

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Amar Telidji -Laghouat
Faculté des Sciences
Département de Biologie



Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de Master
Filière : Sciences Biologiques
Option : Biochimie appliquée

THEME

Extraction et Evaluation des Activités Biologiques de la Plante
Sesamum Indicum. L

Présenté Par :

Wiam BEN TIRECHE

Abir HAIMOUD

Devant le jury composé de :

Farouk BENACEUR

MCA

Président

Abderrezak BOUHAREB

MRB

Examineur

Abdelhak DJEMEL

MRB

Promoteur

Année Universitaire 2022- 2023



Remerciement



Louanges à **ALLAH**, Seigneur de l'univers, pour toute la grâce et la miséricorde qu'Il nous a accordée tout au long de nos études.

Nous tenons à exprimer notre profonde reconnaissance à notre encadrant, Monsieur **Abdelhak DJEMEL**, Docteur à l'Unité de recherche sur les plantes médicinales de Laghouat, pour avoir accepté de diriger notre travail de bout en bout, pour sa disponibilité, ses orientations et ses conseils efficaces.

Nous tenons tout particulièrement à remercier Monsieur **Farouk BENACEUR**, Docteur à l'Université de Laghouat, pour nous avoir honoré en acceptant de présider ce jury de soutenance.

Nous tenons à adresser nos vifs remerciements à Monsieur **BOUCHAREB Abderrezak**, Docteur à l'Unité de recherche sur les plantes médicinales de Laghouat, d'avoir accepté d'être examinateur de notre travail.

Un grand remerciement au Monsieur **Farouk BENACEUR**, Directeur de l'unité de recherche sur les plantes médicinales de Laghouat, ce qui nous a donné l'opportunité de réaliser ce travail au sein des laboratoires de l'unité URPM.

Nous remercions tous **nos camarades** et **collègues** de notre promotion pour la bonne atmosphère et la bonne entente entre nous.

Que tous **ceux qui de près ou de loin** nous assistent et aident et dont les noms n'ont pas été cités, trouvent ici l'expression de notre profonde gratitude.

Wiam et Abir





Dédicace

Je remercie le bon dieu de m'avoir donné le courage pour réaliser ce travail et la patience pour aller jusqu'au bout du parcours de mes études.

Je dédie ce modeste travail à :

À ma mère qui n'a jamais douté de moi et qui m'a aidé et encouragé tout au long de mes études.

À mon père pour leur présence de tous les instants.

À mes chères sœurs Kheira, Amina, Samah.

À mes chers frères Aissa, Yacine.

À toutes mes familles Haimoud & Bey.

À mon ami "WAFA et WIAM" que je remercie pour tous ces efforts.

À tous mes professeurs.

À toutes mes amies en témoignage de l'amitié sincère qui nous a liées et des bons moments passés ensemble.

ABIR





Dédicace



À l'aide d'Allah tout puissant, qui m'a tracé le chemin de ma vie et m'a donné la force et le courage pour réaliser cet humble travail que je dédie:

À Ma force et mon abri sûr et mon soutien mon chère père Tayeb qui m'a soutenu tout au long des dernières années scolaires pour atteindre mes objectifs.

À la source de la vie et la personne qui m'a donné une vie ma héroïne, mon premier professeur ma chère mère Dahouia que ni lieu ni temps ne peuvent répéter.

À mes chères sœurs: Fatima et Bakhta

À mes chères frères: Ameer, mohammed et Abd El ahmane .

À toute la famille: Ben Tireche.

À toute mes amies surtout ma chérie Noura.B et mon binome Abir que je remercie pour tous ces efforts.

À toute la promotion de Biochimie appliquée.

WIAM



Liste des figures

Figure I.1 :	La plante <i>Sesamum indicum</i>	04
Figure I.2 :	Structure chimique du cholestérol et des principaux phytostérols	06
Figure I.3 :	Structure chimique de tocophérols	08
Figure I.4 :	Structure des lignanes	08
Figure I.5 :	Lignanes des graines de <i>Sésame</i>	10
Figure I.6 :	Structure des glucosides de lignane	11
Figure II.1 :	Voie métabolique de l'oxygène et des espèces réactives de l'oxygène	23
Figure II.2 :	Les conséquences du stress oxydant	23
Figure II.3 :	Transfert d'électron entre l'antioxydant et le radical libre	24
Figure II.4 :	Effet inhibiteur de l'Acarbose sur l'enzyme alpha glucosidase	25
Figure III.1 :	Préparation des grains de Sésame (torréfaction et broyage)	29
Figure III.2 :	Huile d'hexane obtenu par extraction par macération	30
Figure III.3 :	Huile-éthanoïque obtenu par extraction assistée par ultrasons	30
Figure III.4 :	Transformation du radical DPPH [•] en DPPHH	33
Figure III.5 :	Formation et piégeage du radical ABTS ^{•+} par un antioxydant donneur de H [•]	34
Figure III.6 :	Formation du complexe Fe ⁺² -phénantroline	35
Figure III.7 :	Formation du complexe amylose-iodure en absence de l' α -amylase	37
Figure IV.1 :	Courbe d'étalonnage de l'acide gallique	40
Figure IV.2 :	Evaluation des polyphénols totaux des extraits des grains de Sésame : l'extrait à l'éthanol-ultrasons (EtU) et extrait à l'éthanol-macération (EtM)	40
Figure IV.3 :	Valeurs IC ₅₀ du test DPPH [•] des extraits : à l'éthanol-ultrasons (EtU), et à l'éthanol macération (EtM)	43
Figure IV.4 :	Valeurs IC ₅₀ du test ABTS ^{•+} des extraits : à l'éthanol-ultrasons (EtU), et à l'éthanol-macération (EtM)	44
Figure IV.5 :	Valeurs des A _{0.5} dans le test phénanthroline des extraits : à l'éthanol-ultrasons (EtU), et à l'éthanol-macération (EtM)	46
Figure IV.6 :	Valeurs des IC ₅₀ du test d'inhibition de l' α -amylase des extraits : au mélange méthanol/chloroforme-macération (MM), à l'éthanol-macération (EtM), au mélange méthanol/chloroforme- ultrasons (MU), et à l'éthanol-ultrasons (EtU)	48

Liste des tableaux

Tableau I.1 : Classification systématique l'espèce <i>Sesamum indicum L</i>	04
Tableau I.2 : Pourcentage des desméthylstérois dans l'huile de <i>Sésame</i>	07
Tableau I.3 : Teneur des lignanes (mg/100 g huile) dans les différentes graines de <i>Sésame</i>	09
Tableau III.1 : Préparation de la gamme d'étalon de l'acide gallique	31
Tableau IV.1 : Rendement d'extraction par macération et ultrason de différents extraits obtenus dans différents solvants : Hexane, chloroforme/méthanol et éthanol	39
Tableau IV.2 : Le contenu total en polyphénols des extraits de <i>Sésame</i>	39
Tableau IV.3 : Propriétés thermodynamiques des solvants utilisés dans l'extraction	41
Tableau IV.4 : Inhibition du radical DPPH [•] par les extraits de grains de <i>Sésame</i>	43
Tableau IV.5 : Inhibition du cation radical ABTS ^{•+}	44
Tableau IV.6 : Absorbance du complexe Fe ⁺² - phénantroline	46
Tableau IV.7 : Inhibition de l'enzyme α -amylase	47

Liste des abréviations

- ADN** : Acide Désoxyribonucléique
- AGPI** : Acides gras polyinsaturés des alvéoles pulmonaires
- A_{Contrôle}** : L'absorbance du contrôle négatif
- A_{Extrait}** : L'absorbance de l'extrait/standard
- ABTS** : Sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)
- ABTS⁺⁺** : Acide 2,2'-azino-bis 3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique.
- BHA** : Hydroxy-yanisole butylé
- BHT** : Hydroxy-toluène butylé
- C-HDL** : Cholestérol des lipoprotéines de haute densité
- C-LDL** : Cholestérol des lipoprotéines de faible densité
- DPPH[•]** : 2,2-diphényle-1-picrylhydrazyl
- ERO** : Espèces réactives de l'oxygène
- Fe²⁺** : Fer ferreux
- Fe³⁺** : Fer ferrique
- FeCl₃** : Chlorure ferrique
- IC₅₀** : Concentration inhibitrice de 50 %
- K₂S₂O₈** : Persulfate de potassium
- TEAC** : Trolox equivalent antioxidant capacity
- Trolox** : Acide 6-hydroxy-2, 5,7, 8-tétraméthylchroman-2-carboxylique

Sommaire

Introduction générale	01
-----------------------	----

Première partie : Synthèse bibliographique

Chapitre I. Présentation de la plante Sesamum indicum L

I.1. L'espèce <i>Sesamum indicum</i>	03
I.2. Description botanique de l'espèce <i>Sesamum indicum</i>	03
I.3. Taxonomie de l'espèce <i>Sesamum indicum</i>	04
I.4. Composition chimique de l'espèce <i>Sesamum indicum</i>	05
I.5. Effet de la torréfaction sur l'activité antioxydante de l'huile	11
I.6. Effet de la torréfaction sur les différentes classes de lipides	12
I.7. Profil nutritionnel et médical du <i>Sesamum indicum</i>	12
Références	15

Chapitre II. Stress oxydatif et diabète

II.1. Définition	22
II.2. Les radicaux libres	22
II.3. Les antioxydants	23
II.4. Le diabète	24
Références	26

Deuxième partie : Partie expérimentale

Chapitre III : Matériels et méthodes

III.1. Préparation du matériel végétal	29
III.2. Méthodes d'extraction	29
III.2.1. Extraction par macération	29
III.2.2. Extraction assistée par ultrasons	30
III.3. Détermination du contenu total en polyphénols	31
III.4. Activités biologiques	32
III.4.1. Préparation des dilutions des extraits	32

III.4.2. Activités anti-oxydantes	32
III. 4.2.1. Activité anti-radicalaire au DPPH [•]	32
III.4.2.2. Activité du piégeage du cation radical ABTS ^{•+}	34
III.4.2.3. Activité de réduction par la formation du complexe Fe ⁺² -phénotroline	35
III.4.3. Activités antidiabétique	36
III.4.3.1. Inhibition de l'enzyme alpha-amylase	36
Références	38

Chapitre IV : Résultats et discussion

IV.1. Rendements d'extraction	39
IV.2. Teneur totale en polyphénols	39
IV.3. Activités anti-oxydantes	42
IV.3.1. Activité anti-radicalaire au DPPH [•]	42
IV.3.2. Activité du piégeage du cation radical ABTS ^{•+}	44
IV.3.3. Activité de réduction par la formation du complexe Fe ²⁺ -Phénotroline	45
IV.4. Evaluation de l'activité antidiabétique	47
IV.4.1. Inhibition de l'alpha amylase	47
Références	49
Conclusions générales	51

Introduction générale

Introduction générale

Pendant des milliers d'années, la race humaine a été en conflit avec les maladies, car leur instinct les a poussés à utiliser les plantes dans la médecine et le traitement des maladies, et cet acte s'est développé à travers le temps où l'efficacité de ces plantes a été découverte dans le traitement, car il était considéré comme réservoir de nouveaux médicaments. Elles sont considérées comme source de matière première essentielle pour la découverte de nouvelles molécules nécessaires à la mise au point de futurs médicaments [1].

Dans ce contexte, parmi les plantes, les plus anciennes, les plus connues et les plus utilisées par l'homme, est le *Sésame*. Cette dernière est l'une des plantes oléagineuses les plus cultivées pour ses graines comestibles. La culture du *Sésame* a été extraite d'Asie du Sud à l'époque harappéenne, puis s'est propagée vers l'ouest jusqu'en Irak avant 2000 avant JC, puis s'est déplacée vers l'Inde [2]. Le *Sésame* appartient à la famille des *Pedaliaceae* et joue un rôle important en médecine et en pharmacologie [3], dues à son huile végétale riche en produits chimiques et possédant un large éventail d'activités biologiques (antioxydant, hypocholestérolémiants, anticancéreux et antiviellissement) [4]. Les lignanes et les glycosides de lignanes des graines de l'huile de *Sésame* sont responsables des propriétés ci-dessus [5].

Notre travail vise principalement à extraire les lipides et les composés phénoliques de la plante de *Sésame* et à valoriser ses huiles végétales en étudiant ses activités biologiques, notamment son effet antioxydant et son efficacité à réduire la glycémie.

Pour ce faire, ce manuscrit est organisé en deux parties : La première partie est une synthèse bibliographique qui donnera un aperçu sur les différentes notions abordées dans ce travail : tel que la présentation de la plante *Sésame*, le stress oxydatif et le diabète. Dans la deuxième partie, nous détaillerons les méthodes utilisées ainsi et les stratégies relatives à l'étude et les procédures expérimentale suivies ; présentation des résultats obtenus, leurs discussions et interprétations. Finalement on termine par une conclusion générale récapitule les principaux résultats obtenus au cours de ce travail.

Références

- [1] Chenni, M. (2010). Contribution à l'étude chimique et biologique de la racine d'une plante médicinale : *Bryoniadioica* Jacq. *Mémoire de Magister. Université d'Oran Es-Senia, Algérie.*
- [2] Islam, F., Gill, R. A., Ali, B., Farooq, M. A., Xu, L., Najeeb, U., & Zhou, W. (2016). Sesame. *In Breeding Oilseed Crops for Sustainable Production*, 135-147.
- [3] Gharby, S., Harhar, H., Bouzoubaa, Z., Asdadi, A., El Yadini, A., & Charrouf, Z. (2017). Chemical characterization and oxidative stability of seeds and oil of sesame grown in Morocco. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 16(2), 105-111.
- [4] Kang, M. H., Y. Kawai, M. Naito, and T. Osawa. (1999). Dietary defatted sesame flour decreases susceptibility to oxidative stress in hypercholesterolemic rabbits. *J. Nutr.* 129:1885–1890.
- [5] Suja, K. P., T. J. Abraham, N. S. Thamizh, A. Jayalekshmy, and C. Arumughan. (2004). Antioxidant efficacy of sesame cake extract in vegetable oil protection. *Food Chem.* 84:393–400

Synthèse
Bibliographique

Chapitre I

Présentation de la plante Sesamum indicum L

I. Présentation de la plante *Sesamum indicum*

I.1. L'espèce *Sesamum indicum*

Le sésame (*Sesamum indicum*. L., synonyme avec *Sesamum orientale* L.) appartient à la classe des dicotylédones, ordre des légumineuses, la famille des Pedaliaceae qui comprend 16 genres et environ 60 espèces [1]. Environ 36 espèces sous le genre *Sesamum* sont originaires d'Afrique tropicale. Quelques-unes des espèces africaines se sont propagées en Asie et en Amérique du sud. L'Inde détient aussi certaines espèces (*S. capense*, *S. prostratum* et *S. schenckii*) qui laissent penser que c'est le lieu d'origine du Sésame [2]. Parmi le genre *Sesamum* seul le *Sesamum indicum* est largement cultivé. La graine de sésame compte parmi les graines oléagineuses des plus riches en huile, seulement la culture de ces graines est moins répandue que celle des autres graines tels que le tournesol, le soja ou encore le colza en raison du coût de production notamment la récolte qui n'est pas automatisée. Les graines de sésame peuvent devenir une source principale d'oléagineux à condition d'aboutir à un prix inférieur en augmentant les rendements et réduisant les coûts de production [3].

I.2. Description botanique de l'espèce *Sesamum indicum*

Le *Sesamum indicum* pousse dans les régions tropicales et subtropicales. C'est une plante annuelle, droite qui peut se développer entre 50 cm et 250 cm de hauteur, en fonction de la variété et des conditions de croissance. La tige (**figure I.1**) est quadrangulaire, sillonnée longitudinalement, et densément poilue. L'étendue de la pilosité sur la tige peut être classée comme lisse légèrement et très poilue, elle est liée à la variété de *Sésame*. Le degré et le type de ramification de la tige sont également des caractères variétaux importants [4].

Les feuilles sont velues sur les deux côtés et sont très variables dans la forme et la taille non seulement entre les différentes variétés, mais aussi sur la même plante. Les feuilles opposées décussées sur les parties inférieures sont, ovales, parfois palmatilobées ou composées palmées, de couleur vert terne et grossièrement dentées. Les feuilles supérieures sont alternées ou super opposées et lancéolées. L'agencement des feuilles influe sur le nombre de fleurs nées dans les aisselles et donc le rendement en graines par plante.

Les graines de *Sésame* sont de petite taille (3-4 mm de long et 1,5-2 mm de large), plates, ovales, lisses, ou réticulées. La couleur varie du blanc, jaune, gris, rouge, marron, au noir. Il est généralement admis que les graines de couleur claire avec des couches minces sont meilleures quant à la qualité et la teneur en huile que les graines de couleur foncée.



Figure I.1. La plante Sesamum indicum

I.3. Taxonomie de l'espèce *Sesamum indicum*

Comme toutes plantes cultivées, il existe de très nombreuses variétés de *Sésame* pouvant se différencier par leurs dimensions, leur forme, leur type de croissance, la couleur des fleurs, la grandeur, la couleur et la composition des graines [5]. Le tableau suivant enregistre la systématique du *Sésame* :

Tableau I.1. Classification systématique l'espèce Sesamum indicum [6]

Domaine	Eukaryota
Règne	Plantae
Sous-Règne	Vridéaplantae
Embranchement	Spermatophyta
Classe	Dicotylédonea
Division	Magnolidae
Ordre	Lamiales
Famille	Pédaliaceae
Genre	<i>Sesamum</i> L
Espèce	<i>Sesamum indicum</i> L

I.4. Composition chimique de l'espèce *Sesamum indicum*

Les graines de *Sésame* ont une valeur alimentaire élevée en raison de leur haute teneur en huile et en protéines. La composition chimique des graines de *Sésame* varie selon la variété, l'origine, la couleur et la taille des graines. Ils contiennent 6-7% d'humidité, 17-32% de protéines, 28-55% d'huile, 14-16% de sucres, 6-8% de fibres et 5-7% de cendres [7, 8].

I.4.1. Teneur en Huile

Les graines de *Sésame* contiennent plus d'huile que les principaux oléagineux, comme les graines de soja, colza et du tournesol. La teneur en huile varie de 28% à 59% selon la variété de graines de *Sésame* [9, 10]. Les variétés spontanées contiennent moins d'huile (environ 30%) que les espèces cultivées, car la teneur en huile est un critère important pour la sélection des graines dans l'agriculture [11].

I.4.2. Lipides

Le lipide majeur des graines de sésame est le triacylglycérol, qui est présent à près de 90% dans l'huile. Il a un faible pourcentage en acides gras saturés et un pourcentage plus élevé en acides gras insaturés par rapport aux autres classes de lipides tels que : diacylglycérols, acides gras libres, et esters de stérol.

I.4.3. Acides gras

L'huile de *Sésame* est caractérisée par un équilibre en acide oléique-linoléique. Elle contient moins de 20% d'acides gras saturés, principalement l'acide palmitique (7,9-12%) et stéarique (4,8-6,1%), alors que les acides oléique et linoléique constituent plus de 80% de la totalité en acides gras de cette huile. Les huiles de graines de *Sésame* spontanées, par conséquent, sont plus riches en acides gras saturés comparés aux huiles des graines cultivées [9, 12,13].

I.4.4. Les stérols

Ce sont des alcools stéroïdes constitués d'un assemblage tétracyclique cyclopentaphénanthréniq (A, B, C, D) comprenant un groupement hydroxyle en position 3 du cycle A et une chaîne latérale (**Figure.I.2**). Ils sont synthétisés à partir du squalène selon la voie isoprénoïde [14]. Selon la Norme Codex, l'huile de *Sésame* peut contenir des teneurs supérieures à 1,9% des stérols totaux, c'est l'une des sources les plus riches en phytostérols [12].

Le **tableau I.2** présente la composition en stérols dans l'huile de *Sésame*. Le β -sitostérol est le stérol le plus abondant dans l'huile de *Sésame*. Il y a aussi le campestérol, stigmastérol, Δ^5 -avenastérol, Δ^7 -avenasterol, et Δ^7 -stigmastérol qui sont présents par ordre décroissant d'abondance. Parfois des traces de cholestérol (<0,5%) ont été trouvées dans l'huile de *Sésame*.

L'huile produite à partir d'espèces spontanées de *Sésame* contient des teneurs plus élevées en stérols, particulièrement Δ^5 - et Δ^7 -avenastérols. Ces deux stérols, ont montré des effets anti-polymérisation protégeant les huiles végétales de l'oxydation à haute température [15, 16].

La consommation des phytostérols peut réduire le cholestérol sanguin total et le taux de **C-LDL** chez les sujets hypercholestérolémies et normecholestérolémie sans affecter les teneurs de cholestérol des lipoprotéines de haute densité (**C-HDL**) ou triglycérides. En outre, les stérols végétaux ont montré des propriétés anti-inflammatoires chez l'Homme et l'animal [17].

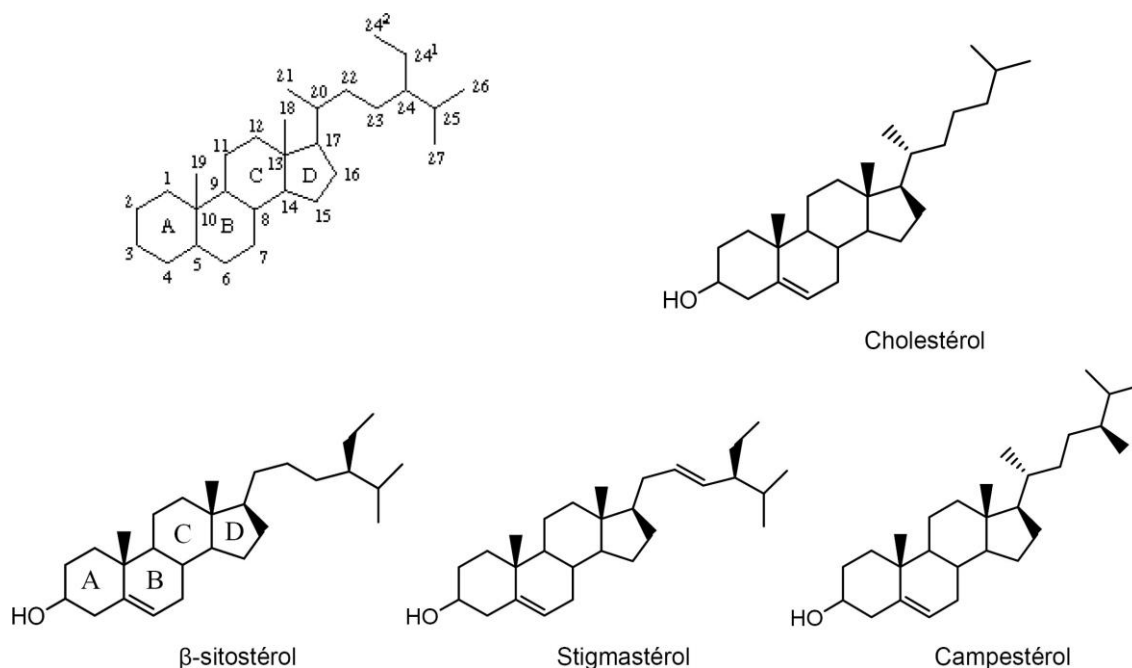


Figure. I.2. Structure chimique du cholestérol et des principaux phytostérols.

Tableau I.2. Pourcentage des desméthylstérois dans l'huile de Sésame [17, 18].^a

Démethyl stérois	Codex	Sésame cultivé ^b	Sésame spontané ^c
Cholestérol	0,1 - 0,5	0,2 - 0,3	0,1 - 0,2
Brassicatérol	0.1- 0.2	-	-
Campestérol	10,1 - 20,0	12,5 - 16,9	10,3 - 20,5
Stigmastérol	3,4 - 12,0	6,0 - 8,7	4,4 - 14,2
β-sitostérol	57,7 - 61,9	57,5 - 62,0	33,9 - 60,2
Δ⁵-avenastérol	6.2-7.8	8.1-11.5	12.4 - 23.5
Δ⁷-stigmastérol	0.5 - 7.6	0.4 - 3.1	0.1 - 3,0
Δ⁷-avenastérol	1.2-5.6	0.3-1.3	0.9-3.7
Autres	0,7 - 9,2	3.6- 6.1	4.6-7.3
Total des stérois (mg/kg)	4500-19000	4335-6764	3420-10005

^a exprimé en pourcentage des stérois totaux.

^b Espèces de sésame cultivées au Soudan.

^c Espèce de sésame spontanée au Soudan.

I.4.5. Tocophérols

Les tocophérols désignent un ensemble de molécules composées d'un noyau 2-méthyl-6-chromanol et d'une chaîne phytyle entièrement saturée (28 carbones). Les différentes formes de tocophérols (α , β , γ et δ) se distinguent entre eux par le nombre et la situation des groupements méthyles fixés sur le noyau chromanol (**Figure I.3**). Parmi ces composés, le plus fréquemment retrouvé dans la nature est l' α -tocophérol, qui présente également l'activité vitaminique la plus élevée.

L'huile de *Sésame* est bien connue pour sa stabilité à l'oxydation ; l'une des raisons pour cette stabilité est attribuée à sa teneur en tocophérol qui varie de 330 mg/kg à 1010 mg/kg selon le Codex Standard [12]. Quelle que soit l'espèce et la couleur du tégument, le γ -tocophérol est le tocophérol prédominant de l'huile de *Sésame* [19,20, 21], tandis le δ -tocophérol représente moins de 5% des tocophérols totaux. L' α -tocophérol est présent dans l'huile de *Sésame* sous forme de traces seulement.

Parmi les isomères des différents tocophérols, le γ -tocophérol est l'antioxydant le plus puissant dans les huiles, mais il a une valeur vitaminique plus basse dans les systèmes biologiques que l' α -tocophérol [22]. Jiang et al [23] ont également montré que le γ -tocophérol et son principal métabolite, le 2,7,8-triméthyl-2-(b-carboxyéthyl)-6-hydroxychromane, possèdent une activité anti-inflammatoire peut être importante dans la prévention des maladies humaines, de manière efficace inhibant la cyclooxygénase-2 (COX-2) l'activité dans des cellules intactes, tandis que l' α -tocophérol est beaucoup moins efficace.

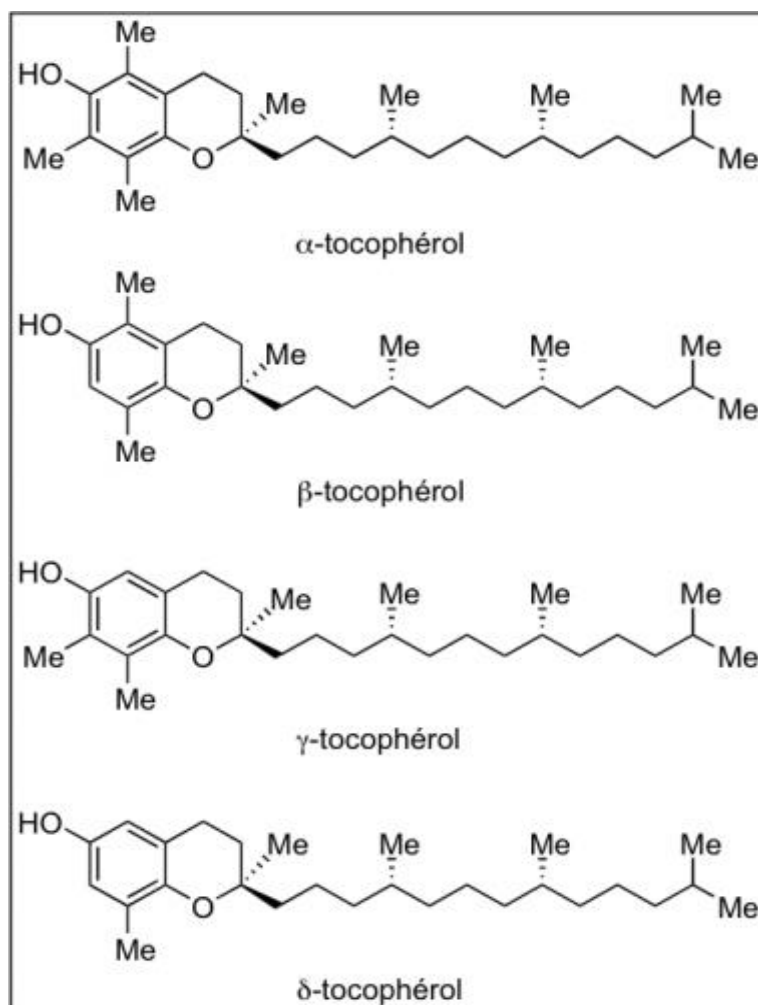


Figure I.3. Structure chimique de tocophérols

I.4.5. Lignanes

Les lignanes et les néolignanes constituent un vaste groupe de substances naturelles de nature polyphénolique très répandu chez les végétaux. Le terme lignane a été introduit pour décrire un groupe de dimères de phénylpropanoïdes dans lesquels les unités phénylpropanes sont liées par le carbone central (C8) de chaque chaîne propyle (**Figure I.4**). Ces molécules, vraisemblablement impliquées dans les mécanismes de défense chez la plante, sont également utiles pour l'homme [24].

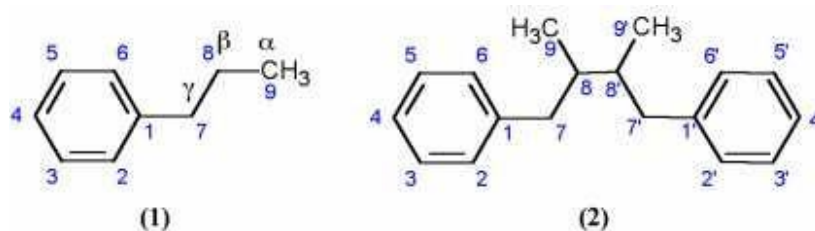


Figure. I.4. Structure des lignanes

Les graines de *Sésame* contiennent une diversité de lignanes furofuraniques, lesquels peuvent être divisés en deux types :

I.4.5.1. Lignanes solubles dans l'huile

Bien que l'huile de sésame contient près de 85% d'acides gras insaturés, elle est connue pour être très résistante au rancissement oxydatif et peut être conservée pendant de longues durées [25, 26]. Cette stabilité spécifique n'est pas seulement attribuée à la présence de tocophérols, mais elle est aussi associée aux lignanes [27]. Dans la graine de *Sésame*, le sésamine et le sésamoline sont les deux principaux lignanes. Les teneurs en lignanes dans 14 variétés de graines de sésame commercialisées et cultivées au Japon ont montré que le sésamine était toujours plus élevé que le sésamoline [28]. D'autres types de lignanes tels que le sésamol, sésamolinol, et sésaminol étaient présents en quantité mineure, comme indiqué dans le **tableau. I.3** [28]. Les structures des lignanes de *Sésame* sont illustrées dans la **figure I.5**.

Tableau I.3. Teneur des lignanes (mg/100 g huile) dans les différentes graines de Sésame

Couleur du tégument	Sésamine	Sésamoline	Sésamine	Sésamol	Sésamolinol	Sésaminol
Blanche	821,3	441,2	0,537	2,0	1,0	1,4
Blanche	410,6	441,2	0,537	2,5	1,0	1,0
Blanche	522,7	123,5	0,236	2,5	0,9	0,3
Blanche	885,2	476,5	0,538	ND	1,0	ND
Blanche	464,0	229,4	0,494	5,0	1,1	1,0
Jaune	453,3	247,0	0,545	Trace	0,3	Trace
Violet	464,0	317,6	0,684	2,5	1,5	1,1
Marron	528,0	264,6	0,501	Trace	0,7	Trace
Marron	682,7	458,8	0,672	4,0	1,2	1,0
Noire	502,5	441,2	0,878	3,6	1,2	1,1
Noire	314,3	235,3	0,749	10,8	1,9	1,1
Noire	362,7	229,4	0,632	2,5	0,8	0,5
Noire	154,7	152,9	0,988	4,9	0,9	0,9
Noire	293,3	294,0	1,002	6,5	1,1	1,2

ND : non détecté

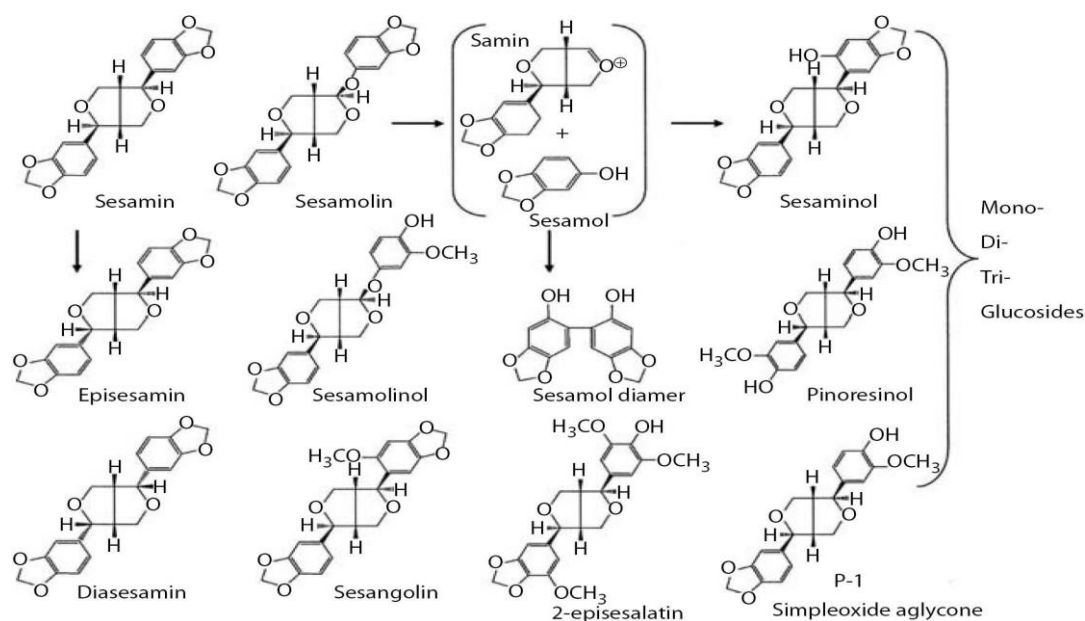


Figure .I.5. Lignanes des graines de Sésame.

I.4.5.2. Les lignanes glucosylés

Les graines de sésame contiennent de grandes quantités de glucosides de lignanes. Ce sont les formes glucosylées de lignanes. Bien que la plupart des lignanes se trouvent dans l'huile de graines de sésame, les lignanes glucosylés sont présents dans la farine de sésame et sont hydrosolubles. Les glucosides de lignanes isolés à partir de graines de *Sésame* étaient principalement des glucosides pinorésinol [29, 30], glucosides sésaminol avec des mono-, di-, et tri-glucosides dont deux isomères de di-glucoside [31, 32] et diglucoside sesamolol [33] (Figure .I.6). Le lignane glucoside le plus abondant dans les graines de *Sésame* est le triglucosidesésaminol [34].

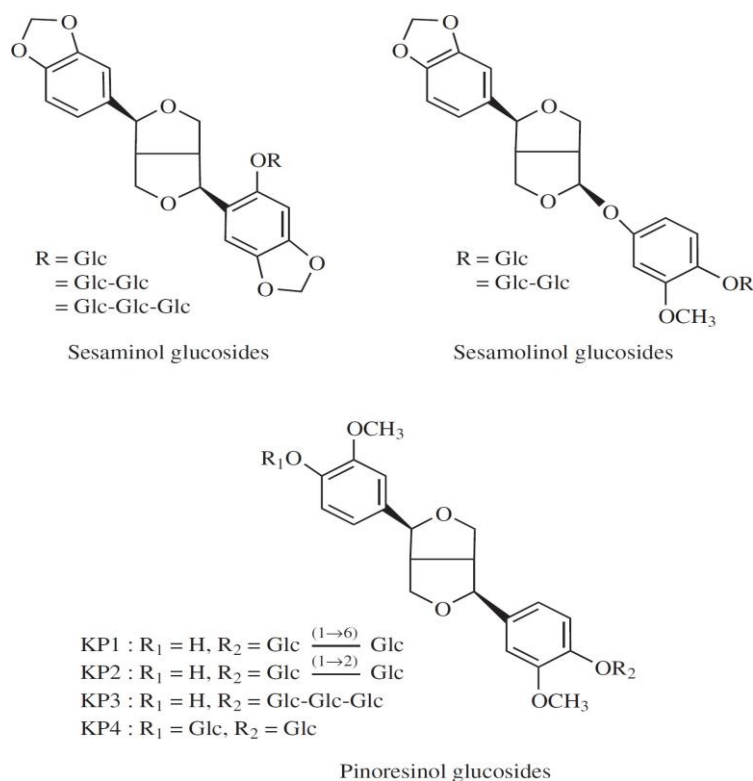


Figure .I.6. Structure des glucosides de lignane

I.5. Effet de la torréfaction sur l'activité antioxydante de l'huile

La stabilité oxydative de l'huile de *Sésame* est due à la présence de sesamoline, sesamine, sesamol et γ -tocopherol [35]. La stabilité augmente lorsque le sesamol est produit à partir de sesamoline lors de la torréfaction de graines de sésame [36]. L'huile de *Sésame* torréfiée a une meilleure stabilité antioxydante que l'huile de *Sésame* brute [37]. Koizumi et al [38] ont trouvé une corrélation entre les conditions de torréfaction des graines de *Sésame* et le développement de l'activité antioxydante. L'activité antioxydante de l'huile de graines de *Sésame* torréfiées pendant 5 min à 200°C est supérieure à celle obtenue à 180°C pendant 30 min. Cette observation montre que la température de torréfaction influence le développement de l'activité antioxydante de l'huile de *Sésame*.

Dans une étude sur la contribution des antioxydants dans l'huile de *Sésame* torréfiée, Fukuda et al. [39] rapportent que le sesamol seul ou le γ -tocophérol seul, présent dans l'huile de *Sésame* torréfié montre une faible activité antioxydante. Même la combinaison des deux n'était pas suffisante pour expliquer la forte activité antioxydante de l'huile de sésame torréfiée. Comme la torréfaction de graines de *Sésame* a causé d'importants brunissements, les produits

de brunissement ont été isolés et ont montré une faible activité antioxydante [39]. Il a été rapporté que la stabilité exceptionnelle à l'oxydation de l'huile de *Sésame* est étroitement liée à la présence de lignanes tels que le sésamoline, sésamine, sésamol, tocophérols, et les produits de la réaction de Maillard [40,41, 42].

I.6. Effet de la torréfaction sur les différentes classes de lipides

La torréfaction n'affecte pas seulement l'activité antioxydante et les lignanes de l'huile de *Sésame* mais aussi la composition lipidique. Les lipides dans les graines de *Sésame* consistent en des lipides neutres, des phospholipides et glycolipides. La principale fraction lipidique est représentée par les lipides neutres qui constituent environ 91-96% des lipides totaux.

Les phospholipides et les glycolipides représentent environ 3% et 0,3-6% des lipides totaux, respectivement [36, 43, 44, 45, 46]. La torréfaction a entraîné une réduction significative de la teneur en phospholipides dans les graines de *Sésame* à haute température à cause de la réaction de brunissement [44]. L'abaissement de la teneur en phospholipides est de 69-73% à 220° C pendant 25min [45, 47] et 96% à 250° C pendant 25min [48].

Yoshida rapporte que la teneur en glycolipides des graines de *Sésame* a augmenté avec la température et le temps de torréfaction [44, 46]. Les lipides neutres n'ont pas subi de dégradation après torréfaction des graines à moins de 200° C pendant 30 min. Une diminution significative des lipides a été observée lorsque la température de torréfaction était supérieure à 220° C et 250° C [43, 45]. Yoshida et al. [43] ont examiné l'effet de la torréfaction sur les espèces moléculaires de triacylglycérols. Ils ont rapporté que la perte de poids des graines à la fin de la torréfaction était proportionnelle au temps de torréfaction. Ils ont également signalé que la torréfaction pendant 10 minutes à 220° C entraînait une diminution significative ($P < 0,05$) des triacylglycérols.

D'autre part, une torréfaction des graines de *Sésame* à une température supérieure à 250° C peut produire des acides gras libres par hydrolyse des mono-, di-, et triglycérides dans les graines et ces acides gras peuvent accélérer l'oxydation de l'huile [49, 50].

I.7. Profil nutritionnel et médical du *Sesamum indicum*

Le sésame (*Sesamum indicum* L.) est une plante bénéfique. C'est un aliment longtemps utilisé pour son apport énergétique et ses bienfaits pour la santé à travers la prévention de diverses maladies [51].

Des études cliniques faites sur des patients souffrants d'hypertension démontrent qu'une consommation de l'huile de sésame diminuait effectivement la tension artérielle et les lipides sanguins [52]. L'huile de *Sésame* est connue pour sa stabilité. Elle fut utilisée dans la momification dans l'ancienne Égypte, en raison de sa résistance à la dégradation oxydative. L'huile de sésame entreposée avec plusieurs types d'huiles végétales à 60° C dans un contenant ouvert, est restée stable après 50 jours. Une augmentation rapide de la dégradation oxydative, a été remarquée après 10 jours pour les autres huiles végétales. Ce caractère antioxydant peut être expliqué par la présence de plusieurs molécules actives telles que le sésamol, le γ -tocophérol et le sésamine. Ce dernier constituant exerce son pouvoir antioxydant de plusieurs façons. In vitro, il a la capacité d'éliminer les radicaux libres grâce à la présence de groupements dioxy-méthylènes [51].

Le *Sésame* prévient le vieillissement s'il est consommé pendant une longue période. L'effet anti-vieillessement a été étudié in vivo sur des souris à travers une diète contenant 20% de *Sésame*. Il en ressort un ralentissement du vieillissement, une diminution de la peroxydation lipidique et une augmentation de l'activité du superoxyde dismutase [51, 53]. Chez l'Homme, la consommation de *Sésame*, riche en lignanes, maintient le niveau de la vitamine E dans l'organisme, permettant ainsi de profiter plus longtemps des bienfaits de cette vitamine [54]. Le sésamine, le plus abondant des lignanes de l'huile des graines de *Sésame* (*Sesamum indicum*), exerce diverses fonctions biologiques [51, 55]. Il exerce aussi plusieurs activités antioxydantes physiologiques. Il est reconnu que le métabolisme de la sésamine génère de puissants antioxydants de type polyphénols, tels que l'entérolactone et l'entérodiole [51, 56]. De plus, le sésamine augmente in vivo l'expression d'une enzyme responsable de la défense antioxydante, le superoxyde dismutase, de même qu'il inhibe la peroxydation lipidique [57, 58].

Le sésamine est un composé liposoluble, capable de passer la barrière hémato-encéphalique. Son administration orale provoque une augmentation de sa concentration au niveau du cerveau [59]. Le sésamine ingéré est absorbé par la lymphe et est transféré au foie d'où il est distribué aux différents tissus. Il est métabolisé en entérodiole et en entérolactone par la flore intestinale [60].

Plusieurs études ont démontré aussi que le sésamine diminuait les effets néfastes causés par la consommation d'alcool. La sésamine augmente l'expression du gène de l'aldéhyde déshydrogénase, responsable du métabolisme de l'alcool [61].

Le sésamine a la capacité d'inhiber la croissance des cellules cancéreuses humaines, telles que les cellules du cancer du sein. L'arrêt de la croissance de ces cellules cancéreuses se fait à la phase G1. Il est dû à l'augmentation de la dégradation de la cycline D1 au protéasome par la sésamine. La cycline D1 est un proto-oncogène qui est surexprimé dans plusieurs cellules cancéreuses humaines [62].

Le métabolisme des acides gras est régulé par l'effet hypocholestérolémique du sésamine [63]. En effet, le sésamine affecte le métabolisme des lipides en diminuant l'absorption du cholestérol par le petit intestin (ce qui contribue à diminuer le cholestérol sanguin) et diminue l'activité de deux enzymes impliquées dans la synthèse du cholestérol, la 3-hydroxy-3-méthylglutaryl CoA reductase et la Δ^5 désaturase [64, 65]. Le sésamine augmente aussi l'expression de 36 gènes codants pour des protéines impliquées dans le métabolisme des lipides [66]. Il supprime aussi l'accumulation du cholestérol dans le foie, démontré par des essais in vivo sur des rats [67, 68]. Le sésamine diminue aussi le risque d'artériosclérose chez l'homme en diminuant les lipoprotéines de basse densité (LDL) qui sont responsables du transport du cholestérol vers les cellules [69], de même il régule aussi le ratio oméga 6/oméga 3 pour le maintenir dans les valeurs normales [51].

Références

- [1] Walter R. Fehr, Henry H. Hadley; Hybridization of Crop Plants, Editorial Committee, R.A. Forsberg, A.R. Hallauer, A.W. Hovin; Managing Editor, D.A. Fuccillo ; coordinating editor, Matthias Stelly. Published (1980), by American Society of Agronomy : Crop Science Society of America in Madison, Wis.
- [2] Lucy Sun Hwang, Chapter 12. Sesame Oil, VOLUME 2: EDIBLE OIL AND FAT PRODUCTS: EDIBLE OILS, Bailey's Industrial Oil and Fat Products, 6th Edition, Fereidoon Shahidi, Hardcover (2005) 537-576.
- [3] D. R. Langham and T. Wiemers, in J. Janick and A. Whipkey, eds., Trends in New Crops and New Uses, ASHS Press, Alexandria, VA, (2002), p. 157.
- [4] Medicinal Plants of the World, Volume 3, Chemical Constituents, Traditional and Modern Medicinal Uses By Ivan A. Ross, Totowa, New Jersey Humana Press (2005).
- [5] Nyabyenda P. (2006). Les plantes cultivées en régions tropicales d'altitudes d'Afrique, Chapitre 2 : Les cultures industrielles et d'exportation : Le sésame, Centre Technique de coopération Agricole et rurale, *les Presses Agronomiques de Gembloux, Belgique*. pp.106-110.
- [6] Couch, A., Gloaguen, R. M., Langham, D. R., Hochmuth, G. J., Ben-nett, J. M., & Rowland, D. L. (2017). Non-dehiscent sesame (*Sesamum indicum L.*): its unique production potential and expansion, *Tropical Animal Health and Production*, 106, 8-11.
- [7] D. A. Dashak and C. N. Fali, Chemical Composition of Four Varieties of Nigerian Benniseed (*Sesamum indicum*). *Food Chem.*, 47, (1993) 253-255.
- [8] U. E. Inyang, C. U. Nwadinika, Functional Properties of Dehulled Sesame Seed Flour, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 69(8), (1992) 819-822.
- [9] A. Kamal-Eldin, L. A. Applequist, Variations in Fatty Acid Composition of the Different Acyl Lipids in Seed Oils from Four *Sesamum* Species, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 71, (1994) 135-139.
- [10] H. Baydar, I. Turgut, and K. Turgut, Variation of certain characters and line selection for yield, oleic and linoleic acid in the Turkish sesame (*Sesamum indicum L.*) populations. *J. Agr. and Forest.* 23. (1999) 431-441.
- [11] Wilbur Johnson Jr, Wilma F. Bergfeld, Donald V. Belsito, Ronald A. Hill, Curtis D.

- Klaassen, Daniel C. Liebler, James G. Marks Jr, Ronald C. Shank, Thomas J. Slaga, Paul W. Snyder, and F. Alan Andersen, Amended Safety Assessment of Sesamum Indicum (Sesame) Seed Oil, Hydrogenated Sesame Seed Oil, Sesamum Indicum (Sesame) Oil Unsaponifiables, and Sodium Sesameseedate, *Int J Toxicol*, 30 (2011) 40S-53S.
- [12] Codex Alimentarius, Named Vegetable Oils 8, Codex Standard 210, (Adopted 1999. Revisions 2001, 2003, 2009. Amendment 2005, 2011).
- [13] R. T. O'Connor and S. F. Herb, Specifications of fatty acid composition for identification of fats and oils by gas liquid chromatography, *J. Amer. Oil Chem. Soc.*, 47, 186A (1970).
- [14] Benveniste, P. Sterol biosynthesis. *Annu Rev Plant Phys*, 37 (1986) 275-308.
- [15] R.J. Sims, J.A. Fioriti, and M.J. Kanuk, Sterols additives as polymerisation inhibitors for frying oils, *J. Amer. Oil Chem. Soc.*, 49 (1972) 298-301.
- [16] S Kittiphoom, Utilization of Mango Seed, *Int Food Res J*, 19(4) (2012) 1325-1335.
- [17] RA Othman, MH Moghadasian, Beyond cholesterol - lowering effects of plant sterols: clinical and experimental evidence of anti - inflammatory properties, *Nutr Rev*, Vol. 69(7), (2011) 371–382.
- [18] A. Kamal-Eldin, L.A. Appelquist, Variations in the Compositions of Sterols, Tocopherols and Lignans in Seed Oils from Four Sesamum Species, *J.Am. Oil Chem. Soc.*, 71 (2) (1994) 149-156.
- [19] Hemalatha S.; Ghafoorunissa. Lignans and tocopherols in Indian sesame cultivars. *J. Amer. Oil Chem. Soc.*, 81 (5) (2004) 467–470.
- [20] Williamson, K.S.; Morris, J.B.; Pye, Q.N.; Kamat, C.D.; Hensley, K. A survey of sesamin and composition of tocopherol variability from seeds of eleven diverse sesame (*Sesamum indicum* L.) genotypes using HPLC-PAD-ECD. *Phytochem Analysis*. 19 (4), (2007) 311–322.
- [21] Jiang, Q.; Christen, S.; Shigenaga, M.K.; Ames, B.N. γ -Tocopherol, the major form of vitamin E in the US diet, deserves more attention. *Am J Clin Nutr*, 74 (6) (2001) 714–722.
- [22] Zhimin Xu, Luke R. Howard, Robert A. Moreau, Anna-Maija Lampi, Chapter 11, Analysis Methods for Tocopherols and Tocotrienols, in Analysis of Antioxidant-Rich Phytochemicals, edition first published 2012 by John Wiley & Sons Ltd.

- [23] Jiang, Q.; Elson-Schwab, I.; Courtemanche, C.; Ames, B.N. γ -Tocopherol and its major metabolite, in contrast to *a*-tocopherol, inhibit cyclooxygenase activity in macrophages and epithelial cells. *P Natl Acad Sci Usa*, 97 (21) (2000) 11494–11499.
- [24] Pauline Sainvitu, Katherine Nott, Gaëtan Richard, Christophe Blecker, Christine Jérôme, Jean-Paul Wathelet, Michel Paquot, Magali Deleu, Structure, properties and obtention routes of flaxseed lignan secoisolariciresinol: a review, *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.*, 16(1), (2012) 115-124.
- [25] Abou-Gharbia HA, Shehata AA, Shahidi F. Effect of processing on oxidative stability and lipid classes of sesame oil. *Food Res Int*, 33 (2000) 331–340.
- [26] Yen GC, Shyu SL. Oxidative stability of sesame oil prepared from sesame seed with different roasting temperatures. *Food Chem* 31 (2000) 215–224.
- [27] Frank D. Gunstone, Vegetable oils in food technology: Composition, Properties and Uses, Editon Blackwell Publishing, 2011 pp305.
- [28] Bailey's Industrial Oil and Fat Products, Sixth Edition, Six Volume Set. Edited by Fereidoon Shahidi. Copyright 2005 John Wiley & Sons, Inc., Chapitre 12, Sesame oil, Lucy Sun Hwang.
- [29] Katsuzaki, H.; Kawasumi, M.; Kawakishi, S.; Osawa, T. Structure of novel antioxidative lignan glucosides isolated from sesame seed. *Biosci Biotech Bioch*, 56 (12) (1992) 2087–2088.
- [30] Katsuzaki, H.; Osawa, T.; Kawakishi, S. Chemistry and antioxidative activity of lignan glucosides in sesame seed. In Ho, C.T., Osawa, T., Huang, M.T., and Rosen, R.T. Eds., *Food Phytochemicals for Cancer Prevention II: Teas, Spices, and Herbs*; ACS Symposium Series #547; Am Chem Soc: Washington, D.C., 1994: 275–280.
- [31] Katsuzaki, H.; Kawakishi, S.; Osawa, T. Sesaminol glucosides in sesame seeds. *Phytochemistry*, 35 (3) (1994) 773–776.
- [32] Moazzami, A.A.; Andersson, R.E.; Kamal-Edlin, A. HPLC analysis of sesaminol glucosides in sesame seeds. *J Agr Food Chem*, 54 (3) (2006) 633–638.
- [33] Moazzami, A.A.; Andersson, R.E.; Kamal-Edlin, A. Characterization and analysis of sesamolol diglucoside in sesame seeds. *Biosci Biotech Bioch*, 70 (6), (2006) 1478–1481.

- [34] Ryu, S., Ho, C.T., Osawa, T. High performance liquid chromatographic determination of antioxidant lignan glycosides in some variations of sesame. *J Food Lipids* 5 (1998) 17-28
- [35] H.Yoshida, S.Takagi, Antioxidative Effects of Sesamol and Tocopherols at Various Concentrations in Oils during Microwave Heating, *J Sci Food Agric* 79 (1999) 220-226.
- [36] H.Yoshida, S.Takagi, Effects of Seed Roasting Temperature and Time on the Quality Characteristics of Sesame Oil (*Sesamum indicum*), *J Sci Food Agric*, 75 (1997) 19-26.
- [37] Y. Fukuda, M. Nagata, T. Osawa, and M. Namiki, Chemical aspects of the antioxidative activity of roasted sesame seed oil, and the effect of using the oil for frying *Agric. Biol. Chem.*, 50 (1986) 857-862.
- [38] Koizumi, Y., Fukuda, Y., Namiki, M. Effect of roasting conditions on antioxidative activity of roasted sesame seed oil. I. Marked antioxidative activity of seed oils developed by roasting of sesame seeds. *J Jpn Soc Food Sci* 43 (1996) 689-694.
- [39] Fukuda, Y., Koizumi, Y., Ito, R. and Namiki, M. Synergistic action of the antioxidative components in roasted sesame seed oil. *J Jpn Soc Food Sci* 43 (1996) 1272-1277.
- [40] Shahidi, F., & Naczki, M. (2004). Phenolics in food and nutraceuticals. Florida: CRC press pp. 108–109.
- [41] Lee, J. Y., Kim, M. J., & Choe, E. O. Antioxidant activity of lignan compounds extracted from roasted sesame oil on the oxidation of sunflower oil. *Food Sci Biotechnol*, 16 (2007) 981–987.
- [42] Seung Wook Lee, Min Kyu Jeung, Min Hee Park, Soo Yong Lee, JaeHwan Lee, Effects of roasting conditions of sesame seeds on the oxidative stability of pressed oil during thermal oxidation, *Food Chem* 118 (2010) 681–685.
- [43] Yoshida, H., Hirakawa, Y. and Takagi, S, Roasting influences on molecular species of triacylglycerols in sesame seeds (*Sesamum indicum*). *J. Sci. Food Agric.*, 80 (2000) 1495–1502.
- [44] H. Yoshida, Composition and Quality Characteristics of Sesame Seed (*Sesamum indicum*) Oil Roasted at Different Temperatures in an Electric Oven. *J Sci Food Agric*, 65 (1994) 331-336.
- [45] H. Yoshida, S. Abe, Y. Hirakawa, S. Takagi, Roasting effects on fatty acid distributions

- of triacylglycerols and phospholipids in sesame (*Sesamum indicum*) seeds. *J. Sci. Food Agric.*, 81 (2001) 620-626.
- [46] H. Yoshida, G. Kajimoto, Microwave Heating Affects Composition and Oxidative Stability of Sesame (*Sesamum indicum*) Oil. *J. Food Sci.*, 59 (1994) 613-616.
- [47] H. Yoshida, S. Takagi, Antioxidative Effects of Sesamol and Tocopherols at Various Concentrations in Oils during Microwave Heating, *J Sci Food Agric* 79 (1999) 220-226.
- [48] M. G. Megahed, Microwave roasting of peanuts: Effects on oil characteristics and composition, *Food* 45 (2001) No. 4, pp. 255–257.
- [49] Choe, E., Min, D.B. Mechanisms and factors for edible oil oxidation. *Compre Rev Food Sci Food Safety*. 5 (2006) 169–186.
- [50] Edwald Lee, Eunok Choe, Changes in oxidation-derived off-flavor compounds of roasted sesame oil during accelerated storage in the dark, *Biocatal Agric Bio-technol*. 1 (2012) 89–93.
- [51] Namiki M, Nutraceutical functions of sesame: a review. *Crit Rev Food Sci Nutr* 47: (2007) 651–673.
- [52] Sankar, D., et al., Modulation of blood pressure, lipid profiles and redox status in hypertensive patients taking different edible oils. *Clin Chim Acta*, (2005). 355(1-2): 97-104.
- [53] Nishant P. Visavadiya, Badrish Soni, Nirav Dalwadi, Free radical scavenging and antiatherogenic activities of *Sesamum indicum* seed extracts in chemical and biological model systems, *Food Chem Toxicol* 47 (2009) 2507–2515.
- [54] Isabelle Berta-Vanrullen, C.S., Carole Thomann, Sécurité et bénéfices des phytoestrogènes apportés par l'alimentation-Recommandations. Agence française de sécurité sanitaire des aliments, (2005).
- [55] Umeda-Sawada, R., M. Ogawa, and O. Igarashi, The metabolism and distribution of sesame lignans (sesamin and episesamin) in rats. *Lipids*, (1999). 34(6): 633-7.
- [56] Miyake, Y., et al., Antioxidative catechol lignans converted from sesamin and sesaminol triglucoside by culturing with *Aspergillus*. *J Agric Food Chem*, (2005). 53(1): p. 22-7.
- [57] Lahaie-Collins, V., Bournival, J., Plouffe, M., Carange, J., Martinoli, M. G., Sesamin modulates tyrosine hydroxylase, superoxide dismutase, catalase, inducible NO synthase

- and interleukin-6 expression in dopaminergic cells under MPP⁺-induced oxidative stress. *Oxid. Med. Cell. Longev.*, 1, (2008) 54–62.
- [58] Ghafoorunissa, S. Hemalatha and M.V. Rao, Sesame lignans enhance antioxidant activity of vitamin E in lipid peroxidation systems. *Mol Cell Biochem*, (2004). 262(1-2): 195-202.
- [59] Umeda-Sawada, R., M. Ogawa, and O. Igarashi, The metabolism and distribution of sesame lignans (sesamin and episesamin) in rats. *Lipids*, (1999). 34(6): 633-7.
- [60] Liu, Z., N.M. Saarinen, and L.U. Thompson, Sesamin is one of the major precursors of mammalian lignans in sesame seed (*Sesamum indicum*) as observed in vitro and in rats. *J Nutr*, (2006). 136(4): 906-12.
- [61] Nobuo Tsuruoka, A.K., Ichiro Matsumoto, Keiko Abe and Yoshinobu Kiso, Modulating Effect of sesamin, a functional lignan in sesame seeds, on the transcription levels of lipid and alcohol-metabolizing enzymes in rat liver: A DNA microarray study. *Biosci. Biotechno. Biochem*, (2005). 69(1): 179-188.
- [62] Yokota, T., et al., Sesamin, a Lignan of sesame, down-regulates cyclin D1 protein expression in human tumor ce Us. *Cancer Sci*, (2007) 98(9): 1447-53.
- [63] Ide, T., et al., Sesamin, a sesame Lignan, decreases fatty acid synthesis in rat Liver accompanying the down-regulation of sterol regulatory element binding protein-1. *Biochim Biophys Acta*, (2001). 1534(1). 1-13.
- [64] Umeda-Sawada, R., M. Ogawa, and O. Igarashi, The metabolism and distribution of sesame lignans (sesamin and episesamin) in rats. *Lipids*, (1999). 34(6): 633-7.
- [65] Hirose, N., et al., Inhibition of cholesterol absorption and synthesis in rats by sesamin. *J Lipid Res*, (1991). 32(4): 629-38.
- [66] Nobuo Tsuruoka, A.K., Ichiro Matsumoto, Keiko Abe, Yoshinobu Kiso, Modulating effect of sesamin, a fonctional lignan in sesame seeds, on the transcription levels of lipid and alcohol-metaboLizing enzymes in rat Liver: A DNA microarray study.
- [67] Ogawa, T., et al., Lack of influence of low blood cholesterol levels on pancreatic carcinogenesis after initiation with N-nitroso bis(2-oxopropyl)amine in Syrian golden hamsters. *Carcinogenesis*, (1994). 15(8): 1663-6.
- [68] Sugano, M., Inoue, T., Koba, K., Yoshida, K., Hirose, N., Shinren, Y., Akimoto, K., and amachi, T., Influence of sesame lignans on various lipid parameters in rats.

Agric. biol. chem., (1990). 54: 2669-2673

- [69] Hirata, F., et al., Hypocholesterolemic effect of sesame lignan in humans. *Atherosclerosis*, (1996). 122(1): 135-36

Chapitre II
Stress oxydatif et diabète

II.1 Stress oxydatif

II.1.1. Définition

Les espèces réactives de l'oxygène (ERO), sont des molécules prooxydantes qui se produites quotidiennement dans l'organisme. Certains radicaux libres sont utilisés par l'organisme comme médiateurs régulant les fonctions cellulaires comme la prolifération et la mort cellulaire programmée (apoptose), impliquant des modifications des voies de signalisation intracellulaires associées à une modulation de l'expression génique [1]. Ces dernières sont cependant contrôlées par les antioxydants. Un stress oxydatif survient lorsque l'équilibre est rompu en faveur des radicaux libres. Toutefois, une production excessive de ces molécules réactives ou une insuffisance des mécanismes antioxydants peut déséquilibrer la balance oxydant/antioxydant [2].

II.1.2 Les radicaux libres

Les radicaux libres sont des espèces chimiques, atomes ou molécules, possédant un ou plusieurs électrons non appariés sur leur orbital externe [3] (**Figure II.1**). La présence des électrons confère souvent à ces molécules une grande instabilité, elles ont la possibilité de réagir avec de nombreux composés. Elles peuvent entraîner des lésions tissulaires en captant des électrons d'une molécule stable pour essayer d'apparier leurs propres électrons, laissant ainsi la molécule originale dans un état instable [4]. Ces radicaux libres sont généralement produit dans les mitochondries lors de la respiration [5][6], ou par les cellules phagocytaires (macrophages, neutrophiles...) lors de la flambée respiratoire, l'exposition de l'être l'humain aux rayonnements UV, l'inhalation d'oxyde d'azote NO et le dioxyde d'azote NO₂, présents dans notre environnement (Ils sont à l'origine d'une auto-oxydation des acides gras polyinsaturés (AGPI) des alvéoles pulmonaires) [7], l'ingestion d'alcool ou encore aussi certains médicaments anti-cancéreux antibiotiques. [8][9].

Le principal danger des radicaux libres vient des dommages qu'ils peuvent provoquer lorsqu'ils réagissent avec des composants cellulaires importants, tels que l'ADN [11] les lipides (peroxydation), les protéines etc [12]. Cette oxydation provoque des dommages sur tout l'organisme, accélérant le vieillissement (maladies cardiovasculaires et neuro-dégénératives, cancer, diabète) [13] et la dégradation des cellules et des tissus [14] (**Figure II.2**).

Réduction tétravalente de l'oxygène		$O_2 + 4e^- + 4 H^+ \longrightarrow 2 H_2O$
$O_2^{\cdot -}$	Anion superoxyde	$O_2 + 1e^- \longrightarrow O_2^{\cdot -}$
H_2O_2	peroxyde d'hydrogène	$O_2^{\cdot -} + O_2^{\cdot -} (+2H^+) \longrightarrow H_2O_2$
$\cdot OH$	Radical hydroxyle	$H_2O_2 + Fe^{+2} \longrightarrow \cdot OH + Fe^{+3} + OH^-$
		$H_2O_2 + H_2O_2 \longrightarrow 2 H_2O + O_2$
		$H_2O_2 + 2GSH \longrightarrow 2H_2O + GSSG$
RO_2^{\cdot}	Radical peroxyde	$R^{\cdot} + O_2 \longrightarrow RO_2^{\cdot}$
RO_2H	Hydroperoxyde	$RO_2^{\cdot} + RH \longrightarrow RO_2H + R^{\cdot}$
RO^{\cdot}	Radical alkoxyde	$RO_2H + Fe^{+2} \longrightarrow RO^{\cdot} + Fe^{+3} + OH^-$

Figure II.1. Voie métabolique de l'oxygène et des espèces réactives de l'oxygène (ERO) [10]

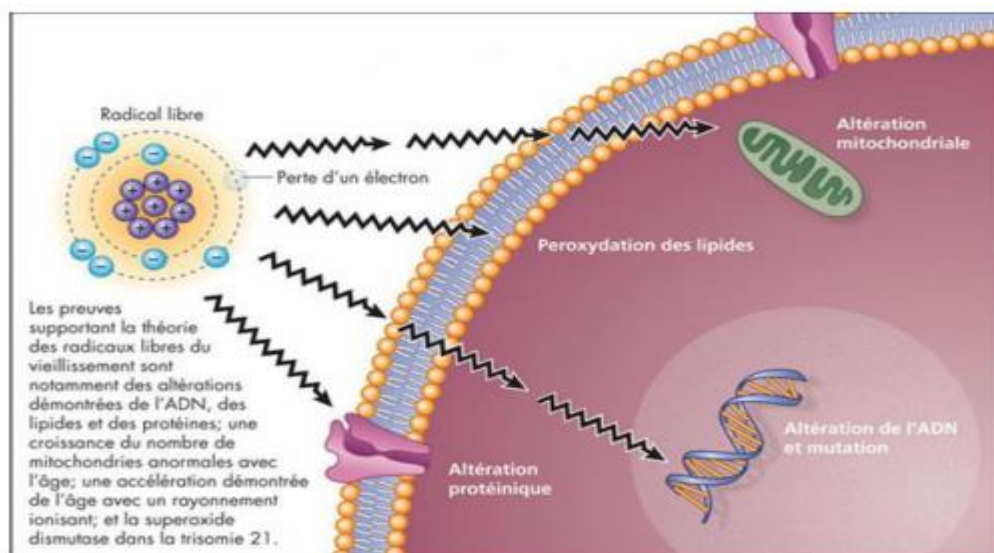


Figure II.2. Les conséquences du stress oxydant [14]

II.1.3. Les antioxydants

Un antioxydant est une substance présente en faible concentration par rapport à celle du substrat oxydable qui, de manière significative retarde ou empêche l'oxydation de ce substrat. [15]. Il peut être de nature endogène (superoxyde dismutase, la glutathion peroxydase, la catalase, et le glutathion) [16] ou exogènes (les vitamines C et E, les oligo-éléments, les médicaments, les caroténoïdes et des composés phénoliques) [17].

Les mécanismes d'action des antioxydants sont divers, incluant le captage de l'oxygène singulier, la désactivation des radicaux par réaction d'addition covalente, la réduction de

radicaux ou de peroxydes, et la chélation des métaux de transition [18]. D'une manière générale, un antioxydant peut empêcher l'oxydation d'un autre substrat en s'oxydant lui-même plus rapidement que celui-ci. Un tel effet résulte d'une structure de donneurs d'atome d'hydrogène ou d'électrons souvent aromatiques (cas de dérivés du phénol). En plus leurs radicaux intermédiaires sont relativement stables du fait de la délocalisation par résonance et par manque de positions appropriées pour être attaqué par l'oxygène moléculaire. Les antioxydants sont en fait des agents de prévention, ils bloquent l'initiation en complexant les catalyseurs, en réagissant avec l'oxygène, ou des agents de terminaison capables de dévier ou de piéger les radicaux libres, ils agissent en formant des produits finis non radicalaires. D'autres en interrompant la réaction en chaîne de peroxydation, en réagissant rapidement avec un radical d'acide gras avant que celui-ci ne puissent réagir avec un nouvel acide gras. Tandis que d'autres antioxydants absorbent l'énergie excédentaire de l'oxygène singlet pour la transformer en chaleur [19]. L'équilibre entre les antioxydants et les oxydants est généralement appelé « équilibre d'oxydo-réduction » [20] (Figure II.3).

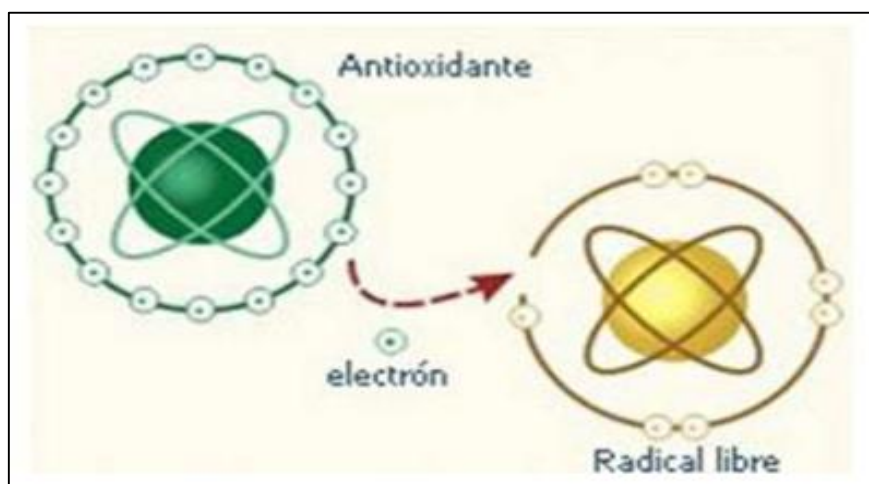


Figure II.3. Transfert d'électron entre l'antioxydant et le radical libre [20]

II.2. Le diabète

Le diabète est défini comme une affection métabolique, caractérisée par une hyperglycémie (taux de sucre dans le sang trop élevé) liée à une déficience, soit de la sécrétion, soit de l'action de l'insuline, ou des deux. L'insuline est une hormone produite par le pancréas, indispensable à la pénétration du glucose sanguin dans les cellules. Lorsqu'elle fait défaut, le taux de sucre augmente dans le sang, or l'organisme est très sensible à ces variations. L'hyperglycémie chronique est responsable de complications à long terme touchant de nombreux organes notamment les yeux, les reins, les nerfs, le cœur et les vaisseaux [21]. La

grande majorité des cas de diabète se répartissent en deux catégories : le diabète de type 1 et le diabète de type 2, provoquent toutes les deux une hyperglycémie. L'unique traitement du diabète de type 1 est l'apport d'insuline par injections qui est indispensable à la vie. Le traitement de référence du diabète de type 2 est l'optimisation des habitudes de vie. Une perte de poids si nécessaire, une activité physique régulière, et une alimentation équilibrée peuvent être suffisants pour contrôler la glycémie dans un premier temps. En seconde intention, des antidiabétiques oraux et /ou injectables sont prescrits pour contrôler la glycémie [22]. Parmi ces dernier on trouve : inhibiteurs d'enzyme alpha amylase ou alpha glucosidases : ce sont des enzymes situes dans les intestins qui hydrolyse les glucides complexes en monosaccharides absorbables.

L'Acarbose est un médicament bien connu, utilisé comme inhibiteur de l'enzyme α -amylase. (Figure II.4). Il retarde la digestion d'hydrate de carbone, et diminue le niveau postprandial de glucose plasmatique. Cependant, il possède des effets indésirables tels que la diarrhée, les hernies, l'ulcération. En effet, des inhibiteurs de l' α -amylase d'origine naturelle tels que les flavonoïdes et les composés phénoliques des plantes sont suggérés comme une approche alternative pour la prévention et le traitement de la maladie du diabète type 2 avec sans ou peu de risque d'effets secondaires [23].

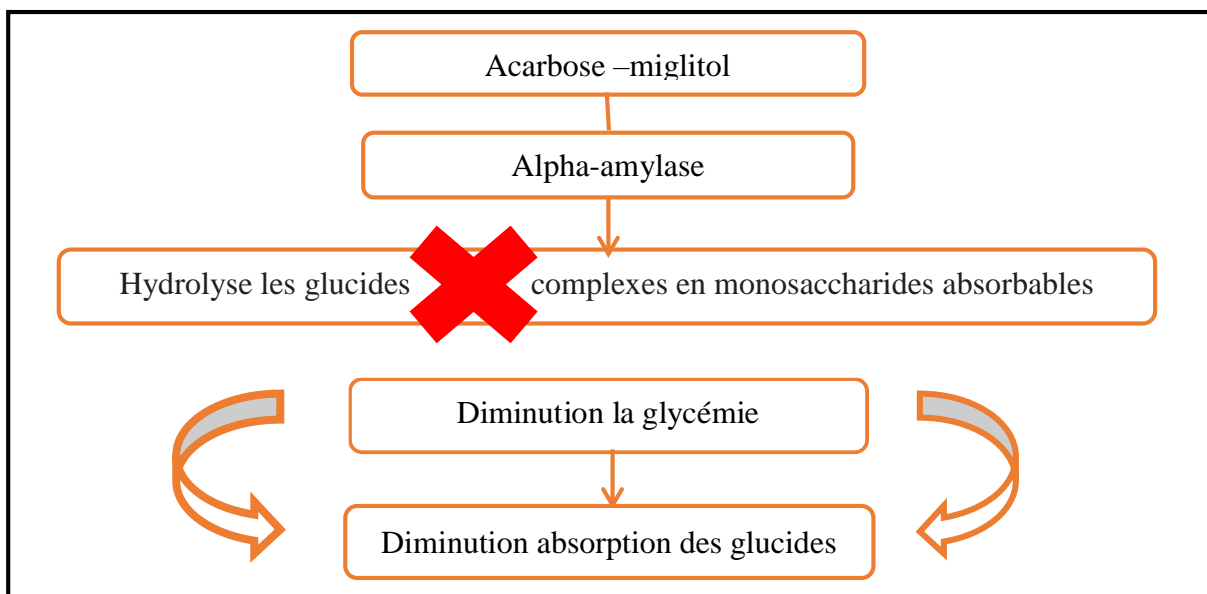


Figure II.4. Effet inhibiteur de l'Acarbose sur l'enzyme alpha glucosidase

Références

- [1] J. Haddad John . (2002). Antioxidant and prooxidant mechanisms in the regulation of redox(y)-sensitive transcription factors, *Cellular Signalling* ,14, 879–897.
- [2] Y. Okuno, A. Fukuhara, E. Hashimoto, H. Kobayashi, S. Kobayashi, , M. Otsuki, I. Shimomura. (2018). Oxidative stress inhibits healthy adipose expansion through suppression of SREBF1-mediated lipogenic pathway. *Diabetes*, db171032.
- [3] Afonso Valéry, Champy Romuald, Mitrovic Dragoslav, Collin Pascal, Lomri Abderrahim. (2007). Radicaux libres derives de l’oxygène et superoxydes dismutases: role dans les maladies rhumatismales,; 637-638.
- [4] E. Filaire, H. Toumi. (2012). Rôle de dérivés réactives de l'oxygène et de l'exercice physique sur le métabolisme osseux: *Revue du Rhumatisme* 79(5), 341-346.
- [5] M. Valko, Cj. Rhodes, J. Moncol, M. M. Izakovic, et M. Mazur. (2006), Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer, *Chem. Biol. Interact.* 160,1 - 40.
- [6] J. Pincemail, K. Bonjean, K. Cayeux, et J.-O. Defraigne. (2002). Mécanismes physiologiques de la défense antioxydante, *Nutr. Clin. Métabolisme*, 16, 233 -239.
- [7] A. Favier. (2003). Le stress oxydant Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique, L’actualité chimique, 108 -115.
- [8] Z. mohammedi . (2005) « Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et falvonoides de quelques plantes de la région du Tlemcen», *Thèse de magistère ., Université-Abou Bakr Belkaid, Telemcen.,*
- [9] Camille Migdal, Mireille Serres (2011).Espèces réactives de l’oxygène et stress oxydant Reactiveoxygenspecies and oxidativestress, Université Lyon 1, EA 41-69, Laboratoire de recherche dermatologique, pavillon R, Hôpital Édouard Herriot, 69437 Lyon Cedex 03, France ,27: 405-412.
- [10] B.Auddy, M.Ferreira, F.Blasina, L.Lafon, F.Arredondo, F.Dajas, PC.Tripathi, T.Seal, B.Mukherjee (2003). Screening of antioxidant activity of three Indian medicinal plants traditionally used for the management of neurodegenerative.
- [11] J. Hadj Salem. (2009). Extraction, identification, caractérisation des activités biologiques

de flavonoïdes de *Nitraria retusa* et synthèse de dérivés acyle de ses molécules par voie enzymatique. *Thèse de doctorat en Procédés Biotechnologiques et Alimentaires, Université Nancy de l'Institut National Polytechnique de Lorraine, France : 270.*

- [12] L. Jacob. (2007). L'insuffisance rénale aiguë. *Edition Springer, p 88.*
- [13] J. Pincemail, K. Bonjean, K. Cayeux, et J.-O. Defraigne. (2002). Mécanismes physiologiques de la défense antioxydante, *Nutr. Clin. Métabolisme, vol. 16, no4, p. 233-239.*
- [14] C. Bonnet, F. Alamigeon, P. Micheels . (2010). Guide complet des soins esthétiques : du coté de ma vie. *Edition Eyrolles, p 14.*
- [15] B. Halliwell, (1990). How to characterize a biological antioxidant, *Free Radic. Res. Commun., vol. 9, no1, p. 1-32,*
- [16] S. K. Powers, M. J. Jackson, (2008). Exercise-induced oxidative stress: cellular mechanisms and impact on muscle force production, *Physiol. Rev., vol. 88, no4, p. 1243-1276.*
- [17] H.A. Hamid, , A.N.M. Ramli, N. Zamri, M.M Yusoff. (2018). UPLC-QTOF/MS-based phenolic profiling of Melastomaceae, their antioxidant activity and cytotoxic effects against human breast cancer cellMDA- MB-231. *Food chemistry 265, 253-259.*
- [18] A. Favier. (2006). «Stress oxydant et pathologies humaines», in *Annales pharmaceutiques françaises, vol. 64, p. 390-396.*
- [19] Z. Hellal. (2011) « Contribution à l'étude des propriétés antibactériennes et antioxydantes de certaines huiles essentielles extraites des Citrus. Application sur la sardine (*Sardina pilchardus*) », *Thesis, Université Mouloud Mammeri.*
- [20] S. K. Powers et M. J. Jackson, (2008). Exercise-induced oxidative stress: cellular mechanisms and impact on muscle force production, *Physiol. Rev., vol. 88, no4, p. 1243-1276,*
- [21] Executive Summary: Standards of Medical Care in Diabetes--2012. *Diabetes Care 2011; 35: S4-10.*
- [22] L. Monnier, S. Halimi, C. Colette, C. (2018). L'efficacité thérapeutique: une préoccupation importante, *Médecine des maladies Métaboliques. vol. 12 - N°1. 36,37p.*

- [23] M. Khan, M.,A. Alam, K.M. Khan, U. Salar, S. Chigurupati, A. Wadood, F. Ali, J.I. Mohammad, M. Riaz, S. Perveen. (2018). Flurbiprofen derivatives as novel α -amylase inhibitors: Biology-oriented drug synthesis (BIODS), in vitro, and in silico evaluation. *Bioorganic Chemistry*. 81, 157-167.

Partie
expérimentale

Chapitre III

Matériels et méthodes

III.1. Préparation du matériel végétal

Des graines de *Sésame* blanc ont été achetées d'un herboriste local de la province Laghouat. Ces graines ont été placées en une seule couche dans un plat couvert par un papier d'aluminium puis torréfiées à 160° C pendant 20 min dans un four électrique. Après torréfaction, les graines ont été laissées refroidir pendant 2 min à la température ambiante avant broyage.



Figure III.1. Préparation des grains de Sésame (torréfaction et broyage)

III.2. Méthodes d'extraction

Les composés de graines de *Sésame* ont été extraits par deux méthodes : l'extraction par macération et l'extraction assistée par ultrasons.

III.2.1. Extraction par macération

20 g de graines de *Sésame* broyées sont placés dans un 100 ml de solvant (hexane ; éthanol ; chloroforme/méthanol). Le système est mis sous agitation à température ambiante et à l'abri de la lumière. Après 24 h, les extraits ont été filtrés en utilisant un papier filtre Whatman pour séparer les particules de grains de. Les solvants ont été complètement évaporés dans d'un

rotavapor à 40° C. Enfin, les trois extraits obtenus ont été conservés dans un réfrigérateur jusqu'à l'utilisation (**figure III.2**).



Figure III.2. Huile obtenue par extraction par macération dans l'hexane

III.2.2. Extraction assistée par ultrasons

La procédure d'extraction assistée par ultrasons a été utilisée avec les mêmes solvants (hexane ; éthanol ; chloroforme/méthanol) et au même rapport (20 g de grains de *Sésame* broyées et 100 ml de solvant). Le mélange a été soniqué pendant 1 h dans un bain à ultrasons. La température et la fréquence ont été contrôlées et maintenues à 30° C et 37 kHz. Les extraits ont été filtrés et les étapes restantes étaient similaires à celles de la méthode précédente. Trois extraits ont été obtenus et conservés dans un réfrigérateur jusqu'à l'utilisation (**figure III.3**).



Figure III.3. Huile obtenue par extraction assistée par ultrasons dans l'éthanol

III.3. Détermination du contenu total en polyphénols

➤ Principe

Le contenu en polyphénols totaux est déterminé selon la méthode de dosage sur microplaque décrite par *Muller et al.*, [1] en utilisant le réactif de *Folin-Ciocalteu* (FCR) [2], constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$) de couleur jaune. Le principe de la méthode est basé sur l'oxydation des composés phénoliques par ce réactif, elle entraîne la formation d'un mélange d'oxydes de tungstène (W_8O_{23}) et molybdène (Mo_8O_{23}) de couleur bleu qui absorbe à 760 nm [3], le dosage de polyphénols est effectué à partir d'une courbe d'étalonnage obtenu par un étalon d'acide gallique de concentrations connues.

➤ Procédure

20 μ l d'extrait de plante (1 mg d'extrait dissout dans 1 ml du solvant d'extraction) est ajouté à 100 μ l de réactif de *Folin-Ciocalteu* FCR dilué (1 ml de solution FCR concentré est dilué dans 9 ml d'eau distillée). On additionne 75 μ l d'une solution de Na_2CO_3 à 7.5 % (une quantité de 7.5 g de Na_2CO_3 est dissouts dans 100 ml d'eau distillée). Le mélange est laissé à l'obscurité pendant 2 heures à température ambiante. La coloration bleue produite est proportionnelle à la teneur en polyphénols totaux et possède une absorbance maximum au environ de 750-765 nm. Un blanc est préparé de la même manière en remplaçant l'extrait par le solvant utilisé (Méthanol). Une droite d'étalonnage est réalisé avec de l'acide gallique dans les mêmes conditions que les échantillons à analyser. Une quantité de 1 mg d'acide gallique est dissoute dans 5 ml de méthanol pour obtenir la solution mère de concentration de 200 μ g/ml, les dilutions ont été préparées comme suit (Tableau III.1) :

Tableau III.1. Préparation de la gamme d'étalon de l'acide gallique

<i>Volume de solution mère de l'acide gallique (μl)</i>	25	50	75	100	125	150	175
<i>Volume de méthanol (μl)</i>	175	150	125	100	75	50	25
<i>Concentration finale (μg/ml)</i>	25	50	75	100	125	150	175

III.4. Activités biologiques

Les mesures des absorbances des activités biologiques ont été faites à l'aide d'un lecteur de microplaques à 96 puits de marque *PerkinElmer (USA)* avec son logiciel EnSpire au niveau du laboratoire de Biochimie au CRBt de Constantine.

III.4.1. Préparation des dilutions des extraits

Dans un eppendorf, on pèse 4 mg de l'extrait de *Sésame*, puis à l'aide d'une micropipette, on ajoute à la pesé 1 ml du solvant d'extraction, on obtient la solution mère de concentration 8000 ppm pour chaque extrait. Ensuite, On prépare six solutions filles pour chaque extrait, et pour ce faire, six eppendorfs sont prélevés pour chaque extrait, et 500 ml du solvant d'extraction sont placés dans chacun d'eux ; on prend 500 ml de la solution mère et la met dans le premier eppendorf pour obtenir la première solution diluée, et de suit de la même manière jusqu'à la sixième solution diluée. Les concentrations finales des dilutions obtenues sont : 4000 ppm 2000 ppm, 1000 ppm, 500 ppm, 250 ppm et 125 ppm.

III.4.2. Activités anti-oxydantes

Les tests mesurant l'effet antioxydant donne un indice sur la capacité des extraits naturels à lutter contre les espèces réactives connues sous le nom de pro-oxydants, à résister aux dommages oxydatifs et à lutter contre les maladies liées au stress oxydatif. L'étude de l'activité antioxydante des extraits de grains de *Sesamum indicum* a été testée selon trois méthodes : Piégeage du radical libre DPPH[•], piégeage de l'ABTS^{•+}, et réduction des ions Fe³⁺ par la formation du complexe Fe⁺²- phénantroline.

III. 4.2.1. Activité anti-radicalaire au DPPH[•]

➤ Principe

Le dosage au *2,2-diphényl-1 picrylhydrazyle* (DPPH[•]) est l'un des tests les plus couramment utilisés, car cette molécule est définie comme un radical libre stable. Ce radical possède un électron non apparié sur un atome du pont d'azote [4]. Le test de DPPH[•] mesure l'activité donneuse d'un atome d'hydrogène ou d'un électron, donc il mesure la capacité d'un antioxydant à piéger les radicaux libres, ce qui entraîne une décoloration. Le DPPH[•] a une couleur violette foncée et lorsqu'il est réduit en présence des piègeurs de radicaux libres, la

coloration deviennent jaune, indique de la formation de la molécule 2,2-Diphényl-1-picrylhydrazine. Cette décoloration peut être suivie en mesurant la diminution de l'absorbance à 517 nm [5].

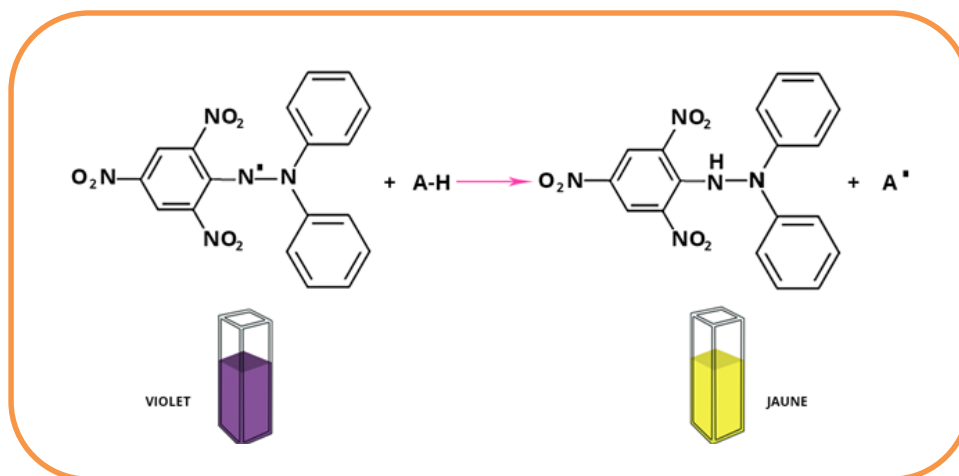


Figure III.4. Transformation du radical DPPH[•] en DPPHH

➤ Procédure

Cette méthode a été développée par Blois en 1958 [6]. Après la préparation de la solution de DPPH[•] (6 mg de DPPH dans un volume de 100 ml de méthanol, dont l'absorbance est 0.5 nm à 517 nm. La solution de DPPH[•] est gardée à 4°C à l'abri de la lumière.), on prend notre microplaque à 96 puits et on ajoute 160 µl du DPPH[•] mélangé avec 40 µl de chaque extrait (préparée dans le méthanol) à différentes concentrations. Après 30 minutes d'incubation à l'obscurité et à température ambiante, l'absorbance est lue à 517 nm contre un contrôle négatif (sans extrait). Le BHA est utilisé comme standard. Le pourcentage d'inhibition a été calculé selon l'équation suivante :

$$\text{Inhibition (\%)} = \left[\frac{A_{\text{contrôle}} - A_{\text{extrait}}}{A_{\text{extrait}}} \right] \times 100$$

Où $A_{\text{contrôle}}$ est l'absorbance du contrôle négatif, et A_{extrait} l'absorbance de l'extrait/DPPH[•]



Schéma III.1. Mode de remplissage de la plaque pour chaque échantillon (inhibition de DPPH[•])

II.4.2.2. Activité du piégeage du cation radical $ABTS^{+\cdot}$

➤ Principe

Dans le test $ABTS^{+\cdot}$, également connu sous le nom de test *Trolox Equivalent Antioxidant Capacity* (TEAC), qui correspond à la capacité antioxydante d'une solution de Trolox[®] (1 mM) (analogue hydrophile de la vitamine E), plus la valeur TEAC est élevée, plus l'antioxydant est efficace [7]. Le chromophore radicalaire stable vert bleu, le 2,2-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonate) ($ABTS^{+\cdot}$) est produit par oxydation de la molécule stable d'ABTS avec le persulfate de potassium $K_2S_2O_8$. Le passage du radical $ABTS^{+\cdot}$ à la forme non radicalaire en présence d'un antioxydant s'accompagne de la disparition de cette coloration mesurée à une longueur onde de 734 nm.

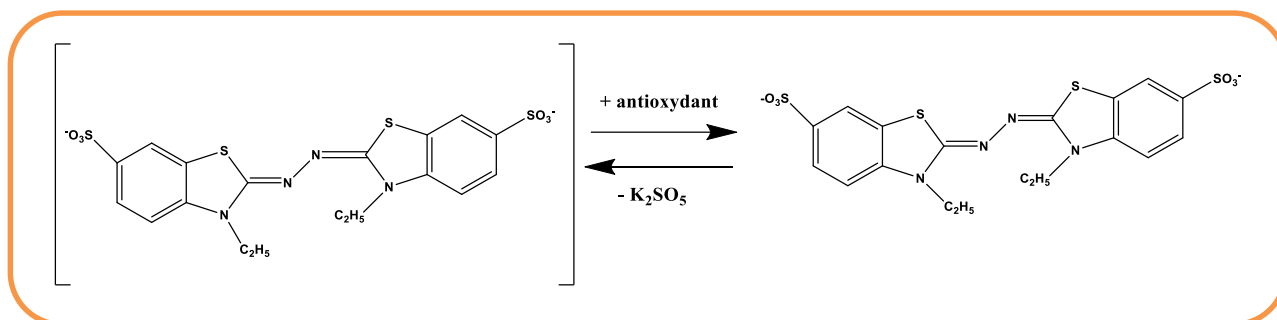


Figure III.5. Formation et piégeage du radical $ABTS^{+\cdot}$ par un antioxydant donneur de H^{\cdot}

➤ Procédure

Le radical $ABTS^{+\cdot}$ est produit par réaction entre une solution aqueuse d'ABTS (7 mM) et une solution aqueuse de persulfate de potassium ($K_2S_2O_8$, 2,45 mM), utilisé comme oxydant. Ce mélange est agité pendant 16 h à l'obscurité puis dilué par l'eau distillé jusqu'à obtenir une absorbance à 734 nm de $0,700 \pm 0,02$. Sur une microplaque à 96 puits, une prise de 160 μ l de cette solution d' $ABTS^{+\cdot}$ est mélangée avec 40 μ l d'extrait à différent concentration. Après 10 mn d'incubation à température ambiante, l'absorbance du mélange est mesurée à 734 nm contre un blanc (control négatif) et comparé à celle des antioxydants de synthèse comme le : BHT, BHA et TROLO (acid6-hydroxy-2,5,7,8-tetraméthyl-chroman-2- carboxylique). L'activité $ABTS^{+\cdot}$ a été exprimée en pourcentage et calculée par l'équation suivante :

$$\text{Inhibition (\%)} = \left[\frac{A_{\text{contrôle}} - A_{\text{extrait}}}{A_{\text{extrait}}} \right] \times 100$$

Où $A_{\text{contrôle}}$ est l'absorbance du contrôle négatif, et A_{extrait} l'absorbance de l'extrait/standard.



Schéma III.2. Mode de remplissage de la plaque pour chaque échantillon (inhibition de l'ABTS⁺)

III.4.2.3. Activité de réduction par la formation du complexe Fe⁺²- phénantroline

➤ Principe

Cette technique est basée sur la formation du complexe Fe⁺²-phénantroline de couleur rouge-orangé suite à une réaction d'oxydoréduction en présence d'un antioxydant. Ce complexe est soluble à pH basique et peut être mesuré à une absorbance de 510 nm.

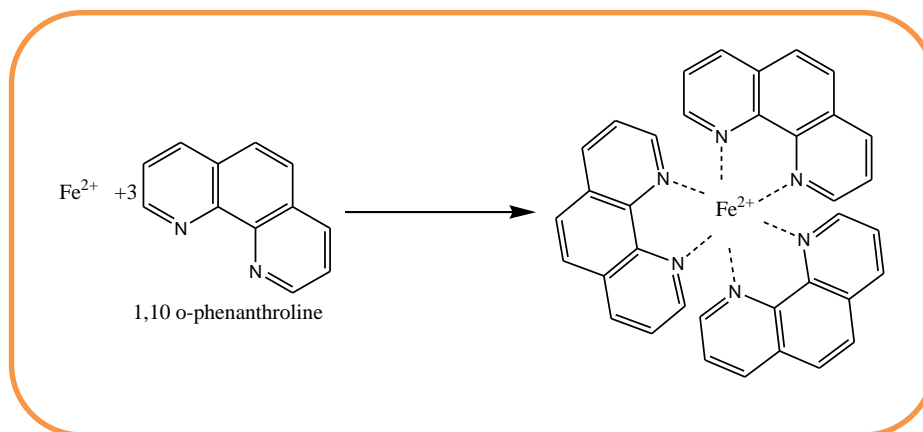


Figure III.6. Formation du complexe Fe⁺²-phénantroline

➤ Procédure

L'activité de réduction par la formation du complexe Fe⁺²-phénanthroline des extraits a été mesurée selon la méthode décrite par *Szydłowska-Czerniaka* en 2008 [8]. Des extraits de différentes concentrations, de volume de 10 µl ont été ajoutés à une solution de 50 µl de FeCl₃ (0.2%), 30 µl Phénanthroline (0.5%) et 110 µl de méthanol. Le mélange a été agité vigoureusement et incubé pendant 20 min à l'étuve à température de 30° C. L'absorbance a été déterminée à 510 nm. Les résultats ont été calculés à titre de A_{0,5} (µg/ml) correspondant à la concentration indiquant 0,5 d'absorbance.

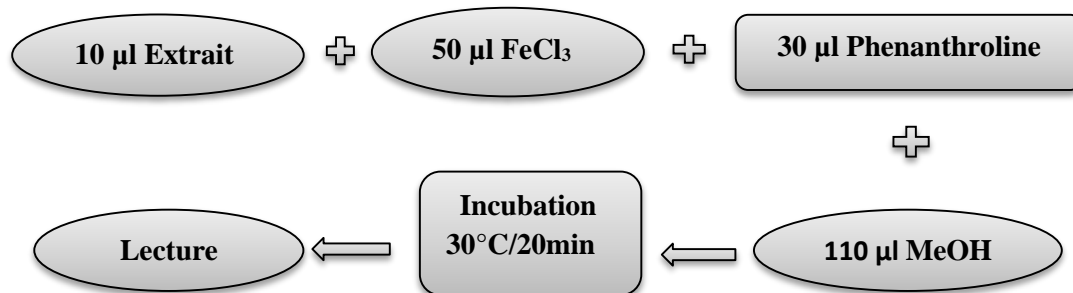


Schéma III.3. Mode de remplissage de la plaque pour chaque échantillon (Fe⁺²-phenanthroline)

III.4.3. Activités antidiabétique

Les enzymes sont des protéines dont la fonction est de catalyser et d'accélérer les réactions chimiques, et leur inhibition joue un rôle dans le contrôle des mécanismes biologiques. L'activité antidiabétique des divers extraits des grains de *Sésame*, a été testée selon la méthode d'inhibition de l'enzyme alpha-amylase.

III.4.3.1. Inhibition de l'enzyme alpha-amylase

➤ Principe

L'alpha amylase est un enzyme digestive, produite par les glandes salivaires et les glandes pancréatiques, synthétisée également dans les fruits de plantes durant leur maturation. C'est l'un des endo-amylases les plus significatives qui hydrolyse les liaisons α (1-4) glycosidiques à l'intérieur des chaînes de l'amidon pour donner des molécules de maltose (disaccharides de α -glucose). Le principe de la méthode est basé sur la formation du complexe iode-amylose [9]. En présence d'un inhibiteur naturel, l'amidon ne sera pas dégradé par l'enzyme alpha-amylase et par conséquent, il aura la formation de complexe iode-amylose. Ce complexe coloré peut être déterminé par spectroscopie à 630 nm.

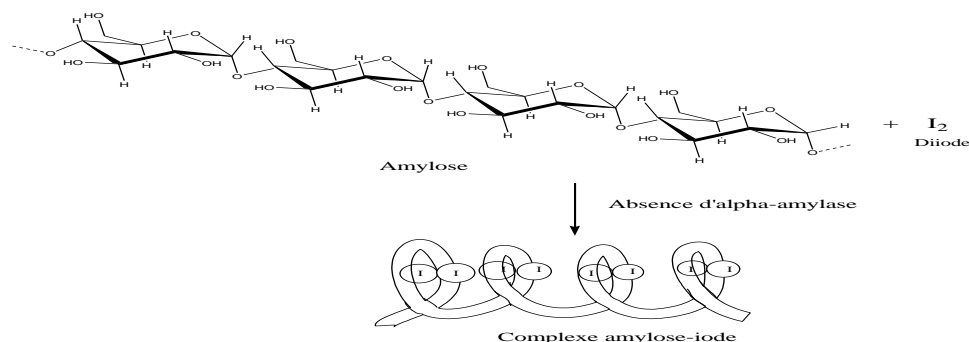


Figure III.7. Formation du complexe amylose-iodine en absence de l' α -amylase.

➤ Procédure

L'activité inhibitrice de l' α -amylase a été déterminée par la méthode de Zengin et *al.*, [10] avec quelques modifications. Sur une microplaque de 96 puits, un volume de 25 μ l d'extrait à différentes concentrations est mélangé avec 50 μ l d'une solution d' α -amylase (1U), puis incubé pendant 10 min à 37° C. Ensuite, 50 μ l d'amidon (0,1%) sont additionnés. Le mélange est incubé une autre fois pendant 10 minutes à 37° C. Après incubation, 25 μ l d'acide hypochlorique (1M) et 100 μ l d'iodure de potassium iodé sont ajoutés. La lecture de l'absorbance est réalisée à 630 nm. L'acarbose est utilisée comme standard. Le pourcentage d'inhibition de l' α -amylase a été calculé par la formule suivante :

$$\text{Inhibition (\%)} = 1 - \left[\frac{(\mathbf{Ac} - \mathbf{Ae}) - (\mathbf{As} - \mathbf{Ab})}{(\mathbf{Ac} - \mathbf{Ae})} \right]$$

\mathbf{Ac} =Absorbance [Amidon+IKI+HCl+Vol de solvant d'extrait+Vol tampon Enzyme]

\mathbf{Ae} =Absorbance [Enzyme+Amidon+IKI+HCL+ Vol de solvant d'extrait]

\mathbf{As} =Absorbance [Enzyme+Extrait+Amidon+IKI+HCl]

\mathbf{Ab} =Absorbance [Extrait+IKI+125 μ l de tampon]

Références

- [1] L. Müller, S.Gnoyke, A.M.Popken, V. BöhmV. (2010). Antioxidant capacity and related parameters of different fruit formulations. *LWT - Food Science and Technology*. 43:992–999.
- [2] V.L. Singleton, J.A.Rossi. (1965). Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*. 16, 144-158.
- [3] J.J Macheix, A.Fleuriet, C.Jay-Allemand.(2005). Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. *Presses polytechniques et universitaires romandes*.
- [4] C. Popovici, I. Saykova, et B. Tylkowski. (2010). Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH.
- [5] P. Molyneux. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity, *Songklanakarinn J Sci Technol*, vol. 26, no2, p.211-219,.
- [6] M.S.Blois.(1958). Antioxidant Determinations by the Use of a Stable Free Radical. *Nature*. 181, 1199-1200.
- [7] Schlesier, K., Harwat, M., Böhm, V., and Bitsch, R. (2002). Assessment of Antioxidant Activity by Using Different In Vitro Methods. *Free Radical Research*. 36, 177-187.
- [8] A. Szydlowskaczerniak, C. Dianoczki, K. Recseg, K., Karlovits, E. Szlyk . (2008). Determination of antioxidant capacities of vegetable oils by ferric-ion spectrophotometric methods. *Talanta*. 76, 899-905.
- [9] B. Boursier. (2005). Amidons natifs et amidons modifiés alimentaires. *Techniques de l'Ingénieur*. 33-38.
- [10] G.Zengin, C.Sarikurkcü, A.Aktumsek, R. Ceylan and Ceylan, O. (2014). A comprehensive study on phytochemical characterization of *Haplophyllum myrtifolium* Boiss. Endemic to Turkey and its inhibitory potential against key enzymes involved in Alzheimer, skin diseases and type II diabetes. *Industrial Crops and Products*. 53, 244-251.

Chapitre IV
Résultats et discussion

IV.1. Rendements d'extraction

Les rendements d'extraction par macération et l'extraction assistée par ultrason des extraits, brut des graines de la plante *Sésame*, sont regroupés dans le **Tableau IV.1**

Tableau IV.1. Rendement d'extraction par macération et ultrason de différents extraits obtenus dans différents solvants : Hexane, chloroforme/méthanol et éthanol

<i>Extraction</i>	<i>Hexane</i>	<i>Méthanol/chloroforme</i>	<i>Ethanol</i>
<i>Macération</i>	16 %	20.10 %	4.73 %
<i>Ultrason</i>	16.01 %	17.77 %	2.78 %

La plante étudiée a donnée des rendements d'extraction importants, quelle que soit la méthode d'extraction utilisée pour les solvants hexane et le système (méthanol/chloroforme), ce qui reflète la richesse en lipide de cette plante. Notons qu'il existe une légère différence entre les rendements obtenus par macération et extraction assistée par ultrasons avec une préférence pour la macération, où l'extrait de macération du mélange solvant (méthanol/chloroforme) a donné le meilleur rendement d'extraction.

IV.2. Teneur totale en polyphénols

Le dosage des polyphénols totaux dans les extraits de graines de *Sésame* a été réalisé par la méthode spectrophotométrique de Folin-Ciocalteu (FCR). La teneur en polyphénols totaux est exprimée en μg équivalent d'acide gallique par mg d'extrait, en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée par l'acide gallique (**Figure IV.1**). Les résultats du dosage colorimétrique des composés phénoliques totaux sont présentés dans la (**Figure IV.2**) et le (**Tableau IV.2**).

Tableau IV.2. Le contenu total en polyphénols des extraits de Sésame

<i>Extraits</i>	<i>HeM</i>	<i>HeU</i>	<i>MM</i>	<i>MU</i>	<i>EtM</i>	<i>EtU</i>
<i>Contenu total de polyphénoliques (μg EAG/ mg d'extrait)</i>	0,21 \pm 3,01	0,24 \pm 2,78	0,55 \pm 2,19	0,57 \pm 1,64	62,87 \pm 2,55	83,95 \pm 1,47

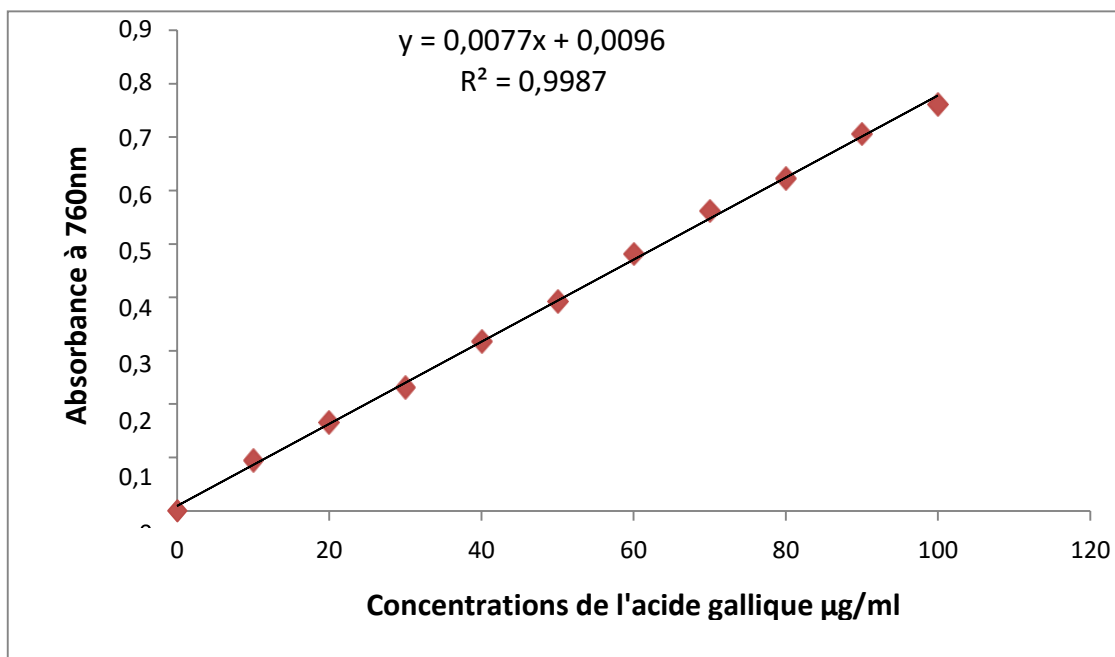


Figure IV.1. Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

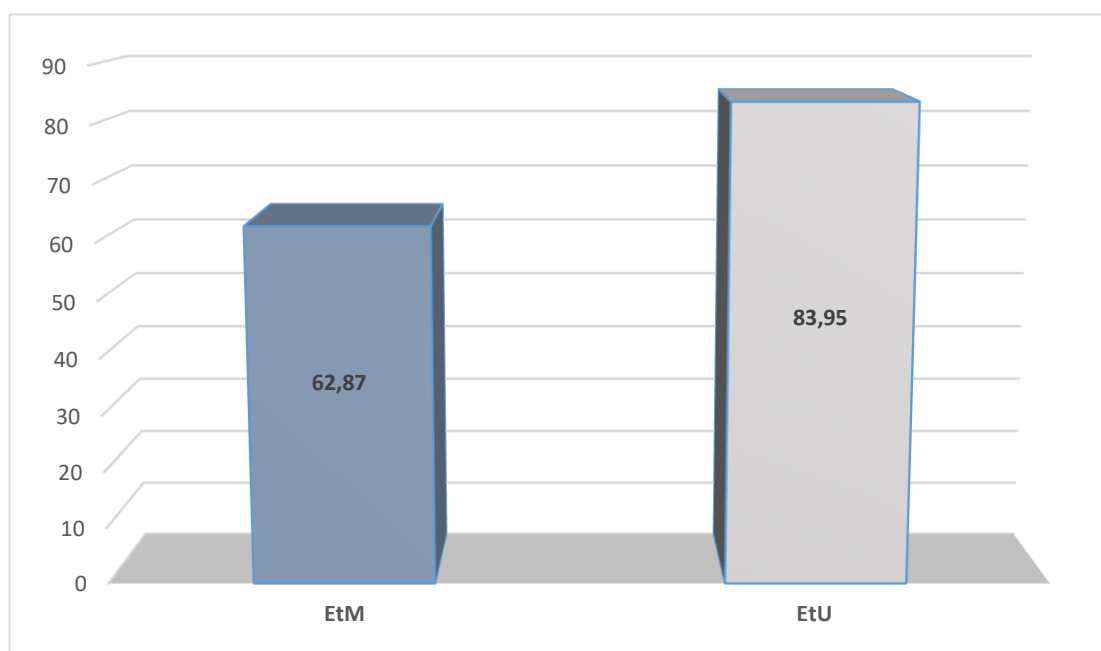


Figure IV.2. Evaluation des polyphénols totaux des extraits des grains de Sésame : l'extrait à l'éthanol-ultrasons (EtU) et extrait à l'éthanol-macération (EtM)

Les résultats du dosage des polyphénols totaux ont été obtenus par extrapolation de l'absorbance des extraits sur la courbe d'étalonnage de l'acide gallique. Les résultats montrent que l'extrait à l'éthanol-ultrasons (EtU) est le plus riche en polyphénols avec une teneur de $83,95 \pm 1,47$ µg EAG/mg d'extract, suivi par l'extrait à l'éthanol-macération (EtM) ($62,87 \pm 2,55$ µg EAG/mg d'extract, cependant l'extrait à l'hexane-ultrasons (HeU), l'extrait

à l'hexane-macération (HeM), l'extrait au méthanol/chloroforme-ultrasons (MU), et l'extrait au méthanol/chloroforme -macération (MM) ont présenté une très faibles teneurs en polyphénols.

Les ultrasons peuvent avoir un effet positif sur l'éthanol, de sorte que les extraits obtenus à partir de la méthode d'extraction assistée par ultrasons avec les solvants ci-dessus peuvent faire une différence significative en termes de composés phénoliques avec des extraits similaires obtenus à partir de la méthode de macération. Cela est dû à l'effet des propriétés du solvant telles que la pression de vapeur, les viscosités et la tension superficielle sur l'incidence de la cavitation. La valeur de ces propriétés pour l'éthanol, le méthanol, hexane et le chloroforme a été indiquée dans le **Tableau IV.3**.

Tableau IV.3. Propriétés thermodynamiques des solvants utilisés dans l'extraction [1, 2]

<i>Solvant</i>	<i>Polarité</i>	<i>Tension superficielle (mN/cm)</i>	<i>Pression de vapeur (mmHg)</i>	<i>Viscosité (CP)</i>
<i>Ethanol</i>	0,654	22,0	59	1,08
<i>Hexane</i>	0,009	18,4	160	0,29
<i>Méthanol</i>	0,762	22,1	128	0,54
<i>Chloroforme</i>	0,259	26,7	210	0,54

L'effet de la pression de vapeur dans les ultrasons est lié à la production de bulles de cavitation. Cela signifie que les solvants à faible pression de vapeur produisent moins de bulles de cavitation qui nécessitent une force plus élevée pour s'effondrer. Ainsi, lors de l'extraction, les tissus végétaux sont perturbés avec plus d'intensité. Par contre, les solvants à haute pression de vapeur produisent plus de bulles mais avec moins de force pour s'effondrer. Ainsi, ces types e solvants ne sont pas très efficaces pour l'extraction. Dans le cas de la viscosité, les liquides à faible viscosité sont plus efficaces, car l'intensité ultrasonique appliquée pourrait plus facilement surmonter la force moléculaire des liquides à faible viscosité. De plus, un liquide à faible viscosité peut facilement pénétrer dans la texture végétale, en raison de sa faible densité et de sa grande diffusivité. La tension superficielle des liquides est une autre caractéristique qui contribue à la formation de bulles de cavitation. Dans les liquides à faible tension superficielle, les bulles de cavitation se créent plus facilement, car l'intensité ultrasonore appliquée pourrait plus facilement dépasser la force de tension superficielle [3].

Comme on peut le voir dans le **Tableau IV.3**, bien que la tension superficielle et la viscosité de l'éthanol soit supérieure à celle de l'hexane, mais en raison de sa pression de vapeur plus faible, les bulles nécessitent une force plus élevée pour s'effondrer, de sorte que plus d'énergie est libérée pour perturber les tissus végétaux. La faible viscosité de l'hexane entraîne la formation de bulles de cavitation plus élevées mais, en raison de leur pression de vapeur élevée, elles se décomposent avec moins d'intensité [4].

IV.3. Activités anti-oxydantes

De différents extraits des plantes sont des sources potentielles des composants chimiques naturels responsables d'activités antioxydantes. En conséquence, diverses méthodes et outils analytiques sont développés pour l'évaluation de l'activité antioxydante [5]. Dans la présente étude, quatre méthodes ont été utilisées pour évaluer l'activité antioxydante : DPPH, ABTS, et phénanthroline. L'activité des différents extraits a été déduite à l'aide d'un spectrophotomètre suite au piégeage des radicaux libres qui s'est accompagné du changement de couleur du violet au jaune pour le DPPH[•] et du bleu à l'incolore pour l'ABTS^{•+} ; soit suite à la réduction du fer ferrique qui s'est traduite par le changement de couleur du jaune au bleu pour la phénanthroline. Les résultats ont été comparés à ceux du standard : BHA et BHT.

IV.3.1. Activité anti-radicalaire au DPPH[•]

Dans cette étude, l'activité anti radicalaire au DPPH[•] des différents extraits de grains de la plante *Sesamium indicum* a été évalué par spectrophotométrie à 517 nm. Les résultats sont présentés dans l'histogramme illustré dans le **Tableau IV.4** et la **Figure IV.3**.

Le dosage des radicaux libres DPPH[•] dépend de la concentration d'extrait, solvant d'extraction et méthode d'extraction. Comme on peut le voir dans le **Tableau IV.4**, l'activité antioxydante des extraits éthanoïques a augmenté avec l'augmentation de la concentration de 12,5 µg à 800 µg. Ces résultats étaient en accord avec *Xiea et al*, qui ont mentionné que la concentration de l'extrait est un facteur efficace pour améliorer l'activité antioxydante [6]. L'activité antioxydante la plus élevée appartenait à l'extrait à l'éthanol-ultrasons (EtU) à la concentration de 800 µg. Les extraits à l'hexane et au mélange méthanol/chloroforme n'ont présenté aucune activité antioxydante, et cela était dû à la très faible quantité de composés phénoliques dans ces extraits.

Tableau IV.4. Inhibition du radical DPPH^{*} par les extraits de grains de Sésame

Extracts	% Inhibition in DPPH assay							
	12.5 µg	25 µg	50 µg	100 µg	200 µg	400 µg	800 µg	IC ₅₀ µg/mL
HeM	-	-	-	-	-	-	-	NA
MM	-	-	-	-	-	-	-	NA
EtM	2,54±0,37	6,39±0,93	12,62±1,38	22,25±0,21	33,93±0,93	65,39±0,87	85,87±1,25	298,447±0,33
HeU	-	-	-	-	-	-	-	NA
MU	-	-	-	-	-	-	-	NA
EtU	6,45±1,13	12,94±0,11	15,83±3,63	27,77±0,11	49,98±0,43	77,72±0,22	87,67±0,19	222,15±0,33
	3,125	6,25	12,5	25	50	100	200	CI₅₀ (µg/ml)
BHA	22,21±1,24	31,73±1,22	54,89±3,60	67,60±1,13	76,77±0,54	78,67±1,31	79,01±0,89	5,73±0,41

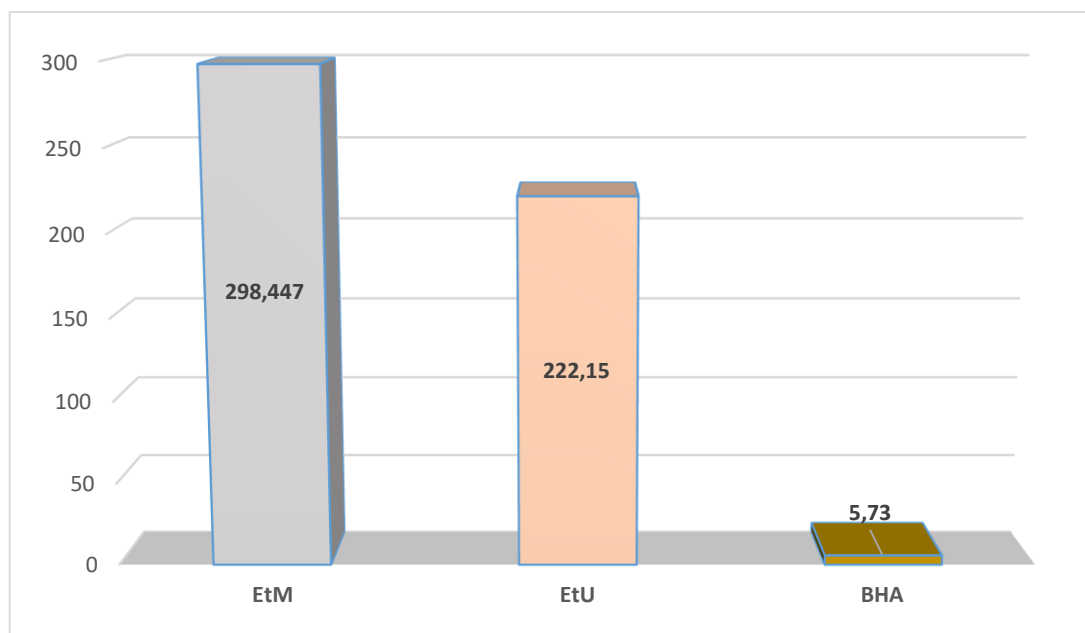


Figure IV.3. Valeurs IC₅₀ du test DPPH^{*} des extraits : à l'éthanol-ultrasons (EtU), et à l'éthanol-macération (EtM)

La concentration d'extrait qui fournit 50% d'inhibition des radicaux libres sont indiqués par IC₅₀. Par conséquent, les extraits avec la plus faible IC₅₀ ont le plus grand antioxydant propriété. Comme on peut le voir sur la **Figure IV.3**, l'IC₅₀ la plus faible avec 5,73 µg est lié au BHA en tant qu'antioxydant standard.

IV.3.2. Activité du piégeage du cation radical ABTS^{•+}

L'ABTS (acide 2,2'-azino-bis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique) est un composé organique stable utilisé dans l'évaluation de l'activité antiradicalaire, avec un pic d'absorption à 734 nm. L'antioxydant réagit avec ABTS^{•+} bleu pour redonner l'ABTSH^{•+} incolore. Cette transformation a été suivie par la mesure de l'absorbance et la détermination de la concentration inhibitrice des différents extraits en comparaison avec le standard BHA. Les résultats sont présentés dans la **Figure IV.4** et le **Tableau IV.5** ci-dessous.

Tableau IV.5. Inhibition du cation radical ABTS^{•+}

Extracts	% Inhibition in ABTS assay							
	12.5 µg	25 µg	50 µg	100 µg	200 µg	400 µg	800 µg	IC ₅₀ µg/mL
<i>HeM</i>	-	-	-	-	-	-	-	NA
<i>MM</i>	-	-	-	-	-	-	-	NA
EtM	12,95±1,11	20,78±0,54	36,02±1,36	54,89±0,92	75,48±1,70	82,56±1,00	83,22±0,19	95,23±1,32
HeU	-	-	-	-	-	-	-	NA
MU	-	-	-	-	-	-	-	NA
EtU	15,76±0,50	22,98±0,59	38,13±0,59	57,52±0,44	77,74±2,27	83,09±1,40	83,47±1,07	86,11±1,87
	12.5 µg	25 µg	50 µg	100 µg	200 µg	400 µg	800 µg	CI ₅₀ (µg/ml)
BHA	92.83±1,42	94.68±0,42	94.95±0,90	95.32±0,25	95.59±0,47	95.83±0,15	95,86±0,10	1.81±0.10

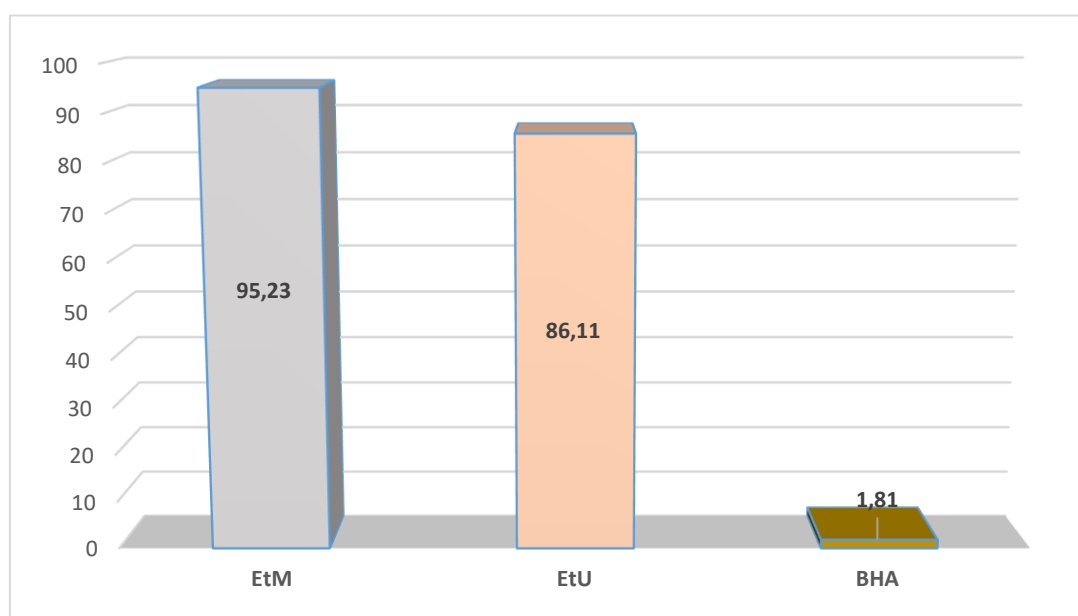


Figure IV.4. Valeurs IC₅₀ du test ABTS^{•+} des extraits : à l'éthanol-ultrasons (EtU), et à l'éthanol-macération (EtM)

En comparant les résultats obtenus avec ceci du BHA, on peut déduire que les extraits à l'hexane et au mélange méthanol/chloroforme de *Sésame* n'avaient aucune activité antioxydante. Aucun changement de couleur n'a été détecté sur les microplaques. Les valeurs d'IC₅₀ étaient très élevées > 800 µg/mL (**Tableau IV.5**). L'IC₅₀ des extraits éthanoliques de graines de *Sésame* se situait entre 86,11 et 95,23 µg/mL pour EtU et EtM respectivement.

Selon la littérature, les composés phénoliques naturels ont suscité un intérêt croissant au cours de la dernière décennie en raison de leur pouvoir antioxydant, entre autres composants végétaux [7]. Afin d'expliquer l'inactivité du piégeage du cation radical ABTS^{•+} des extraits à l'hexane et au mélange méthanol/chloroforme de *Sésame*, la teneur en polyphénols totaux a été quantifiée et les résultats ont révélé une très faible quantité (0,21 ~ 0,57 mg d'équivalent acide gallique/mg d'extrait). Ces résultats sont attribués à la polarité du solvant utilisé dans le processus d'extraction. Différentes études ont mis en évidence une relation proportionnelle entre la polarité du solvant utilisé, la teneur en polyphénols totaux et le potentiel antioxydant [8–11]. Dans la présente étude, puisque l'hexane et le mélange méthanol/chloroforme sont non polaires, il avait une faible capacité à dissoudre les composés polaires tels que les polyphénols ; entraînant une faible activité antioxydante. Tandis que l'éthanol est un solvant polaire, il avait la capacité à dissoudre les polyphénols dont la teneur obtenu est entre 62,87 et 83,95 mg d'équivalent acide gallique/mg d'extrait pour EtM et EtU respectivement, et par conséquent, une inhibition du radical ABTS^{•+} a été enregistrée.

IV.3.3. Activité de réduction par la formation du complexe Fe²⁺-Phénantroline

Suite à une réaction d'oxydoréduction, un complexe Fe²⁺- phénantroline de couleur rouge-orangé est formé. Cette réduction est déterminée par la mesure de valeurs de A_{0,50} des extraits de la plante et celles des standards BHA et BHT ce qui a permis d'obtenir les résultats présentés dans la **Figure IV.5** et le **Tableau IV.6** ci-dessous:

Tableau IV.6. Absorbance du complexe Fe^{+2} - phénantroline

Extracts	Absorption in Phénantroline assay							
	3,12.5 μ g	6,25 μ g	1,25 μ g	25 μ g	50 μ g	100 μ g	200 μ g	IC ₅₀ μ g/mL
HeM	-	-	-	-	-	-	-	NA
MM	-	-	-	-	-	-	-	NA
EtM	0,22±0,51	0,22±0,46	0,23±0,05	0,25±1,18	0,30±0,11	0,41±0,15	0,70±0,07	127,41±0,11
HeU	-	-	-	-	-	-	-	NA
MU	-	-	-	-	-	-	-	NA
EtU	0,24±1,51	0,25±0,44	0,26±1,92	0,26±1,11	0,43±0,19	0,58±0,12	1,13±0,07	71,83±0,07
	3,125	6,25	12,5	25	50	100	200	CI₅₀ (μg/ml)
BHA	0,49±0,01	0,59±0,01	0,73±0,02	0,93±0,01	1,25±0,04	2,10±0,05	4,89±0,06	0,93±0,07
BHT	0,47±0,01	0,47±0,01	0,53±0,03	1,23±0,02	1,84±0,01	3,48±0,03	4,84±0,01	2,24±0,17

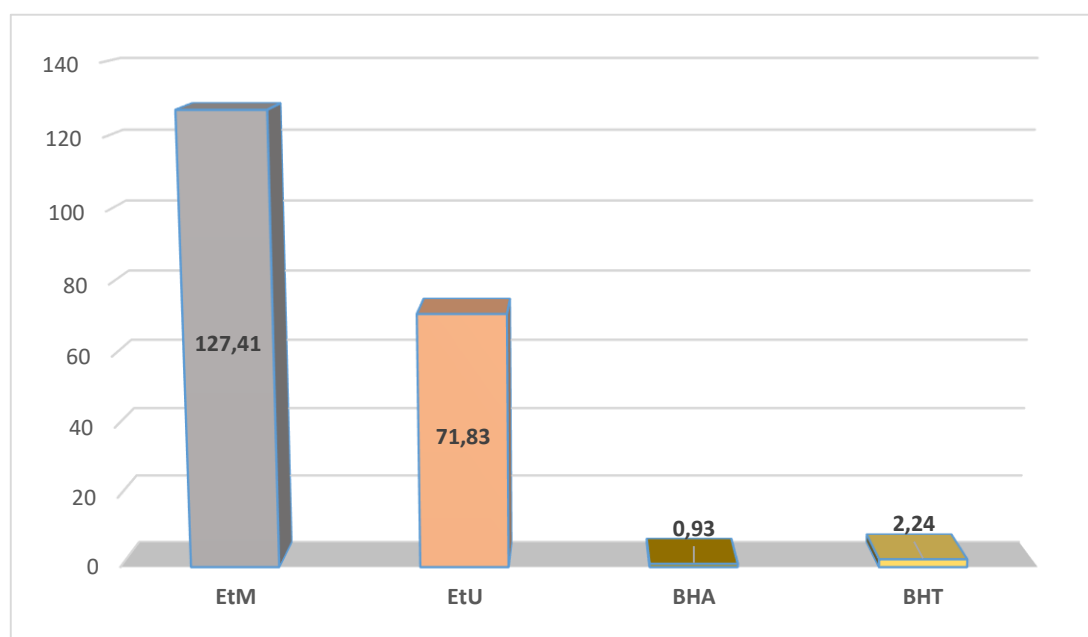


Figure IV.5. Valeurs des $A_{0.5}$ dans le test phénanthroline des extraits : à l'éthanol-ultrasons (EtU), et à l'éthanol-macération (EtM)

Les résultats obtenus par cette activité montrent que, seuls les extraits éthanoliques sont révélés capables de réduire le fer et de former un complexe Fe^{+2} - phénantroline, avec $A_{0,50} = 127,41 \pm 0,11$ et $71,83 \pm 0,07$ μ g/ml pour EtM et EtU respectivement. Toutefois, les deux standards le BHA et le BHT présentent les plus fortes activités réductrices avec $A_{0,50} = 0,93 \pm 0,07$ et $2,24 \pm 0,17$ μ g/ml respectivement.

Malgré l'existence de pouvoir réducteur et la formation de complexe mais sont très loin a comparé avec celle de BHA et BHT. Dans cette activité, la présence des réducteurs dans les extraits éthanoïques des grains de la plante *Sésame* permet de réduire le Fe^{+3} en Fe^{+2} . Par conséquent, ce dernier forme un complexe stable avec la phénantroline de couleur rouge orangé. Ce complexe Fe^{+2} - phénantroline est révélé par la méthode spectrophotométrique, ce qui permet de doser les ions ferreux et donc de déterminer le pouvoir réducteur de l'antioxydant testé. Cette différence du pouvoir réducteur vis-à-vis au complexe Fe^{+2} - phénantroline est due à la capacité réductrice des polyphénols en tant qu'antioxydants qui dépend du degré d'hydroxylation et du degré de conjugaison des composés phénoliques.

IV.4. Evaluation de l'activité antidiabétique

Le diabète sucré, une maladie chronique complexe caractérisée par un taux élevé de glucose dans le sang attribuable à une carence en insuline. De nombreux chercheurs ont révélé le lien entre l'inhibition de l' α -amylase et de l' α -glucosidase et la prise en charge du diabète [12]. L'activité antidiabétique des extraits de grains de la plantes *Sésame*, a été évaluée en mesurant leurs capacités à inhiber l'enzyme alpha-amylase.

IV.4.1. Inhibition de l'alpha amylase

Dans cette étude, l'activité inhibitrice de l'enzyme alpha-amylase des différents extraits a été évaluée par la détermination des concentrations inhibitrices IC_{50} et comparée à celle de l'acarbose. Les résultats sont illustrés dans la **Figure IV.6** et le **Tableau IV.7** ci-dessous :

Tableau IV.7. Inhibition de l'enzyme α -amylase

Extracts	% Inhibition α -amylase assay							
	6.25 μ g	12.5 μ g	25 μ g	50 μ g	100 μ g	200 μ g	400 μ g	IC_{50} μ g/mL
HeM	2,57 \pm 0,32	5,12 \pm 0,26	9,84 \pm 1,21	13,86 \pm 0,28	16,53 \pm 0,83	16,76 \pm 0,22	24,85 \pm 1,17	>400
MM	3,15 \pm 0.19	4,19 \pm 0,27	7,05 \pm 0.29	11,25 \pm 0,45	22,55 \pm 0,19	31,55 \pm 1,02	56,36 \pm 1,02	348,69 \pm 1.02
EtM	7,18 \pm 0,38	9,43 \pm 1,22	12,90 \pm 0,67	20,49 \pm 1,73	32,14 \pm 2,57	45,07 \pm 1,30	62,21 \pm 1,01	269,14 \pm 1.2
HeU	3,16 \pm 0,32	5,32 \pm 0,15	10,13 \pm 0,56	15,02 \pm 0,35	22,24 \pm 0,99	30,27 \pm 0,24	36,97 \pm 1,68	>400
MU	4,55 \pm 0.78	7,33 \pm 0,66	8,57 \pm 0,93	15,61 \pm 0,72	24,04 \pm 0,22	36,59 \pm 0,46	58,27 \pm 3,67	324,8 \pm 1.89
EtU	7,37 \pm 0,50	9,44 \pm 0,62	14,75 \pm 0,36	23,95 \pm 0.88	34,15 \pm 1,44	52,67 \pm 1,61	76,18 \pm 1,02	185,26 \pm 1.47
Acarbos	62,5 μ g	125 μ g	250 μ g	500 μ g	1000 μ g	2000 μ g	4000 μ g	CI_{50} (μ g/ml)
	7,76 \pm 0,17	8,08 \pm 0,30	9,46 \pm 0,11	10,70 \pm 0,96				

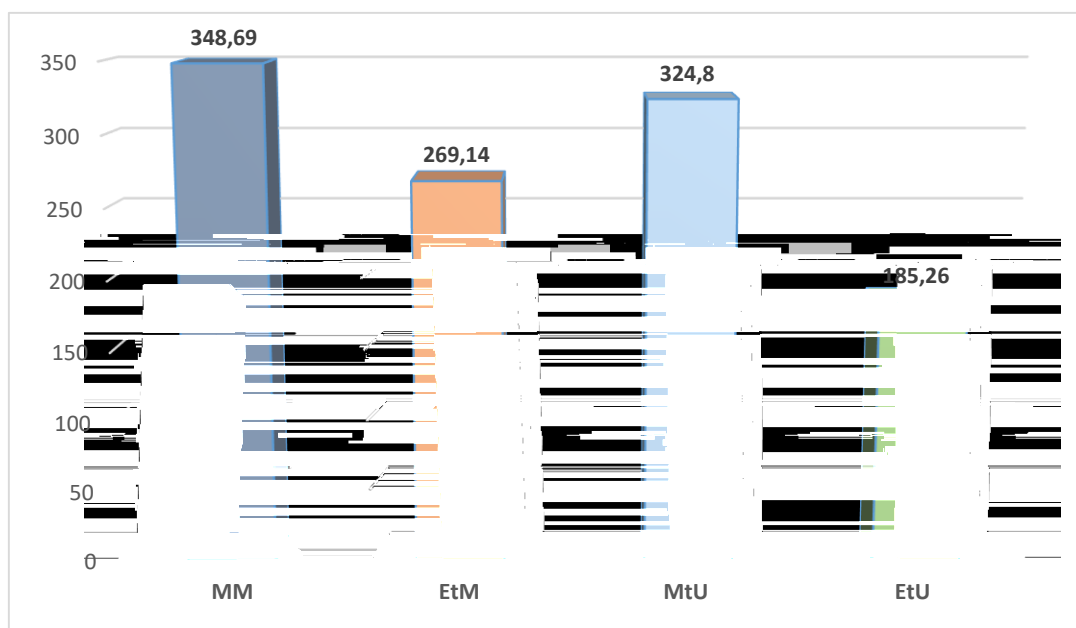


Figure IV.6. Valeurs des IC_{50} du test d'inhibition de l' α -amylase des extraits : au mélange méthanol/chloroforme-macération (MM), à l'éthanol-macération (EtM), au mélange méthanol/chloroforme- ultrasons (MU), et à l'éthanol-ultrasons (EtU)

D'après les résultats obtenus dans cette étude, il a été constaté que les extraits à l'éthanol et le mélange méthanol/chloroforme présentaient une inhibition très significative de l'enzyme α -amylase par rapport au standard. l'acarbose ($IC_{50} = 3650,93 \pm 10.70 \mu\text{g/ml}$), dont l'extrait à l'éthanol-ultrasons (EtU) a donné la meilleure inhibition ($IC_{50} = 185,26 \pm 1.47 \mu\text{g/ml}$).

Cette d'activité inhibitrice de l' α -amylase peut être justifiée par la présence d'huile de *Sésame* et plus spécifiquement d'acides gras insaturés. De nombreuses études ayant montré l'efficacité des acides gras insaturés dans la prise en charge du diabète de type 2 [13–15]. De plus, il a été rapporté aussi que les polyphénols peuvent inhiber l' α -amylase de manière compétitive, non compétitive ou mixte [16]. En effet, cette inhibition est associée à la capacité des acides gras et certaines molécules polyphénoliques à se lier fortement à l'enzyme alpha amylase par des interactions de multiples liaisons hydrogènes et d'associations hydrophobes. À la suite de cette interaction, il se produit un blocage d site catalytique de l'enzyme et son activité est donc inhibée [17].

Références

- [1] Mason, T. J., L. Paniwnyk, and J. P. Lorimer. (1996). The uses of ultrasound in food technology. *Ultrason. Sonochem.* 3:53–60.
- [2] Hemwimol, S., P. Pavasant, and A. Shotipruk. (2006). Ultrasound-assisted extraction of anthraquinones from roots of *Morinda citrifolia*. *Ultrason. Sonochem.* 13:543–548.
- [3] I. Gülçin, Antioxidant activity of food constituents: an overview, *Arch. Toxicol.* 86 (2012) 345–391.
- [4] Xiea, J.-H., M.-Y. Shena, M.-Y. Xiea, S.-P. Niea, Y. Chena, C. Li, et al. (2012). Ultrasonic-assisted extraction, antimicrobial and antioxidant activities of *Cyclocarya paliurus*(Batal.) Iljinskaja polysaccharides. *Carbohydr. Polym.* 89:177–184.
- [5] N. Pourreza, Phenolic compounds as potential antioxidant, *Jundishapur J. Nat. Pharm. Prod.* 8 (2013) 149–150.
- [6] M.R.S. Ardekani, M. Khanavi, M. Hajimahmoodi, M. Jahangiri, A. Hadjiakhoondi, Comparison of antioxidant activity and total phenol contents of some date seed varieties from Iran, Iran, *J. Pharm. Res.* 9 (2010) 141–146.
- [7] A. Daoud, D. Malika, S. Bakari, N. Hfaiedh, K. Mnafigui, A. Kadri, N. Gharsallah, Assessment of polyphenol composition, antioxidant and antimicrobial properties of various extracts of Date Palm Pollen (DPP) from two Tunisian cultivars, *Arab. J. Chem.* 12 (2019), 3075–3086.
- [8] W. Kchaou, F. Abb`es, C. Blecker, H. Attia, S. Besbes, Effects of extraction solvents on phenolic contents and antioxidant activities of Tunisian date varieties (*Phoenix dactylifera* L.), *Ind. Crop. Prod.* 45 (2013) 262–269.
- [9] A. Siahpoosh, A.M. Taleb, H. Almasi, In vitro evaluation of antioxidant activity and total phenol contents of some extracts from ripe fruits of *Phoenix dactylifera* var Berhi, *Int. J. Pharmacogn. Phytochem. Res.* 8 (2016) 1855–1862.
- [10] A. Duraiswamy, D. Shanmugasundaram, M.C. Sanjay, Changam Sheela Sasikumara, M.C. Kotturathu, Development of an antidiabetic formulation (ADJ6) and its inhibitory activity against α -amylase and α -glucosidase, *J. Tradit. Complement. Med.* 6 (2016) 204–208.
- [11] H. Teng, L. Chen, α -Glucosidase and α -amylase inhibitors from seed oil: a review of

- liposoluble substance to treat diabetes, *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 57 (2017) 3438–3448.
- [12] E.K. Vassiliou, A. Gonzalez, C. Garcia, J.H. Tadros, G. Chakraborty, J.H. Toney, Oleic acid and peanut oil high in oleic acid reverse the inhibitory effect of insulin production of the inflammatory cytokine TNF- both in vitro and in vivo systems, *Lipids Health Dis.* 8 (2009) 1–10.
- [13] T. Nguyen, B. Um, S. Kim, Two unsaturated fatty acids with potent alpha-glucosidase inhibitory activity purified from the body wall of sea cucumber (*Stichopus japonicus*), *J. Food Sci.* 76 (2011) 208–214.
- [14] H. Nyambe-Silavwe, J.A. Villa-Rodriguez, I. Ifie, M. Holmes, E. Aydin, J.M. Jensen, G. Williamson, Inhibition of human α -amylase by dietary polyphenols, *J. Funct. Foods* 19 (2015) 723–732.
- [15] Aparecida Braga, M.Silva de Abreu, T.Cardoso Trento, M.V.Henrique Andrade Machado, G. Lopes Silva Pereira, L.Assaid Simão, A.S.Marcussi,. (2019). Prospection of Enzyme Modulators in Aqueous and Ethanolic Extracts of *Lippia sidoides* Leaves: Genotoxicity, Digestion, Inflammation, and Hemostasis. *Chemistry & Biodiversity*.16.

Conclusions générales

Conclusions générales

L'extraction assistée par ultrasons est l'une des nouvelles méthodes d'extraction simples et peu coûteuses utilisées pour extraire l'huile de sésame et comparée à la méthode de macération.

Il a été observé que la méthode d'extraction et le type de solvant affectaient l'extraction des composés. Depuis le phénomène de cavitation généré par les ondes ultrasonores, le transfert de masse a augmenté et, par conséquent, davantage de composés phénoliques peuvent être extraits des tissus perturbés. Les propriétés des solvants telles que la viscosité, la tension superficielle et la pression de vapeur influencent l'apparition de la cavitation et donc l'extraction de composés.

Dans ce travail, trois méthodes différentes ont été utilisées pour évaluer l'activité antioxydante des extraits. Puisque la nature de ces méthodes est différente, différentes réponses ont été observées parmi les extraits, de sorte que dans le test DPPH^{*}, ABTS⁺⁺, et la méthode Phenanthroline assay, l'extrait éthanol-ultrasons était le meilleur extrait, Ce qui est cohérent avec la quantité de polyphénols présents, car les résultats ont prouvé que l'extrait à éthanol-ultrasons contient plus grande quantité de polyphénols par rapport aux autres extraits.

En outre, l'activité antidiabétique in vitro a été réalisée et comparée à celle du médicament standard, l'acarbose. Les résultats ont révélé que l'extrait éthanol-ultrasons était le plus efficace pour inhiber l'alpha amylase l'enzyme de contrôle clés du diabète. On peut en déduire que cette effet antidiabétique était dû à la présence des lignanes et tocophérols dans l'huile de sésame. Dans l'ensemble, l'huile de sésame représente un système prometteur pour l'inhibition des enzymes associées au diabète et peut être utilisée comme alternative aux hypoglycémiant oraux, dont la prise est souvent associée à des effets indésirables comme la diarrhée, inconfort, nausées, crampes, flatulences et prise de poids.

ملخص

من خلال هذا العمل، انصب اهتمامنا باستغلال نبات بذور السمسم من خلال استعمال طريقتين من طرق الاستخلاص: الاستخلاص الكلاسيكي (النقع) والاستخلاص بمساعدة الموجات فوق الصوتية (حمام الموجات فوق الصوتية)، حتى تتمكن من تقييم نشاط مضادات الأكسدة بناءً على الاختبارات (*DPPH*، *ABTS* و *Phenantroline*) وكذلك النشاط المضاد لمرض السكري باستخدام تقنية تثبيط إنزيم الفا-أميلاز، من مستخلصات هذه الحبوب. بناءً على الهدف أعلاه، تم تسجيل نتائج متغيرة: فيما يتعلق بالأنشطة المضادة للأكسدة، وجدنا قيمًا مهمة للمستخلصات الإيثانول ولكن لا تزال غير قابلة للمقارنة مع تلك الموجودة *BHT* و *BHA*. أما فيما يتعلق بالنشاط المضاد لمرض السكري، فقد سجلنا نتائج واعدة للمستخلصين المعتمدين على الإيثانول والهكسان. أنهينا عملنا بوضع العديد من وجهات نظر التي تفتح مسارات أخرى للمجتمع العلمي للبحث في الافاق المستقبلية لهذا النوع من البحوث العلمية.

الكلمات المفتاحية: نبات السمسم، الاستخلاص بالنقع، الاستخلاص بالموجات فوق صوتية، النشاط المضاد للأكسدة، النشاط المضاد لمرض السكري

Abstract

During this work, we were interested in the exploitation of the sesame seed by using two methods of extraction: traditional extraction (maceration) and extraction assisted by ultrasounds (ultrasound bath), in order to be able to evaluate the activity antioxidant based assays (*DPPH*, *ABTS*, and *Phenantroline*) as well as anti-diabetic activity by inhibition of *alpha-amylase* enzyme, from extracts of these seeds. Based on the above objective, variable results were recorded: in terms of antioxidant activities, we found significant values for ethanol extracts but still not comparable to those for *BHA* and *BHT*; regarding antidiabetic activity, we recorded promising results for both ethanol and hexane-based extracts. We have completed our work by developing many points of view that open up other avenues for the scientific community to seek future perspectives for future research.

Keys words: sesame plant, maceration extraction, ultrasonic extraction, antioxidant activity, antidiabetic activity.

Résumé

Au cours de ce travail, nous nous sommes intéressés à l'exploitation de la graine de sésame en utilisant deux méthodes d'extraction : extraction classique (macération) et extraction assistée par ultrasons (bain à ultrasons), afin de pouvoir évaluer l'activité antioxydante basée sur des dosages (*DPPH*, *ABTS*, et *Phénantroline*) ainsi que l'activité anti-diabétique par l'inhibition de l'enzyme *alpha-amylase*, à partir des extraits de ces graines. Basant sur l'objectif précité, des résultats variables ont été enregistrés : en termes d'activités antioxydantes, nous avons trouvé des valeurs significatives pour les extraits à l'éthanol mais toujours pas comparables à celles pour le *BHA* et le *BHT* ; en ce qui concerne l'activité antidiabétique, nous avons enregistré des résultats prometteurs pour les deux extraits à base d'éthanol et d'hexane. Nous avons terminé notre travail en développant de nombreux points de vue qui ouvrent d'autres voies à la communauté scientifique pour chercher des perspectives d'avenir pour des futures recherches.

Mots clés : plante de sésame, extraction par macération, extraction par ultrasons, activité antioxydante, activité antidiabétique .