

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE  
جامعة عمار ثليجي بالأغواط  
UNIVERSITE AMAR TELIDJI LAGHOUAT

كلية العلوم  
FACULTE DES SCIENCES  
قسم البيولوجيا  
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



## Mémoire

*En vue de l'obtention du diplôme de Master*

*Filière : Sciences Biologiques*

*Option : Biochimie appliquée*

### THEME

---

**Etude *in vitro* de la capacité inhibitrice sur l' $\alpha$  - amylase des extraits de quatre plantes saharienne**

---

**Présenté par :** Begouga Wiam  
Bekhawa Noussiba

**Devant le jury :**

**Président :** Mr, BOUBRIMA Youcef.

**Rapporteur :** M<sup>me</sup>, KHACHEBA IHCEN.

**Co-Rapporteur :** M<sup>me</sup>, BOUSSOUSSA Hadjer.

**Examinatrice :** M<sup>elle</sup> Benabed Khadidja Houda.

**Année Universitaire 2018 - 2019.**

## ملخص

تندرج دراستنا في اطار المساهمة في تثمين المملكة النباتية بمنطقة الاغواط كمصدر للمكونات الحيوية النشطة الطبيعية. لهذا اهتمنا بدراسة اربع نباتات طبية: ام دريقة، الطفس، سواك النبي، الزهيدة.

تمثلت الخطوة الاولى في هذه الدراسة في استخراج و تحديد كمية المركبات الفينولية و من ثم دراسة النشاط التثبيطي لهذه النباتات ضد الالفا أميلاز.

تراوحت كمية المركبات الفينولية الكلية، والمقاسة باستخدام الكاشف فولان سيوكالتو، ما بين 0,5 و 9,9 مغ /مغ مكافئ حمض جاليك. في حين تراوحت تركيزات الفلافونويد المكتشفة باستخدام كلوريد الألومنيوم ما بين 0,1 و 1,2 مغ /مغ مكافئ الكرسيتين.

اظهرت جميع المستخلصات تأثيرات مثبطة على ألفا أميلاز، مع قيم IC 50 تراوحت من 0,64 إلى 55,76 مغ /مغ حيث سجلت افضل قيمة لدى

نبته سواك النبي بقيمة قدرت ب0,64 مغ

يعتبر هذا العمل اضافة في عالم الارماكولوجيا العرقية والمعرفة الفيتوكيميا للنباتات الطبية المحلية. حيث تجيب النتائج عل العديد من الاس لة حول استخدام هذه النباتات في الطب التقليدي

الكلمات المفتاحية : نباتات طبية، مركبات فينولية، فلافونويدات تثبيط الانزيمات، ألفا أميلاز.

## Résumé :

Notre étude rentre dans le cadre d'une contribution à la mise en valeur du règne végétal de la région de Laghouat comme source de substances bioactives naturelles. Dans ce contexte nous nous sommes intéressés à quatre plantes médicinales (*Ammodaucus leucotrichus*, *Bubonium graveolens*, *Salvia officinalis*, *Linaria aegyptiaca*). La première démarche dans cette étude, consistait en une extraction et une quantification des composés phénoliques ensuite nous avons contribué à l'étude de leurs effets inhibiteurs sur l' $\alpha$  - amylase. Le contenu en phénols totaux dosés en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu, est compris entre 0,5 et 9,9 mg en équivalent d'acide gallique / g de la matière sèche. Tandis que le contenu en flavonoïdes détectés en utilisant le chlorure d'aluminium exprimé en équivalent de la quercétine est compris entre 0,1 et 1,2 mg/g. Tout les extraits ont montré des effets inhibiteurs sur l' $\alpha$  - amylase, avec des valeurs d'IC<sub>50</sub> qui varient de 0,64 à 55,76 g / l dont la meilleure inhibition a été enregistré pour les extraits : dichlorométhane de l'échantillon de *Salvia officinalis* (IC<sub>50</sub> = 0,64 mg / ml). Ce travail a fourni un complément aux connaissances ethnopharmacologiques et phytochimiques des plantes médicinales locales. Les résultats obtenus répondent a beaucoup de questions sur l'utilisation de ces plantes en médecine traditionnelle.

**Mots clés :** Plantes médicinales, polyphénols, flavonoïdes inhibition enzymatique,  $\alpha$ - amylase.

## Abstract :

Our study is part of a contribution to the development of plants in region of Laghouat as a source of natural bioactive substances. In this context we were interested in four medicinal plants (*Ammodaucus leucotrichus*, *Bubonium graveolens*, *Salvia officinalis*, *Linaria aegyptiaca*); given the novelty of their study, their valorization is essential. The first step in this study was to extract and quantify the phenolic compounds. We have contributed to the study of their inhibitory effects by an enzyme of the class of hydrolases ( $\alpha$ -amylase) responsible for the digestion of sugars in order to study in vitro the antidiabetic activity. The content of total phenols assayed using the Folin-Ciocalteu reagent ranged between 0.5 and 9.9 mg gallic acid equivalent / g of the dry matter. While the flavonoid content detected using aluminum chloride expressed in quercetin equivalent ranged between 0.1 and 1.2 mg / g. All extracts showed inhibitory effects on  $\alpha$  - amylase, with IC<sub>50</sub> values ranging from 0.64 to 55.76 g / l ; the best inhibition of which was recorded for the extracts: dichloromethane of the sample of *Salvia officinalis* (IC<sub>50</sub> = 0.64 mg / ml). This work shows that medicinal plants in our area should be investigated for their therapeutic properties. Further studies are needed to know the relation ship between the chemical structure and the enzymatic inhibition.

**Key words:** Medicinal plants, polyphenols, flavonoids, enzymatic inhibition,  $\alpha$ - amylase

## **Remerciement**

**« La connaissance est la seule chose qui s'accroît lorsqu'on la partage».**

**Avant toute chose, on remercie Dieu, le tout puissant, pour m'avoir donnée la force et la patience.**

**Nous adressons tout d'abord nos sincères remerciements à la direction de M<sup>me</sup> KHACHEBA IHCEN et M<sup>elle</sup> BOUSSOUSSA HADJER. Merci d'avoir accepté de diriger ce mémoire au laboratoire des sciences fondamentales de l'université Amar Telidji – Laghouat. Merci pour votre encadrement sans faille tout au long de ces deux années.**

**Nous remercions l'honorable jury composé de Mr, BOUBRIMA Youcef ; Président, et M<sup>elle</sup> Benabed Khadidja Houda ; examinatrice d'avoir accepté d'examiner ce travail.**

**Nous souhaitons aussi saluer et remercier nos collègues étudiants (es), avec qui nous avons eu le plaisir d'étudier durant ces cinq années.**

**Enfin, on remercie toute l'équipe administrative et enseignante du département de biologie de l'université Amar Telidji.**

## **Dédicace**

**On dédie ce travail qui n'aura jamais pu voir le jour sans les  
soutiens**

**Indéfectibles et sans limite de nos chers parents qui ne cessent  
de nous donner**

**Avec amour le nécessaire pour qu'on puisse arriver à ce que  
nous somme aujourd'hui.**

**Que dieux vous protège et que la réussite soit toujours à nous  
portée pour que on**

**Puisse vous combler de bonheur.**

**On dédie aussi ce travail à :**

- **Nos grands-parents.**
- **Nos frères et sœurs**
- **Nos oncles, Nos tantes et leur famille.**
- **Tous nos cousins et cousines.**
- **Tous nos amis, nos collègues et tous ceux qui nous  
estiment.**

# Sommaire

<b>Introduction générale</b> .....	2
<b>Chapitre I : Synthèse bibliographique</b> .....	4
<b>I.1. le diabète</b> .....	4
<b>I.2. les types de diabète</b> .....	4
<b>I.3. Epidémiologie</b> .....	4
<b>I.4. Thérapeutique</b> .....	5
I.4.1. Diabète de type I.....	5
I.4.2. Diabète de type II.....	5
I.4.3. la phytothérapie .....	6
<b>I.5. Inhibition de l'<math>\alpha</math>-amylase</b> .....	7
<b>I.6. Principes actifs choisis pour l'étude</b> .....	7
I.6.1. les composés phénoliques ou les polyphénols .....	7
a. Définition.....	7
b. Effet biologique.....	8
I.6.1. Les flavonoïdes .....	8
a. Définition .....	8
b. Effet biologique.....	9
<b>Chapitre II : partie expérimentale</b> .....	10
<b>II.1. Matériels végétaux</b> .....	10
<b>II.2. Prétraitement des échantillons</b> .....	14

<b>II.3. Préparations des extraits .....</b>	<b>14</b>
<b>II.4. Quantification des phénols .....</b>	<b>16</b>
II.4.1. Dosages des phénols totaux.....	16
II.4.2. Dosages des flavonoïdes.....	16
<b>II.5. Etudes d'effet d'inhibition sur l'<math>\alpha</math>- amylase.....</b>	<b>17</b>
II.5.1. principe de la méthode de dosage par le DNS.....	17
II.5.3. Etude de pouvoir anti-amylasique .....	19
<b>Chapitre III : résultats et discussion .....</b>	<b>21</b>
<b>III.1. les teneurs des extraits .....</b>	<b>21</b>
<b>III.2. Quantification des phénols .....</b>	<b>24</b>
<b>III. 3 Etude du pouvoir anti-amylasique .....</b>	<b>27</b>
<b>Conclusion générale.....</b>	<b>33</b>
<b>Références biologiques .....</b>	<b>36</b>
<b>Annexe .....</b>	<b>39</b>

## Liste des tableaux

<b>Tableau I.1.</b>	Classement des antidiabétiques oraux	Page 5
<b>Tableau III.1</b>	Teneurs, et couleurs des extraits bruts des quatre plantes investiguées.	Page19
<b>Tableau III.2.</b>	Teneur en Phénol totaux et en Flavonoïdes des différents extraits des quatre plantes étudiées.	Page21
<b>Tableau III.3</b>	Valeurs des IC <sub>50</sub> des extraits des quatre plantes étudiées vis - à vis de l' $\alpha$ – amylase	Page23

## Liste des figures et photos

<b>Figure I.1</b>	structure de base d'un flavonoïde (Heller er Forkmann 1993)	Page7
<b>Figure II.1</b>	Photos des plantes investiguées dans cette étude.	Page8
<b>Figure II.2</b>	Action de l' $\alpha$ – amylase sur l'amidon	Page15
<b>Figure II.3</b>	La réaction du réactif DNS avec un sucre réducteur (glucose).	Page15

## Liste des abréviations

<b>ADO</b>	:	Antidiabétique Oral DPP-4 : Dipeptidyl peptidase de type 4
<b>OMS</b>	:	Organisation Mondiale de la Santé
<b>HBA1C</b>	:	Hémoglobine glyquée
<b>DNS</b>	:	3.5 - Dinitrosalicylique
<b>DCM</b>	:	Dichloromethane
<b>IC<sub>50</sub></b>	:	Inhibition Concentration at 50 %
<b>EAG</b>	:	équivalent d'acide gallique
<b>EQ</b>	:	équivalent en quercetine
<b>MS</b>	:	Matière sèche

# **Introduction**

Depuis la nuit des temps, les hommes se sont soignés avec les plantes qu'ils avaient à leur disposition contre les maladies bénignes, rhume ou toux, ou plus sérieuses, telles que la tuberculose ou la malaria. Ni le hasard, ni la religion et ni la superstition qui a guidé la médecine traditionnelle à employer une plante plutôt qu'une autre. Certainement, c'est l'expérience où les gens apprécient les vertus apaisantes et analgésiques des plantes (Iserin, 2001).

En raison, de leur diversité moléculaire (environ 12000 molécules) et de leurs propriétés biologiques importantes telles que activité antioxydantes, activité anti-inflammatoires, activité antimicrobiennes et activité anti diabétique...etc. ; ces métabolites constituent une source inépuisable d'agents thérapeutiques pour lutter contre diverses pathologies (Samy et Gopalakrishnakone, 2008). Parmi lesquels on distingue le diabète sucré qui est l'une des principales causes décès dans la majorité des pays développés et même les pays récemment industrialisés

Le traitement actuel du diabète sucré qui vise à soigner et non à guérir la maladie, présente beaucoup d'effets secondaires associés à des coûts excessifs ce qui représente un échec des traitements pharmaceutiques conventionnels. De ce fait, et malgré le développement spectaculaire de la médecine moderne, les plantes médicinales trouvent encore leurs indications thérapeutiques pour les diabétiques dans les différentes sociétés et cultures, y compris dans les pays développés (De Smet *et al.*, 2002; Eisenberg, 1993).

Diverses plantes sont utilisées pour leurs propriétés hypoglycémiantes par des populations diabétiques à travers le monde, suivant en cela des considérations historiques, culturelles et économiques. Dans 81% des cas, les indications traditionnelles de plantes antidiabétiques ont été expérimentalement confirmées (Marles *et al.*, 1995).

Le présent travail, entre dans le cadre de la valorisation de quelques plantes médicinales locales, utilisées en thérapeutique traditionnelle dans la région de Laghouat, comme antidiabétique. Pour enrichir les banques de données des plantes antidiabétiques la présente étude, est consacrée à la valorisation phytochimique de quatre plantes sahariennes à savoir : (*Ammodaucus leucotrichus*, *Bubonium graveolens*, *Linaria aegyptiaca* et *Salvia officinalis*, qui consiste à étudier leurs extraits phénoliques.

L'objectif est d'évaluer l'activité inhibitrice des extraits de ces plantes sur une hydrolase responsable du processus digestif des hydrates de carbone à savoir l' $\alpha$  - amylase. Dont l'inhibition, prolongent l'hydrolyse des hydrates de carbone, réduisant ainsi le taux d'absorption du glucose afin d'éviter la montée de son taux plasmatique. Ce qui présentera une éventuelle source d'antidiabétiques naturels.

Notre travail est réalisé selon les étapes suivantes:

- ✓ La première partie de ce mémoire est consacrée à un aperçu bibliographique général sur le diabète, les plantes médicinales, l'inhibition de l' $\alpha$  – amylase et les principes actifs choisis pour l'étude.
- ✓ La deuxième partie est réservée à la description du protocole expérimental
- ✓ L'interprétation et la discussion des résultats obtenus seront présentées dans la dernière partie.

# **Synthèse bibliographique**

## I.1. Le diabète sucré

Le diabète, est une maladie métabolique responsable de graves problèmes de santé publique. Il s'agit d'une affection chronique se traduisant par un taux élevé de glucose dans le sang (Deteix, 2005). Le diabète apparait lorsque la concentration du glucose est supérieure à 1,27 g/l (7 mmol/l) a jeun (Grimaldi A.,2000).

L'intolérance au glucose et le taux de l'hémoglobine glyquée (HbA<sub>1C</sub>) ont été aussi utilisés dans le diagnostic du diabète et surtout le "prédiabète" chez les personnes ayant un risque élevé de diabète et des complications liées à la maladie (Goldenberg et Punthakee, 2013).

## I. 2. Les types de diabète

### **Le diabète de type 1 :**

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

### **Le diabète de type 2 :**

- peut être surtout attribuable à une insulino-résistance accompagnée d'une carence insulinique relative ou à une anomalie de la sécrétion accompagnée d'une insulino-résistance.

### **Le diabète gestationnel :**

- est une intolérance au glucose qui se manifeste ou qu'on dépiste pour la première fois pendant la grossesse.

### **Les autres types particuliers:**

- comprennent une grande variété de troubles relativement peu courants, surtout des formes de diabète définies génétiquement ou associées à d'autres maladies ou à des médicaments

---

## I.3. Epidémiologie

- À l'échelle mondiale, on estime à 422 millions le nombre des adultes qui vivaient avec le diabète en 2014, contre 108 millions en 1980. La prévalence mondiale du diabète (normalisée selon l'âge) a presque doublé depuis 1980, passant de 4,7 à 8,5% de la population adulte. (OMS, 2016)
- Le diabète a provoqué 1,5 million de morts en 2012. Une glycémie supérieure à la

normale, qui accroît le risque de maladies cardiovasculaires et d'autres pathologies, a été cause de 2,2 millions de décès supplémentaires. 43% de ces 3,7 millions de décès ont touché des personnes de moins de 70 ans. (OMS, 2016)

- En Afrique du Nord et au Moyen-Orient, la prévalence du diabète est très élevée 11% alors que la population totale touchée, en nombre absolu, est estimée à 32,6 millions (OMS, 2016).

## **I. 4. Thérapeutique**

### **I.4.1. Diabète de type I**

Le diabète insulino-dépendant ou diabète de type 1 est une maladie chronique touchant l'enfant ou le jeune adulte, il résulte d'une destruction des cellules  $\beta$  des îlots de Langerhans, et aboutit à une insulite (KuKKoet al, 2003).

### **I.4.2. Diabète de type II**

Lorsque les règles hygiéno-diététiques ne sont pas suivies ou insuffisantes, un traitement médicamenteux peut devenir nécessaire. Ces médicaments agissent par différents mécanismes d'actions : augmentation de la sensibilité périphérique à l'insuline, diminution de l'absorption de glucose ou augmentation de la sécrétion de l'insuline. (Hamza, N., 2011 ; Prabhakar et Doble, 2001).

Plusieurs classes et familles thérapeutiques de médicaments antidiabétiques existent reposant sur des mécanismes d'action différents, administrées seules ou associées entre elles (Tableau I.1).

**Tableau I.1.** Classement des antidiabétiques oraux (Delforges *et al.*, 2004)

<b>Classe</b>	<b>mécanisme d'action</b>	<b>effet secondaire possible</b>	<b>moment optimum de la prise</b>
<b>Sulfamide</b>	stimulent la sécrétion d'insuline	hypoglycémie (éviter de sauter un repas)	avant le repas (mais plus de 30 min avant)
<b>glinides</b>	stimulent la sécrétion d'insuline, mais d'une façon plus rapide et plus courte que les sulfamides	hypoglycémie (ne pas prendre le comprimé si un repas est sauté)	avant le repas (pas plus de 15 min avant)
<b>Biguanides</b>	réduisent la production de glucose par le foie et favorisent l'action de l'insuline sur les tissus.(muscle)	troubles digestifs (diarrhée, gout métallique)	au moment du repas améliore la tolérance digestive.
<b>Inhibiteurs des alpha-glucosidases</b>	retardent l'absorption des glucides ingérés	trouble digestifs (ballonnements, flatulence)	avant la première bouchée du repas.

En plus de ces effets indésirables, le coût élevé de certains médicaments ainsi que leur indisponibilité sur le marché, ont poussé un retour vers la médecine traditionnelle, dite conventionnelle, particulièrement vers la thérapie par les plantes dite phytothérapie, qui est accessible avec faible cout, beaucoup d'efficacité et surtout moins d'effets secondaires (Khacheba *et al.*, 2014).

### **I.4. 3. La phytothérapie**

La phytothérapie, c'est l'emploi de médicaments végétaux pour soigner les différents maux dont vous pouvez être victime. A travers les siècles, les Hommes ont su développer la connaissance des plantes et de leurs propriétés thérapeutiques. Aujourd'hui, l'efficacité prouvée et les bienfaits incontestables de la phytothérapie pour notre santé lui

ont permis d'entrer dans nos vies de tous les jours (Gildo Pastor, 2006). Ces propriétés sont généralement attribuées à des métabolites secondaires qui font l'objet de beaucoup de recherches dans ce domaine. Ceci est particulièrement le cas des plantes polyphénoliques qui sont largement reconnues en thérapeutique comme anti-inflammatoires, inhibiteurs d'enzyme et antioxydants, en particulier les flavonoïdes (Khacheba *et al.*, 2014).

## **I. 5. Inhibition de l' $\alpha$ -amylase**

L'inhibition des  $\alpha$ -amylases induit l'intolérance des carbohydrates et la perte de poids, et prolonge le vide gastrique, ils ont ainsi un potentiel thérapeutique pour le traitement de l'obésité et du diabète non insulino-dépendant (Gerrard *et al.*, 2000). Les niveaux de glucose des diabétiques peuvent être contrôlés après des repas par l'administration d'un inhibiteur tel que l'acarbose ; C'est un pseudotétracosaccharide qui a une forme proche de celle des oligosaccharides issus de la digestion de l'amidon. Il peut ainsi se lier aux sites des  $\alpha$ -glucosidases de la bordure en brosse intestinale et l' $\alpha$ -amylase pancréatique, les inhibant puissamment, de façon compétitive et dose-dépendante (Scheen *et al.*, 2002).

Les composés phénoliques végétaux et en particulier les flavonoïdes sont doués d'une activité inhibitrice vis-à-vis de l' $\alpha$ -amylase (Sales *et al.*, 2012, Tundis *et al.*, 2010).

Ces dernières années, beaucoup d'efforts ont été faits pour identifier des inhibiteurs efficaces de l' $\alpha$ -amylase à partir des ressources naturelles afin de développer de nouveaux composés antidiabétiques pour le traitement du diabète (Kumar *et al.*, 2011).

## **I.6. Principes actifs choisis pour l'étude**

### **I.6.1. Les composés phénoliques ou les polyphénols**

#### **a. Définition**

Le terme *polyphénols* est fréquemment utilisé dans le langage courant et même dans des articles scientifiques ou de vulgarisation pour désigner l'ensemble des composés phénoliques des végétaux. En fait, il devrait être réservé aux seules molécules présentant plusieurs fonctions phénols. Ce qui exclurait alors les mono phénols, pourtant abondants et importants chez les végétaux. Donc la désignation générale «composés phénoliques» concerne à la fois les mono-, di- et polyphénols dont les molécules contiennent

respectivement une, deux ou plusieurs fonctions phénoliques (Jean-Jacques Macheix et *al*, 2005).

## b. Effet biologique :

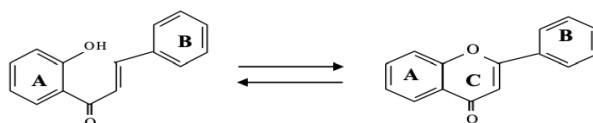
Parmi les effets biologiques des composés phénoliques, on distingue :

- Dans certains aspects de la physiologie de la plante (lignification, régulation de la croissance, interactions moléculaires avec certains microorganismes symbiotiques ou parasites...).
- Dans les critères de qualité (couleur, astringence, amertume, qualités nutritionnelles...) qui orientent les choix de l'homme dans sa consommation des organes végétaux (fruits, légumes, tubercules...) et des produits qui en dérivent par transformation.
- Dans les variations de certaines caractéristiques des végétaux lors des traitements technologiques (préparation des jus de fruits, des boissons fermentées...) pendant lesquels apparaissent fréquemment des brunissements enzymatiques qui modifient la qualité du produit fini. (Jean-Jacques Macheix et *al*, 2005).

## I.6.2. Les flavonoïdes

### a. Définition

Les flavonoïdes ont un squelette de base formé par deux cycles en C6 (A et B) reliés entre eux par une chaîne en C3 qui peut évoluer en un hétérocycle (cycle C) (Figure 3). Ils donnent des couleurs allant du jaune clair au jaune or. Selon les détails structuraux les flavonoïdes se divisent en 6 groupes : flavones, flavonols, flavonones, isoflavones, chalcones, aurones. Ces composés existent sous forme libre dite aglycone ou sous forme d'hétérosides, c'est-à-dire liée à des oses et autres substances (Heller et Forkmann 1993).



**Figure I.1** : structure de base d'un flavonoïde (Heller et Forkmann 1993)

**b. Effet biologique :**

Ils jouent un rôle très important dans le traitement du diabète (inhibant l'aldose réductase), de la goutte (inhibant la xanthine oxydase), des inflammations (inhibant la lipoxygénase, la phospholipase et la cyclo oxygénase), des hépatites, des tumeurs, de l'hypertension (quercétine), des thromboses (flavonols), des allergies et des affections bactériennes et virales (anti-HIV) (Anderson *et al.*, 1996 ; Cowan,1999 ; Yao *et al.*, 2004).

## **Partie expérimentale**

## II.1. Matériels végétal :

- **Systématique, description botanique et utilisation médicinale des quartes plantes**

### **a. *Ammodaucus leucotrichus***

#### **a.1. Systématique**

**Règne :** Plantae

**Embranchement** Angiospermes

**Classe** Eudicots

**Sous-classe** Astéridées

**Ordre :** Apiales

**Famille** Apiacée

**Genre :** *Ammodaucus*

**Espèce :** *Ammodaucus leucotrichus*

**Nom vernaculaire :** ام دريقة

Selon Quezel et Santa (1963) la classification est comme suit :

#### **a.2. Description botanique**

*Ammodaucus leucotrichus* est une plante glabre, annuelle, à tiges dressées, rameuses, finement striées, feuilles très divisées, à lanières étroites, un peu charnues; ombelles à 2-4 rayons, involucre à bractées très divisées et petites; fruits très velus, portant de longs poils crépus, jaune-roux à la base, puis blancs, et longs de 8 à 10 mm. Assez commun dans tout le Sahara (Ozenda, 1991).

#### **a.3. Utilisation médicinale**

Ses principales utilisations sont contre : les maux d'estomac, l'indigestion, les diarrhées, les vomissements, les spasmes, les coliques, les vers intestinaux et la constipation (Merzouki *et al.*, 2000 ; Didi *et al.*, 2003 ; Fakchich et Elachouri, 2014).

**b. *Bubonium graveolens***

**b.1. Systématique**

**Règne :** Plantae

**Embranchement :** Tracheophyta,

**Sous-embranchement :** Euphyllophytina,

**Classe :** Magnoliopsida,

**Sous-classe :** Asteridae,

**Ordre :** Asterales

**Famille :** Asteraceae,

**Genre :** *Bubonium*

**Espèce :** *Bubonium graveolens*

**Nom vernaculaire :** الطفس

Nom botanique: *Asteriscus graveolens* (Forsk.) Less subsp. *graveolens* Noms *Asteriscus graveolens* (Forsk.)

**b.2. Description botanique**

*Less subsp. graveolens* est un arbuste bas (20 à 50 cm), à écorce blanche et crevassée dans les parties âgées, ces feuilles sont d'un vert pale, étroites et profondément découpées, très velues, Les tiges sont blanchâtres au sommet, densément est ramifiée, des grands capitules jaunes d'or (1 à 2 cm), les fruits sont petits, couvert d'un poil dense (Salah, 2008).

**b.3. Utilisation médicinale**

Le broyat des feuilles de *Bubonium graveolens* associé à l'huile d'olive est

appliqué, en cataplasme, contre la déchirure des muscles. Les feuilles fraîches mastiquées sont utilisées pour traiter les douleurs des dents et de la gingivite. La tige fraîche mâchée est utilisée pour brosser les dents (meswak). Les racines mâchées sont employées également contre les douleurs des dents et les maladies buccales (Ghourri et al., 2012)

### **c. *Linaria aegyptiaca***

#### **c.1. Systématique**

Selon Cronquist (1981) la classification est la suivante :

**Règne :** Plantae

**Embranchement :** Magnoliophyta

**Classe :** Magnoliopsida

**Sous-classe :** asteridae

**Ordre :** scrophulariales

**Famille :** scrophulariaceae

**Genre :** *Linaria*

**Espèce :** *Linaria aegyptiaca*

**Nom vernaculaire :** الزهيدة

#### **c.2. Description botanique**

Les plantes de ce genre sont annuelles ou vivaces, parfois ligneuses. Elles ne diffèrent que par la corolle éperonnée à la base (Quezel *et al*, 1963). L'espèce *aegyptiaca*, sujet de notre travail, est un petit buisson à nombreux rameaux (Ozenda, 1991), dressés en général, très ramifiés, spinescents au sommet. C'est une plante vivace, finement pubescente (Quezel *et al* 1963), très variable dont on a distingué diverses formes différant notamment par des caractères de pilosité (Ozenda, 1991). Les feuilles sont très petites de moins de 1 cm, hastées ou lancéolées, avec une couleur verte grisâtre ou jaunâtre. Les fleurs sont jaunes de 12 à 15 mm. (Quezel *et al*, 1963).

### c.3. Utilisation médicinale

Il en ressort que la plupart des espèces constituant le genre *Linaria* sont utilisées en médecine traditionnelle pour leurs diverses propriétés: laxative, spasmolytique et anti-inflammatoire, cholagogue, antirhume (Handjieva, 1993), antihémorroïdaire, traitement des blessures et des troubles vasculaires (Ercil *et al*, 2004)

### d. *Salvia officinalis*

#### d.1. Systématique

Selon Ristic *et al.* (1999 ) la sauge suit la classification suivante :

**Règne :** Plantae

**Embranchement :** Magnoliophyta

**Classe :** Magnoliopsida

**Ordre :** lamiales

**Famille :** lamiaceae

**Genre :** *Salvia*

**Espèce :** *Salvia officinalis* L.

**Nom vernaculaire arabe :** سواك النبي

#### d.2. Description botanique

La sauge est une plante très ramifiée, aux tiges de section carrée, à la base lignifiée mesure de 20 à 30 centimètres. La racine de la sauge est brunâtre et fibreuse. Les feuilles opposées, elliptiques, inférieures pétiolées, veloutées, oblongues, rugueuses, à bord dentelé réticulées, molles, à dessus blanchâtre, persistent l'hiver grâce au revêtement de poils laineux qui les protège. Les fleurs, bleu-rose lilas, visibles de mai à août, sont grandes, groupées à la base des feuilles supérieures, l'ensemble forme de grands épis.

Commune en Europe, plus spécialement dans les régions méridionales, elle est cependant rare à l'état sauvage. Sa hauteur est de 50 à 60 cm (Maatoug, 1990).

### **c.3. Utilisation médicinale**

*Salvia* vient de *salvare* qui, en latin, signifie «guérir». Sa saveur est chaude, amère et astringente, elle agit contre les maux de gorge, les troubles de la digestion, elle est stimulante, tonique et stomachique. La sauge possède aussi à divers degrés des propriétés antispasmodiques, fébrifuges, antisudorales et emménagogues (action bénéfique sur les menstruations) (Duke et al, 2002).

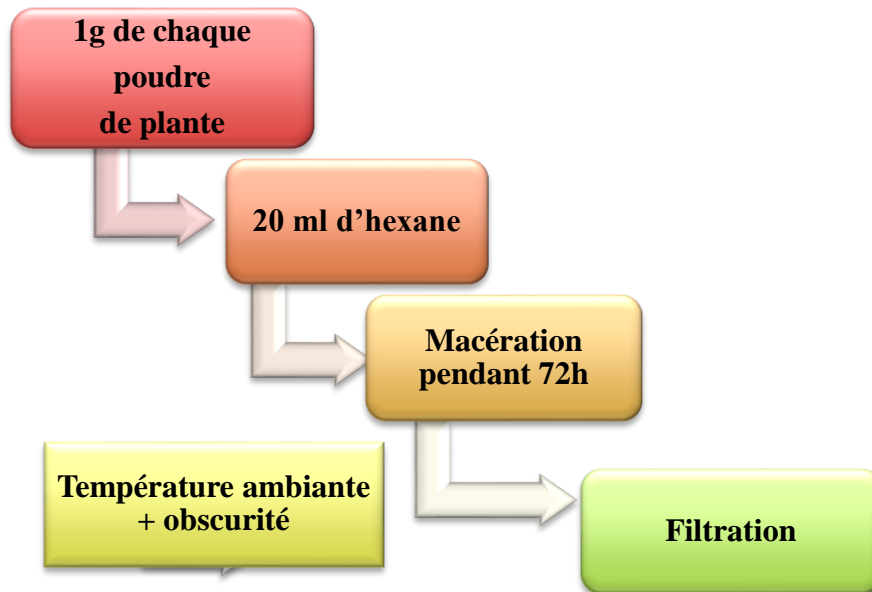
## **II. 2. Prétraitement des échantillons**

Après récupération des quatre plantes de chez les herboristes, les échantillons secs de chaque plante (partie aérienne) ont été broyés et tamisés en vue d'obtenir la même granulométrie, et conservés jusqu'à extraction.

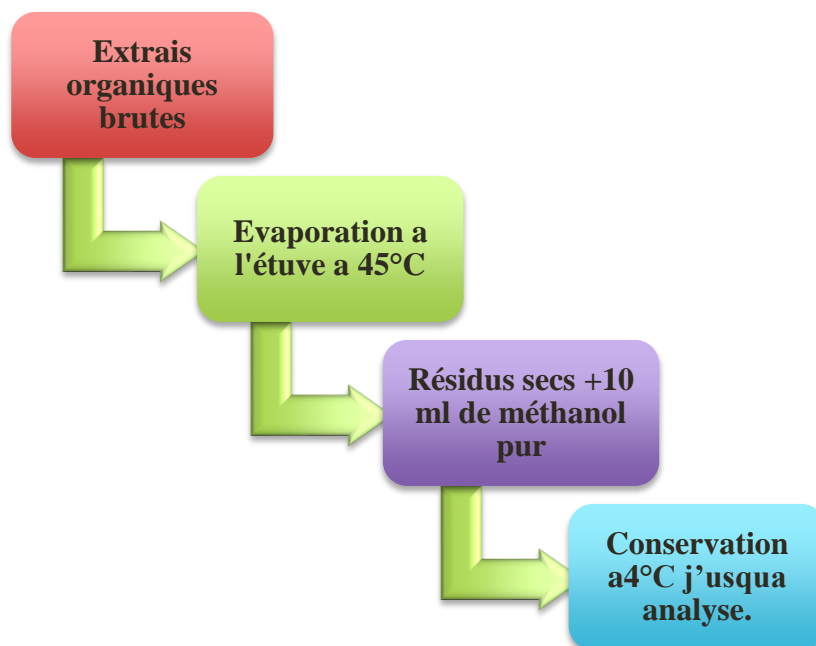
## **II.3. Préparation des extraits**

1 g de chaque poudre précédemment obtenue a subi une extraction par fractionnement à température ambiante et à l'obscurité par une série de solvants à polarité croissante commençant par l'hexane jusqu'à épuisement total dans un but de dépigmentation et de délipidation. Les extraits ont ensuite été filtrés puis les résidus ont été repris pour une série de macération dans : le dichlorométhane, l'acétate d'éthyle, l'éthanol et le méthanol successivement pendant 72 h (une filtration a été effectuée chaque 24h ) pour obtenir quatre extraits organiques bruts pour chaque plante.

Les extraits bruts ont été évaporés sous pression réduite à 45°C et les résidus secs ont été repris dans 10 ml de méthanol pur donnant la fraction correctement purifiée et conservée à 4°C jusqu'à analyse. (voir diagramme )



Une série de solvants a polarité croissante :



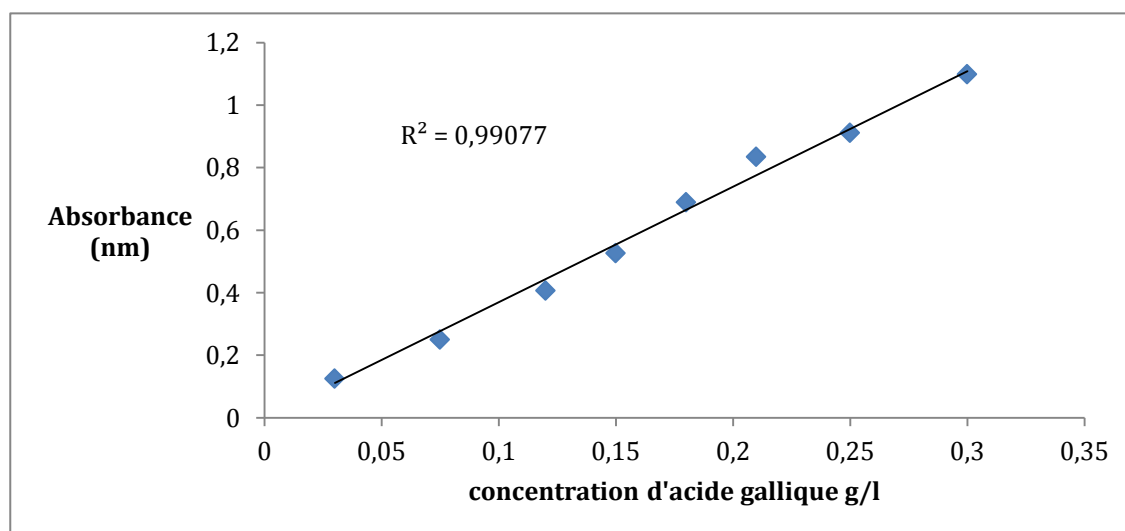
## II.4. Quantification des phénols

### II.4.1. Dosage des phénols totaux

Le dosage des phénols totaux a été effectué par la méthode adaptée de **Singleton et Ross (1965)** avec le réactif de Folin-Ciocalteu commercial. Le réactif est formé d'acide phosphotungestique  $H_3PW_{12}O_{40}$  et d'acide phosphomolybdique  $H_3PM_{12}O_{40}$ , qui sont réduits lors de l'oxydation des phénols en oxydes bleu de tungstène ( $W_8O_{23}$ ) et de molybdène ( $Mo_8O_{23}$ ) (Giner-Chavez, 1996).

Pour réaliser le dosage, 100  $\mu$ l de chaque extrait dilué à différentes concentrations sont mélangés à 500  $\mu$ l du réactif de folin-Ciocalteu. Après deux minutes d'incubation, 2 ml de carbonate de sodium  $Na_2CO_3$  sont ajouté. Les tubes sont ensuite agités et placés à l'obscurité pendant 30 minutes à température ambiante.

La lecture de l'absorbance de chaque solution préparée est mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Visible de type BIOCHROM LIBRA S6, à une longueur d'onde de 760 nm contre un blanc. Les valeurs de l'absorbance sont proportionnelles à la quantité de polyphénols présente dans nos extraits. Et les résultats sont présentés en mg équivalent d'acide gallique/g de matière sèche.

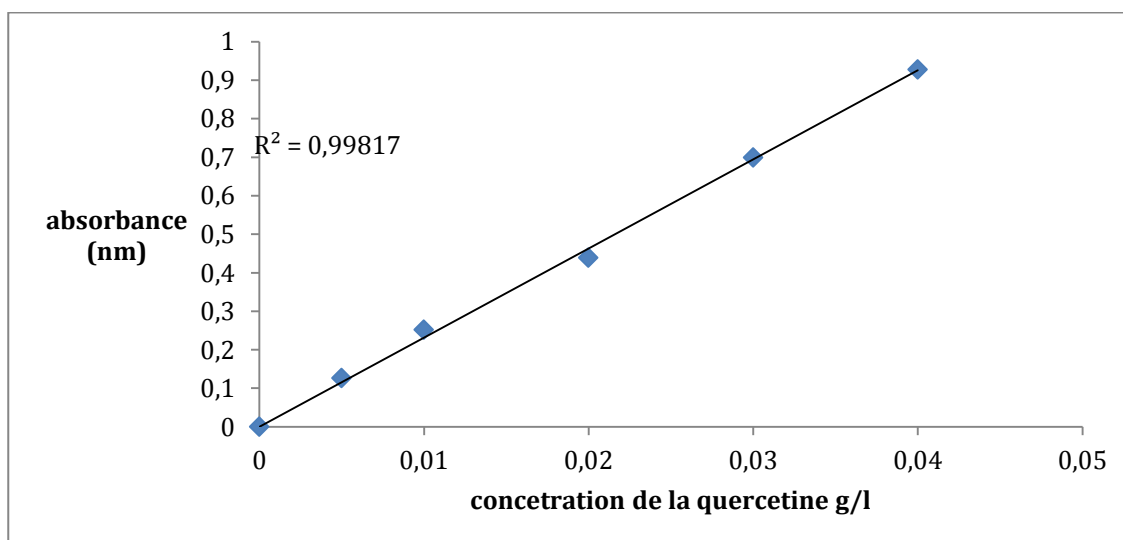


**La courbe d'étalonnage de l'acide gallique**

### II.4.2. Dosage des flavonoïdes

Les teneurs en flavonoïdes ont été mesurés par une méthode adaptée de **Lamaison et Carnat (1991)** en utilisant le trichlorure d'aluminium ( $AlCl_3$ ) comme réactif. (Bahorun,

1997). Pour réaliser le dosage, 500 µl de chaque solution diluée a été mélangée à 500 µl d'AlCl<sub>3</sub> puis incubé à la température ambiante pendant 20 minutes. La lecture de l'absorbance de chaque solution préparée a été mesurée dans le même spectrophotomètre à une longueur d'onde de 430 nm contre un blanc. Les valeurs de l'absorbance ainsi obtenues sont proportionnelles à la quantité de flavonoïdes présente dans nos extraits. Et les résultats sont présentés en mg équivalent quercétine /g de matière sèche.



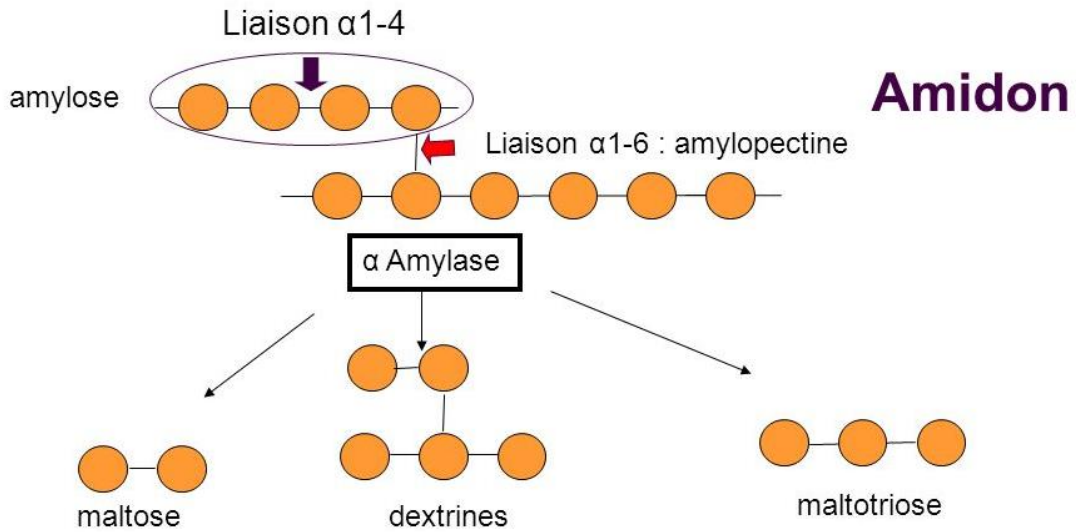
**La courbe d'étalonnage de la quercitrine**

## **II.5. Evaluation de l'activité inhibitrice vis-à-vis de l'α – amylase**

Dans la présente étude, on s'intéresse à l'évaluation de l'effet des extraits organiques des plantes investiguées sur l'activité enzymatique de l'α - amylase d'*Aspergillus oryzae*. Dans le cas de cette enzyme la mesure de l'activité enzymatique revient à un dosage spectrophotométrique direct du produit libéré par unité de temps lors de l'hydrolyse du substrat, dans des conditions de température et de pH favorables.

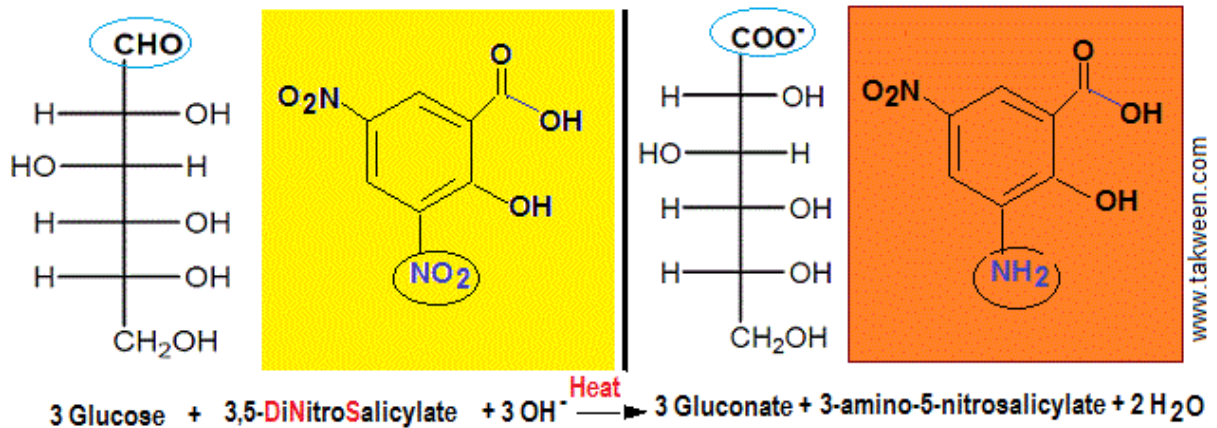
### **II.5. 1. Principe de la méthode de dosage par le DNS :**

L'activité enzymatique de l'α - amylase est dosée sur son substrat l'amidon (mélange de 2 homopolymères, l'amylose et l'amylopectine composés d'unités de molécules de D-Glucose). Elle hydrolyse ce substrat pour libérer le maltose et d'autres produits (figure II.1). Le maltose libéré est dosé spectrophotométriquement.



**Figure II.2.** Action de l'  $\alpha$  – amylase sur l'amidon

La méthode est basée sur le pouvoir réducteur des groupements aldéhydes et cétones libres des sucres. En milieu alcalin et a chaud, l'oxydation des ces fonctions provoque simultanément la réduction l'acide 3,5-dinitrosalicylique (DNS) de couleur orange en acide 3- amino 5-nitrosalicylique (Figure II.2) de couleur rouge brique qui absorbe à 540 nm. L'intensité de la coloration varie selon la quantité de sucres réducteurs présents dans le milieu réactionnel (Benfeld, 1955; Negi et Baner, 2006).



**Figure II.3.** La réaction du réactif DNS avec un sucre réducteur (glucose).

Chaque molécule de maltose libérée dans le milieu réactionnel, réagit avec le DNS en excès de couleur orange entraînant une réduction de ce dernier, induisant en parallèle un changement de couleur en rouge brique dont l'intensité mesurée après dilution à 530 nm est proportionnelle à la quantité en maltose.

### II.5.2. Étude du pouvoir anti-amylasique :

Des tests d'inhibition ont été faits sur nos extraits dans le but de juger leurs potentiel envers l' $\alpha$  – amylase, c'est-à-dire l'étude de leur comportement sur l'activité enzymatique (augmentation ou diminution).

Dans des tubes à essai les milieux réactionnels contenaient : 200  $\mu$ l d'une solution de tampon phosphate salé à pH : 6.9, 100  $\mu$ l du substrat l'amidon et 100  $\mu$ l de chaque extrait. Les tubes on été ensuite placés pendant 5 minutes à 37 °C, il s'en suit l'ajout de 100  $\mu$ l de l'enzyme suivie d'une incubation de 5 min. La réaction enzymatique a été stoppée par l'ajout du DNS, le milieu réactionnel est ensuite porté à ébullition à 100 °C pendant 5 min, après refroidissement le milieu réactionnel est dilué avec de l'eau distillée. Les absorbances sont ensuite mesurées à 530 nm avec le même spectrophotomètre.

Un contrôle a été préparé de la même façon sans inhibiteur.

Les pourcentages d'inhibition sont calculés selon la relation suivante :

$$\text{Inhibition (\%)} = \frac{A_{\text{contrôle}} - A_{\text{échantillon du test}}}{A_{\text{contrôle}}} \times 100$$

$A_{\text{contrôle}}$ : Absorbance du contrôle sans inhibiteur.

$A_{\text{échantillon du test}}$  : Absorbance de l'échantillon du test en présence d'inhibiteur

L'activité inhibitrice confirmée par le test précédant, nous a encouragés de procéder à l'étude de l'activité anti – amylasique pour tous les extraits organiques, en vue de déterminer pour chaque extrait le paramètre  $IC_{50}$ .

Pour cela, nous avons varié la concentration en extraits. L'activité inhibitrice des extraits est mesurée comme décrit précédemment en introduisant 100  $\mu$ l des différentes concentrations variables d'extraits.

La représentation graphique de la variation des pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations en extraits organiques, nous a permis de déterminer les valeurs d'IC<sub>50</sub> pour chaque extrait.

## **Résultat et discussion**

### III.1. les teneurs des extraits :

Les parties aériennes des plantes choisies pour l'extraction ont toutes subi la même procédure de délipidation et de dépigmentation par l'hexane jusqu'à épuisement total. Ensuite l'extraction des principes actifs des plantes investiguées, a été effectuée par une série de solvant à polarité croissante à savoir : le dichlorométhane, l'acétate d'éthyle, l'éthanol et le méthanol successivement. Les teneurs et les couleurs de chaque extrait bruts sont consignés dans le (Tableau III.1).

D'après les résultats de l'extraction, on remarque que tous les extraits ont montré des aspects visqueux de différentes couleurs variant du vert, jaune à jaune clair.

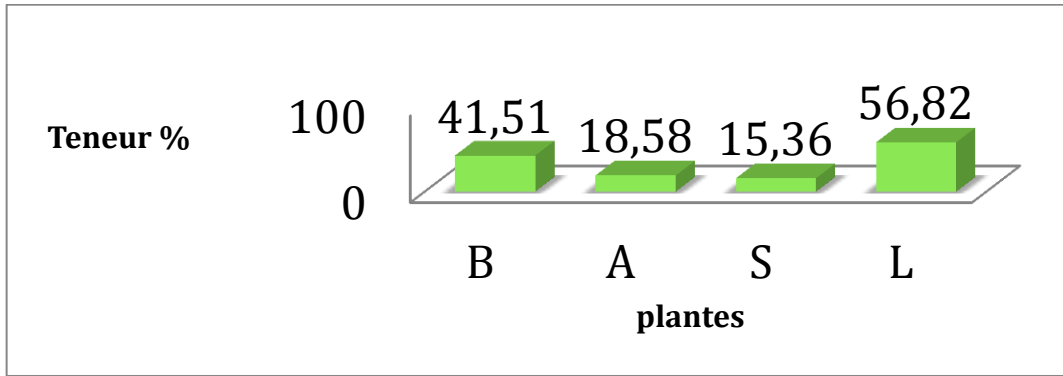
Les extraits ont enregistré des valeurs de teneurs d'extraction différentes d'une plante à une autre allant de 4,49% pour l'extrait acétate d'éthyle de la plante *Linaria aegyptiaca* et 56,82 % pour l'extrait dichlorométhane de la plante *Linaria aegyptiaca*. Nous avons constaté une variation de teneur chez la même plante dans les différents solvants, cette différence peut être expliquée par le type de solvants choisis pour l'extraction ainsi que la nature chimique que contient chaque plante.

En comparant les teneurs d'extraction entre les différents solvants d'extraction utilisés dans cette étude, on remarque également une variation d'un solvant à un autre où les extraits dichlorométhane ont présenté les teneurs les plus élevées entre 15,36 et 56,82 % suivies par les extraits éthanol et méthanol entre 27,24 et 49,12 % et 17,14 et 43,93% respectivement, alors que l'extrait acétate d'éthyle a présenté les valeurs les plus faibles entre 4,49 et 24,37%. Excepté l'extrait acétate d'éthyle de la plante *Ammodaucus leucotrichus* qui a enregistré une teneur supérieure que celle du dichlorométhane. Ceci est peut-être attribuée à l'existence de plusieurs molécules à caractère apolaires au sein de la majorité des plantes et dont la forte capacité de dissolution des solvants apolaires provoque leur dissolution.

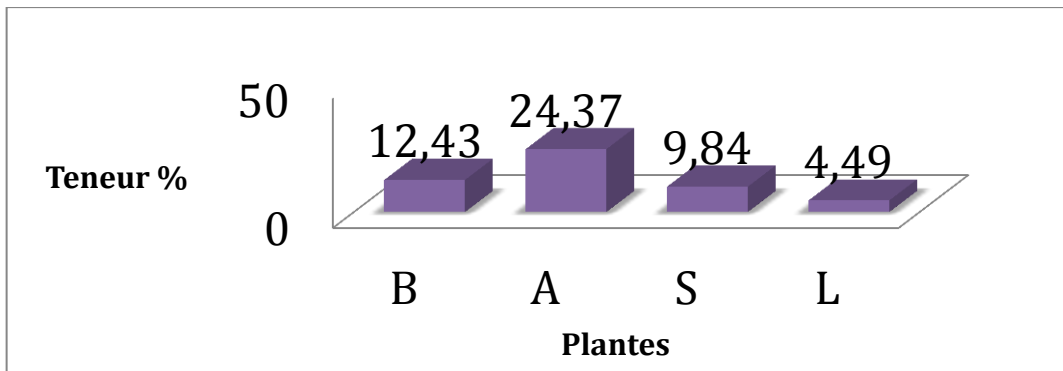
**Tableau III.1.** Teneurs, et couleurs des extraits bruts des quatre plantes investiguées.

<b>Plante</b>	<b>Extrait</b>	<b>Couleur</b>	<b>Teneur (%)</b>
<i>Ammodaucus leucotrichus</i>	<b>Dichlorométhane</b>	Jaune clair	18,58
<i>Bubonium graveolens</i>		Vert olive	41,51
<i>Linaria aegyptiaca</i>		Vert	56,82
<i>Salvia officinalis</i>		Vert militaire	15,36
<i>Ammodaucus leucotrichus</i>	<b>Acétate d'éthyle</b>	Jaunâtre	24,37
<i>Bubonium graveolens</i>		Vert clair	12,43
<i>Linaria aegyptiaca</i>		Jaune	4,49
<i>Salvia officinalis</i>		Vert olive	9,84
<i>Ammodaucus leucotrichus</i>	<b>Ethanol</b>	Blanchâtre	29,61
<i>Bubonium graveolens</i>		Jaune clair	30,60
<i>Linaria aegyptiaca</i>		Jaunâtre	27,24
<i>Salvia officinalis</i>		Vert	49,12
<i>Ammodaucus leucotrichus</i>	<b>Méthanol</b>	Jaunâtre	17,14
<i>Bubonium graveolens</i>		Jaune clair	43,93
<i>Linaria aegyptiaca</i>		Vert clair	20,71
<i>Salvia officinalis</i>		Jaune	43,67

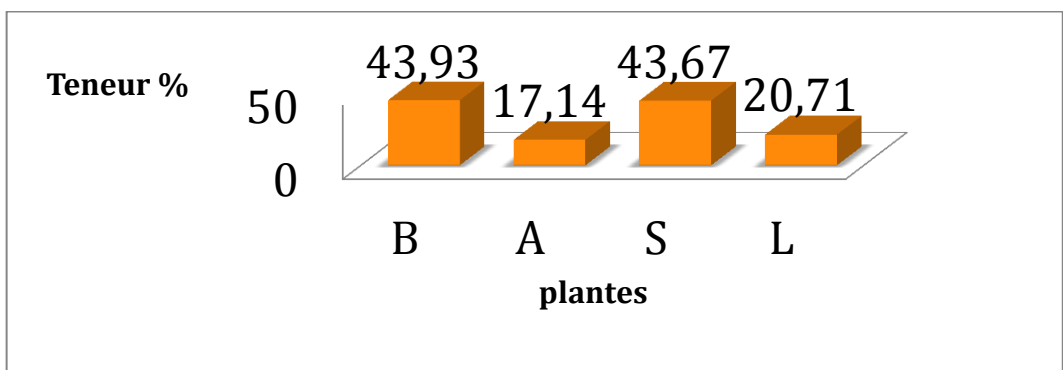
Nous avons également remarqué une différence de teneurs entre les plantes ; qui est peut être liée à la saison de récolte où les contraintes abiotique sont différente (la sécheresse, la chaleur, les rayons ultraviolet, la pollution de l'air et les attaques d'agents pathogènes.....) ou à des facteurs liés aux procédures d'extraction employées en tenant compte de la durée d'extraction, du type du contact matière-solvant, de la taille des particules de l'échantillon, de l'agitation et de la température .



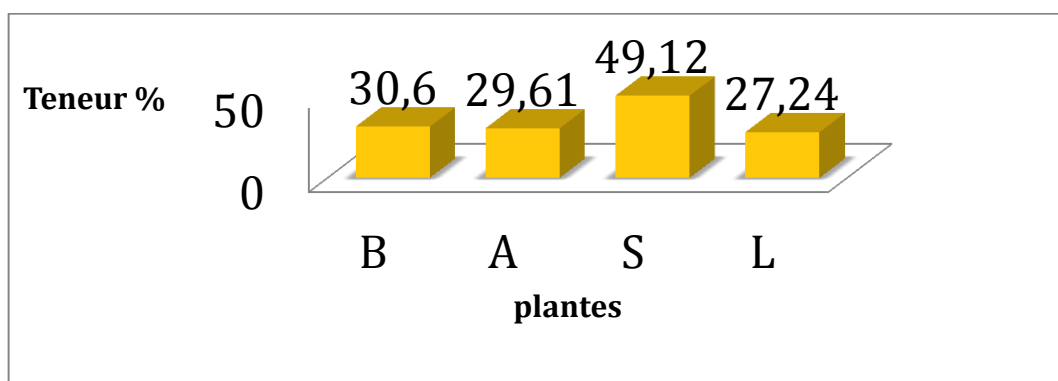
Teneurs de l'extrait dichlorométhane des quatre plantes investiguées.



Teneurs de l'extrait acétate d'éthyle des quatre plantes investiguées.



Teneurs de l'extrait éthanol des quatre plantes investiguées.



Teneurs de l'extrait méthanol des quatre plantes investiguées.

### III. 2. Quantification des phénols

Avant toute étude d'activité inhibitrice, nous avons effectué un dosage des phénols totaux sur les différents extraits préparés à partir des quatre plantes.

Le dosage des phénols totaux a été réalisé par le réactif Folin-Ciocalteu et les teneurs ont été exprimé par mg EAG/ g de matière sèche. Quant au dosage des flavonoïdes, nous avons utilisé le trichlorure d'aluminium comme réactif et les teneurs ont été exprimé par mg EQ/ g de matière sèche.

Le tableau III.2, résume les teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes pour chaque plante.

D'après la synthèse des résultats obtenus pour la quantification des composés phénoliques, on a constaté que les teneurs en phénols totaux ont varié entre 0,5 et 9,9 mg EAG/g MS. L'extrait dichlorométhane de la plante *Salvia officinalis* a enregistré la teneur la plus élevée en phénols totaux 9,9 mg GAE / g de MS. Compte au dosage des flavonoïdes, les teneurs ont varié entre de 0,1 et 1,2 mg EQ/g de MS. Si on compare les teneurs en flavonoïdes à celles des teneurs en composés phénoliques pour tout les extraits, on remarque qu'elles sont toutes inférieures à ces dernières, ce qui indique que les extraits contiennent d'autres composés phénoliques possédant autres structures chimiques que celles des flavonoïdes (Acide phénoliques, tanins, silènes...). La plante *Salvia officinalis* a montré sa richesse en flavonoïdes.

Des études réalisées au laboratoire des sciences fondamentales sur des espèces

végétales de la région de Laghouat parmi lesquelles figure la plante *Salvia officinalis*, ayant utiliser la même procédure d'extraction aqueuse ont montré des teneurs en phénols largement plus importantes que celles observées chez notre plantes (Khacheba *et al.*, Aout 2014).

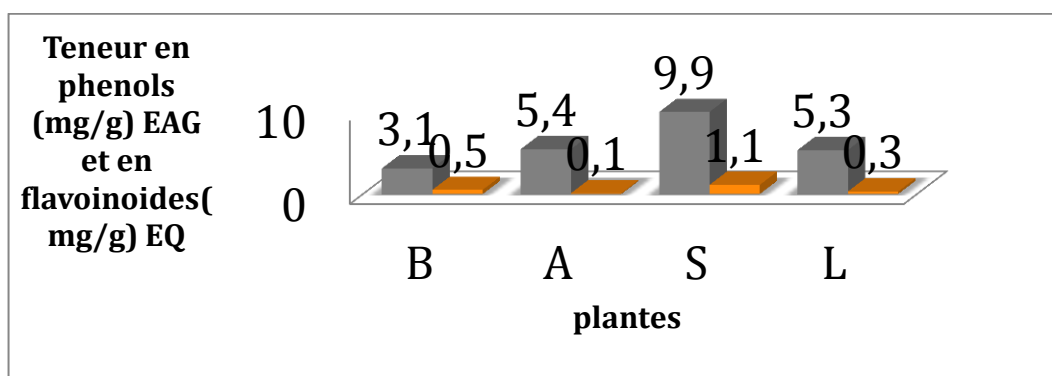
Une autre étude établi sur la même espèce a montrée une teneur en phénols totaux de 2,38 mg GAE / g de MS pour une extraction hydro- alcoolique et de 9,01 mg GAE / g de MS pour extraction aqueuse, compte à la teneur en flavonoïdes a été de 1,95 mg EQ/g de MS pour une extraction hydro-alcoolique et de 3,40 mg EQ/g de MS pour extraction aqueuse (Khacheba *et al.* Juillet 2016)

Les résultats ont révélé que les taux en phénols totaux et en flavonoïde varient d'une part avec le solvant utilisé pour l'extraction et d'autre part pour l'espèce végétale. Ces variations sont probablement liées à un facteur écologique qui concerne, l'espèce, le sol, le climat et les périodes de récolte. Ces facteurs peuvent jouer un rôle dans la teneurs de ces composées phénoliques.

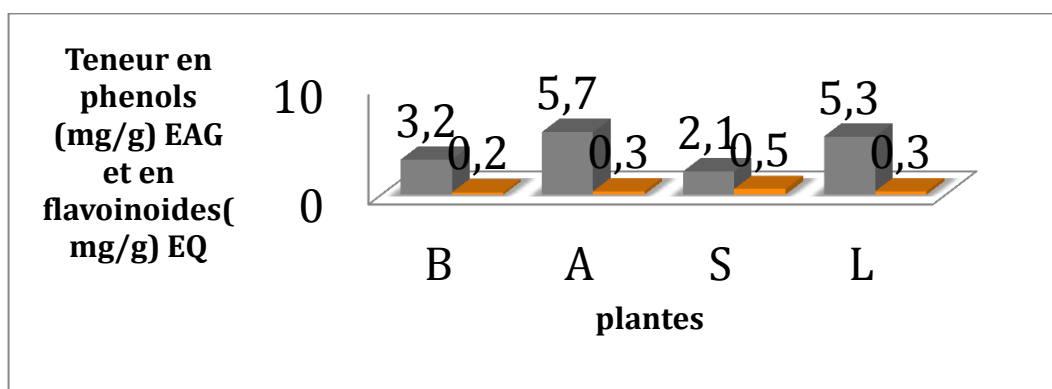
**Tableau III.2.** Teneur en Phénol totaux et en Flavonoïdes des différents extraits des quatre plantes étudiées.

<b>Plante</b>	<b>Extrait</b>	<b>Teneur en Phénols Totaux (mg/g) EAG</b>	<b>Teneur en Flavonoïdes (mg/g) EQ</b>
<i>Bubonium graveolens</i>	<b>Dichlorométhane</b>	3,1±0,1	0,5±0,03
<i>Ammodaucus leucotrichus</i>		5,4±0,1	0,1±0,03
<i>Salvia officinalis</i>		9,9±0,1	1,1±0,1
<i>Linaria aegyptiaca</i>		5,3±0,2	0,3±0,02
<i>Bubonium graveolens</i>	<b>Acétate d'éthyle</b>	3,2±0,08	0,2±0,02
<i>Ammodaucus leucotrichus</i>		5,7±0,4	0,3±0,1
<i>Salvia officinalis</i>		2,1±0,04	0,5±0,02
<i>Linaria aegyptiaca</i>		5,3±0,07	0,3±0,04
<i>Bubonium graveolens</i>	<b>éthanol</b>	3,2±0,09	0,2±0,02

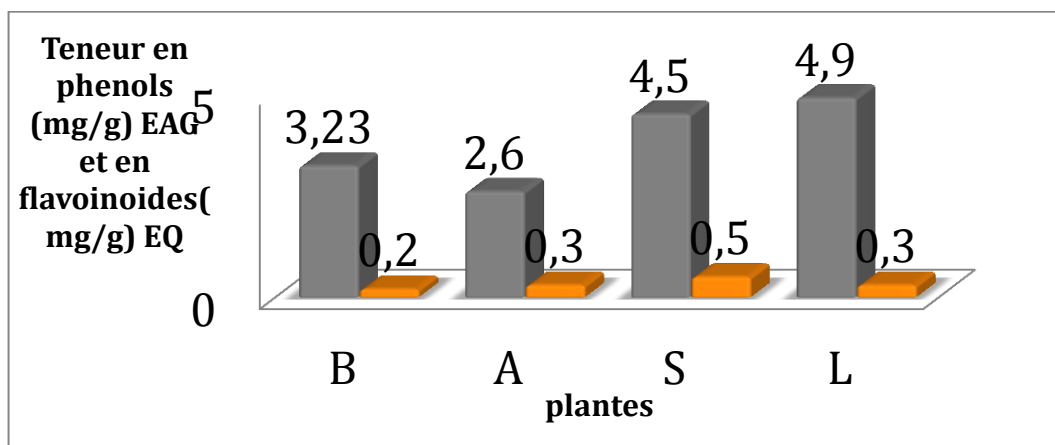
<i>Ammodaucus leucotrichus</i>	<b>méthanol</b>	2,6±0,03	0,3±0,1
<i>Salvia officinalis</i>		4,5±0,3	0,5±0,02
<i>Linaria aegyptiaca</i>		4,9±0,06	0,3±0,04
<i>Bubonium graveolens</i>		0,5±0,06	0,3±0,04
<i>Ammodaucus leucotrichus</i>		0,6±0,09	0,5±0,04
<i>Salvia officinalis</i>		9,3 ±0,4	1,2 ±0,2
<i>Linaria aegyptiaca</i>		3,3 ±0,2	0,7 ±0,01



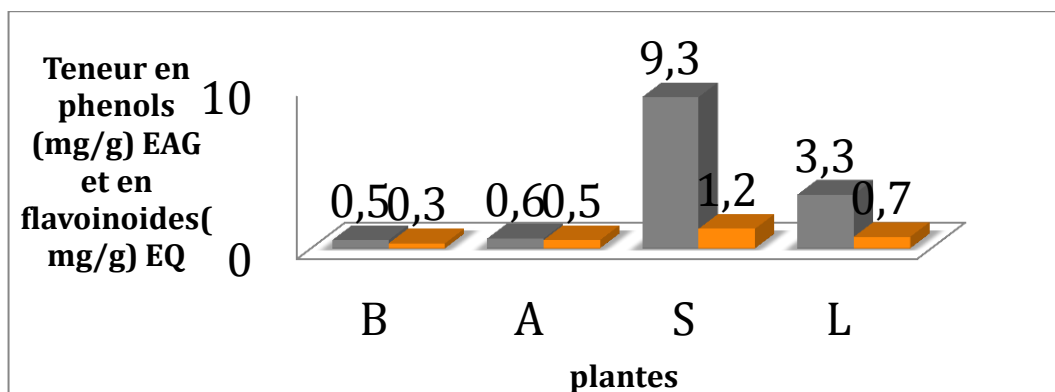
Teneur en Phénol totaux (mg/g) EAG et en Flavonoïdes (mg/g) EQ de l'extrait dichlorométhane des quatre plantes étudiées.



Teneur en Phénol totaux (mg/g) EAG et en Flavonoïdes (mg/g) EQ de l'extrait acétate d'éthyle des quatre plantes étudiées.



Teneur en Phénol totaux (mg/g) EAG et en Flavonoïdes (mg/g) EQ de l'extrait éthanol des quatre plantes étudiées.



Teneur en Phénol totaux (mg/g) EAG et en Flavonoïdes (mg/g) EQ de l'extrait méthanol des quatre plantes étudiées.

### III.3. Étude du pouvoir anti-amylasique

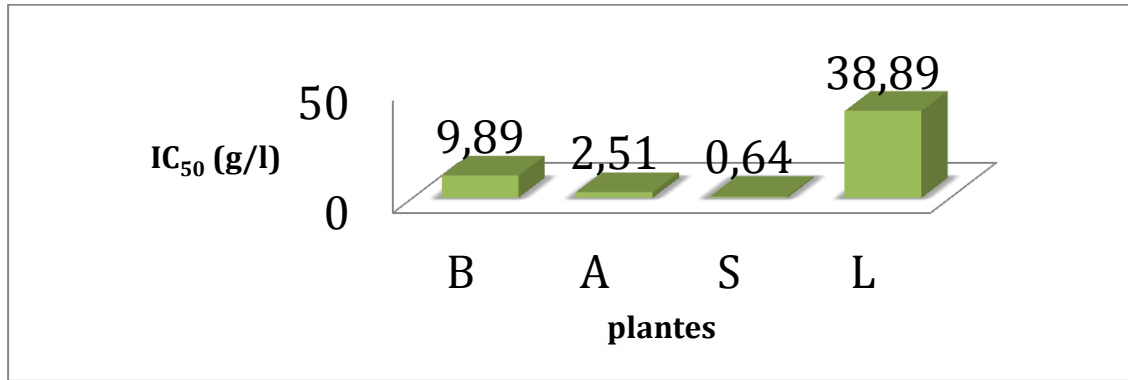
Après avoir confirmé l'existence d'activité inhibitrice pour chaque extrait par un test d'inhibition, nous avons procédé à l'étude de l'activité anti - amylasique ; afin de déterminer pour chaque extrait et dans les mêmes conditions réactionnelles le paramètre  $IC_{50}$  qui représente la concentration d'inhibiteur nécessaire pour diminuer la vitesse réactionnelle jusqu'à 50% de sa valeur maximale non - inhibée.

Pour cela, nous avons varié la concentration en inhibiteurs et nous avons introduit 100  $\mu$ l de chaque extrait à différentes concentrations.

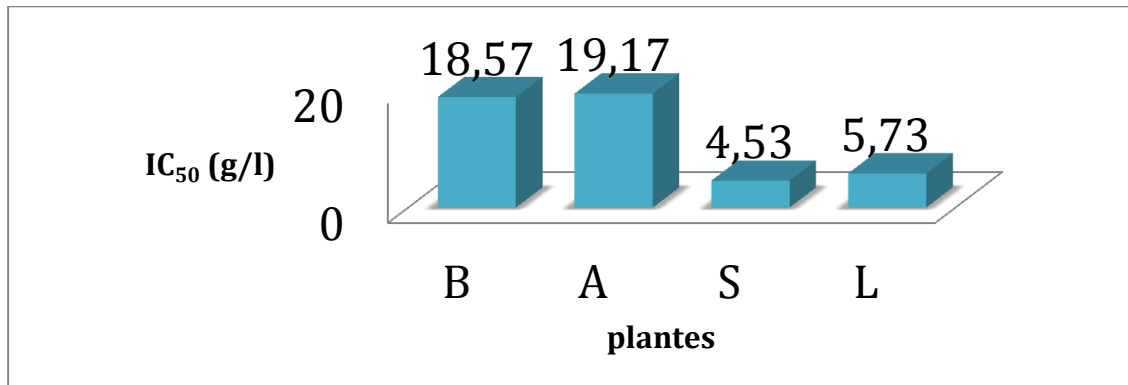
Les représentations graphiques de la variation des pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations en extraits (voir annexe), nous ont permis de déterminer les valeurs d'IC<sub>50</sub> pour chaque extrait que nous avons regroupés dans le tableau III.3.

**Tableau III.3** Valeurs des IC<sub>50</sub> des extraits des quatre plantes étudiées vis - à vis de l'α – amylase

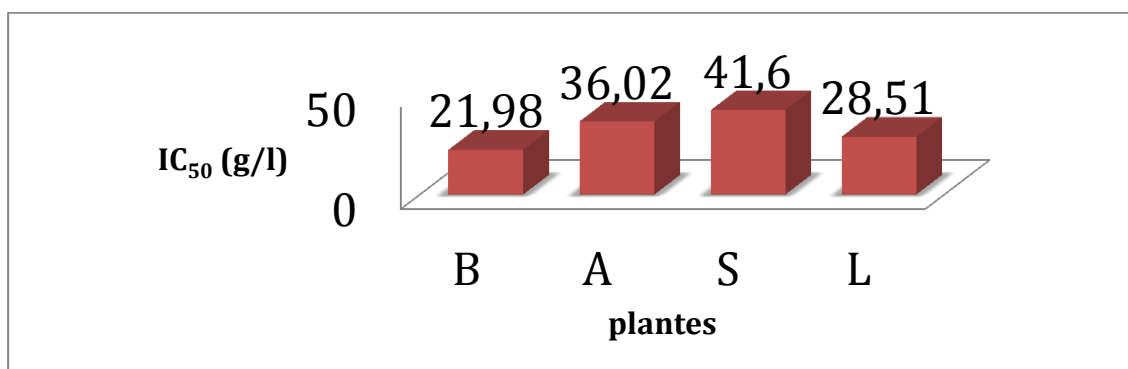
Plante	Extrait	IC <sub>50</sub> (g/l)
<i>Bubonium graveolens</i>	<b>Dichlorométhane</b>	9,89±0,81
<i>Ammodaucus leucotrichus</i>		2,51±0,06
<i>Salvia officinalis</i>		0,64±0,008
<i>Linaria aegyptiaca</i>		38,89±0,34
<i>Bubonium graveolens</i>	<b>Acétate d'éthyle</b>	18,57±1,80
<i>Ammodaucus leucotrichus</i>		19,17±0,59
<i>Salvia officinalis</i>		4,53±0,30
<i>Linaria aegyptiaca</i>		5,73±0,05
<i>Bubonium graveolens</i>	<b>Ethanol</b>	21,98±0,67
<i>Ammodaucus leucotrichus</i>		36,02±0,64
<i>Salvia officinalis</i>		41,60±0,63
<i>Linaria aegyptiaca</i>		28,51±1,64
<i>Bubonium graveolens</i>	<b>Méthanol</b>	51,71±1,92
<i>Ammodaucus leucotrichus</i>		26,82±1,12
<i>Salvia officinalis</i>		55,76±1,58
<i>Linaria aegyptiaca</i>		30,06±0,09



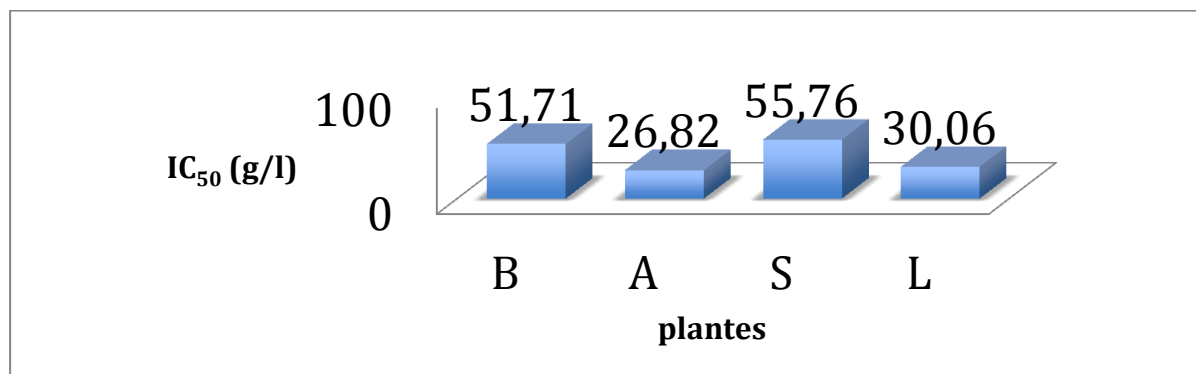
Valeurs des IC<sub>50</sub> de l'extrait dichlorométhane des quatre plantes étudiées vis - à vis de l' $\alpha$  - amylase



Valeurs des IC<sub>50</sub> de l'extrait acétate d'éthyle des quatre plantes étudiées vis - à vis de l' $\alpha$  - amylase



Valeurs des IC<sub>50</sub> de l'extrait éthanol des quatre plantes étudiées vis - à vis de l' $\alpha$  - amylase



Valeurs des IC<sub>50</sub> de l'extrait méthanol des quatre plantes étudiées vis - à vis de l' $\alpha$  - amylase

Les valeurs d'IC<sub>50</sub>, ont variée globalement entre 0,64 et 55,76 g/l. Les extraits dichlorométhane ont enregistré les meilleurs IC<sub>50</sub> par rapport aux autres extraits. Ceci, peut être attribuée à la présence d'un groupes de molécules polaire dont la structure est différente leurs conférant une activité inhibitrice plus efficace. L'explication de la faible activité des extraits peut être attribuée à l'existence de molécules à caractère apolaire les rendant moins actifs vis-à-vis de l'enzyme.

Les inhibiteurs d'enzyme peuvent agir selon des mécanismes varies, en se combinant soit avec l'enzyme (inhibition compétitive ou incompétitive), soit avec le complexe enzyme substrat (non compétitive), soit avec le substrat lui-même (Weinman *et al.*, 2004). L'activité enzymatique peut être affectée de façon spécifique par de nombreux agents chimiques et des drogues tels que l'acarbose qui a une forme proche de celle des oligosaccharides issus de la digestion de l'amidon, il peut ainsi se lier aux sites de l' $\alpha$ -amylase pancréatique, inhiber puissamment, de façon compétitive et dose-dépendante (Scheen *et al.*, 2002).

Nous avons constaté un résultat très intéressant concernant la plante *Salvia officinalis* cette dernière possède une bonne activité car elle a enregistré la plus faible valeur d'IC<sub>50</sub> 0,64 mg/ml pour l'extraction avec le dichlorométhane; ceci pourrait être expliqué par la richesse de cette plante en molécules spécifiques qui sont responsable de l'inhibition de l' $\alpha$ -amylase.

L'activité inhibitrice enzymatique de plusieurs plantes est due aux composés polyphénoliques (Tundis *et al.*, 2010). Plusieurs de ces polyphénols ont une action sur l' $\alpha$ -amylase tels que les tannins qui sont capables de se lier aux enzymes digestives et de les inhiber (Kandra, 2004).

Une étude de Khacheba et ses collaborateurs, 2014 sur l'évaluation de la capacité des extraits phénoliques d'inhiber l' $\alpha$ -amylase et l' $\alpha$ -glucosidase a révélé que tous les extraits phénoliques ont une activité inhibitrice significative sur les deux enzymes. Ces résultats informent que cette activité dépend fortement de deux facteurs importants : La teneur en composé phénolique dans chaque plante et leur structure qui est responsable de cette activité.

De ce fait, en comparant les résultats de l'activité inhibitrice aux résultats de dosage en phénols totaux on remarque qu'il n'y a pas de relation entre les teneurs en phénols totaux et les valeurs en  $IC_{50}$ . On prend comme exemple, l'extrait dichlorométhane de la plante *Salvia officinalis* dont la teneur en polyphénols et en flavonoïdes est élevée inhibe fortement l' $\alpha$ -amylase d'autre part l'extrait acétate d'éthyle de la plante *Linaria aegyptiaca* ; dont la teneur en polyphénols et en flavonoïdes est élevée inhibe faiblement l' $\alpha$ -amylase.

Une étude réalisée par Bekhaoua *et al.*, 2018 sur l'effet inhibiteur des enzymes  $\alpha$ -amylase et  $\alpha$ -glucosidase sur *Linaria aegyptiaca* a indiqué que cette plante possède une activité inhibitrice élevée vis-à-vis l' $\alpha$ -glucosidase d'autre part une activité moyenne sur  $\alpha$ -amylase

Des études réalisées par Benarous, 2006 sur quelques plantes sahariennes ont montré que l'effet inhibiteur d'enzyme est indépendant de la quantité des composés phénoliques ainsi que de leur pouvoir antioxydant. Et que l'activité enzymatique dépend de la structure chimique de l'inhibiteur (relation structure - fonction).

Nous avons également comparé nos résultats à ceux de Boussoussa *et al* en 2018, Segleb *et al* en 2018 et Bakhaoua *et al* en 2019, qui ont étudié l'effet inhibiteur d'extrait organique de différentes plantes médicinales et spontanées locales de la wilaya de Laghouat sur le même type d'amylase que nous avons utilisé (celle d'*Aspergillus oryzae*). Ces études ont enregistré des valeurs d' $IC_{50}$  allant de 0,05 et 0,49 mg/ml et entre 0,09 et 0,61 mg/ml entre 0,11 et 35,25 mg /ml respectivement. Ces valeurs sont nettement meilleures que les nôtres.

Ceci dépend éventuellement de l'espèce étudiée, de la nature des composés et de leur localisation dans la plante.

Les constituants naturels d'une plante peuvent être dérivés de n'importe quelle partie de cette dernière comme l'écorce, les feuilles, les fleurs, les racines, les fruits, les graines, c'est-à-dire que n'importe quelle partie de la plante peut contenir des composés actifs (Tiwari *et al.*, 2011, Boussoussa *et al.*, 2018, Segleb *et al.*, 2018, Bekhaoua *et al.*, 2019), ainsi que la nature et le degré de polarité du solvant qui jouent un rôle important dans l'aspect quantitatif de l'extraction; pour s'assurer de la détermination réussie de composés biologiquement actifs de la matière végétale : cette dernière est largement dépendante du type de solvant utilisé dans le procédé d'extraction. Les facteurs qui influent sur le choix du solvant et la quantité de composés phytochimiques à extraire sont : le taux d'extraction, la diversité des différents composés extraits, la diversité de composés inhibiteurs extraits (Tiwari *et al.*, 2011).

# Conclusion

Les plantes médicinales restent toujours la source fiable des principes actifs connus par leurs propriétés thérapeutiques, ce qui nous amène à la conservation de la biodiversité végétale locale.

Et comme la phytothérapie suscite un renouveau d'intérêt, nous nous sommes intéressés dans ce travail à l'étude des extraits phénoliques de quelques plantes médicinales locales de divers familles botaniques (*Ammodaucus leucotrichus*, *Bubonium graveolens*, *Linaria aegyptiaca*, *Salvia officinalis*).

Dans un premier temps, nous avons réalisé une extraction organique par cinq solvants à polarité croissante (hexane, dichlorométhane, acétate d'éthyle, éthanol et méthanol) pour les quatre plantes choisies. Dans un second lieu nous avons procédé à la quantification des composés phénoliques par des méthodes spectrophotométriques. Le dosage des phénols totaux a été réalisé par la méthode de folin – Ciocalteu. Tandis que l'évaluation des composés flavonoïdiques a été effectuée par complexation au trichlorure d'aluminium.

Les résultats d'analyses du contenu en phénols totaux ont montré des teneurs varient respectivement entre 0,5 et 9,9 mg en équivalent d'acide gallique par gramme de la matière sèche et entre 0,2 et 1,2 mg équivalent en quercétine par gramme de la matière sèche. Dont on peut conclure que ces plantes sont en possession d'un matériel moyennement riche en flavonoïdes.

L'évaluation de l'inhibition vis-à-vis de l'activité catalytique de l' $\alpha$  – amylase, a montré que tout les extraits on présenté des effets inhibiteur avec des valeurs d'IC<sub>50</sub> de l'ordre du g/l allant de 0,64 à 55,76 g/l. La meilleure valeur en IC<sub>50</sub> : 0,64 g/l a été enregistré pour l'extrait dichlorométhane De la plante *Salvia officinalis*.

# Perspective

Il convient de placer ce travail dans un contexte plus prospectif, car sur de nombreux points, il ouvre plusieurs nouvelles voies de recherche. En effet, il est souhaitable de compléter et d'approfondir le travail par une étude phytochimique plus développée (techniques chromatographiques et spectroscopiques) afin d'isoler et d'identifier les différents composés chimiques responsables de ces activités.

Il serait aussi intéressant de faire des tests *in vivo* sur différents modèles biologiques, afin de trouver une application thérapeutique des molécules actives isolées et d'étudier l'effet synergique des extraits pour améliorer l'index thérapeutique.

Il est même possible, de développer la culture végétale de ces plantes en utilisant des techniques sophistiqués pour améliorer la quantité de ces molécules.

Il reste encore d'autres plantes locales utiles qui n'ont pas été analysées et qui mériteraient de déterminer leur potentialité dans le domaine étudié.

Ce travail a fourni un complément aux connaissances ethnopharmacologiques et phytochimiques des plantes médicinales locales. Les résultats obtenus répondent à beaucoup de questions sur l'utilisation de ces plantes en médecine traditionnelle.

# Références

- **Anderson C.M., Hallberg A., Hogberg T.** (1996). Advances in development of pharmaceutical antioxidants. *Advance in Drug Research*. 28, 65-180.
- **Bahorun.T.,** 1997. Substances naturelles actives : La flore mauricienne, une source d’approvisionnement potentielle, *Journal of Food and Agricultural Research*, Page 83 -94.
- **Benarous K,** 2006.-Effets des extraits de quelques plantes médicinales locales sur les enzymes- alpha amylase, trypsine et lipase. Ingénieur d’état en en Biologie. Université Amar Telidji Laghouat. Algérie.
- **Bekhaoua A,Khacheba I,Boussoussa H ,Yousfi M,**2018. $\alpha$ -Glucosidase and  $\alpha$ -Amylase Inhibitory Effect and Antioxidant Activity of Aerial Part from *Linaria aegyptiaca* L. Université Amar Telidji Laghouat. Algérie.laghouat.
- **Benfeld P,** 1955.-Amylases  $\alpha$  and  $\beta$ . *Meth. Enzymologie*. 1:149-58.
- **BIESIADA, A. – TOMCZAK, A.** 2012. Biotic and abiotic factors affecting the content of the chosen antioxidant compounds in vegetables. In *Vegetable Crops Research Bulletin*, vol. 76, 2012, pp. 55–78.).
- **Boussoussa H, Khacheba I, Berramdane T, Maamri A ,Bendahgane H, Yousfi M,** 2018. *In vitro* Antidiabetic Effect of Saponins and Phenolic Extracts from Fruits and Seeds of Algerian Cypress Tree: *Cupressus sempervirens* L. Université Amar Telidji Laghouat. Algérie.laghouat.
- **Cowan M.M.** (1999). Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clinical Microbiology Research*. 12 (4), 564-582
- **Cronquist A.** 1981. An integrated system of classification of flowering plants. Columbia University Press, New York
- **Didi,O.M.,Hadj-Mahammed,M.,Zabeirou,H.(2003).** Place of the spontaneous plants
- **Delforges,P ;Halary ,A ; Berdeu, D.,**2004.Surveillance infirmière.6<sup>ème</sup> édition de Lamarre.p234
- **De Smet ,PA.** (2002). Herbal remedies. *N Engl J Med*; 347(25): 2046-57.
- **Deteix.,**2005., traitement/hypertension artérielle-contenue. france.
- **Duke J A., Bogenschutz-godwin du cellier M J., et Duke P A K.,** (2002). Medicinal Herbs. Edition CRC Press LLC.P:201.
- **Eisenberg DM, Kessler RC, Foster C, et Norlack FF, Calkins, D et Delbanco L.** (1993). Unconventional medicine in the United States. *N Engl J Med*; 328: 246-52.
- **Ercil D, Sakar MK, Del Olmo E, San Feliciano A** (2004): Chemical constituents of *Linaria aucheri*. *Turk J Chem* 28: 133–139.
- **Fakchich, J., Elachouri, M.** (2014). Ethnobotanical survey of medicinal plants used by people in oriental Morocco to manage various ailments, *JEthnopharmacol*, 154 (1), 76±87
- **Falleh H., Ksouri R., Chaieb K., Karray-Bouraoui N., Trabelsi N., Boulaaba M. et Abdely C.** (2008). Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities. *Comptes Rendus Biologies*. 331(5):372–379.
- **Gerrard, J.A., Prince, M.J. and Abell, A.D.,**2000, Kinetic Characterisation of EneDiol-Based Inhibitors of  $\alpha$ -Amylase, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, Volume 10, No14, pp 1575-6.

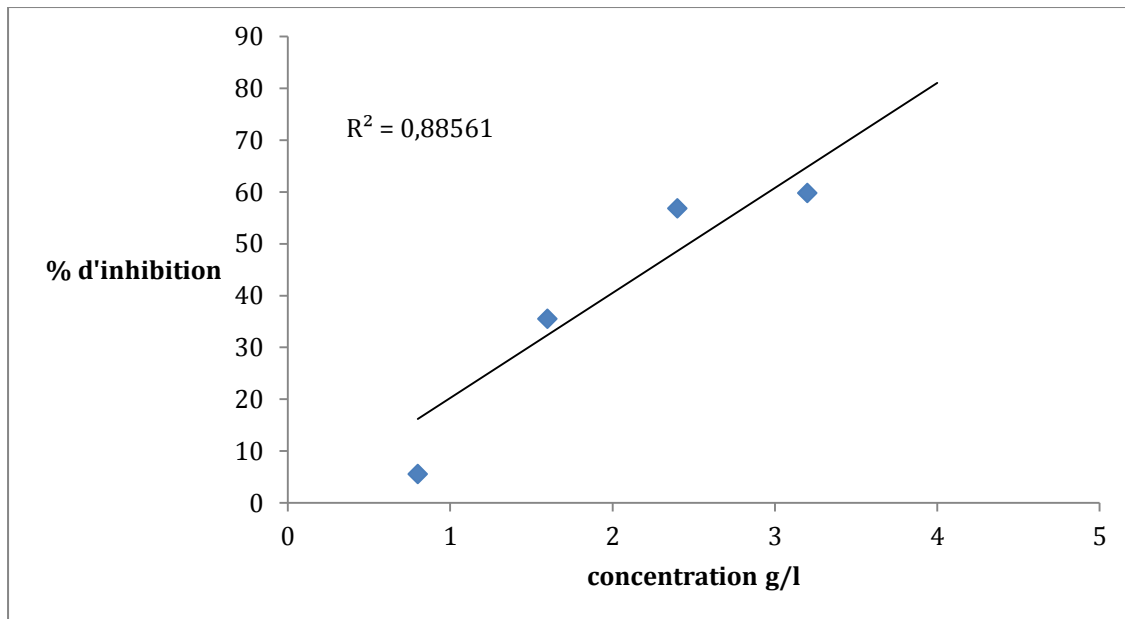
- **Ghourri, M., Zidane, L., El Yacoubi, H., Rochdi, A., Fadli, M., Douira, A.** (2012). Etude floristique et ethnobotanique des plantes médicinales de la ville d'El Ouatia (Maroc Saharien). *Journal of Forestry Faculty*, 12 (2), 218-235.
- **Gildo Pastor**, septembre 2006, Précis de phytothérapie, édition Alpen, p 3,4.
- **B.I. Giner-Chavez**, 1996, condensed tannins in tropical forages -these Ph. D, Cornell University, Ithaca, USA
- **Goldenberg, R. et Z. Punthakee.** « Definition, classification and diagnosis of diabetes, prediabetes and metabolic syndrome », *Canadian Journal of Diabetes*, vol. 37, Suppl. 1, avril 2013, p. S8-S11.
- **Grimaldi A., (2000).** Questions d'internat, Diabétologie. Faculté de médecine Pierre Marie Curie Paris. France. P : 15-19
- **Hamza, N.,** 2011. Effets préventif et curatif de trois plantes médicinales utilisées dans la Wilaya de Constantine pour le traitement du diabète de type 2 expérimental induit par le régime « high fat » chez la souris C57BL/6J.169p.
- **Handjieva, N.V., Ilieva, E.I., Spassov, S.L., Popov, S.S.,** 1993. *Tetrahedron* 49, 9261
- **Heller W, Forkmann G.** The flavonoids. Advances in research since 1986. In Harborne JB. *Secondary Plant Products. Encyclopedia of plant physiology.* Ed. Chapman & Hall, London, 1993, 399-425.
- **Iserin, P.** (2001). Larousse encyclopédie des plantes médicinales. Identification, Préparations,soins. 2nd edition, Dorling Kindersiey Limited, Londres
- **Jean-Jacques Macheix Annie Fleuriet Christian Jay-Allemand,** 2005, les composés phénoliques des végétaux, un exemple de métabolites secondaires d'importance économique, presses polytechniques et universitaires romandes, p 1, p 67, p viii, p 162.
- **Kandra, L., Guémant G., Zajacz, A., Batta, G.,** 2004. Inhibitory effects of tannin on human salivary  $\alpha$ -amylase. *Biochemical and Biophysical Research Communication.* (319): 1265- 1271.
- **Khacheba, I.** 2014. Evaluation de l'activité antioxydante et étude du pouvoir d'inhibition sur l' $\alpha$  - amylase et l' $\alpha$  – glucosidase des extraits naturels de la plante *Genista*. *Thèse de doctorat L'École Normale Supérieure de Kouba-Alger, pp 36*
- **Khacheba I, boussoussa H, Djeridane A, Bekhaoua A, Bensayah N, Yousfi M.** 2016.  $\alpha$ -Glucosidase Inhibitory Effect and Antioxidant Activity of the Extracts of Eighteen Plant Traditionally Used in Algeria for Diabetes. *journal. Algérie.*
- **Kukko M, Kimpimaki T, Kupila A, Korhonen S, Kulmala P, Savola K, Simell T, Keskinen P, Ilonen J, Simell O, Knip M.** 2003. Signs of beta-cell autoimmunity and hla-defined diabetes susceptibility in the finnish population: The sib cohort from the type 1 diabetes prediction and prevention study. *Diabetologia*, 46:65-70.
- **Kumar, S., Narwal, S., Kumar, V., Prakash, O.,** 2011.  $\alpha$ -glucosidase inhibitors from plants: A natural approach to treat diabetes. *Pharmacognosy Reviews.* 5(9): 19-29.
- **Lamaison JLC, et Carnet A.** (1990). Teneurs en principaux flavonoids des fleurs de *Crataegus monogyna* Jacq et de *Crataegus laevigata* (Poir) D. C) en fonction de la végétation. *Pharmaceutica Acta Helvetiae.* 65, 315–320.

- **Maatoug**, Février (1990). « Nos plantes médicinales ». Lexiques cliniques des plantes médicinales non toxiques employées en Tunisie.
- **Mahmoudi S., Khali M et Mahmoudi N.** (2013) Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*cynara scolymus l.*). Nature & technologie. b- sciences agronomiques et biologiques, N° 09 : 35-40.
- **Marles RJ, Farnsworth NR.** (1995). Antidiabetic plants and their active constituents. *Phytomedicine* 2: 137-189.
- **Merzouki, A.U., Ed-derfoufi, F., Molero Mesa, J. (2000).** Contribution to the knowledge of Rifian traditional medicine. II: Folk medicine in Ksar Lakbir district NW Morocco, *Fitoterapia*, 71, 278-307.
- **Negi S, Baner J,** 2006.-Amylase and protease production from *Aspergillus awamori*. *Food Technol. Biotechnology*.44 (2): 257-261
- **OMS.**Rapport mondial sur le diabète.2016. Genève
- **Ozenda, P.** (1991). Flore et végétation du Sahara. Paris : 3ème édition CNRS. 279-280 p.
- **QUEZEL P., et SANTA S.,( 1963).**- Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Ed. Centre national de la recherche scientifique, Paris, 670p.
- **Ristic, D. Brikic, N.T.** Zalfija (*Salvia Officinalis. L*) Bric D (ed) Institute for medicinal plants Josif Panacic. Belgrade and Art Grafik Belgrade 1999; 151-167.
- **Salah .R. (2008).** Evaluation de la toxicité de deux Asteraceae du Sahara Algérienne : *Launaea arborescens* et *Bubonium graveolens*. *J. Annales de l'université de Béchar*. Algérie; 4:1112-6604.
- **Sales, P. M., Souza, P.M., Simioni, L. A., MagaJhes, P.D.O., Damaris, S., 2012.**  $\alpha$  amylase Inhibitors: A review of raw material and isolated compounds from plant source. *Pharmaceut Sci.* 15(1): 142-183.
- **Samy, R., et Gopalakrishnakon p.2008.** Therapeutic Potential of plants as Anti-microbial for Drug Discovery. *CAM Advance Access published, p.1-12.*
- **Scheen A.J, Letiexhe M.R, Geronooz I, Paquot, Jandrain N, B. (2002).** L Hyperglycémie Post-Principale. Approches thérapeutiques médicamenteuses. *Rev Med Liege*; 57: 4: 196-201..
- **Tiwari, P., Kumar, B., Kaur, M., Kaur, G., Kaur, H., 2011.** Phytochemical screening and Extraction: A Review. *Internationale Pharmaceutica Scientia*. Volume 1, p 98 - 106.
- **Tundis R, Loizzo MR, Menichini F. (2010).** Natural products as alpha-amylase and alpha-glucosidase inhibitors and their hypoglycaemic potential in the treatment of diabetes: an update. *Mini Rev Med Chem*, 10:315-331.
- **Weinman sege, Pierre Méhul. (2004).**Toute la Biochimie
- **YaoL.H., Jiang Y.M., SHI J., Tomas-Barberan F.A., Datta N., Singanusong R., et Chen S.S.** (2004). Flavonoids in Food and their health benefits. *Plant Food for Human Nutrition*.59 ,113-122.

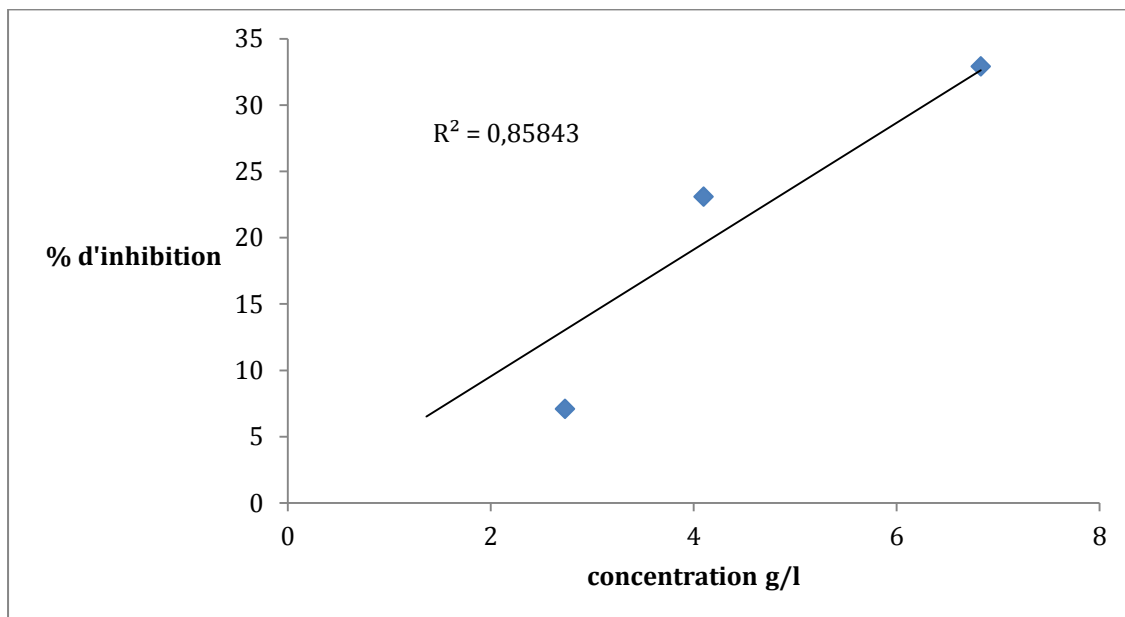


# Annexe

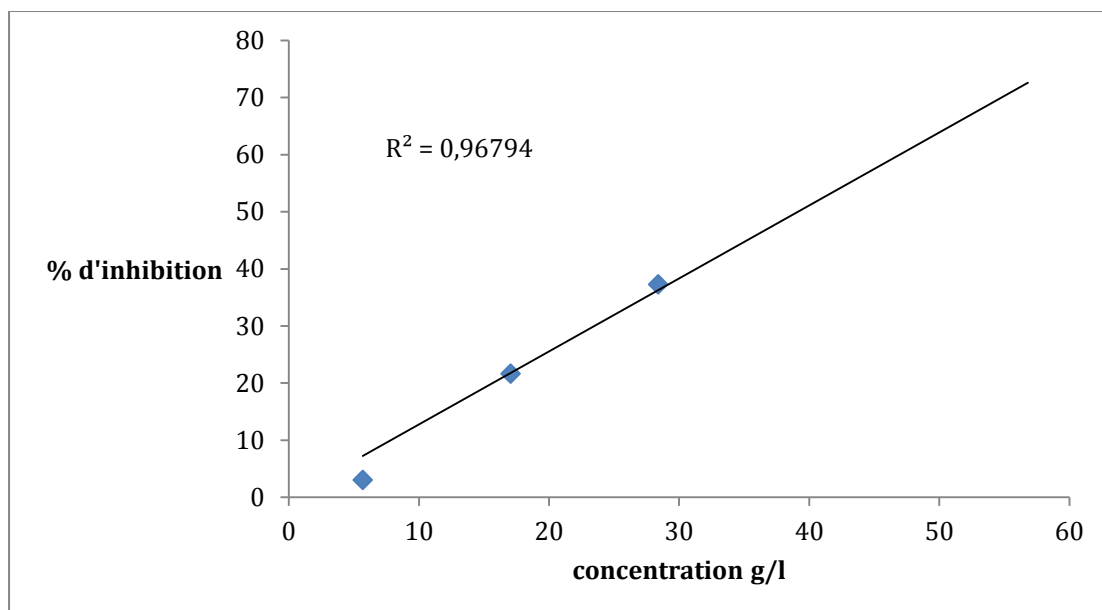
## **Courbes pour la détermination de IC 50**



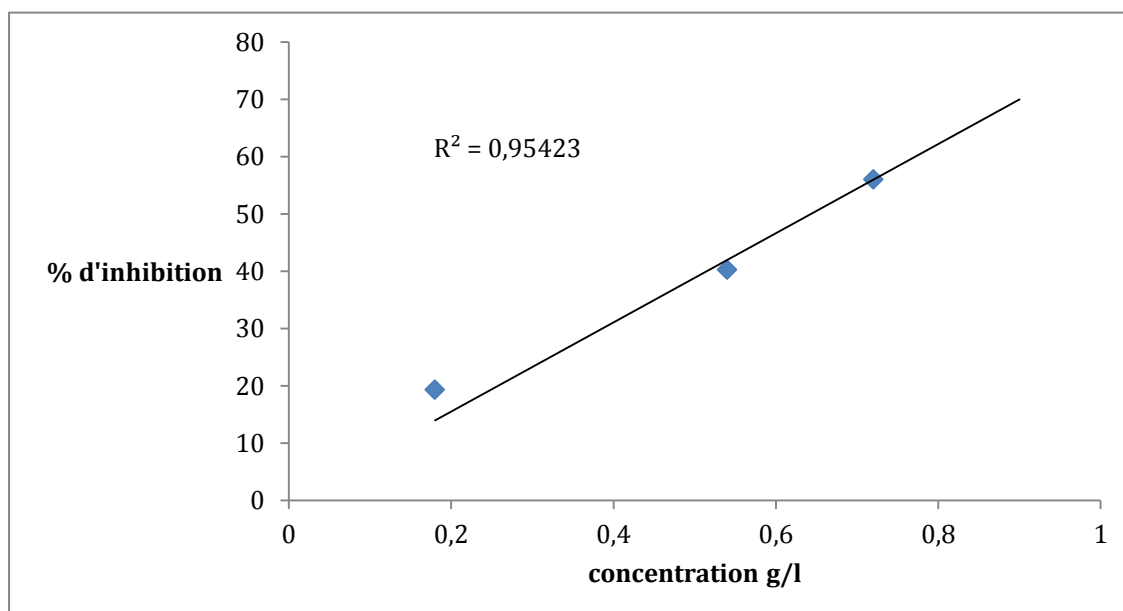
**Variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration de l'extrait de DCM de la plante *Ammodaucus leucotrichus***



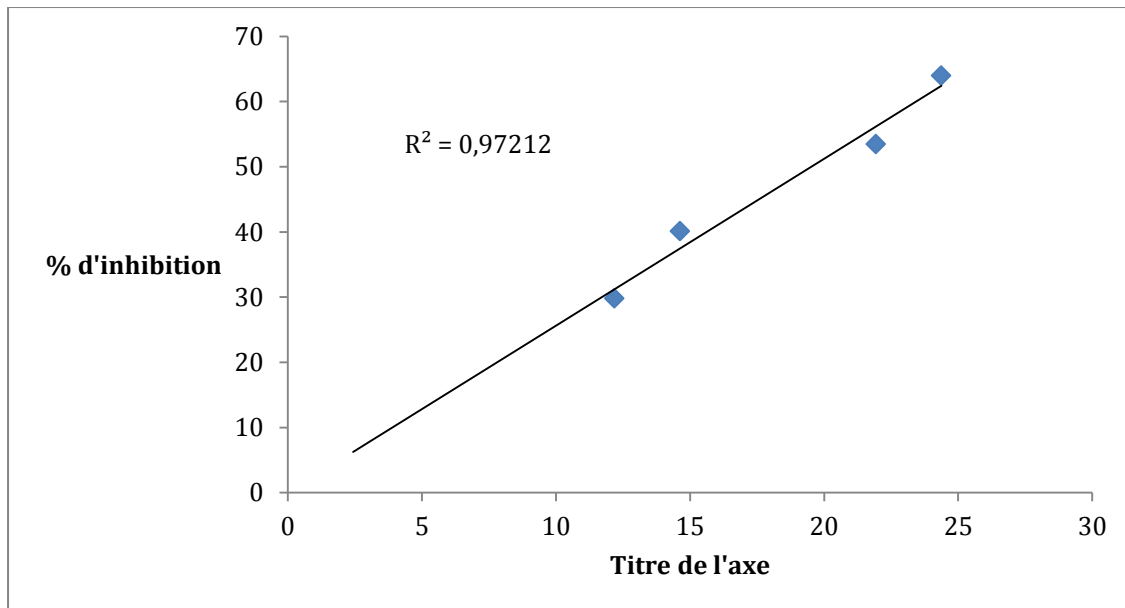
**Variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration de l'extrait de DCM de la plante *Bubonium graveolens***



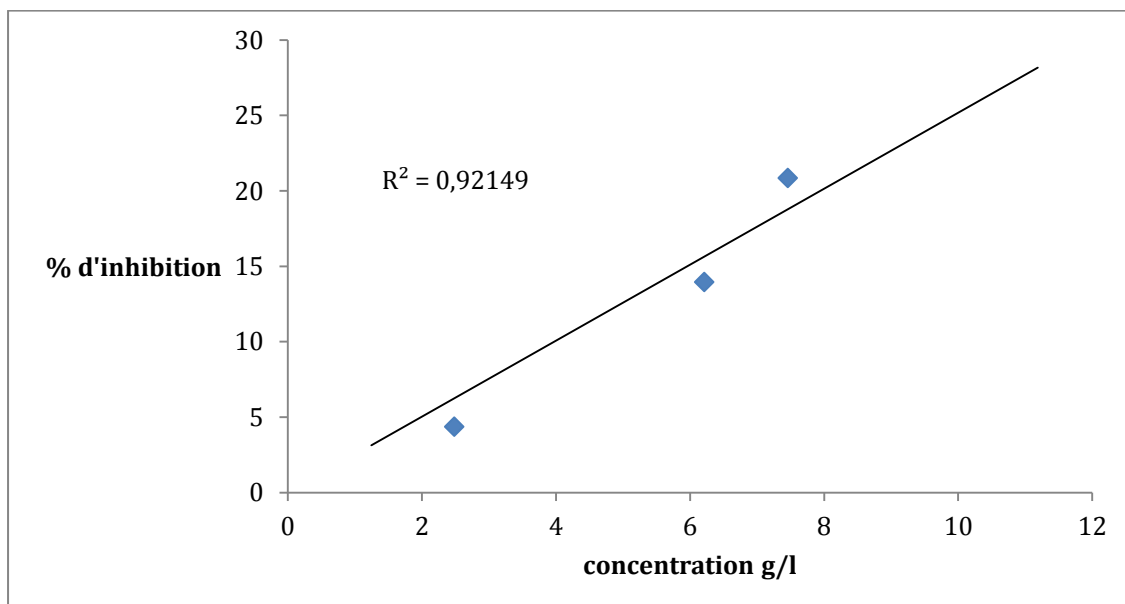
**Variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration de l'extrait de DCM de la plante *Linaria aegyptiaca***



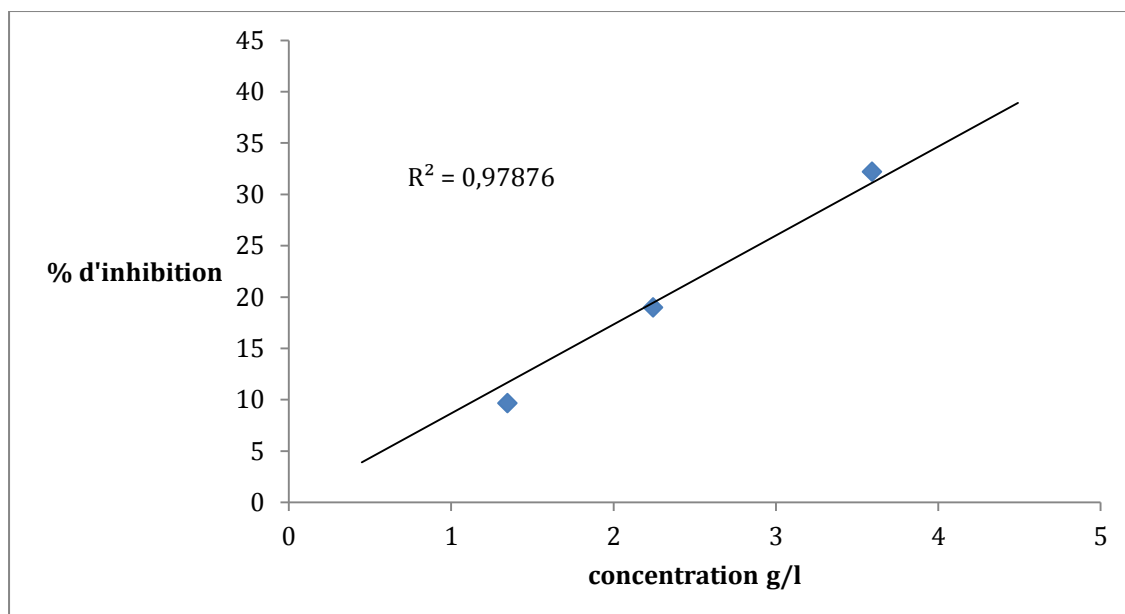
**Variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration de l'extrait de DCM de la plante *Salvia officinalis***



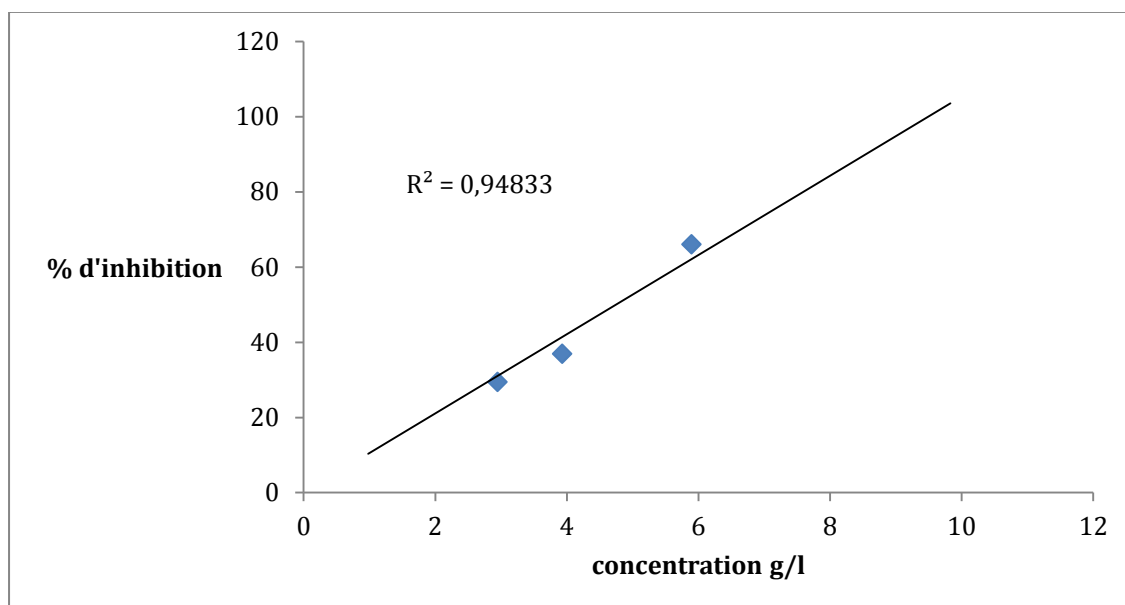
**Variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration de l'extrait de acétate d'éthyle de la plante *Ammodaucus leucotrichus***



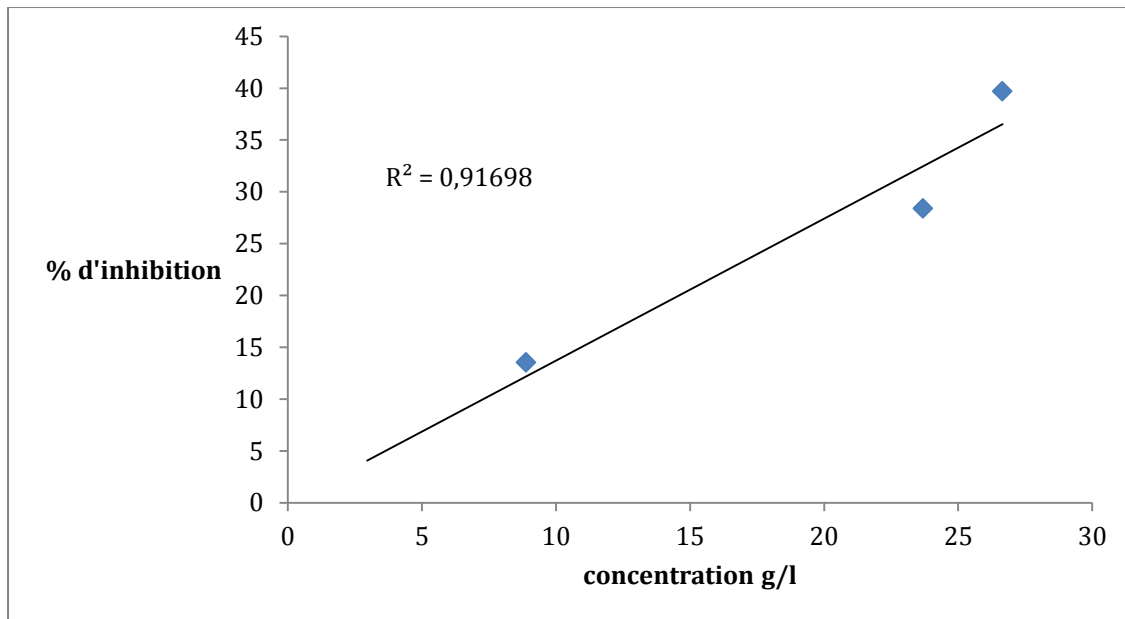
**variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration de l'extrait de acétate d'éthyle de la plante *Bubonium graveolens***



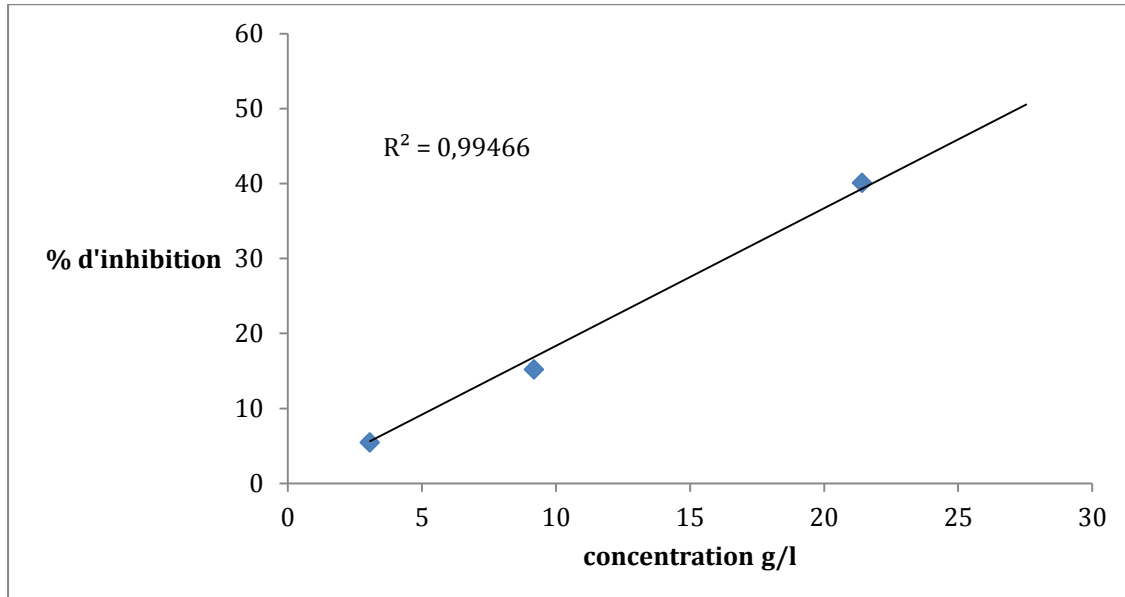
**Variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration de l'extrait de acétate d'éthyle de la plante du *Linaria aegyptiaca***



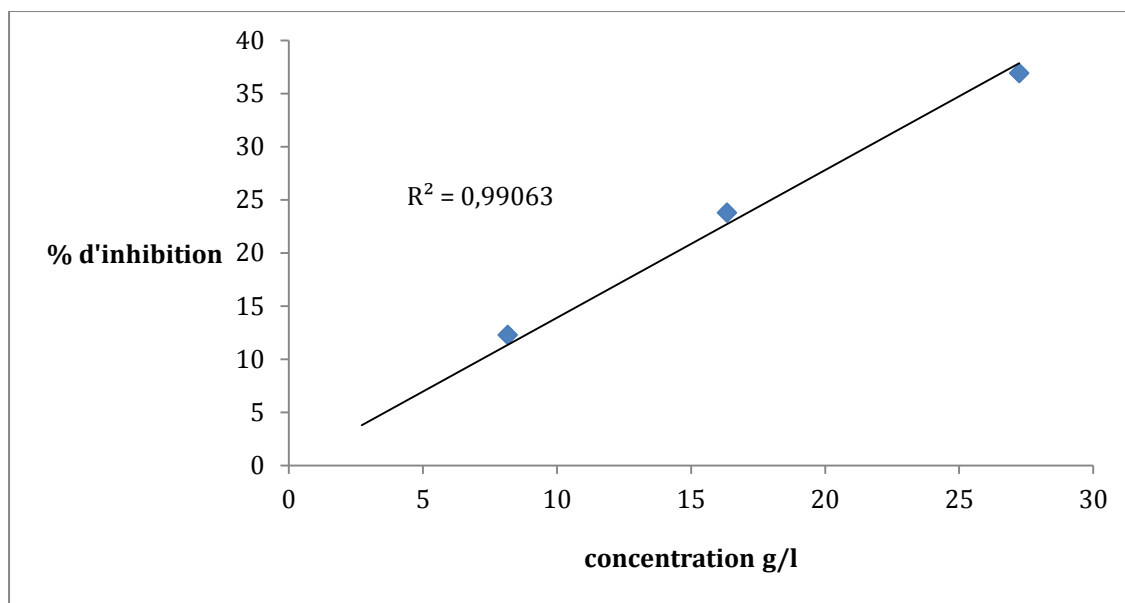
**Variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration de l'extrait de acétate d'éthyle de la plante *Salvia officinalis***



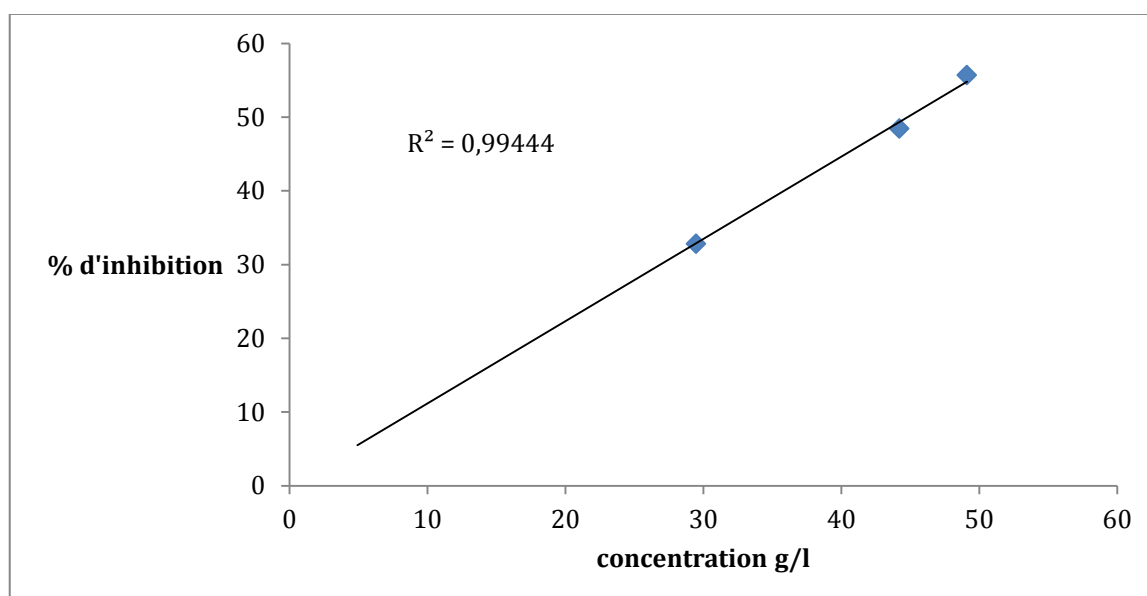
**Variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration de l'extrait d'éthanol de la plante *Ammodaucus leucotrichus***



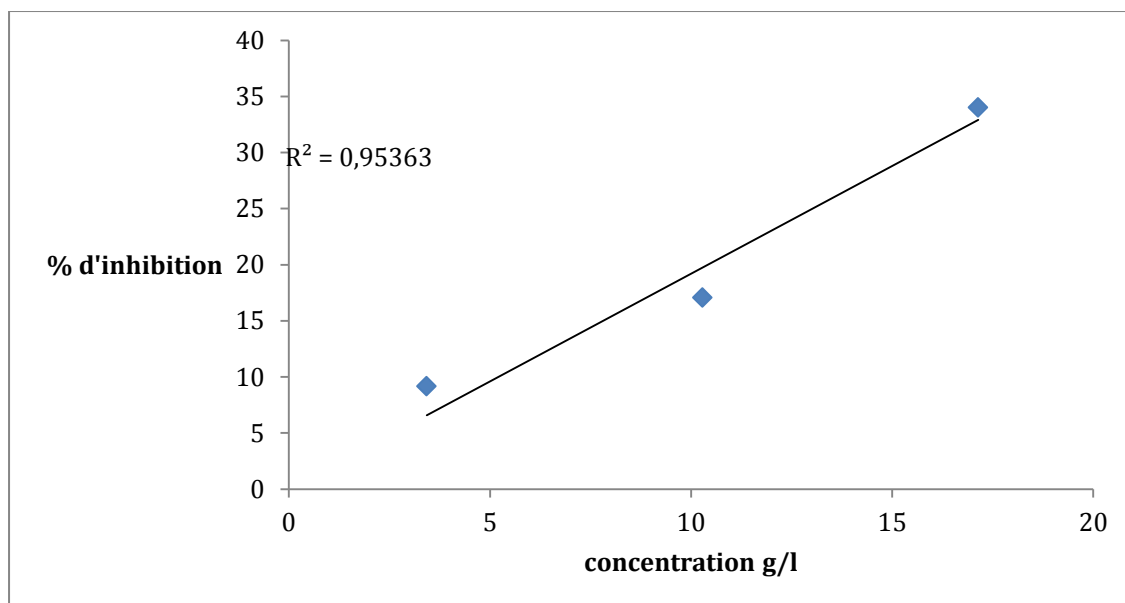
**Variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration de l'extrait d'éthanol de la plante *Bubonium graveolens***



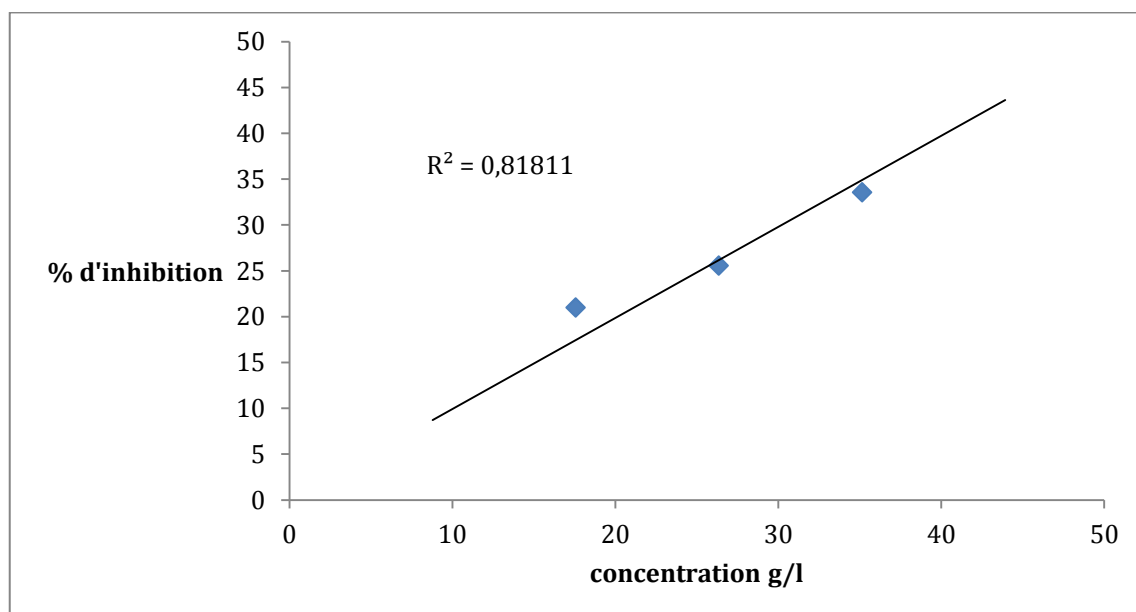
**Variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration de l'extrait d'éthanol de la plante *Linaria aegyptiaca***



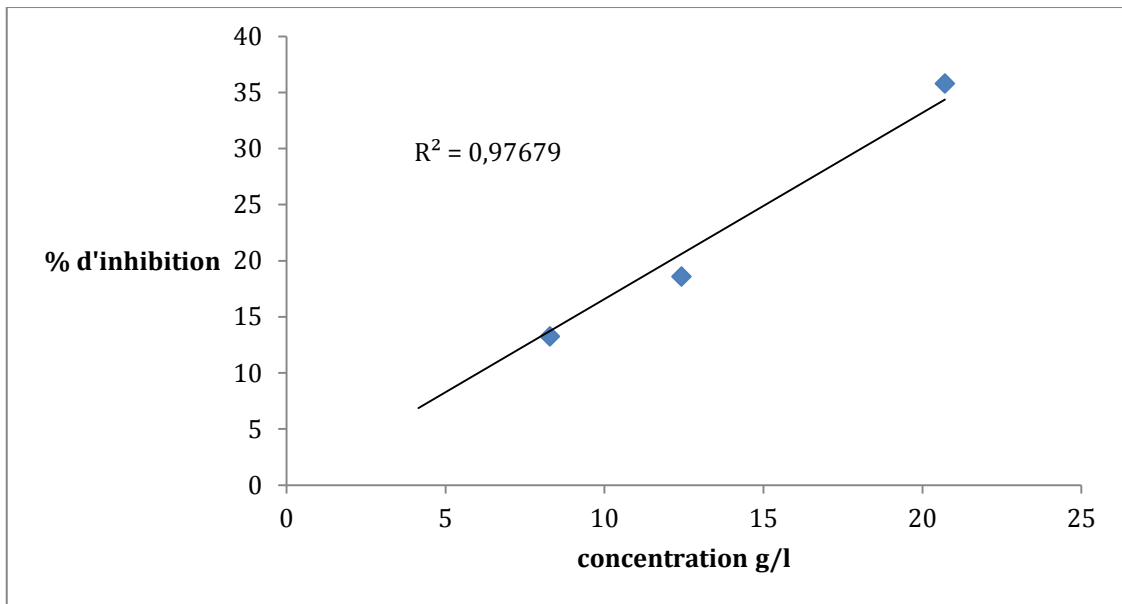
**Variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration de l'extrait d'éthanol de la plante *Salvia officinalis***



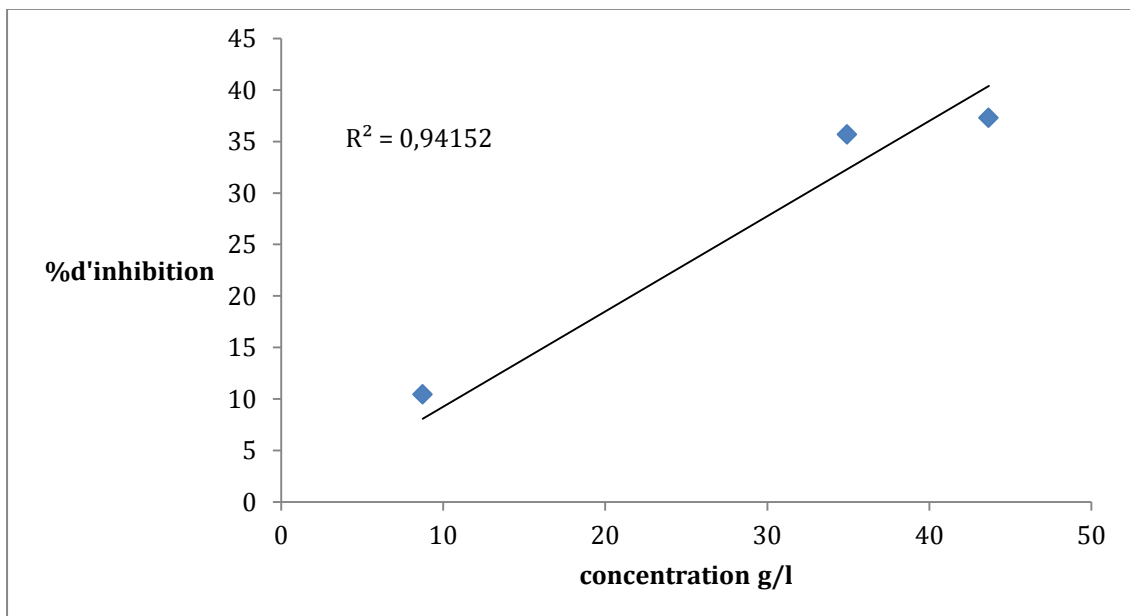
**Variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration de l'extrait de méthanol de la plante *Ammodaucus leucotrichus***



**Variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration de l'extrait de méthanol de la plante *Bubonium graveolens***



**Variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration de l'extrait de méthanol de la plante *Linaria aegyptiaca***



**Variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration de l'extrait de méthanol de la plante *Salvia officinalis***