanins étant des polymères phénoliques, ils participent dans la défense contre les micro-organismes. Depuis l'antiquité, l'homme a utilisé les tanins dans le tannage des peaux des animaux basant sur l'aptitude des tanins à se précipiter avec les protéines. Leur intérêt médicinal réside essentiellement dans leur caractère astringent : leur propriété de coaguler les albumines des muqueuses et des tissus, en créant ainsi une couche de coagulation isolante et protectrice, ayant pour effet de réduire l'irritabilité et la douleur et d'arrêter les petits saignements (Macheix *et al.*, 2006). Les

préparations à base de drogues riches en tanins sont employées le plus souvent pour traiter les inflammations de la cavité buccale, les catarrhes, la bronchite, les hémorragies locales, sur les brûlures et les plaies, les inflammations dermiques, les hémorroïdes et la transpiration excessive (Macheix *et al.*, 2006). Les tanins sont rangés en deux principaux groupes structuraux : tanins condensés et tanins hydrolysables (Macheix *et al.*, 2006).

Au Maroc, en Algérie et en Tunisie, la phytothérapie est utilisée depuis toujours dans le secteur de la médecine traditionnelle. Les pharmacopées régionales s'inspirent principalement de la médecine arabe classique et de l'expérience locale des populations en matière de soins. Elles reflètent à la fois l'histoire des Maghrébins et les spécificités de leur environnement naturel. Aujourd'hui, les plantes jouent encore un rôle très important dans les traditions médicales et la vie des habitants de l'Afrique du Nord, mais les règles de leur utilisation manquent parfois de rigueur et ne tiennent pas compte des nouvelles exigences de la thérapeutique moderne. L'approfondissement des connaissances des plantes de ces pays est capital, afin d'optimiser leurs utilisations (Zaabat *et al.*, 2011).

L'Algérie recèle d'un patrimoine végétal important par sa richesse et sa diversité dans les régions côtières, les massifs montagneux, les hauts-plateaux, la steppe et les oasis sahariennes : on y trouve plus de 3000 espèces végétales. Parmi ces ressources naturelles, les plantes aromatiques et médicinales occupent une large place et jouent un grand rôle dans l'économie nationale. Elles sont utilisées dans différents domaines : industrie alimentaire, conserverie, pharmaceutique, et phytothérapie (Duraffourd *et al.*, 1997).

Les ressources végétales spontanées du Sahara Algérien constituent une flore d'environ 500 espèces de plantes supérieures, dont une partie reste utilisée par les populations comme plantes médicinales. Certaines plantes sont endémiques sahariennes au sens large ; d'autres sont limitées à quelques kilomètres carrés. Elles contiennent au total 162 espèces pour le Sahara septentrional, occidental et central. Le nombre total d'espèces de ces régions n'étant vraisemblablement pas supérieur à 650 (Ozenda, 1983).

Parmi les familles des espèces Sahariennes on cite la famille des Lamiaceae (labiées) du Latin (Labiata), constituent une importante famille de plantes angiospermes dicotylédones herbacées ou légèrement ligneuses et comprennent, selon les auteurs, de 233 à 263 genres et de 6900 à 7200 espèces (Heywood *et al.*, 2007) qui se répartissent sur tout le globe. C'est une famille très importante en Algérie, représentée par 28 genres et 146 espèces (Quezel et Santa, 1963). La plupart des plantes de cette famille sont partiellement ligneuses, formant des arbustes (très rarement des arbres). C'est la

famille des aromatiques utilisées tant en cuisine qu'en parfumerie ou en pharmacie également. Il s'agit d'une vaste famille, très typique du monde végétal, qui possède une importance économique due à la production des huiles essentielles. Cette famille possède également un effet répulsif des insectes indésirables, telle que l'utilisation de *Melissa officinalis* contre les moustiques (Guignard et Dupont, 2004).

Le nom *Marrubium* dérive du mot hébreu *marrob* (jus amer), en anglais *horehound*, en italien *Marrubio* (Zaabat, 2014). Le genre *Marrubium* comprend environ 97 espèces qui sont largement répandues dans les régions tempérées et chaude. *Marrubium sp.* sont traditionnellement utilisés en Afrique du Nord dans le traitement du diabète (Kemassi *et al.*, 2014 ; Telli *et al.*, 2016), la toux, de la bronchite aiguë ou chronique, de l'asthme et des infections respiratoires. Ils sont également utilisés dans les cas de manque d'appétit et de dyspepsie. (Boulila *et al.*, 2015). Le genre *Marrubium* est une source riche de diterpénoïdes, de flavonoïdes et de glycosides phénylédanoïdes (Zaabat, 2010).

Le genre *Marrubium* est un Arbuste à tiges et face inférieure des feuilles blanches tomenteuses. Le fruit, un tétrakène, a ses quatre parties arrondies au sommet. Les fleurs sont blanches (Zaabat, 2010).

En Algérie, 6 espèces différentes appartenant au genre *Marrubium* qui sont : *Marrubium vulgare*, *Marrubium supinum*, *Marrubium peregrinum*, *Marrubium alysson*, *Marrubium alyssoides* Pomel et *Marrubium deserti*. (Quezel et Santa, 1963).

Marrubium deserti est utilisée en médecine traditionnelle en Algérie pour traiter différentes maladies. L'infusion, la macération et la poudre des feuilles et des rameaux servent de remède pour traiter le diabète (Telli *et al.*, 2016), la toux, les dysménorrhées et les troubles digestifs. En usage externe, la plante est utilisée pour soigner les piqûres de scorpions et les allergies (Maiza, 1993). Les feuilles de cette espèce sont employées sous forme d'infusion en usage interne pour traiter la fièvre et les problèmes respiratoires (Hammiche et Maiza, 2006).

Chez les diabétiques de type II, l'utilisation à long terme des hypoglycémifiants oraux conduit à augmenter la résistance aux médicaments en plus de leurs effets indésirables. En effet, les inhibiteurs enzymatiques synthétiques utilisés actuellement provoquent des problèmes gastro-intestinaux comme la diarrhée et les ballonnements abdominaux (Kamana *et al.*, 2017). Pour ces raisons, la recherche des nouveaux inhibiteurs de l' α amylase provenant des plantes médicinales est demandée afin de traiter l'hyperglycémie postprandiale avec des effets secondaires minimes.

Marrubium deserti, l'objet de notre travail, est parmi les espèces utilisées traditionnellement dans le traitement du diabète. Cette espèce endémique est très peu étudiée ; aussi, son mécanisme d'action pour diminuer le taux du glucose n'est pas connu. Pour cela, ce travail s'intéresse à l'évaluation de l'activité hypoglycémiant *in vitro* de *Marrubium deserti* en étudiant l'effet inhibiteur sur l' α amylase des extraits obtenus selon les modes traditionnels de préparation (décoction et infusion) ainsi que leurs pouvoirs antioxydants.

Après cette première partie consacrée à la description botanique de la famille de Lamiaceae, à des notions sur le diabète et le stress oxydant, et aux quelques utilisations traditionnelles de l'espèce *Marrubium deserti*, ce travail s'articule aux deux chapitres :

Le premier chapitre est consacré à la présentation du matériel végétal étudié, puis on va détailler les différentes méthodes du travail expérimental ainsi que le matériel utilisé.

Le deuxième chapitre est réservé à la présentation de tous les résultats obtenus dans cette étude, suivi d'une discussion.

Enfin, à l'issue de ce manuscrit, une conclusion générale sera présentée portera sur une lecture attentive des différents résultats obtenus et des perspectives qui sont un ensemble de réflexions achèvent ce travail.

Matériel et méthodes

I. Matériel et méthodes

I.1. Matériel végétal

I.1.1 Choix du matériel végétal

Marrubium deserti (fig.1) est une espèce endémique de l'Afrique de Nord, très utilisée en médecine traditionnelle pour traiter différentes maladies, en particulier les maladies respiratoires et gastro-intestinales (Zaabat *et al.*, 2010), et le diabète (Telli *et al.*, 2016). En plus, les activités biologiques des extraits aqueux de cette espèce sont peu ou pas étudiées. Pour cela, cette espèce a été choisie afin d'évaluer les activités biologiques (antioxydante et activité inhibitrice de l'enzyme α -amylase) des extraits aqueux obtenus selon les modes traditionnels de préparation (infusion et décoction).



Figure 1: *Marrubium deserti* dans son écotype (Photo originale).



Figure 2 : Partie aérienne de *Marrubium deserti* (Photo originale).

I.1.2 Description botanique

Marrubium deserti est un arbrisseau blanchâtre très rameux, à poils laineux appliqués. Les épis sont grêles et lâches interrompus, larges de 12-15 mm. Le calice de 4-6 mm forme un tube rétréci à son sommet. Feuilles petites en coin à la base et portant quelques dents au sommet. Les fleurs sont disposées au-dessus de chaque paire de feuilles en couronne autour de la tige (fig.2). Les fleurs rose pâle en tube sont entourées par un calice vert qui s'agrandit au fur et à mesure de la fructification pour former comme une collerette (Zaabat, 2010).

I.1.3 Position systématique (Quezel et Santa, 1963).

Règne	Plante
Embranchement	Phanérogames ou Spermaphytes
Sous embranchement	Angiospermes
Classe	Endicots
Sous classe	Astéridées
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiaceae
Genre	<i>Marrubium</i>
Espèce	<i>Marrubium deserti</i>
Nom vernaculaire	Djaïda

I.1.4 Répartition géographique

Marrubium deserti, est une espèce endémique poussant fréquemment dans les lits d'oueds et les vallées. Son nom vernaculaire est « Djaida ou Djaâda » (Maiza *et al.*, 1993) « Merriouet sahraui » (Boudjelal *et al.*, 2013) ; occupe la totalité du Sahara centrale, répondue beaucoup plus dans les régions d'Ouargla, Ghardaïa, El-Goléa et Bechar. Cette espèce pousse également au Sahara du Maroc et dans les régions arides en Tunisie. Le nom Tamahaq (targuie) de *M. deserti* est « Telhert » (Ramdane *et al.*, 2015), le nom Mozabit est « Timeriout » (Kemassi *et al.*, 2014).

I.1.5 Récolte

La partie aérienne de *Marrubium deserti* est récoltée durant le mois de novembre 2015 dans deux régions différentes ; la première est celle de Touzouz – Oued M'zab (3° 62' de longitude et 32°51' de latitude) dans la Wilaya de Ghardaïa (Algérie). La deuxième région est Djanet localisée dans la région du Tassili avec des coordonnées de 24° 33' de latitude Nord, et de 9° 29' de longitude Est et une altitude de 1094 m.

I.1.6 Séchage

L'espèce récoltée est coupée à l'aide d'une lame tranchante, puis déposés sur papier kraft en obscurité (pour empêcher la photo-oxydation), à l'abri de la chaleur, sous ventilation à l'air libre et à température ambiante jusqu'à l'obtention d'une plante sèche. Le matériel végétal sec est réduit en poudre. La poudre est conservée à température ambiante (15 à 20 °C) dans des boîtes dans un milieu sec à l'abri de la lumière jusqu'à leur utilisation (Zeghad, 2009).

I.2. Réactifs chimiques

Tous les réactifs chimiques utilisés dans cette étude sont achetés de Sigma Aldrich, Fluka analyticals et VWR Prolabo Chemicals.

I.3. Méthodes

I.3.1 Extraction

La méthode d'extraction est l'étape principale pour la récupération et l'isolement de composés à partir de matériel végétal (Boulila *et al.*, 2015).

Dans cette étude, les extraits sont obtenus dans les mêmes conditions de la préparation traditionnelle des remèdes. Deux modes de préparation sont utilisés qui sont la décoction et l'infusion.

I.3.1.1. Décoction

Le matériel végétal est mélangé avec de l'eau distillée à un rapport de 1/20 (p/v) puis bouillit à 98 ± 2 °C pendant 5 min. Le mélange est laissé reposer 15 min ensuite centrifugé à 4000g pendant 10 min (Ouedraogo *et al.*, 2015).

I.3.1.2. Infusion

Le matériel végétal est mélangé avec de l'eau distillée bouillie à un rapport de 1/20 (p/v). Le mélange est bien agité et reposé pendant 15 min ensuite centrifugé à 4000g pendant 10 min (João *et al.*, 2016).

I.3.2 Détermination de rendement

Le rendement d'extraction est déterminé après évaporation de l'eau à 103 ± 2 °C d'un échantillon pendant 24 heures à l'étuve, il est exprimé en pourcentage par rapport à la masse initiale du matériel végétal soumise à l'extraction.

En calculant le rapport suivant :

$$\text{Rendement (\%)} = \frac{P1 - P2}{P3} \times 100$$

P1 : Poids après l'évaporation.

P2 : Poids vide.

P3 : Poids de la matière végétale de départ.

I.3.3 Quantification de certaines classes des composés phénoliques

I.3.3.1 Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux a été fait par la méthode de Folin-Ciocalteu décrite par Singleton et Rossi (1965). Un volume de 40 μ l de l'extrait est mélangé avec 1,8 ml de réactif Folin-Ciocalteu (dilué 10 fois avec de l'eau distillée). Après un repos de 5 min, 1,2 ml de la solution de Na_2CO_3 (7,5 %) est ajouté au mélange. Ensuite, les différents mélanges sont reposés pendant 60 min à l'obscurité, à température ambiante. L'absorbance est mesurée à 765 nm par un spectrophotomètre UV-Visible (SpectroScan 40). L'acide gallique est utilisé comme référence pour la préparation de la gamme d'étalonnage (0-800 μ g/ml). Les résultats sont exprimés en mg en équivalent d'acide gallique EAG/g de poids sec (PS) de matériel végétal (Shui et Leong, 2006).

I.3.3.2 Dosage des flavonoïdes

La quantification des flavonoïdes est effectuée selon la méthode de Kim *et al.* (2003). Après la dilution quatre fois de 1 ml de l'extrait, 0,3 ml de solution de nitrite de sodium NaNO_2 (5%) est ajouté. Après 5 min, 0,3 ml de solution de chlorure d'aluminium AlCl_3 (10%) est ajouté. Le mélange est laissé au repos pendant 5 min, puis 2 ml de solution d'hydroxyde de sodium NaOH (1 M) sont additionnés. Le volume de ce mélange est complété à 10 ml avec de l'eau distillée. Après agitation, l'absorbance est mesurée immédiatement à 510 nm en spectrophotomètre UV-Visible. La gamme étalon est préparée avec la rutine (0,05-0,5 mg/ml) et les résultats sont exprimés en mg équivalent de rutine ER/g de poids sec de matériel végétal.

I.3.3.3 Dosage des acides-phénols

La méthode d'Arnov est utilisée pour la détermination de taux des acides-phénols (Benzie et Strain, 1996). Le réactif d'Arnov (solution aqueuse de molybdate de sodium 10% et nitrite de sodium 10% (p/v)) va se réagir avec les groupements hydroxyles en ortho des acides phénols en milieu acide, ce qui conduit à la formation d'un chromogène de couleur orange. La lecture de l'absorbance de cette couleur est faite à 490 nm par un spectrophotomètre UV-Visible. La préparation de la gamme étalon est faite par l'acide caféique (0 à 200 μ g/ml) Les résultats sont exprimés en μ g équivalent d'acide caféique EAC/g de poids sec de matériel végétal.

I.3.3.4 Dosage des tanins condensés

La vanilline-HCl est utilisée pour le dosage des tanins condensés selon la méthode décrite par Sun *et al.* (1998). Un volume de 1 ml de la solution fraîchement préparée de vanilline 1% (p/v) en acide acétique glacial et HCl (98:2, v/v) est ajouté à 0,2 ml de l'extrait ou d'une solution de catéchine (0 à 1 mg/ml). Après incubation à 30 °C pendant 20 min, l'absorbance est mesurée à 510 nm par un

spectrophotomètre UV-Visible. Le taux des tanins condensés est calculé en mg en équivalent de catéchine EC/g de poids sec de matériel végétal.

I.3.4 Evaluation des activités biologiques

I.3.4.1 Activité antioxydante

L'activité antioxydante des extraits aqueux de *Marrubium deserti* est évaluée par trois différents tests qui sont : le test à l'ABTS (2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid), le piégeage du radical de DPPH' (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl), et le pouvoir réducteur de fer (FRAP).

Le pourcentage d'inhibition de trois tests est exprimé par la formule suivante :

$$\% \text{ d'inhibition} = \frac{(\text{Abs c} - \text{Abs e})}{\text{Abs c}} \times 100$$

Abs c : Absorbance du contrôle

Abs e : Absorbance de l'échantillon testé

I.3.4.1.1 Test à l'ABTS (2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid)

Ce test est basé sur la capacité d'un antioxydant à stabiliser le radical cation ABTS \cdot^+ de coloration bleu-vert en le transformant en ABTS $^+$ incolore. (Zaabat, 2010) (Fig. 3).

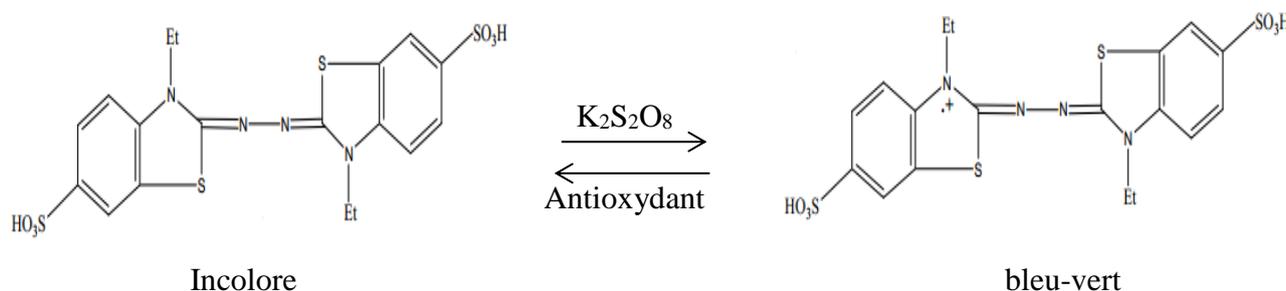


Figure 3 : Mécanisme réactionnel intervenant entre ABTS et un antioxydant (Zaabat, 2010).

La génération du radical cation d'ABTS \cdot^+ est effectuée par réaction chimique entre une solution d' ABTS (7 mM) et une solution de persulfate de potassium $K_2S_2O_8$ (2,45 mM) selon la méthode décrite par Cai *et al.* (2004). Le mélange est incubé à 23°C pendant 12 à 16 heures, à l'obscurité. La solution d'ABTS \cdot^+ est diluée avec l'éthanol (80%) jusqu'à l'obtention une absorbance égale à $0,700 \pm 0,020$ à 734 nm par un spectrophotomètre UV-Visible (SpectroScan 40). L'inhibition du radical cation d'ABTS \cdot^+ par différents extraits aqueux de *marrubium deserti* est réalisée en mélangeant 3,9 ml de la solution d'ABTS \cdot^+ avec 0,1 ml de l'échantillon testé préparé à

différentes concentrations. Le mélange est agité vigoureusement. Après un repos de 6 min à 23°C, l'absorbance est mesurée à 734 nm. La courbe d' étalonnage est obtenue en utilisant une solution éthanolique de Trolox (acide carboxylique 6-hydroxy-2,5,7,8-tetraméthylchroman) à différentes concentrations (0 à 500 µM). Les résultats sont exprimés en µM en équivalent de Trolox ET/g de poids sec de matériel végétal (Zaabat, 2010).

I.3.4.1.2 Test de piégeage du radical de DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl)

Cette technique consiste à mesurer la capacité d' un antioxydant de synthèse ou naturel à piéger le radical de DPPH[•] (de couleur violette), ce qui conduit à la réduction de ce radical et sa couleur va changer vers le jaune. Ce changement se traduit par une diminution de l'absorbance (Figure 4) (Djahra, 2014).

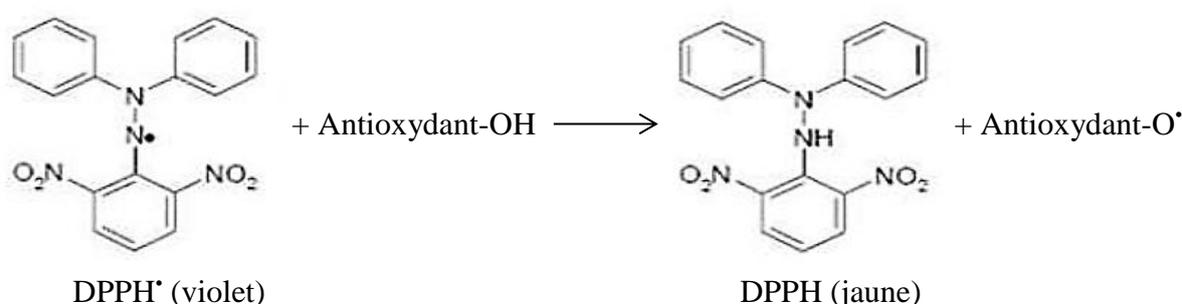


Figure 4 : Mécanisme réactionnel intervenant lors du test DPPH entre l'espèce radicalaire DPPH et un antioxydant (Bougandoura, 2011).

La solution de DPPH préparée (25 mg/100 ml) de dans le méthanol est diluée par le même solvant (le méthanol) afin d'obtenir une absorbance de 1.1 ± 0.1 à 517 nm. Un volume de 0.1 ml des extraits aqueux de *Mrrubium deserti* sont mélangé avec 3.9 ml de la solution de DPPH pendant 30 min à l'obscurité. L'absorbance de ce mélange est lue à 517 nm. Le Trolox est utilisée comme standard pour la préparation de la courbe d'étalonnage (100 à 1400 µM). Les résultats sont exprimés en µM ET/g du poids sec (Brand *et al.*, 1995).

I.3.4.1.3 Pouvoir réducteur du fer (FRAP : Ferric reducing ability of plasma)

Cette méthode est basée sur la réduction de fer ferrique (Fe³⁺) en fer ferreux (Fe²⁺) par un agent antioxydant donneur d'électron. La réaction est révélée par le virement de la couleur jaune du fer ferrique (Fe³⁺) à la couleur bleu-vert du fer ferreux (Fe²⁺) en utilisant le TPTZ. L'intensité de cette coloration est mesurée par spectrophotométrie à 593 nm (figure 5) (Djahra, 2014).

La détermination du pouvoir réducteur du fer (Fe^{3+}) est effectuée pour les différents extraits en utilisant la méthode décrite par Benzie et Strain (1996).

Le réactif FRAP est préparé à partir de tampon acétate (0,3 M, pH 3,6), de TPTZ 10 mM en solution dans de l'HCl 40 mM et d'une solution de FeCl_3 (20 mM) en proportion de 10:1:1 (v/v) respectivement. Un volume de 50 μl des extraits aqueux de *Marrubium deserti* de différentes

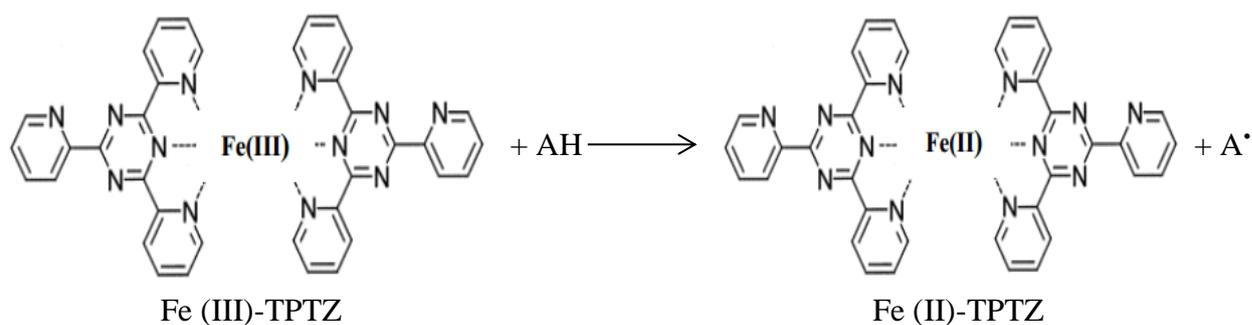


Figure 5 : Mécanisme réactionnel intervenant lors du test FRAP entre le complexe tripyridyltriazine ferrique Fe(III)-TPTZ et un antioxydant (Djahra, 2014).

concentrations sont ajoutés à 1,5 ml de réactif FRAP. L'absorbance du mélange réactionnel est ensuite mesurée à 593 nm après 4 min par rapport à l'eau distillée. Le Trolox a été utilisé comme standard (0 à 800 μM) et les résultats sont exprimés en μM équivalent de Trolox.

I.3.4.2 Activité inhibitrice de l' α -amylase

L' α -amylase est l'une des enzymes clés qui jouent un rôle dans la digestion de l'amidon et du glycogène. Son inhibition est l'une des stratégies utilisées pour le traitement du diabète et de l'obésité. Cette enzyme est impliquée dans l'augmentation de la glycémie post-prandiale et son inhibition fait réduire le taux du glucose passé vers le sang (Seal *et al.*, 2017).

L'activité de l' α -amylase est mesurée selon la méthode de Benfeld (1955). Le principe de cette méthode repose sur le dosage des groupements aldéhydes libre des sucres réducteurs libérés lors de l'hydrolyse de l'amidon par l' α -amylase. En milieu alcalin et à chaud, l'oxydation de ces fonctions provoque simultanément la réduction de l'acide 3,5-dinitrosalicylique (DNSA) de couleur jaune orange en acide 3-amino 5 nitrosalicylique de couleur rouge orange qui a une absorbance maximale à 540 nm. L'intensité de la coloration varie selon la quantité de sucres réducteurs présents dans le milieu réactionnel (Benfeld, 1955).

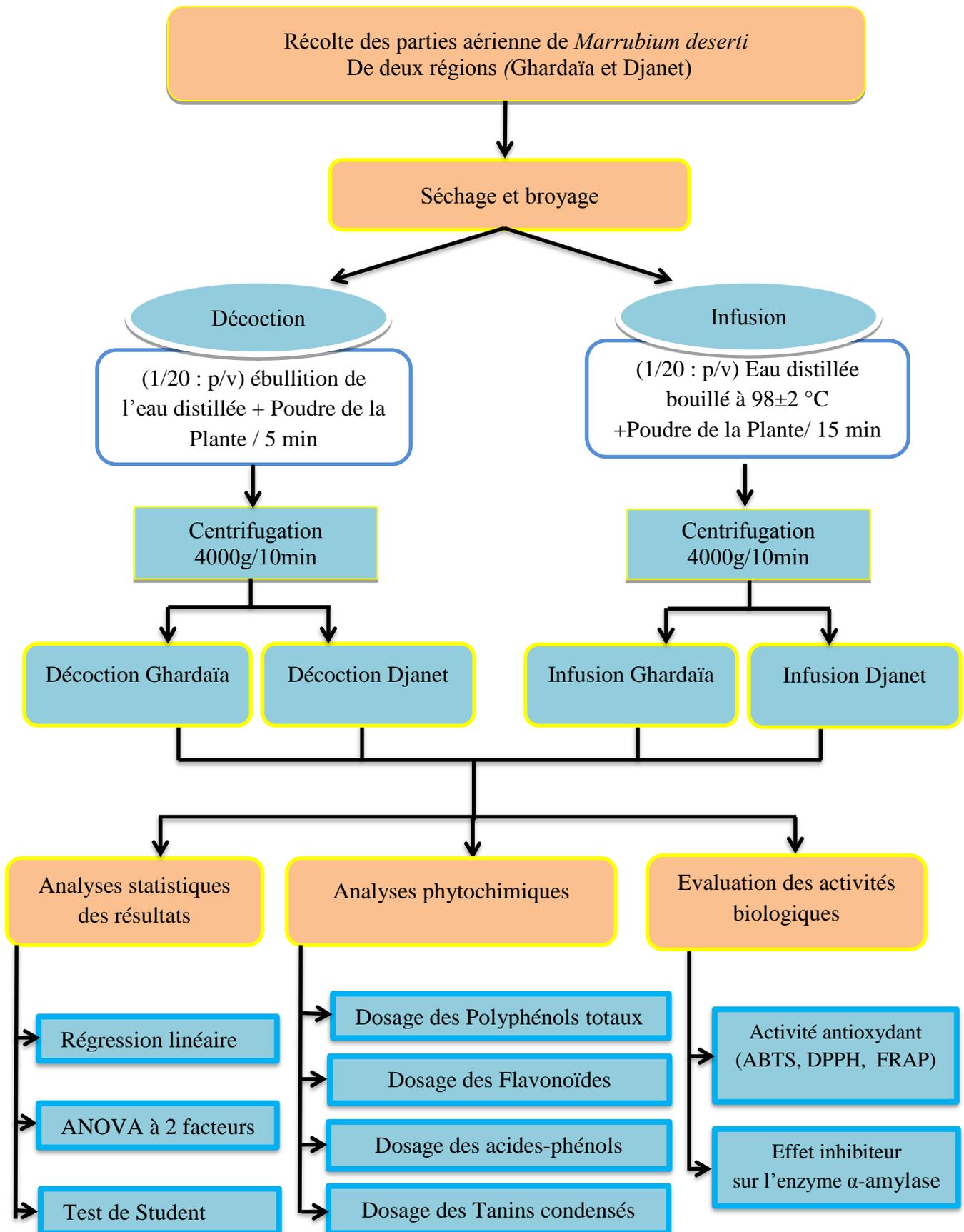
L' α -amylase utilisée dans cette étude est d'origine porcine E.C.3.2.1.1 (Sigma Aldrich). Un volume de 500 μl de l'extrait a été incubé avec 500 μl de la solution de l' α -amylase (0,5 mg/ml) à

32°C pendant 10min. Après incubation, 500µl de la solution d'amidon (1%) a été ajouté. Le mélange est incubé à 32°C pendant 10min. un volume de 1 ml de réactif DNSA (1g de 3,5 di-nitro acide salicylique, 30g de tartrate double sodium potassium et 20 ml de 2N d'hydroxyde de sodium est ajouté et compléter le volume final jusqu' au 100 ml avec l'eau distillée) a été ajouté pour arrêter la réaction. Le mélange a été incubé dans un bain-marie (85°C) pendant 5 minutes. Après 5 minutes, la couleur du mélange réactionnel change en Orange-rouge et a été retiré du bain-marie et refroidi à température ambiante (Kamtekar *et al.*, 2014).

I.3.5 Analyse statistique

Les résultats sont présentés en $\text{moyen} \pm \text{écart type}$. Les données sont soumises à une analyse de variance (ANOVA) à deux facteurs et test de Student où la valeur $P < 0.05$ est considérée significative. La corrélation entre les paramètres étudiés est effectuée par le test de Pearson. Toutes les analyse statistiques sont réalisées par le logiciel STATISTICA 10.

Plan d'étude



Résultats et discussion

II. Résultats et discussion

II.1. Rendement d'extraction

Les rendements des différents extraits aqueux *M. deserti* récoltée dans différentes régions (Ghardaïa et Djanet) sont présentés dans la figure 6.

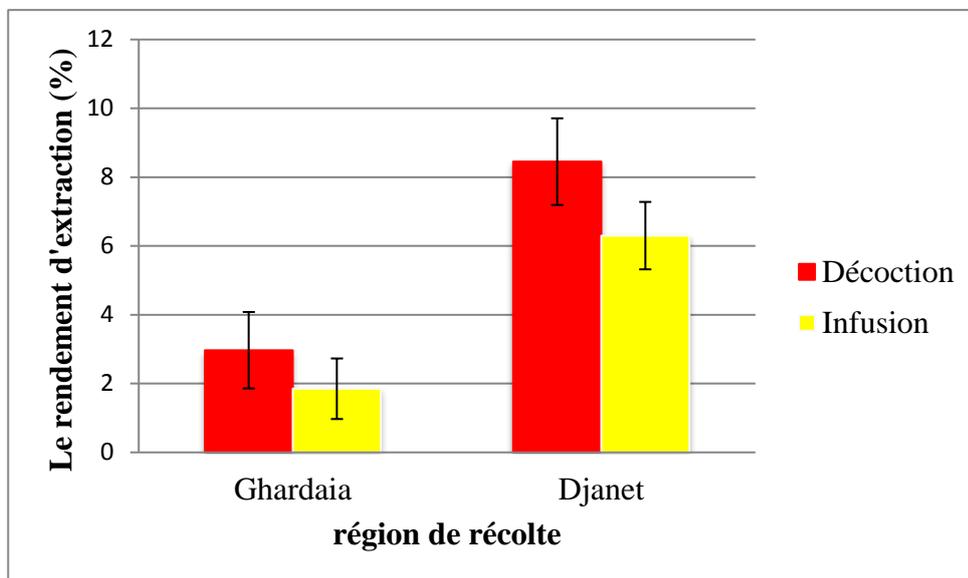


Figure 6 : Rendement d'extraction des différents extraits aqueux de *M. deserti*

Les résultats obtenus montrent que la décoction et l'infusion de *Marrubium deserti* récoltée dans la région de Djanet ont les rendements les plus élevés qui sont $8,45 \pm 1,26\%$ et $6,3 \pm 0,98\%$ respectivement. En ce qui concerne celle récoltée dans la région de Ghardaïa, nous constatons que ses extraits aqueux ont des rendements très faibles en comparaison avec ceux de la première région et qui sont de l'ordre de $2,97 \pm 1,11\%$ pour la décoction et $1,85 \pm 0,88\%$ pour l'infusion.

Les différences enregistrées entre les extraits des deux régions sont hautement significatives ($P < 0,01$), alors que les différences entre les extraits de la même région ne sont pas significatives ($P > 0,05$).

D'une manière générale, les teneurs en extraits secs varient en fonction de la nature du solvant d'extraction, la période, le lieu de la récolte et la durée de séchage. La méthode d'extraction peut influencer elle-même sur le rendement d'extraction (Djahra, 2014 ; Ghedadba *et al.*, 2014). Tant que notre solvant d'extraction est l'eau, la variabilité des résultats obtenus semble être due au mode de préparation et les conditions climatiques de la région de récolte.

Au terme de comparaison, le rendement des différents extraits aqueux de *M. deserti* est supérieurs à celui trouvé par Edziri *et al.* (2012) pour l'extrait méthanolique de cette espèce qui est de l'ordre de (2,57 %). Par contre le rendement de nos extraits aqueux est inférieur à celui de l'extrait brut méthanolique de *M. vulgare* dont le rendement correspond à un pourcentage de (24,34 %) (Djahra, 2014).

II.2. Quantification de certaines classes des composés phénoliques

II.2.1. Teneur en polyphénols totaux

Les résultats obtenus pour le dosage des polyphénols totaux sont présentés dans la figure 7.

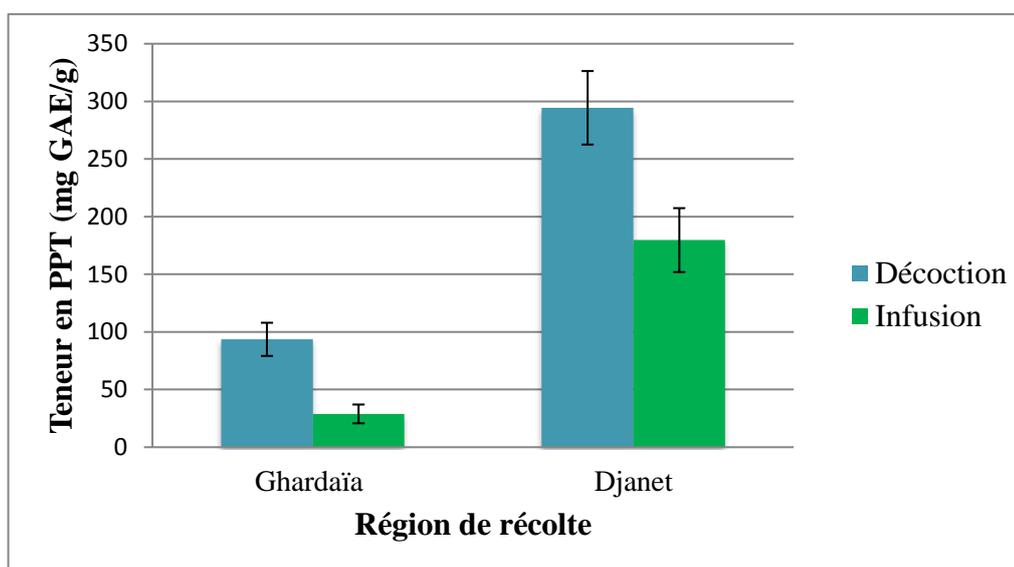


Figure 7 : Teneurs en Polyphénols totaux des différents extraits de *M. deserti*.

Il ressort de ces résultats que les teneurs les plus élevées des composés phénoliques sont obtenues avec les extraits aqueux de *Marrubium deserti* récoltée dans la région de Djanet qui sont de 294,42 ± 31,9 mg EAG/g pour la décoction et de 179,67 ± 27,72 mg EAG/g pour l'infusion. La décoction et l'infusion de *Marrubium deserti* récoltée dans la région de Ghardaïa sont caractérisées par des taux faibles en polyphénols allant de 93,56 ± 14,39 mg EAG/g à 28,87 ± 8,15 mg EAG/g.

Les analyses statistiques réalisées ont montré qu'il y a des différences très hautement significatives ($P < 0,001$) en teneur en composés phénoliques entre les deux régions et les deux modes de préparation, tandis que l'interaction entre les deux facteurs (régions, modes de préparation) n'est pas significative ($P > 0,05$) (Annexe 8).

Il est remarqué que *M. deserti* récoltée de Djanet présente des taux en polyphénols plus élevés en comparaison avec ceux de la plante récoltée dans la région de Ghardaïa. Il apparaît que cette différence peut être due au facteur climatique (température, pluviométrie) qui caractérise les deux régions, la nature du sol, le type du microclimat et aussi des étages bioclimatiques où poussent ces plantes (Belyagoubi, 2011 ; Djahra *et al.*, 2012).

Il est à noter que nos résultats sont proches aux résultats obtenus par Belyagoubi (2011) et Edziri *et al.* (2012), mais ils sont supérieurs aux résultats obtenus par Djeridane *et al.* (2010) ce qui prouve que le lieu de la récolte, la période et la méthode d'extraction ont des influences significatives sur la quantité des composés phénoliques extraite.

II.2.2. Teneur en flavonoïdes

Les résultats obtenus pour le dosage des flavonoïdes sont présentés dans la figure 8.

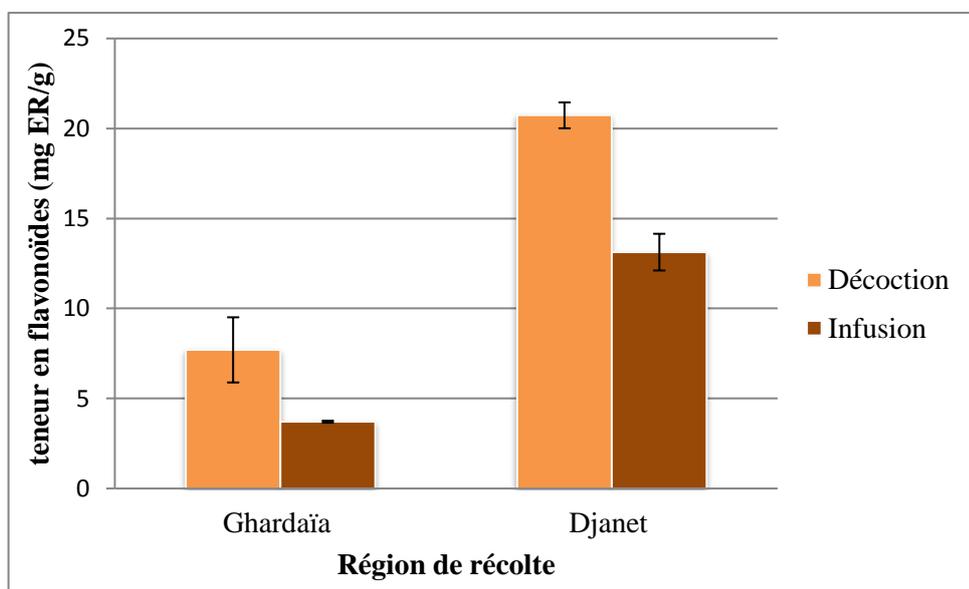


Figure 8 : Teneur en flavonoïdes des différents extraits de *M. deserti*

Les résultats de dosage quantitatif des flavonoïdes révèlent que les extraits aqueux de *M. deserti* récoltée dans la région de Djanet est la plus riche en flavonoïdes par rapport à ceux de la plante récoltée dans la région de Ghardaïa. La décoction présente le taux le plus important en flavonoïdes (20,73±0,72 mg ER/g) suivi par l'infusion (13,13±1,02 mg ER/g) de la plante récoltée dans la région Djanet. En ce qui concerne la plante récoltée dans la région de Ghardaïa, nous observons que les teneurs en flavonoïdes de la décoction et de l'infusion sont faibles et qui sont de l'ordre de 7,7±1,8 mg ER/g et 3,71±0,06 mg ER/g respectivement.

Des différences très hautement significatives sont enregistrées entre les deux modes de préparation et aussi entre les résultats obtenus pour les deux régions ($P < 0,001$) (Annexe 9).

Cette différence dans les résultats peut être liée aux conditions climatiques du biotope de l'espèce, aux propriétés physico-chimiques de sol comme abiotique facteur de stress ou aux différentes méthodes suivies lors de l'extraction (Medinski, 2007 ; Djahra, 2014).

Les teneurs en flavonoïdes des différents extraits aqueux de *M. deserti* sont supérieures à celle signalées par Djeridane *et al.* (2010) dans les extraits méthanolique de cette espèce, qui est de l'ordre de 2,20 mg ER/g. Cependant, elles sont faibles en comparaison avec les résultats obtenus par Amessis-Ouchemoukh *et al.* (2014) de l'extrait méthanolique de *Marrubium vulgare* (81,21 mg ER/g).

II.2.3. Teneur en acides phénols

Les résultats obtenus par le dosage colorimétrique des acides phénols sont représentées dans la figure 9.

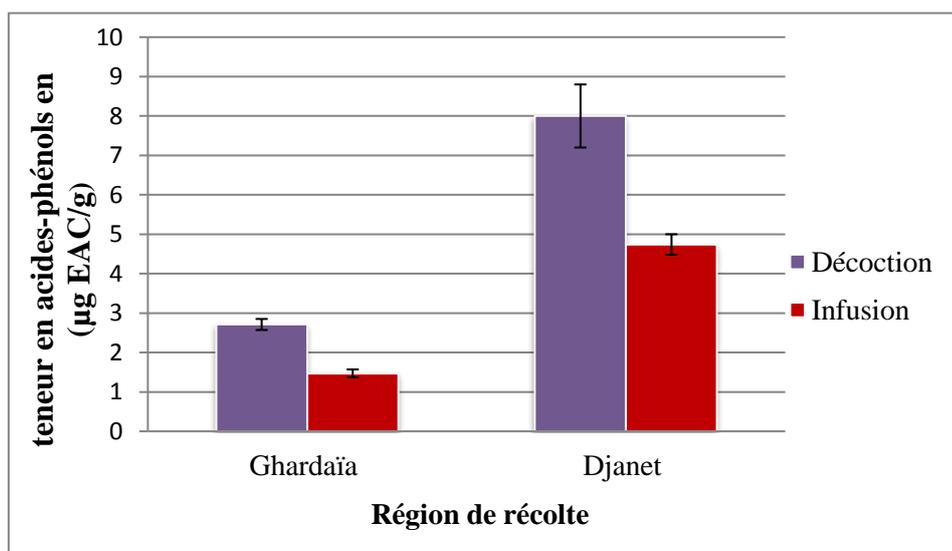


Figure 9 : Teneur en acides-phénols des différents extraits de *M. deserti*

Selon les résultats présentés dans la figure 9, nous constatons que les extraits aqueux de *M. deserti* ont des taux très variables des acides-phénols. En effet, les préparations de *M. deserti* de la région de Djanet ont les concentrations les plus importantes en acides-phénols qui varient de $4,74 \pm 0,27$ mg EAC/g pour l'infusion à $8 \pm 0,81$ mg EAC/g pour la décoction. Néanmoins, la décoction et l'infusion de *M. deserti* de la région de Ghardaïa ont des teneurs faibles en acides-phénols qui sont de $2,72 \pm 0,14$ mg EAC/g et $1,47 \pm 0,10$ mg EAC/g respectivement.

Les analyses de variance de ces résultats montre qu'il y a des différences très hautement significatives en teneurs en acides-phénols entre les deux régions et entre les deux modes de préparation ($P < 0,001$) (Annexe 10).

Les différences enregistrées entre la décoction et l'infusion semblent être dues à la durée de d'ébullition de l'eau avec le matériel végétal (5 min). Armoskaite *et al.* (2011) ont indiqué que la période de faire bouillir l'eau dans la décoction a une influence sur la quantité des composés phénoliques.

Nos résultats sont nettement supérieurs en comparaison avec celui de Djeridane *et al.* (2010), qui ont reporté que la teneur en dérivés hydroxybénzoïque dans l'extrait méthanolique de *M. deserti* est de l'ordre de (1,24mgEAC/g).

II.2.4. Teneur en tanins condensés ou proantocyanidines

Les tanins condensés sont quantifiés par la méthode de vanilline-HCl. Les résultats obtenus sont présentés dans la figure 10.

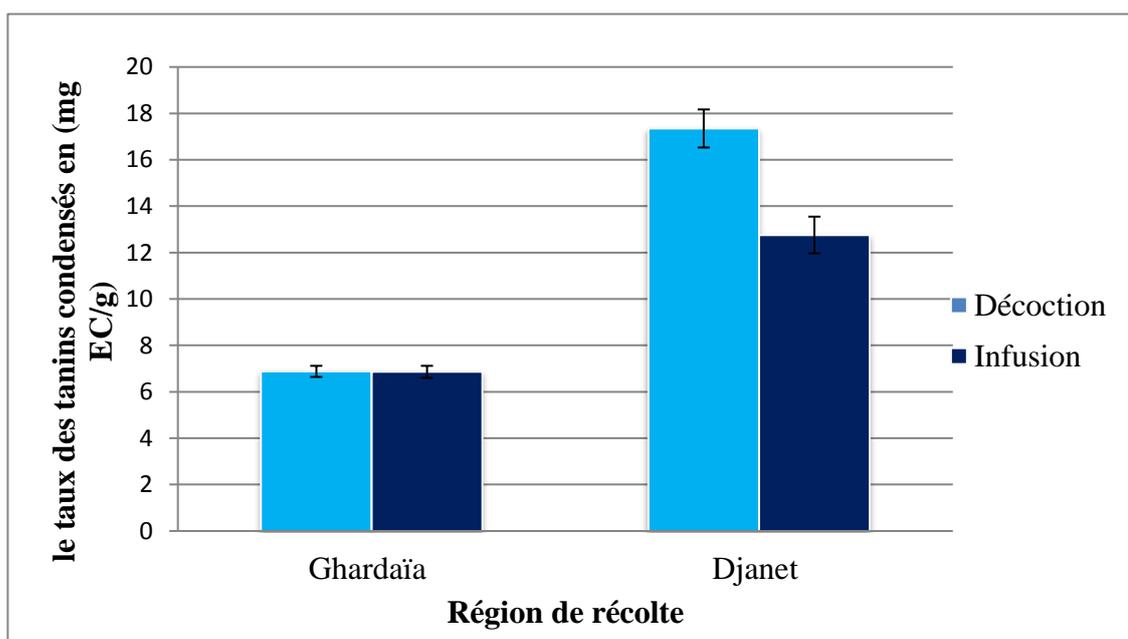


Figure 10 : Teneur en tanins condensés des différents extraits de *M. deserti*.

La figure 10 montre que les extraits de *M. deserti* de la région de Djanet ont les teneurs les plus élevées en tanins condensés en comparaison avec celles des extraits de la région de Ghardaïa. L'extrait obtenu par la décoction a le taux le plus important en tanins condensés (17,35±0.82 mg EC/g) suivi par celui de l'extrait obtenu par infusion (12,76±0.80 mg EC/g). Les extraits aqueux de

M. deserti de la région de Ghardaïa ont presque les mêmes quantités des tanins condensés qui sont de l'ordre de $6,88 \pm 0.24$ mg EC/g pour la décoction et $6,86 \pm 0.26$ mg EC/g pour l'infusion.

Cette augmentation des teneurs en tanins condensés dans les décoctés peut être expliquée par la destruction par la chaleur des polyphénols oxydases (PPO) qui font l'oxydation des composés phénoliques conduisant à la diminution de la teneur en polyphénols. Ainsi, la rupture de liaisons entre les polyphénols et d'autres substances (protéines, polysaccharides...) menant à l'accessibilité à ces principes actifs peut expliquer de sa part cette abondance (Mahmoudi *et al.*, 2013).

Les analyses statistiques réalisées ont montré qu'il y a des différences très hautement significatives ($P < 0,001$) en teneur en tanins condensés entre les deux régions (Annexe 11).

En termes de comparaison, les teneurs en tanins condensés de nos extraits sont relativement faibles par rapport à ceux de l'extrait méthanolique de *M. deserti* rapporté par Belyagoubi *et al.* (2014) ; dont ils ont trouvé une teneur égale à 25,02 mg EC/g.

II.3. Activités biologiques

II.3.1. Activité antioxydante

II.3.1.1. Test à l'ABTS

La figure 11 présente le pouvoir antioxydant en μM en équivalent de Trolox pour chaque extrait aqueux évalué par le test ABTS.

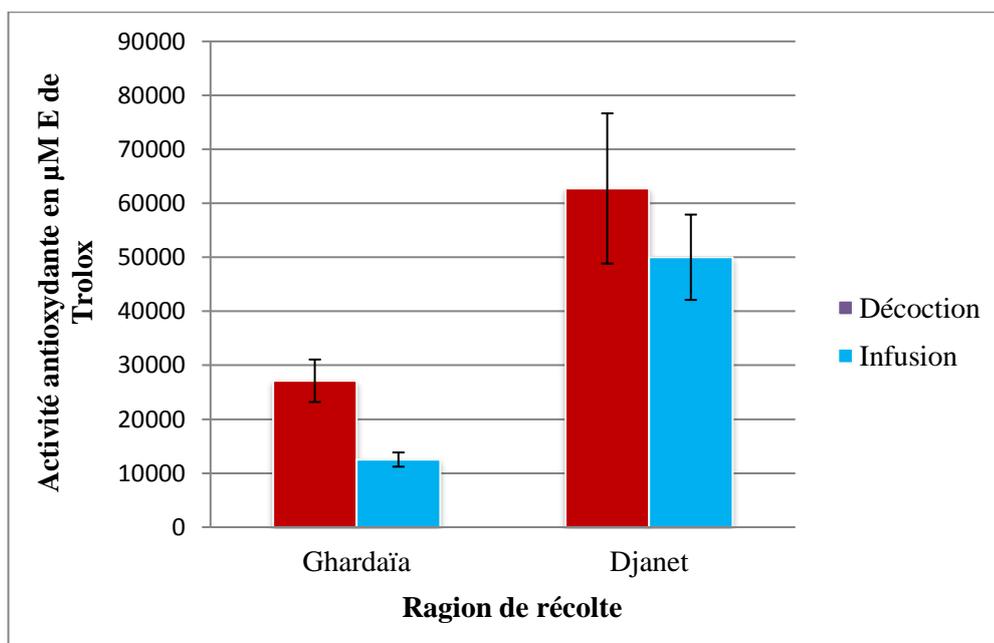


Figure 11 : Activité anti-oxydante évaluée par le test d'ABTS des différents extraits aqueux *M. deserti* (μM ET/g).

La lecture de ces résultats montre que les extraits aqueux de *M. deserti* de Djanet possèdent l'activité antioxydante la plus élevée en comparaison avec ceux de *M. deserti* de Ghardaïa.

La concentration inhibitrice de chaque extrait aqueux de *M. deserti* et de standard Trolox (analogue structural hydrosoluble de la vitamine E) nécessaire pour l'inhibition de 50% de radicale cationique ABTS \cdot^+ (IC₅₀) sont présentés dans le tableau 1.

Tableau 1: IC₅₀ de l'activité antioxydante des extraits aqueux de *M. deserti* déterminée par le test d'ABTS.

Région	Mode de préparation	IC ₅₀ (mg/ml)
Ghardaïa	Décoction	0,28
	Infusion	0,22
Djanet	Décoction	0,85
	Infusion	0,64
Standard	Trolox	0,10

L'estimation de pouvoir anti-radicalaire des différents extraits de *M. deserti* et ce de l'antioxydant de référence utilisé dans ce test le (Trolox), montre que tous les extraits ont une activité puissante contre les dommages des radicaux libre. Mais ils ont tous présentent des activités antioxydants inférieures à celles de l'antioxydant de référence.

En termes de comparaison entre les résultats obtenus, les extraits de *M. deserti* récoltée de Ghardaïa expriment le pouvoir antioxydant le plus efficace avec une valeur d'IC₅₀ de (0,22 mg/ml et 0,28 mg/ml) pour celui préparer par infusion et décoction respectivement, suivi par ceux de l'infusion et la décoction de *M. deserti* récoltée de Djanet avec des valeurs d'IC₅₀ de (0,64mg/ml et 0,85mg/ml) respectivement.

L'analyse de variance à deux facteurs (région et mode de préparation) pour le pouvoir antioxydant d'ABTS (Annexe 12), prouvent une variation très hautement significatives ($P < 0,001$) de l'activité antioxydante ABTS entre les deux régions, significative pour le mode de préparation ($P < 0,05$).

Cette capacité anti-oxydante des différentes préparations de *M. deserti* est due en grande partie à la présence des composés phénoliques. Les tests de corrélation réalisés entre les teneurs en différents

composés phénolique et l'activité antioxydante évaluée par le test d'ABTS ont montré qu'il y a une corrélation positive entre ces deux paramètres ($R^2= 0,9134$)

Ces résultats sont en accord avec celui reporté par Zaabat (2010) dans les différents extraits de *M. deserti*. Les deux extraits de *M. deserti* récoltée de Ghardaïa expriment une activité antiradicalaire supérieure à celle signalés par Edziri *et al.* (2012) dans l'extrait méthanolique de même espèce dont l'IC₅₀ est de l'ordre de (0,35 mg/ml).

II.3.1.2. Piégeage du radicale de DPPH

Le pouvoir à piéger le radical du DPPH des différents extraits de *M. deserti* a été étudié , les résultats exprimés en μM en équivalent Trolox, sont présentés dans la figure12.

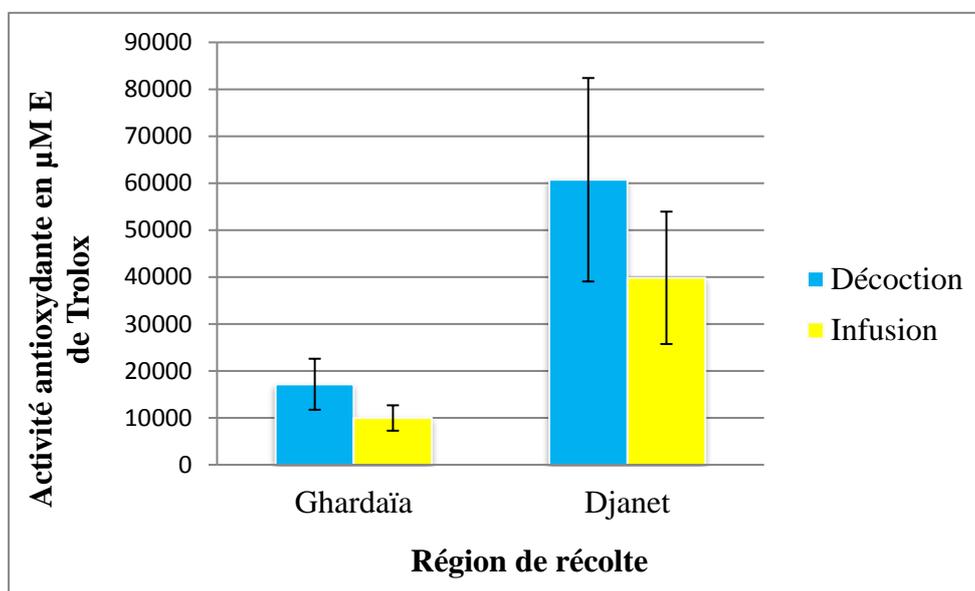


Figure 12 : Activité antioxydante exprimée en μM en équivalent Trolox pour le test DPPH.

Les résultats présentés dans la figure 12 montrent que les extraits aqueux de *M. deserti* récolté de Djanet ont les meilleures capacités à piéger le radical de DPPH celles de *M. deserti* récoltée dans la région de Ghardaïa.

Les valeurs d'IC₅₀ des extraits aqueux de *M. deserti* et de Trolox sont présentées dans le tableau 2.

Tableau 2: IC₅₀ de l'Activité antioxydante des extraits de *M. deserti* déterminée par le test DPPH.

Région	Mode de préparation	IC ₅₀ (mg/ml)
Ghardaïa	Décoction	0,86
	Infusion	0,58
Djanet	Décoction	1,84
	Infusion	1,71
Standard	Trolox	0,22

La concentration IC₅₀ la plus faible est signalée pour le Trolox avec une valeur de 0,22 mg/ml, alors que les concentrations des extraits de *M. deserti* sont par ordre croissant : celle de l'Infusion avec IC₅₀ égale à 0,58mg/ml, suivi par la décoction avec IC₅₀ égale à 0.86mg/ml pour la plante récoltée dans la région de Ghardaïa, alors que les extraits de *M. deserti* de Djanet ont des valeurs d'IC₅₀ de 1,71 mg/ml et 1,84 mg/ml pour l'infusion et la décoction respectivement.

Les résultats de l'analyse de variance ANOVA à deux facteurs (région, mode de préparation) portés dans l'Annexe 13, montrent une variation très hautement significative ($P < 0,001$) entre les deux régions.

Le pouvoir réducteur des extraits aqueux de *M. deserti* peut être dû à la richesse de ces derniers par les composés phénoliques notamment les flavonoïdes qui ont la capacité de capturer les espèces réactives de l'oxygène associées au stress oxydatif. En effet, ils sont capables d'inactiver et de stabiliser les radicaux libres grâce à leur groupement hydroxyle fortement réactif (Bougandoura, 2011).

D'après ces résultats et celui de teste d'ABTS on peut constater que les préparations à base de l'infusion peuvent donner les valeurs d'IC₅₀ les plus efficaces en comparaison avec celui de décoction. L'infusion est le mode de préparation qui réserve à la plante ses principes actifs (Hammoudi, 2015).

Le pouvoir antioxydant de l'extrait méthanolique de *M. deserti* mentionnée par Edziri *et al.* (2012) jugé comme efficace par rapport à nos résultats dont ils ont signalé une valeur d'IC₅₀ de (0,15 mg/ml).

II.3.1.3. Pouvoir réducteur du fer (FRAP : Ferric reducing ability of plasma)

L'activité antioxydante des différents extraits aqueux de *M. deserti* a été également étudiée en évaluant le pouvoir réducteur du fer, les résultats exprimés en μM en équivalent Trolox sont présentés dans la figure13.

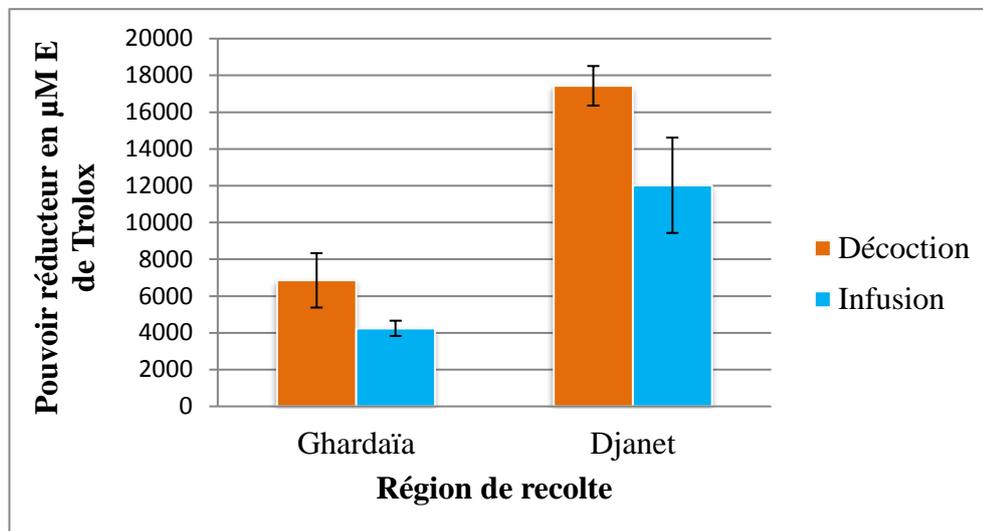


Figure 13 : Pouvoir réducteur de Fer exprimé en μM en équivalent de Trolox.

Quant aux pouvoir réducteur du fer, nous constatons que les extraits aqueux de *M. deserti* possèdent un pouvoir réducteur efficace, dont les deux extraits de *M. deserti* récoltée de Djanet montrent le pouvoir le plus élevé en comparaison avec ceux de Ghardaïa.

Les IC₅₀ des extraits aqueux de *M. deserti* et de Trolox sont illustrés dans le Tableau 3.

Tableau 3: IC₅₀ de l'activité antioxydante des extraits de *M. deserti* évaluée pour le test de FRAP.

Région	Mode de préparation	IC ₅₀ (mg/ml)
Ghardaïa	Décoction	2,24
	Infusion	1,76
Djanet	Décoction	8,19
	Infusion	7,14
Standard	Trolox	0,35

Les valeurs de IC₅₀ des différents extraits sont tous supérieur à celle de Trolox. Le meilleur résultat est obtenu avec l'extrait de *M. deserti* récoltée dans la région de Ghardaïa avec une IC₅₀ de 1,76 mg/ml, suivi par l'infusion de la plante pour la même région avec IC₅₀ égale à 2,24 mg/ml, puis

vient les IC₅₀ des deux extraits de Djanet qui sont de 7,14 et 8,19 mg/ml pour l'infusion et la décoction respectivement.

D'après les résultats de l'analyse de variance à deux facteurs (région, mode de préparation) (Annexe14), nous observons des variations très hautement significatives ($P < 0,001$) de pouvoir réducteur du Fer entre les deux régions et les deux modes de préparation ($P < 0,001$).

Le pouvoir réducteur des extraits aqueux de *M. deserti* sont probablement dues à la présence des groupements hydroxyles libres (ne sont pas engagés dans des liaisons osidiques ou autres) dans les composés phénoliques et plus particulièrement les flavonoïdes qui sont reconnus comme des substances potentiellement antioxydantes ayant la capacité de piéger les espèces radicalaires et les formes réactives de l'oxygène. En effet, Djahra (2014) a mentionné que les flavonoïdes les plus efficaces sont ceux qui renferment des groupements 3',4'-dihydroxy sur le cycle B et/ou un groupement 3-OH sur le cycle C.

Par ailleurs, Les tanins ont de grandes capacités antioxydantes dues à leurs noyaux phénols. Ils ont la particularité d'inhiber la peroxydation des lipides, en agissant comme donneur de proton et accepteur de radicaux libres, stoppant ainsi le mécanisme d'auto oxydation (Djemai zoughlache, 2009).

L'étude de pouvoir antioxydant par les trois tests choisis dans ce travail (ABTS, DPPH et FRAP) révèle que l'activité antioxydante des deux extraits de *M. deserti* récoltée dans la région de Ghardaïa est très importante par rapport à celle de *M. deserti* récoltée dans la région de Djanet, malgré que sont teneur en composés phénoliques est moins important. Par conséquent ces résultats sont dus à la synergie des composés phénoliques dans les extraits (Attou, 2011 ; Belyagoubi, 2012) et que l'activité antioxydante dépend non seulement de la quantité des composés phénoliques mais aussi de leur qualité (en point de vue structure) (Attou, 2011 ; Belyagoubi, 2012 ; Hammoudi , 2015 ; Laraba *et al*, 2016).

L'analyse de corrélation entre les teneurs de différents composés étudiés et le pouvoir antioxydant évalué par les trois tests ABTS, DPPH et FRAP montre une forte corrélation entre ces variables.

D'après la matrice de corrélation portée dans l'annexe 15 nous pouvons ensuite ressortir qu'il y a une forte corrélation entre la teneur en polyphénols totaux et l'activité antioxydante ABTS et DPPH avec un R de l'ordre 0,9557 et 0,9348 respectivement (Annexe 16 et 17). Par contre la teneur

en tanins condensés montre une forte corrélation avec le pouvoir réducteur de Fer (FRAP) dont R est de l'ordre de 0,9674 (Annexe 18).

II.3.2. Effet inhibiteur des extraits aqueux de *M. deserti* sur l'enzyme α -amylase

Afin de déterminer l'effet des quatre extraits de l'espèce *Marrubium deserti* sur l'activité de l'enzyme α -amylase *in vitro*, différentes concentrations de nos extraits ont été préparé pour tester le pouvoir inhibiteur sur l'activité de l'enzyme.

L'Acarbose a été utilisé comme témoin positif pour l'inhibition de l' α -amylase. La concentration de l'extrait nécessaire pour inhiber 50% de l'activité de l' α -amylase dans les conditions de dosage a été définie comme la valeur IC₅₀. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau 4.

Tableau 4: IC₅₀ de l'effet inhibiteur d' α -amylase des extraits de *M. deserti* et de l'Acarbose.

Région	Mode de préparation	IC ₅₀ (mg/ml)
Ghardaïa	Décoction	1,731
	Infusion	1,251
Djanet	Décoction	0,011
	Infusion	0,619
Témoin	Acarbose	0,083

D'après le tableau 4, on constate que l'IC₅₀ de de la décoction de *M. deserti* de la région de Djanet sont nettement inférieur à celui de l'inhibiteur de référence (Acarbose) ; donc le pouvoir inhibiteur de l' α -amylase de cet extrait de *M. deserti* est très puissante que l'effet inhibiteur de référence (Acarbose) cependant, l'IC₅₀ de l'infusion et la décoction de *M. deserti* de la région de Ghardaïa est de l'ordre de 1,251 et 1,731 mg/ml respectivement qui sont supérieure à celle de l'Acarbose mais ces résultats montrent que ces extraits sont riches en molécules ayant la capacité à inhiber l' α -amylase. Cela pourrait être justifié que la nature de certains constituants (phénols, flavonoïdes saponines, stéroïdes, alcaloïdes, terpénoïdes) présents dans l'extrait aqueux est responsable en tant qu'inhibiteurs efficaces de l' α -amylase.

Dans notre étude, les extraits aqueux de *M. deserti* de Djanet ont montrés une activité inhibitrice maximale de l' α -amylase qui peut être attribuée à la présence des composés phénoliques puisque les polyphénols ne sont pas seulement capables de réduire le stress oxydatif mais aussi d'inhiber les enzymes hydrolysantes de glucides en raison de leur capacité à se lier à ces enzymes.

Ces résultats rejoignent ceux trouvés par Mohammedi et Atik (2011) qui ont constaté que l'activité inhibitrice de l' α -amylase est augmentée avec l'augmentation de la teneur en composés phénoliques totaux.

Les travaux réalisés par Kandra (2004) ont montré que les extraits riches en composés phénoliques, en particulier les tanins sont capables de se lier aux enzymes digestives et de les inhiber grâce à sa richesse en groupements hydroxyles. Les tanins se fixent aux α -amylases, la liaison peut avoir lieu sur le site actif de l'enzyme, ces liaisons engendrant des complexes du type enzyme-inhibiteur, puisque les tanins agissent comme inhibiteurs compétitifs des α -amylases (Kandra, 2004).

Sales *et al.* (2012) ont signalé que le potentiel inhibiteur des flavonoïdes est corrélé avec le nombre de groupements hydroxyles dans leur cycle B. Ces composés inhibent l' α -amylase par la formation de liaison hydrogènes entre ses groupements hydroxyles et les résidus amino-acyles du site actif de cette enzyme.

Les analyses statistiques réalisées, ont montré l'absence des différences entre les IC_{50} des différents extraits aqueux (Annexe 19).

Conclusion

Ce travail est intéressé à évaluer le pouvoir antioxydant et l'effet inhibiteur de l'enzyme α -amylase des extraits aqueux de *M. deserti*. Les extraits aqueux sont obtenus selon deux modes traditionnels de préparation qui sont l'infusion et la décoction de la partie aérienne de *M. deserti* récoltée dans deux régions différentes (Ghardaïa et Djanet).

L'analyse quantitative des composés phénoliques testés montre que l'extrait de Djanet préparé par décoction présente la teneur la plus élevée en polyphénols totaux (294,42 mg EAG/g), en flavonoïdes (20,73 mg ER/g), en acides phénols (8 mg EAC/g) et en tanins (17,35 mg EC/g) comparativement avec les autres extraits.

L'évaluation de l'activité antioxydante a été réalisée par trois tests (ABTS, DPPH et FRAP). Où la totalité des extraits indiquent une activité antioxydante. Sachant que l'extrait de Ghardaïa obtenu par infusion exprime l'activité antioxydante la plus importante avec une IC_{50} de l'ordre de 0,22 mg/ml.

Le test de l'activité de l'enzyme α -amylase montre que nos extraits aqueux ont un effet inhibiteur sur l'enzyme α -amylase, et parfois mieux que l'inhibiteur de référence (Acarbose), dont la meilleure inhibition a été enregistrée par l'extrait aqueux de Djanet obtenue par décoction.

Les résultats de notre étude montrent et confirment l'importance de *Marrubium deserti* en Algérie pour l'usage dans la pharmacie et la phytothérapie. Nous pouvons conclure que cette plante est l'une des sources naturelles des substances bioactives ayant un pouvoir antioxydant et un effet inhibiteur de l'enzyme α -amylase.

Le piégeage des radicaux libres et l'inhibition de l' α -amylase reste une stratégie pour le traitement des complications du diabète et l'obésité. Pour mieux développer ce domaine ; des études approfondies sont nécessaires en utilisant des techniques sophistiquées telle que l'HPLC couplée à la spectrométrie de masse ou RMN afin d'isoler et d'identifier les molécules inhibitrices de l' α -amylase à partir des différents extraits de *M. deserti*, en particulier les extraits aqueux.

Aussi, des études *in vivo* sur l'activité antidiabétique de l'extrait de *M. deserti* seraient nécessaires pour mieux comprendre le mécanisme et le site d'action et de déterminer la dose thérapeutique afin de développer des nouveaux médicaments efficaces.

*Références
bibliographiques*

- Alghazeer R., El-Saltani H., Saleh N., Al-Najjar A., Habail F. (2012).** Antioxidant and antimicrobial properties of five medicinal Libyan plants extracts. *Natural Science*, 4, 324- 335.
- Amessis-Ouchemoukh N., Abu-Reidah I. M., Quirantes-Piné R., Madani K., Segura-Carretero A., (2014).** Phytochemical profiling, *in vitro* evaluation of total phenolic contents and antioxidant properties of *Marrubium vulgare* (horehound) leaves of plants growing in Algeria. *Industrial Crops and Products*, 61, 120-129.
- Arif T., Sharma B., Gahlaut A., Kumar V., Dabur R. (2014).** Anti-diabetes agents from medicinal plants. *Chemical Biology Letters*, 1, 1-13.
- Attou A. (2011).** Contribution à l'étude phytochimique et activités biologiques des extraits de la plante *Ruta chalepensis* (Fidjel) de la région d'Ain Témouchent. *Mémoire de magister*, Université Abou bekr belkaid, Tlemcen.
- Belyagoubi N. (2012).** Activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-Ouest Algérien. *Thèse de doctorat*, Université Aboubakr Belkaïd, Tlemcen.
- Belyagoubi N., Belyagoubi L., Atik Bekkara F. (2014).** Phenolic contents and antioxidant activities *in vitro* of some selected Algerian plants. *Journal of Medicinal Plant Research*, 8(40), 1198-1207.
- Berset C. (2006).** Antioxydants phénoliques structure, propriétés et source végétales. In les polyphénols en agroalimentaire (Sarni-Mmancado, P. et Cheynier, V.), pp 265-290. TEC et DOC, France.
- Bidie A., N'Guessan B., Yapo A., N'Guessan D. Djaman A. (2011).** Activités antioxydantes de dix plantes médicinales de la pharmacopée ivoirienne. *Sciences & Nature.*, 8, 1-11.
- Bisbal C, Lambert K, Avignon A. (2010).** Antioxidants and glucose metabolism disorders. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.*, 13, 439-46.
- Bonnard C, Durand A, Peyrol S. (2008).** Mitochondrial dysfunction results from oxidative stress in the skeletal muscle of diet-induced insulin-resistant mice. *Clin Invest.*, 118,789-800.
- Boudjedour N., Bertil A. (2016).** L'activité inhibitrice des composés phénoliques de *Dictyopteris polypodioides* sur l' α -amylase salivaire libre et immobilisée *in vitro*. *Mémoire de master*, Université des Frères Mentouri. Constantine.
- Boudjelal A., HENCHIRI C., Sari M., Sarri D., Hendel N., Benkhaled A., Ruberto G. (2013).** Herbalists and wild medicinal plants in M'Sila (North Algeria): An ethnopharmacology survey. *Journal of Ethnopharmacology*, 148, 395-402.
- Bougandoura N. (2011).** Pouvoir antioxydant et antimicrobien des extraits d'espèce végétales *Satureja camintha* (nabta) et *Ajuga iva* L. (chendgoura) de l'ouest d'Algérie. *Mémoire de magister*, Université Abou bekr belkaid, Tlemcen.
- Boulila A., Sanaa A., Ben salem I., Rokbeni N., M'rabet Y., Hosni k., Fernandez X. (2015).** Antioxidant properties and phenolic variation in wild populations of *Marrubium vulgare* L. (Lamiaceae). *Industrial Crops and Products*, 76, 616-622.

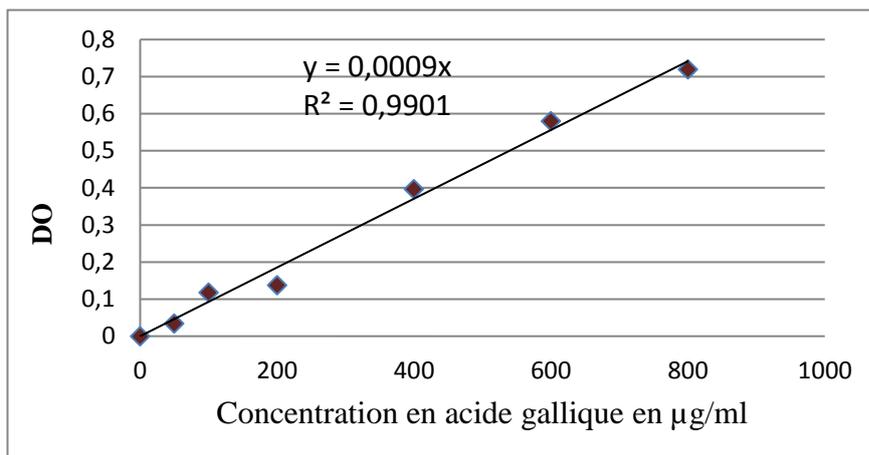
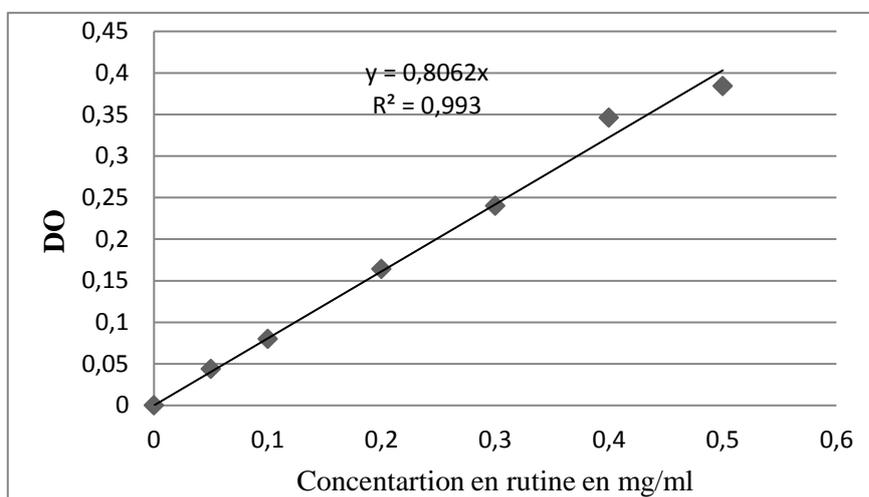
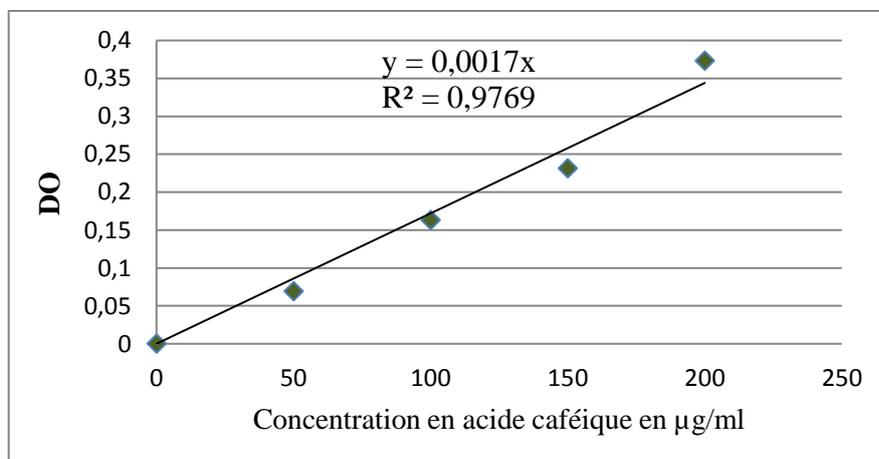
- Bulló M., Lamuela-Raventós R., Salas-Salvadó J. (2011).** Mediterranean diet and oxidation: nuts and olive oil as important sources of fat and antioxidants, *Curr. Top. Med. Chem.*, 11, 1797-810.
- Brands-Williams W., Cuvelier M. E., Berset C. (1995).** Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebens Wiss. Technol.*, 18, 25-30.
- Cai Y., Luo Q., Sun M., Corke H. (2004).** Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. *Life Sciences*, 74, 2157–2184.
- Cohen P. A., Ernst E. (2010).** Safety of herbal supplements A guide for cardiologists. *Cardiovasc Ther.*, 28, 246-53.
- Conboy L., Kaptchuk T. J., Eisenberg D. M., Gottlieb B., Acevedo-Garcia D. (2007).** The relationship between social factors and attitudes toward conventional and CAM practitioners. *Complement Ther Clin Pract.*, 13,146-57.
- De Luca V., Pierre B. S. (2000).** The cell and developmental biology of alkaloid biosynthesis. *Trends in Plant Science*, 5, 349-364.
- Djahra A. B. (2014).** Etude phytochimique et activité antimicrobienne, antioxydante, antihépatotoxique du Marrube blanc ou *Marrubium vulgare* L. *Thèse de doctorat*, Université Badji mokhtar, Annaba.
- Djahra A. B., Bordjiba O., Benkherara S. (2012).** Activité antibactérienne des flavonoïdes d'une plante médicinale spontanée *Marrubium vulgare* L. de la région d'El Tarf (Nord-Est Algérien). *Sci. Technol.*, 24, 29-37.
- Djemai zoughlache S., (2009).** Etude de l'activité biologique des extraits du fruit de *Zizyphus lotus* L. *Mémoire de magister*. Université El hadj lakhder. Batna.
- Djeridane A., Yousfi M., Brunel J. M., Stocker P. (2010).** Isolation and characterization of a new steroid derivative as a powerful antioxidant from *Cleome arabica* in screening the *in vitro* antioxidant capacity of 18 Algerian medicinal plants. *Food and Chemical Toxicology*, 40, 2599-2606.
- Duraffourd C., Lapraz J-C., Chemli R. (1997).** *La plante médicinale de la tradition à la science. 1er congrès Intercontinental*. Tunis. Edition du Granche. Paris.
- Edziri H., Mastouri M., Aouni M., Verschaeve L. (2012).** Polyphenols content, antioxidant and antiviral activities of leaf extracts of *Marrubium deserti* growing in Tunisia. *South African Journal of Botany*, 80, 104-109.
- Engebretson J. (2002).** Culture and complementary therapies. *Complement Ther Nurs Midwifery*, 8,177-84.
- FID** : Fédération internationale du diabète. (2015). <http://www.idf.org/diabetesatlas>.
- Ghasemzadeh A., Jaafar H., Rahmat A., Ashkani S. (2015).** Secondary metabolites constituents and antioxidant, anticancer and antibacterial activities of *Etlingera elatior* (Jack) grown in different locations of Malaysia. *Complementary and Alternative Medicine*,15, 335.
- Ghedadba N., Hambaba L., Aberkane M. C., Oueld-Mokhtar S. M., Fercha N., Bousselsela H. (2014).** Évaluation de l'activité hémostatique *in vitro* de l'extrait aqueux des feuilles de *Marrubium vulgare* L. *Algerian Journal of Natural Products*, 2, 64-74.

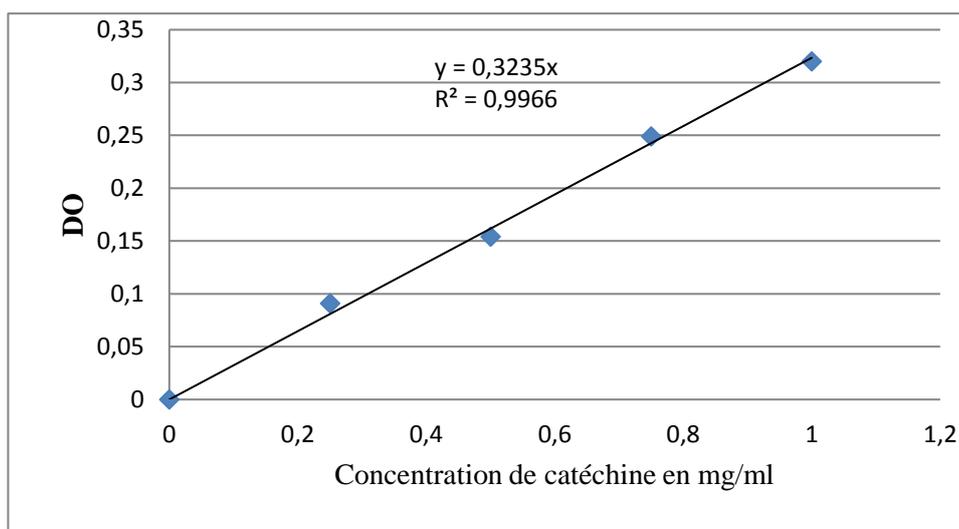
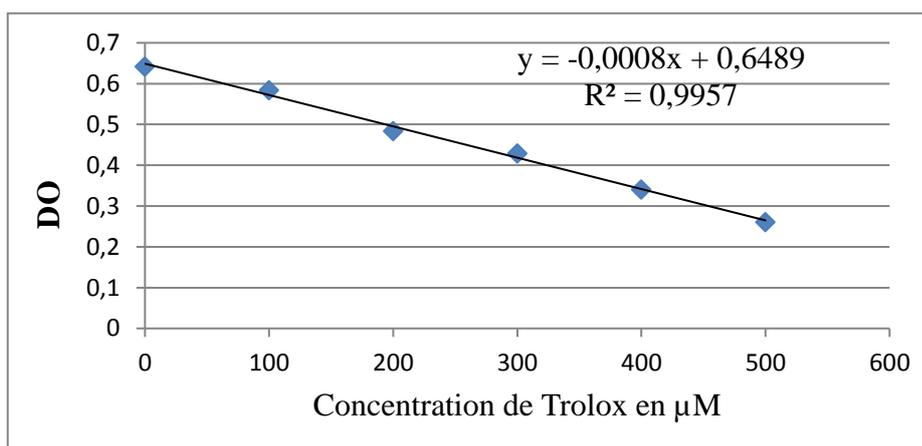
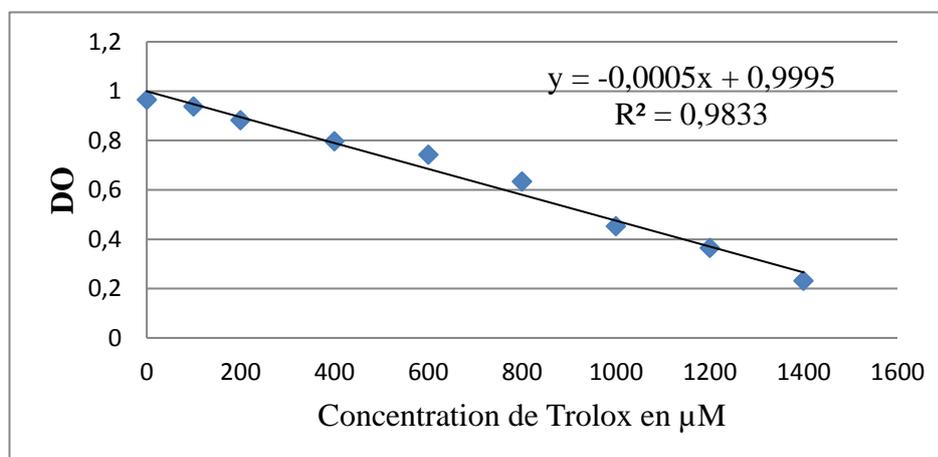
- Guignard J. L., Dupont F. (2004).** *Botanique Systématique moléculaire*. 13e édition. Masson, Paris.
- Hadj Salem J. (2009).** Extraction, identification, caractérisation des activités biologiques de flavonoides de *Nitraria retusa* et synthèse de dérivés acyle de ses molécules par voie enzymatique. *Thèse de doctorat*, Institut National Polytechnique de Lorraine. France.
- Hammoudi R. (2015).** Activités biologiques de quelques métabolites secondaires extraits de quelques plantes médicinales du Sahara méridional algérien. *Thèse de doctorat*, Université kasdi merbah, Ouargla.
- Hoehn KL., Salmon AB., Hohnen-Behrens C. (2009).** Insulin resistance is a cellular antioxidant defense mechanism. *Proc Natl Acad Sci.*, 106, 17787–92.
- Hokayem M., Bisbal C., Lambert K., Avignon A. (2012).** Quelle place pour les antioxydants dans la prévention du diabète de type 2 ? *Médecine des maladies Métaboliques*. 6, 4.
- Hopkins W. G. (2003).** *Physiologie végétale*, 2ème édition du De Boeck. Bruxelles.
- Iris F., Benzie F., Wachtel-Galor S. (2011).** *Herbal and traditional medicine*. Edition du Taylor and Francis Group, USA.
- João R., Neves V., Martins A., Rauter A. (2016).** *In vitro* antioxidant and anti-inflammatory properties of *Limonium algarvense* flowers infusions and decoctions: A comparison with greentea (*Camellia sinensis*). *Food Chemistry*, 322-329.
- Junio H. A., Cordero A. A., Ettefagh K. A., Burns J. T., Micko K. T., Graf T. N. (2011).** Synergy directed fractionation of botanical medicines: A case study with goldenseal (*Hydrastis canadensis*). *Journal of Natural Products*, 74, 1621-1629.
- Kamana S., Deependra T., Hemalatha K. Arkajit G. (2017).** Antiglycemic Activity of endophytic fungi from selected medicinal plants by alpha-amylase inhibition method. *International Journal of Science and Research*, 2319-7064.
- Kamtekar S., Keer V., Patil V. (2014).** Estimation of Phenolic content, Flavonoid content, Antioxidant and Alpha Amylase Inhibitory Activity of Marketed Polyherbal Formulation. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 4, 061-065.
- Kandra L., Gyongyi G., Agnes Z., Battab G. (2004).** Inhibitory effects of tannin on human salivary α -amylase. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 319, 1265-1271.
- Kemassi A., Darem S., Cherif R, Boual Z., Sadin S., Aggoun M., Ould Elhadj K. A., Ouled Elhadj M. D. (2014).** Recherche et identification de quelques plantes médicinales à caractère hypoglycémiant de la pharmacopée traditionnelle des communautés de la vallée du M'Zab (Sahara septentrional Est Algérien). *Journal of Advanced Research in Science and Technology*, 1 (1), 1-5.
- Kim D., Jeong S., Lee C. (2003).** Antioxidant capacity of phenolic phytochemicals from various cultivars of plums. *Food Chemistry*, 81, 321-326.
- Kumar S., Narwal S., Kumar V., Prakash O. (2011).** α -glucosidase inhibitors from plants: A natural approach to treat diabetes. *Pharmacognosy Reviews*, 5, 19-29.
- Loya A. M., Gonzalez-Stuart A., Rivera J. O. (2009).** Prevalence of polypharmacy, polyherbacy, nutritional supplement use and potential product interactions among older adults living on the

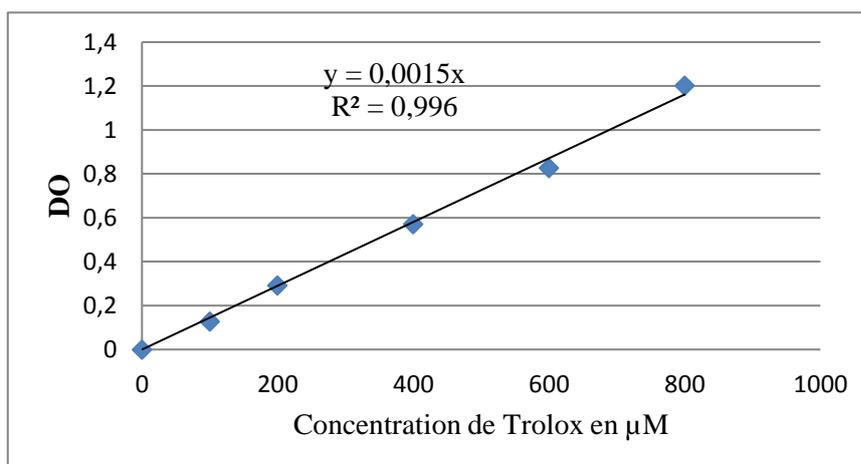
- United States-Mexico border: A descriptive, questionnaire-based study. *Drugs Aging*, 26, 423-36.
- Mahmoudi S., Khali M., Mahmoudi N. (2013).** Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynara scolymus* L.). *Nature & Technologie*, 9, 35-39.
- Macheix J.J., Fleuriet A., Sarni-Manchado P. (2006).** Composés phénoliques dans la plante structure, biosynthèse, répartition et rôles. In *les polyphénols en agroalimentaire* (Sarni-Manchado P., Cheynier, V.), pp 1-27, TEC et DOC, France.
- Maiza K., Maizak K., Brac P., Hammiche V. (1993).** *Pharmacopée traditionnelle : Sahara septentrional*. Actes du 2ème colloque européen d'ethnopharmacologie, Heidelberg, pp 169-181.
- Mishra LC. (2003).** *Scientific basis for ayurvedic therapies*. 1st edition, Boca Raton, USA.
- Mohammedi Z., Atik F. (2011).** Impact of solvent extraction type on total polyphenols content and biological activity from *Tamarix aphylla* L. karst. *Inter. J. Pharma. Bio. Sci.*, 2, 609-615.
- Oliveira A., Endringer D., Amorim L., Das gracas L., Coelho M. (2005).** Effect of the extracts and fractions of *Baccharis trimera* and *Syzygium cumini* on glycaemia of diabetic and non-diabetic mice. *J Ethnopharmacology*, 102, 465-469.
- OMS :** Organisation mondiale de santé, 2017. http://www.who.int/topics/traditional_medicine/en/.
- Ouedraogo R., Koala M., Dabire C., Hema A., Bazie V., Ouattara L., Gnoula C., Pale E., Nebie R. (2015).** Teneur en phénols totaux et activité antioxydante des extraits des trois principales variétés d'oignons (*Allium cepa* L.) cultivées dans la région du Centre-Nord du Burkina Faso. *International Journal of Biological and Chemical Sciences Sci.*, 9 (1), 281-291.
- Ould el hadj M., Hadj-mahammed M., Zabeirou H. Chehma A. (2003).** Importance des plantes spontanées médicinales dans la pharmacopée traditionnelle de la région de ouargla (Sahara septentrional - Est algérien). *Sciences & Technologie*, 20, 73-78.
- Ozenda P. (1983).** *Flore du Sahara*. 2ème Edition du Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS.), Paris.
- Paul T., Banerjee S. (2013).** *In vitro* evaluation of α -amylase inhibitory activity & antioxidant potential of *Pteris vittata* L. with special reference to its HPTLC profile. *Int J Pharma and Bio Sci.*, 4(2), 494-503.
- Qato D. M., Alexander G. C., Conti R. M., Johnson M., Schumm P., Lindau S. T. (2008).** Use of prescription and over-the-counter medications and dietary supplements among older adults in the United States. *JAMA.*, 300, 2867-78.
- Quezel P., Santa S. (1963).** *Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales*. Tome II. Edition du Centre National de la Recherche Scientifique, Paris.
- Ramdane F., Hadj Mohammed M., Didi Ould Hadj M., Chanai A., Hammoudi R., Hillali N., Mesrouk H., Bouafia I., Bahaz C. (2015).** Ethnobotanical study of some medicinal plants from Hoggar, Algeria. *Journal of Medicinal Plants Research*, 9(30), 820-827.
- Rishton G. M. (2008).** Natural products as a robust source of new drugs and drug leads: Past successes and present day issues. *Am J Cardiol.*, 101, 43-9.

- Sales P. M., Souza P.M., Simioni L. A., Magajhes P.D.O., Damaris S. (2012).** α amylase Inhibitors: A review of raw material and isolated compounds from plant source. *Pharmaceut Sci.*, 15(1), 142-183.
- Samocha-Bonet D., Heilbronn L., Lichtenberg D., Campbell L. (2010).** Does skeletal muscle oxidative stress initiate insulin resistance in genetically predisposed individuals? *Trends. Endocrinol. Metab.*, 21, 83-8.
- Schmidt B., Ribnicky D. M., Poulev A., Logendra S., Cefalu W., Raskin I. (2008).** A natural history of botanical therapeutics. *Metabolism*, 57, 3-9.
- Seal T., Banerjee A., Maji B., Mukherjee S., Chaudhuri K. (2017).** *In vitro* anti-diabetic and antioxidant activities of ethanol extract of *tinospira sinensis*. *International Journal of Current Pharmaceutical Research*, 9, 42-47.
- Silva E., Valencia A., Grossidesa M., Rocha T., Freiri E., Paula J., Espindola L. (2009).** Inhibitory action of Cerrado plants against mammalian and insect α -amylases. *J. Pestic. Biochem. Physiol.*, 95, 141-146.
- Singleton V., Rossi J. (1965).** Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. *Am. J. Enol. Viticult.*, 16, 144-158.
- Sudha P., Zinjarde S., Bhargava S., Kumar A. (2011).** Potent α -amylase inhibitory activity of Indian ayurvedic medicinal plants. *BMC complementary and Alternative Medicine*, 11, 1-10.
- Sun B., Ricardo-da-Silva J., Spranger I. (1998).** Critical factors of vanillin assay for catechins and proanthocyanidins. *J. Agric. Food Chem.*, 46 (10), 4267-4274.
- Shui G., Leong L. P. (2006).** Residue from star fruit as valuable source for functional food ingredients and antioxidant nutraceuticals. *Food Chemistry*, 97, 277-284.
- Telli A., Esnault M. A., Ould El Hadj Khelil A. (2016).** An ethnopharmacological survey of plants used in traditional diabetes treatment in south-eastern Algeria (Ouargla province), *Journal of Arid Environments*, 127, 82-92.
- Zaabat N. (2010).** Détermination structurale et évaluation biologique de substances naturelles de deux espèces de la famille des lamiacées : *Marrubium deserti* de Noé et *Phlomis bovei* de Noé. *Thèse de doctorat*, Université Mentouri, Constantine.
- Zaabat N., Hay A. E., Michalet S., Darbour N., Bayet C., Skandrani I., Dijoux-Franca M. G. (2011).** Antioxidant and antigenotoxic properties of compounds isolated from *Marrubium deserti* de Noé. *Food and chemical toxicology*, 49 (12), 3328-3335.
- Zeghad N. (2009).** Etude du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales d'intérêt économique (*Thymus vulgaris*, *Rosmarinus officinalis*) et évaluation de leur activité antibactérienne. *Mémoire de magister*. Université Mentouri, Constantine.

Annexe

Annexe 1 : La gamme d'étalonnage de l'acide gallique**Annexe 2 : La gamme d'étalonnage de rutine****Annexe 3 : Gamme d'étalonnage de l'acide caféique**

Annexe 4 : Gamme d'étalonnage de catéchin**Annexe 5 : Gamme d'étalonnage de Trolox pour le test ABTS.****Annexe 6 : Gamme d'étalonnage de Trolox pour le test DPPH.**

Annexe 7 : Gamme d'étalonnage de Trolox pour le test FRAP.**Annexe 8** : Résultats de test de variance des teneurs en polyphénols.

Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	272866,6	1	272866,6	577,1463	0,000000
Région	89267,0	1	89267,0	188,8107	0,000001
M. préparation	25977,7	1	25977,7	54,9460	0,000075
Région*M. préparation	1412,5	1	1412,5	2,9875	0,122171
Error	3782,3	8	472,8		

Annexe 9 : Résultats de test de variance des teneurs en Flavonoïdes.

Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	1537,482	1	1537,482	1266,503	0,000000
Région	377,777	1	377,777	311,195	0,000000
M. préparation	100,862	1	100,862	83,085	0,000017
Région*M. préparation	9,810	1	9,810	8,081	0,021720
Error	9,712	8	1,214		

Annexe 10 : Résultats de test de variance des teneurs en Acides phénols.

Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	215,2227	1	215,2227	1142,674	0,000000
Région	54,8696	1	54,8696	291,317	0,000000
M. préparation	15,2325	1	15,2325	80,874	0,000019
Région*M. préparation	3,0401	1	3,0401	16,141	0,003854
Error	1,5068	8	0,1883		

Annexe 11 : Résultats de test student (t-test) des teneurs en Tanins condensés.

Variable	Mean Gh	Mean Dj	t-value	df	p	Valid N Gh	Valid N Dj	Std.Dev. Gh	Std.Dev. Dj	F-ratio Variances	p Variances
tanins	6,880000	15,05667	-7,61125	10	0,000018	6	6	0,222081	2,622065	139,4004	0,000046

Annexe 12 : Résultats de test de variance de potentiel antioxydant ABTS (μM).

Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Région	4,008941E+09	1	4,008941E+09	58,67608	0,000060
M. préparation	5,609656E+08	1	5,609656E+08	8,21046	0,020977
Région*M. préparation	2,570345E+06	1	2,570345E+06	0,03762	0,851042
Error	5,465861E+08	8	6,832327E+07		

Annexe 13 : Résultats de test de variance de potentiel antioxydant DPPH (μM).

Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Région	3,978375E+09	1	3,978375E+09	22,55767	0,001446
M. préparation	6,171822E+08	1	6,171822E+08	3,49947	0,098303
Région*M. préparation	1,287232E+08	1	1,287232E+08	0,72987	0,417772
Error	1,410917E+09	8	1,763647E+08		

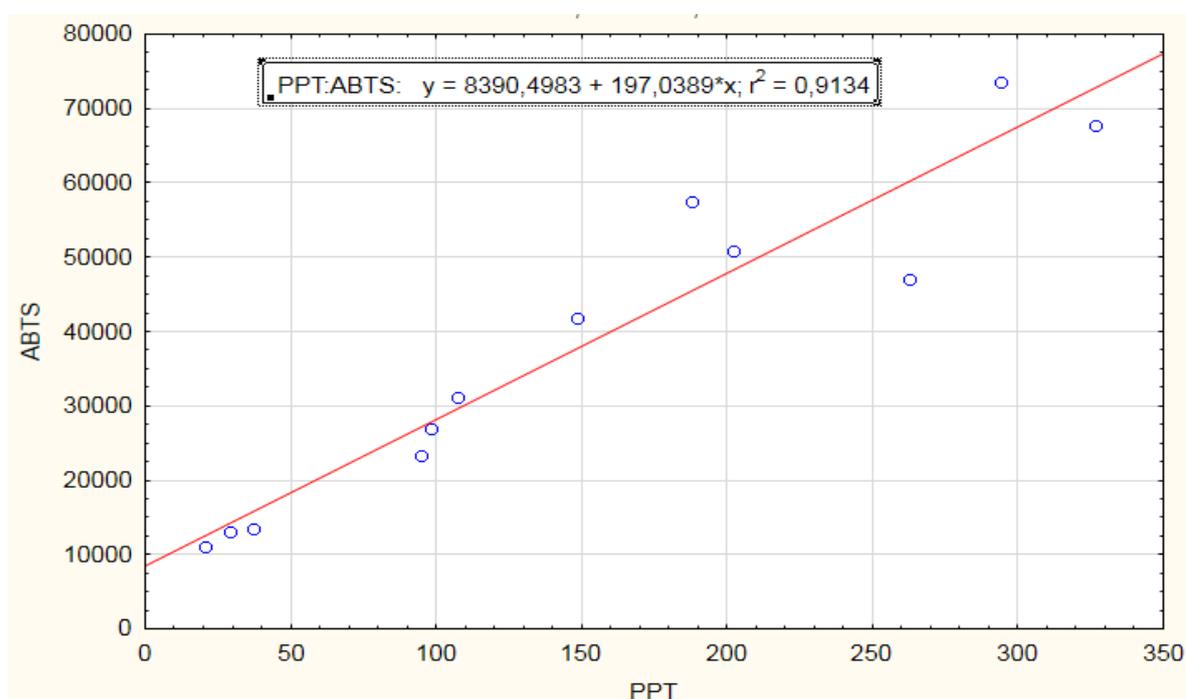
Annexe 14 : Résultats de test de variance de potentiel antioxydant FRAP (μM).

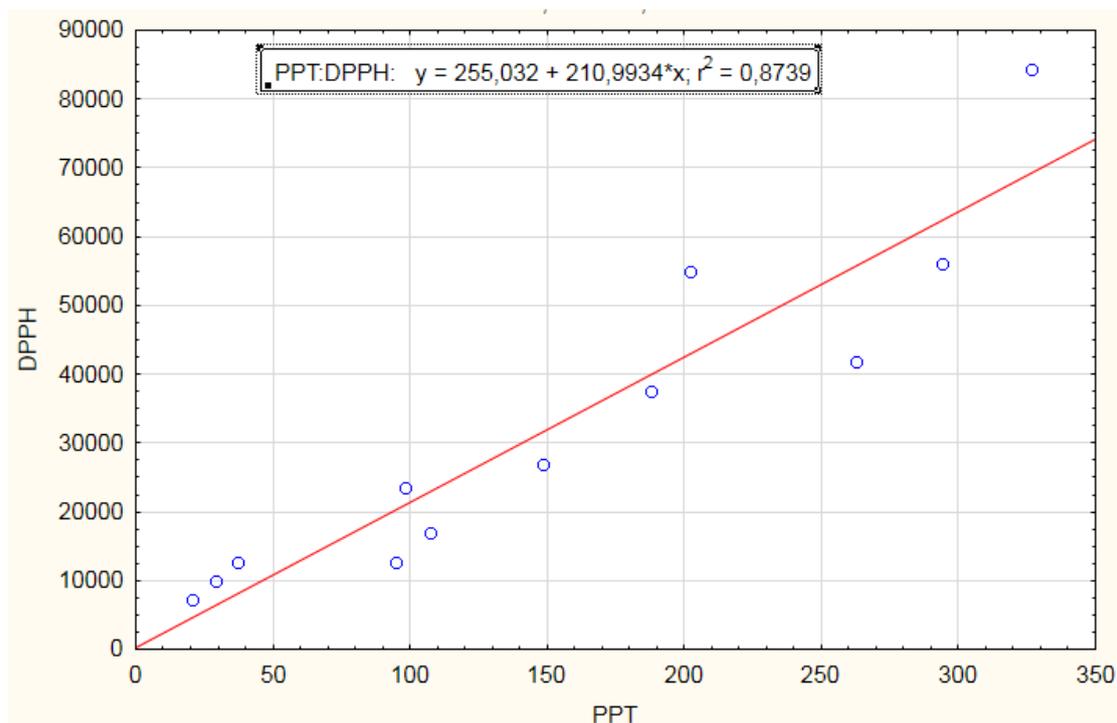
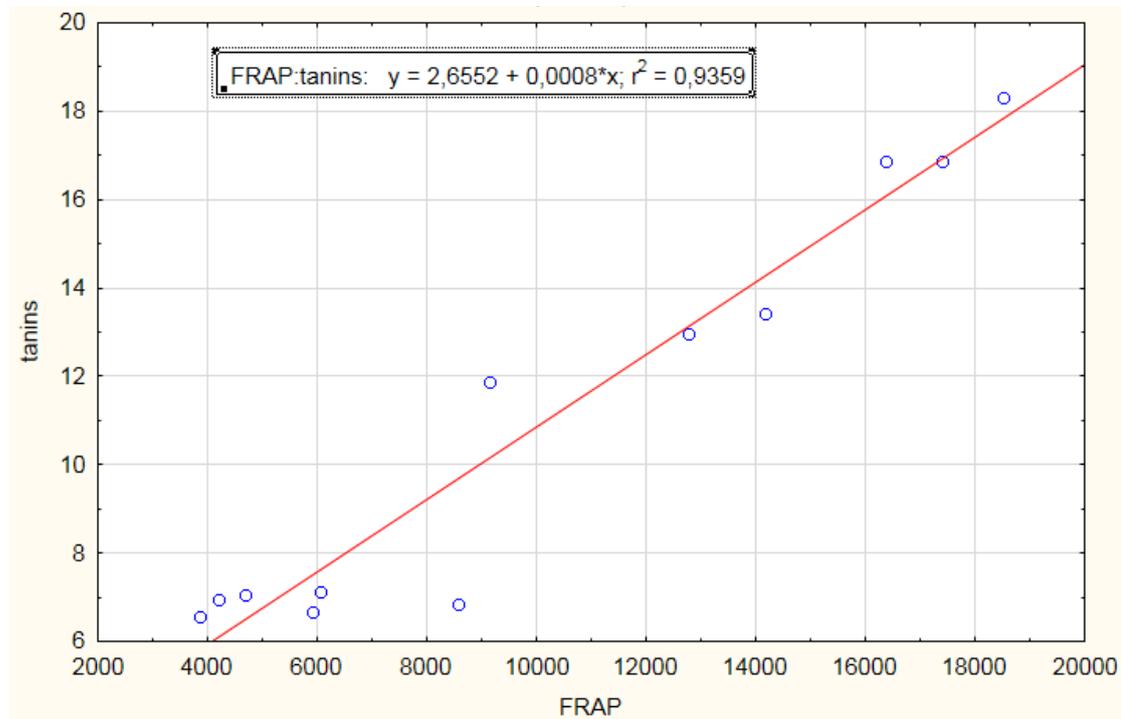
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	1,233592E+09	1	1,233592E+09	481,7192	0,000000
Région	2,528099E+08	1	2,528099E+08	98,7226	0,000009
M. préparation	4,824030E+07	1	4,824030E+07	18,8379	0,002478
Région*M. préparation	5,892326E+06	1	5,892326E+06	2,3010	0,167768
Error	2,048649E+07	8	2,560811E+06		

Annexe 15 : Matrice de corrélation entre les teneurs en composés phénoliques et les activités antioxydantes.

Variable	PPT	FLV	A. phé	tanins	ABTS	FRAP	DPPH
PPT	1,0000	,9791	,9893	,9317	,9557	,9299	,9348
	p= ---	p=,000	p=,000	p=,000	p=,000	p=,000	p=,000
FLV	,9791	1,0000	,9800	,9606	,9067	,9484	,8742
	p=,000	p= ---	p=,000	p=,000	p=,000	p=,000	p=,000
A. phé	,9893	,9800	1,0000	,9513	,9311	,9321	,9183
	p=,000	p=,000	p= ---	p=,000	p=,000	p=,000	p=,000
tanins	,9317	,9606	,9513	1,0000	,8661	,9674	,8369
	p=,000	p=,000	p=,000	p= ---	p=,000	p=,000	p=,001
ABTS	,9557	,9067	,9311	,8661	1,0000	,8625	,9017
	p=,000	p=,000	p=,000	p=,000	p= ---	p=,000	p=,000
FRAP	,9299	,9484	,9321	,9674	,8625	1,0000	,8086
	p=,000	p=,000	p=,000	p=,000	p=,000	p= ---	p=,001
DPPH	,9348	,8742	,9183	,8369	,9017	,8086	1,0000
	p=,000	p=,000	p=,000	p=,001	p=,000	p=,001	p= ---

Annexe 16 : Corrélation entre les teneurs en polyphénols et pouvoir antioxydant de ABTS.



Annexe 17 : Corrélation entre les teneurs en polyphénols et pouvoir antioxydant de DPPH.**Annexe 18** : Corrélation entre les teneurs en polyphénols et pouvoir antioxydant de FRAP.

Annexe 19 : Résultats de test de Variance pour l'effet inhibiteur de α -amylase

Variable	Mean Gh	Mean Dj	t-value	df	p	Valid N Gh	Valid N Dj	Std.Dev. Gh	Std.Dev. Dj	F-ratio Variances	p Variances
IC 50	1,491000	0,315000	3,036257	2	0,093507	2	2	0,339411	0,429921	1,604444	0,850893