



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Université Amar Thélidji- Laghouat

FACULTE : DES SCIENCES

DEPARTEMENT : DE BIOLOGIE

MEMOIRE DE MASTER

Présenté par :

M^{elle} SALMI RANIA AIDA

M^{elle} ZAKHROUF HIBA

DOMAINE : SCIENCE DE LA VIE ET DE LA NATURE

FILIERE : BIOLOGIE

OPTION : BIOCHIMIE DES PRODUITS NATURELS

Thème

Etude de l'effet inhibiteur des extraits
des plantes médicinales sur la lipase de
Candida rugosa

Jury de soutenance :

Nom et prénom	Grade	qualité
M ^m BENAROUS Khedidja	MCB	Rapporteur
M ^r DJERIDANE Amar	MCA	Examineur
M ^{elle} BOUSSOUSSA Ihen	MCB	Président

Juin - 2015



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Université Amar Thélidji- Laghouat

FACULTE: DES SCIENCES

DEPARTEMENT : DE BIOLOGIE

MEMOIRE DE MASTER

Présenté par :

M^{elle} SALMI RANIA AIDA

M^{elle} ZAKHROUF HIBA

DOMAINE : SCIENCE DE LA VIE ET DE LA NATURE

FILIERE : BIOLOGIE

OPTION : BIOCHIMIE DES PRODUITS NATURELS

Thème

Etude de l'effet inhibiteur des extraits
des plantes médicinales sur la lipase de
Candida rugosa

Jury de soutenance :

Nom et prénom	Grade	qualité
M ^m BENAROUS Khedidja	MCB	Rapporteur
M ^r DJERIDANE Amar	MCA	Examineur
M ^{elle} BOUSSOUSSA IHCEN	MCB	Président

Juin - 2015

Je dédie ce travail

A mes très chers parents

La lumière de mon existence

L'étoile brillante de réjouissance

Mama Houria, la source de tendresse qui n'a pas cessé de m'encourager

Papa Belkacem, votre affection et votre soutien m'ont été d'une grande source de ma vie

Je vous dédie ce travail en témoignage de mon profond amour.

A la mémoire de mes grands parents

A mes chers frères Oussama, Abdelrahim, mohamed Yacine, et mes chères sœurs Meriem, Mebarka ; surtout Zohra, les mots ne suffisent guère pour exprimer l'attachement, l'amour et l'affection que je porte pour vous.

A toute ma famille

A mes très chères cousines, surtout : Hadjer, Fatima, Fattom, Maroua et Djihad.

*A ma très chère sœur **Rania Aida**, mon binôme, qu'elle trouve ici l'expression de mon amitié sincère.*

Je dédie ce modeste travail à mes chères sœurs pour son aide et son soutien moral Meriem

Fouz & Hanan, A ma chère Nour

Je dédie ce mémoire à tous mes professeurs depuis la 1er année primaire jusqu'à la

2^{ème} année Master.

ZAKHROUF Hiba

Je dédie ce travail

À la lumière de mon existence... à L'étoile brillante de ma vie

*Mes très chers parents : **Bédjaoui**, et **Fadhila**, les sources de ma tendresse qui ne cessent pas de m'encourager et de me soutenir*

Je vous dédie ce travail, En témoignage de mon profond amour. Que Dieu, le tout puissant

Vous garde, et vous accorde la santé et le bonheur

Je dédie ce travail : À la mémoire de mon cher grand père Mohammed et à la mémoire de mes grands-mères

À mon cher grand père Brahim

*À mon frère **Chemsou** et ma sœur **Lina**, Je vous souhaite plus de succès et de réussite*

*À mon binôme qui m'a accompagné durant les cinq ans d'étude universitaire, ma sœur et ma collègue **Hiba***

*À tous ceux qui m'ont soutenu de loin et de près ma sœur **Léa** et ma tante **wahiba***

*À mes chers cousins, mon jumeau **Rachid** et ma sœur **Zwina***

*À toute la famille **Salmi** et **Bouchia***

À tous mes collègues et amis

À tous mes professeurs depuis la 1^{er} année de primaire jusqu'à la 2^{ème} année de Master.

SALMI RANIA AIDA

Remerciements

Tout d'abord, nous remercions DIEU, le tout puissant, pour nous avoir accordé des connaissances de la science et nous avoir donné la force, la patience, et la volonté pour réaliser cette thèse.

Au terme de ce modeste travail, nous tenons à remercier très chaleureusement et respectivement Dr. BENAROUS Kfedidja, pour avoir accepté la direction de ce mémoire, pour l'orientation, la confiance et surtout la patience qui nous a accordé pendant toute la durée de travail.

Nous adressons nos plus sincères remerciements au Pr. YOUSFI Mohamed, Directeur de laboratoire des sciences fondamentales de l'Université de Laghouat, de nous avoir ouvert les portes de son laboratoire.

*Nos sincères remerciements iront également au Dr. DJERIDANE Amar pour ses conseils et pour la récolte de la plante (*Plantago ciliata*).*

Nos sincères remerciements vont ainsi aux Dr. KHACHBA Ihen et M^{elle} BOUSSOUSSA Hadjer, pour leur aide précieux et leurs conseils avisés.

Nous remercions ainsi Dr CHERROUN Hadda, Chef d'équipe de modélisation et optimisation des réseaux, laboratoire de sciences informatiques et mathématiques, pour son précieux aide dans la partie de modélisation moléculaire.

Ce travail témoigne de leur confiance et de leur soutien dans les moments les plus difficiles. Qu'ils trouvent ici l'expression de notre reconnaissance.

Nos remerciements vont également, aux membres du jury pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre mémoire de master, en acceptant d'examiner notre travail et de l'enrichir par leurs propositions.

Enfin, un merci affectueux à nos famille, tout particulièrement nos parents, pour leur amour, leur patience, leur présence à nos côtés et leur contribution à l'élaboration de ce manuscrit.

Nous remercions tous les enseignants, les étudiants, les travailleurs de l'université de Laghouat, département de biologie et tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à notre formation pédagogique et scientifique.

Nous remercions tous ceux et celles qui nous ont marqué par leur soutien et encouragements tous les membres de notre laboratoire et tous les collègues de notre promotion, nous leur exprimons notre respect et notre profonde sympathie.

Résumé

De nos jours, la médecine traditionnelle tente à exploiter les produits naturels (plantes médicinales), pour résoudre les problèmes résultant à la médecine conventionnelle, ces plantes médicinales présentent une grande importance grâce à leurs principes actifs, qui ont une activité biologique. C'est pour cette raison que les plantes médicinales et les métabolites secondaires, font l'objet des recherches scientifiques. Dans le cadre de notre travail, nous nous sommes intéressées, à l'extraction et à l'analyse des extraits phénoliques de *Matricaria recutita*, *Saussurea costus*, *Origanum marjorana*, *Plantago ciliata* et *Senna alexandrine*, ainsi l'étude de leurs effets biologiques vis-à-vis de l'activité enzymatique de la lipase de *Candida rugosa*. La première partie de cette étude concerne l'extraction et la quantification des composés phénoliques, les résultats obtenus montrent que nos plantes sont relativement riches en phénols totaux (la teneur varie de $4,68 \pm 0,01$ mg /g à $143,09 \pm 0,07$ mg/g EAG), dont toutes les fractions en équivalent à l'acide gallique. Elles sont relativement riches en flavonoïdes (la teneur varie de $4,40 \pm 0,00$ mg /g à $61,21 \pm 0,00$ mg/g ER), dont toutes les fractions en équivalent de la rutine). Dans la deuxième partie, nous avons étudié l'effet de ces extraits sur l'activité enzymatique de la lipase de *Candida rugosa* (LCR). Les résultats obtenus montrent que les extraits des deux plantes d'*Origanum marjorana* et *Plantago ciliata*, ont un pouvoir inhibiteur contre la (LCR) avec un type d'inhibition compétitif pour les deux plantes, suivi par des valeurs d'IC₅₀ de (0,26 mg/ml et 0,29mg/ml), respectivement. Dans la dernière partie, nous avons effectué une modélisation par amarrage moléculaire, afin d'étudier les interactions chimiques des inhibiteurs avec la lipase de *Candida rugosa*, nous avons confirmé le type d'inhibition compétitif avec deux molécules isolées de ces deux plantes.

Mot clés : *Origanum marjorana*, *Plantago ciliata*, composés phénoliques, inhibition enzymatique, lipase de *Candida rugosa*, amarrage moléculaire.

Abstract

Nowadays, the secondary metabolites and the medicinal plants are appreciated in target of scientific researchers. For this work, we are interested to the extraction of phenolic compounds of *Matricaria recutita*, *Saussurea costus*, *Origanum marjorana*, *Plantago ciliata*, *Senna alexandrine*, and the study of their inhibition effect on lipase activity. In the first part of this work, we have analyzed and quantified the total phenols and flavonoids. The results show that our plants are relatively rich with values varies from 4.68 ± 0.01 mg /g to 143.09 ± 0.07 mg/g GAE, for all fraction in Gallic acid equivalent, relatively rich in flavonoids (4.40 ± 0.00 mg /g to 61.21 ± 0.00 mg/g RE) for all fraction in rutine. In the second part, we studied the effect of these extracts on the enzymatic activity of *Candida rugosa* lipase (CRL). The results obtained show that the extracts of both plants *Origanum marjorana* and *Plantago ciliata*, have an inhibitory power against the CRL, with competitive inhibition type for both plants, with IC_{50} values 0.26 mg/ml and 0.29 mg/ml, respectively. In the last part, we have done modeling with molecular docking, aiming to find the type of chemical interactions between inhibitors and CRL. We have confirmed the competitive inhibition type with two isolated molecules from these two studied plants.

Keywords: *Origanum marjorana*, *Plantago ciliata*, phenolic compounds, enzymatic inhibition, *Candida rugosa* lipase, molecular docking.

ملخص

تشكل مركبات الأيض الثانوي للنباتات الطبية محورا للعديد من البحوث العلمية نظرا لنشاطاتها البيولوجية. ومن هذا المنطلق فكرنا في أن نقوم ببحث علمي يخصص النباتات الطبية المحلية مثل البابونج، القسط الهندي البردقوش، اللمة، سنا مكّي، حيث قمنا بدراسة مركباتها الكيميائية باختلاف أنواعها وتمثل في: المركبات الفينولية والقلويدات مع دراسة تأثيرها على النشاط الإنزيمي لليياز. ولهذا فقد قمنا بهذا البحث على ثلاث مراحل، ففي المرحلة الأولى استخلصنا المركبات الفينولية ومن ثمة قمنا بتحديد كمياتها اعتمادا على تقنية قياس الطيف الضوئي، أظهرت النتائج أن هذه النباتات غنية نسبيا بالمركبات الفينولية، حيث تتراوح قيمها بالنسبة لحمض الغاليك بين (0.07±143.09 و 0.01±4.68)؛ أما المستخلصات للفلافونويدات فتتراوح قيمها في كل المستخلصات بين (0.00±61.21 مغ/غ و 0.00±4.40 مغ/غ ما يعادل نسبة الروتين).

في المرحلة الثانية قمنا بدراسة تأثير هذه المستخلصات على النشاط الإنزيمي لليياز، وجدنا أن بعض المستخلصات فقط أظهرت نشاطا مشبطا لإنزيم الليياز. أما في المرحلة الأخيرة قمنا بعملية إرساء لمختلف الجزيئات المشبطة في الموقع الفعال لإنزيم الليياز البنكرياسي للإنسان بهدف مقارنتهم مع الليياز الفطري، فلاحظنا وجود فوارق واضحة فيما يخص ألفة المثبطات اتجاه الإنزيم.

الكلمات المفتاحية: البردقوش، اللمة، المركبات الفينولية، الشيبط الإنزيمي، الليياز الفطري، الإرساء الجزئي.

Liste des Abréviations

Ac-O-Et : Acétate d'éthyle

Acét : Acétone

C : *Candida*

CI : concentration de l'inhibiteur

Cs : *Costus saussurea*

3D : tridimensionnelle

EtOH : Ethanol

ER : équivalent à la rutine

Fv tot : flavonoïdes totaux en équivalent de la rutine

GAE : équivalent à l'acide gallique

H : heure

I% : le pourcentage d'inhibition

IC₅₀ : la concentration nécessaire pour inhiber 50% de l'activité enzymatique

LCR : lipase de *Candida rugosa*

Mr : *Matricaria recutita*

MeOH : Méthanol

ND : non déterminer

Om: *Origanum majorana*

Pc: *Plantago ciliata*

Phé : phénols

Phé tot : phénol totaux

PM : poids moléculaire

p-NP : Para nitrophénol

p-NPL : para nitrophényl-laurate

Sa : *Senna alexandrine*

Liste des figures

Figure 1. Photo de <i>Matricaria recutita</i>	4
Figure 2. Photo de <i>Saussurea costus pale</i>	6
Figure 3. Répartition géographique de <i>Saussurea costus</i>	7
Figure 4. Photo d' <i>Origanum majorana</i> L.	9
Figure 5. Répartition géographique d' <i>Origanum majorana</i> L.	9
Figure 6. Photo de <i>Plantago ciliata</i> http://eol.org/pages/5486848/overview	10
Figure 7. Répartition géographique de <i>Plantago ciliata</i>	11
Figure 8. Photo de <i>Senna alexandrine</i> Mill.....	12
Figure 9. Répartition géographique de <i>Senna alexandrine</i> Mill	13
Figure 10. Classification générale des composés phénoliques (Benarous, 2014).....	15
Figure 11. La réaction d'hydrolyse d'un triglycéride par la lipase (Jaeger <i>et al.</i> , 1994 ; Benarous, 2010).	16
Figure 12. Prévion de la prévalence de l'obésité dans une sélection de régions (Kelly <i>et al.</i> , 2008).....	19
Figure 13. Carte géographique représentant la région de collecte de <i>Plantago ciliata</i> (Google Maps).....	21
Figure 14. Schéma représente le protocole d'extraction des composés phénoliques.....	23
Figure 15. Le schéma réactionnel de l'hydrolyse de p-NPL par la lipase microbienne.....	25
Figure 18. Teneur en composés phénoliques et en flavonoïdes dans chaque plante	32
Figure 24. Les structures 3D des molécules choisis pour le docking,	37
Figure 25. Interactions entre les acides aminés catalytiques (CAS en vert) et périphériques avec l'acide Plantago guinidinique, image obtenu par Discovery studio v4.0.....	38
Figure 26. Interactions entre les acides aminés catalytiques (CAS en vert) et périphériques avec l'Amentoflavone, image obtenu par Discovery studio v4.0	38

Liste des tableaux

Tableau 1. Les travaux antérieurs consacrés à l'étude de plantes du genre <i>Matricaria</i>	5
Tableau 2. Les travaux antérieurs consacrés à l'étude de plantes du genre <i>Saussurea</i>	8
Tableau 3. Les travaux antérieurs consacrés à l'étude de plantes du genre <i>Origanum</i>	10
Tableau 4. Les travaux antérieurs consacrés à l'étude de plantes du genre <i>Plantago</i>	11
Tableau 5. Travaux antérieurs consacrées à l'étude de plante du genre <i>Senna</i>	13
Tableau 6. L'aspect, la couleur et la teneur de chaque extrait végétal.....	28
Tableau 7. Les teneurs en phénols totaux et en flavonoïdes des extraits	30
Tableau 8. Les teneurs en phénols totaux (phe tot) et en flavonoïdes (Fv) des extraits de la littérature	31
Tableau 10. Les valeurs d'IC ₅₀ des extraits des plantes et quelques molécules (Benarous, 2014).....	36

Table de matières

Introduction générale	1
Synthèse bibliographique	3
1. Plantes médicinales étudiées	4
2 Les composés phénoliques :.....	14
2.1 Aperçu général	14
2.2 Classification des composés phénoliques	14
2.3 Biosynthèse des composés phénolique	15
3 Lipases.....	15
3.1 Lipases et leurs mécanismes catalytiques	15
3.2 Maladies causées par les lipases :	16
Matériels Et Méthodes	20
1. Matériel végétal :.....	21
2. Extraction des composés phénoliques.....	21
3.1 Dosage des phénols totaux.....	23
3.2 Dosage des flavonoïdes.....	24
4. Inhibition de la réaction catalysée par la lipase.....	24
4.1 Principe de l'activité enzymatique de la lipase (EC 3.1.1.3)	24
4.2 Protocole expérimentale.....	25
5. Docking moléculaire	26
6. Etude statistique	26
Résultats et discussion	27
1. Extraction et quantification des composés phénoliques.....	28
1.1 Analyse qualitative.....	28
1.2 Analyse quantitative :	28
2. Etude de l'inhibition enzymatique de la LCR	32
2.2 Courbe d'étalonnage de p-nitrophénol (p-NP)	32
2.3 Tests d'inhibition	32
3. Docking moléculaire	37
Conclusion	39
Références bibliographiques	42

Introduction générale

De nos jours, la médecine alternative (traditionnelle) tente à exploiter les principes actifs extraits des plantes médicinales pour résoudre les problèmes qui se dressent face à la médecine conventionnelle. Plusieurs plantes médicinales utilisées depuis l'antiquité par la médecine traditionnelle représentent une très bonne source de principes actifs qui font l'objet de plusieurs études depuis des années.

Les propriétés pharmaco-biologiques des plantes médicinales dépendent de la présence d'agents bioactifs variés appartenant à différentes classes biochimiques. Ils ont réussi à prouver leurs diverses activités biologiques comme des inhibiteurs de la lipase issues de plusieurs organismes vivants. On peut citer les saponines comme la β -aescin, les flavonoïdes comme la catéchine (Ruiz *et al.*, 2006).

Les lipases sont des esters glycérol hydrolases, qui catalysent l'hydrolyse des triglycérols, pour libérer les acides gras. Plusieurs lipases sont produites par des microorganismes pathogènes. Elles jouent un rôle important dans les maladies infectieuses, exemple : la lipase de *Candida rugosa*, et la lipase pancréatique humaine dont son activité excessive cause l'obésité qui augmente le risque d'atteinte d'un certain nombre de maladies, y compris l'hypertension, le diabète de type 2, la dyslipidémie, l'artère coronaire, l'arthrose et le cancer de sein post-ménopausique (Ruiz *et al.*, 2006 ; Stolley *et al.*, 2008 ; Benarous, 2014).

Notre présent travail a pour objectif de faire l'extraction des composés phénoliques de cinq plantes locale (*Matricaria recutita*, *Saussurea costus*, *Origanum majorana*, *Plantago ciliata*, *Senna alexandrine*), et de tester leurs pouvoirs inhibiteurs contre la lipase microbienne de l'espèce *Candida rugosa*.

Dans ce cadre, nous avons suivi une stratégie de recherche, qui consiste, premièrement à extraire et à quantifier les différents composés phénoliques. Secondairement, à étudier l'activité inhibitrice de nos extraits sur la lipase de *Candida rugosa* et de déterminer leurs types d'inhibition. Finalement, nous avons proposé la molécule inhibitrice en se basant sur les différentes données expérimentales et bibliographiques. Par la suite, nous avons procédé à une étude des interactions chimiques de l'inhibiteur (extraits) dans le site actif de la lipase de *Candida rugosa* par le docking moléculaire des molécules inhibitrices.

Synthèse bibliographique

1. Plantes médicinales étudiées

Dans notre travail, nous avons travaillé sur cinq plantes sur la base, de leur teneur en métabolites secondaires, comme composés phénoliques, ainsi leurs utilisations dans la médecine traditionnelle, pour traiter l'obésité et la candidose.

1.1 *Matricaria recutita* L

1.1.2 Appellation locale : Babounage, البابونج, Camomille

Taxonomie :

Règne	Plantae
Sous-règne:	Tracheophyta
Division:	Magnoliopsida
ordre :	Asterales
Famille:	Asteraceae
genre:	Matricaria
Espèce:	<i>Matricaria suaveolens</i> Koch.

1.1.3 Description botanique :

C'est une plante annuelle pouvant mesurer jusqu'à 60 cm (Hands, 2007), son inflorescence composée de fleurs ligulées blanches d'un cœur jaune, avec des feuilles fines, étroite et des tiges érigées, glabre et ramifiées (Grunwald, 2006).

Les fleurs fraîches ou séchées de la petite camomille servent de drogue médicinale. Leurs principaux composants pharmacologiques sont les huiles essentielles constituées d' α -bisabolol, le bisabololoxyle A et B, les flavonoïdes, la coumarine et les mucilages, de même que les glucosides flavonoïdes tels que l'apéginine et l'apéginine 7-o-glucoside, souvent standardisés dans les préparations conditionnés (Bernard *et al.*, 2005).



Figure 1. Photo de *Matricaria recutita*

1.1.4 Répartition géographique :

Europe, elle était récoltée pour la première fois à saint-jean, jour le plus long de l'année (Hands, 2007).

1.1.5 Propriétés et usages médicaux :

En usage interne, en cas de diarrhée, de flatulences et de troubles digestifs spasmodiques, et en usage externe pour soigner les furoncles, les hémorroïdes, les abcès, l'acné, et les refroidissements. La petite camomille convient bien aux enfants notamment dans le traitement des maux de ventre et des vomissements (Grunwald, 2006 ; Hands, 2007).

Les fleurs de la camomille, ont une action anti-inflammatoire, antispasmodique, elle convient de ce fait, au soin des blessures et au traitement des infections gastro-intestinales, ainsi que dans le traitement des dermatoses bactériennes, incluant la cavité buccale et les gencives. En outre, on les préconise en inhalation, en cas d'affections des voies respiratoires, en bain siège et onguent en cas de lésion des zones anale et génitale (Grunwald, 2006).

1.1.6 Travaux antérieurs consacrés à l'étude de la plante :

Tableau 1. Les travaux antérieurs consacrés à l'étude de plantes du genre *Matricaria*

Activités étudiées	Molécules biactives isolées ou extraits utilisés	Référence
Activité biologique	acide chlorogénique, acide ferulique glycosides, acide quiniédicaffeoyl et apigénine glycosides, α -Bisabololoxide, α -Bisabolol, α -Bisaboloneoxide	Raal <i>et al.</i> , 2011
Activité biologique	Acide- O-hydroxy cinnamique apigénine, 7,8-dihydroxy coumarine, ...	Veronika <i>et al.</i> , 2013
Activité anti-oxydante	cis-tonghaosu, spathulenol, α -bisabolol oxide B and α - bisabolol oxide A	Formisano <i>et al.</i> , 2014
Activité anti-oxydante, anti-microbienne	Apeginine 7-O-glucosidase, Catéchine, Quercitine-3-glucoside, Apeginine,...	Cvetanovic <i>et al.</i> , 2014

1.2 *Saussurea costus*, *Saussurea lappa*, *Aucklandia costus*

1.2.1 Appellation locale : Al Quist Al hindi, costus indien, القسط الهندي

Taxonomie:

Règne:	Plantae
Sous-règne:	Tracheophyta
Division:	Magnoliopsida
Ordre :	Asterales
Famille:	Asteraceae
Genre:	Saussurea
Espèce:	<i>Saussurea costus</i> (Falc.)

1.2.2 Description botanique :

C'est une plante vivace herbacée dont la hauteur peut atteindre une cinquantaine de centimètre (Hands, 2007). Ces feuilles sont ovales, d'aspect velouté, généralement disposées en spirale autour de la tige, elles contiennent des rayures de couleur vert foncé ou vert clair et possèdent parfois des bandes argentées ou rougeâtres au revers. Les fruits sont des akènes recourbés (8 mm de long) et surmontés d'un Pappus. Ces racines sont marron foncé ou grises et mesurent jusqu'à 40 cm de long.

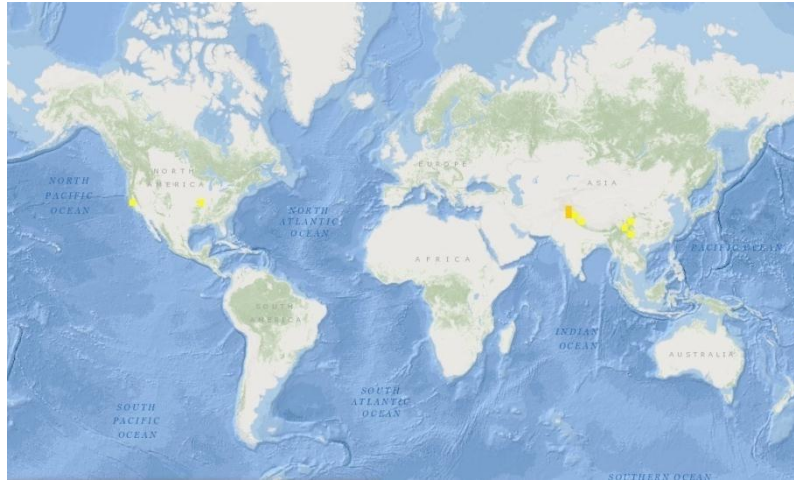
Les principaux composants de costus, sont surtout des dérivés sesquiterpéniques, qui ont été identifiés (costunolide, dehydrocostus lactone, acide costique...). Elle contient une huile essentiel (environ 1,5 %), il est également riche en composés phénoliques et en flavonoïdes (Pousset, 1992).



www.sahara-nature.com

Figure 2. Photo de *Saussurea costus pale*

1.2.3 Répartition géographique :



<http://eol.org/pages/5486848/overview>

Figure 3. Répartition géographique de *Saussurea costus*

1.2.4 Propriétés et usages médicaux :

Le costus est l'un des plus importants piliers de la médecine traditionnelle. Il est utilisé en interne dans le traitement de distension et de douleurs abdominales, de douleurs thoraciques dues à des problèmes de foie, de douleurs de la vésicule biliaire, de constipation, et de l'asthme, ainsi il donne de l'appétit et active le métabolisme générale, bon pour le cerveau ,agit contre le rhume. Son infusion est bénéfique pour les poisons, l'insuffisance hépatique et gastrite. Et pour l'usage externe, il enlève les taches de rousseur, aussi utilisé comme compresse pour les brûlures, blessures et tous problèmes de visage (Pousset ,1992 ; Hands, 2007).

Le costus contient de l'hélinine et de l'acide benzoate, qui ont un effet bactéricide pour les bactéries, d'où son efficacité dans le traitement des amygdales, de l'inflammation de la lèvre, et de l'inflammation du pharynx, utilisé aussi comme une pommade pour massage des articulations (Pousset, 1992 ; Hands, 2007).

C'est sa racine qui est utilisée pour ses propriétés médicinales (Hands, 2007).

1.2.5 Travaux antérieurs consacrés à l'étude de la plante :

Tableau 2. Les travaux antérieurs consacrés à l'étude de plantes du genre *Saussurea*

Activités étudiées	Molécules biactives isolées ou extraits utilisés	Référence
Activité anti-microbienne	Sesquiterpènes Lactones	Chhabra <i>et al.</i> , 1998
Activité anti-inflammatoire	Sesquiterpènes Lactones	Saklani <i>et al.</i> , 2012
Activité anti-inflammatoire et anti-oxydante	Sesquiterpènes Lactones	Choi <i>et al.</i> , 2012
Activité anti-inflammatoire	Quercitine 3-O- α -L-rhamnoside, Rutine, acide caféique, Apégénine	Wang <i>et al.</i> , 2013
Activité antivirale, anticancéreuse, antiarthritique, anti-ulcère	Sesquiterpènes Lactones	Ashish <i>et al.</i> , 2014

1.3 *Origanum marjorana*

1.3.1 Appellation locale : Mardacouche, Bardacouche, البردقوش, المرقدقوش

Taxonomie:

Règne:	Plantae
Sous-règne:	Tracheophyta
Division:	Magnoliopsida
ordre :	Lamiales
Famille:	Lamiaceae
genre:	<i>Origanum</i>
Espèce:	<i>Origanum majorana</i> L

1.3.2 Description botanique: c'est une plante sous-arbrisseau atteignant 50 cm de haut, vivace, à tige dressée ramifiée, avec des feuilles opposées, ovales, et longues de 0,9 cm sur 0,3 cm, de large inflorescence très rameuse située au sommet des tiges et les fruits sont des tétrakènes, le dessus des jeunes feuilles paraît presque blanc (Hands, 2007).

La marjolaine contient du tanin, un principe amer du pentosane (0,3 à 0,4 %) à l'état frais et (0,7 à 0,8%) à l'état sec, une essence jaunâtre aromatique, ainsi constitué d'un mélange de terpinéol, terpinène et de sabinène (Beloued, 2001).



<http://www.discoverlife.org/map>

Figure 4. Photo d'*Origanum majorana* L.

1.3.3 Répartition géographique :

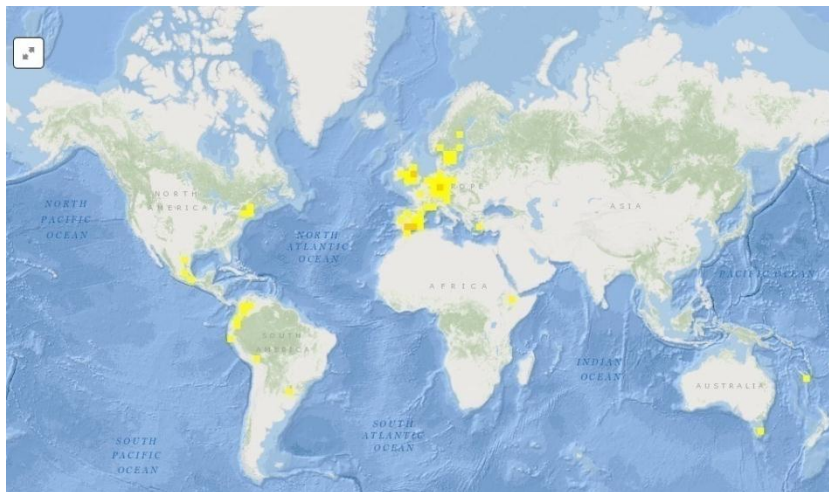


Figure 5.Répartition géographique d'*Origanum majorana* L.

1.3.4 Propriétés et usages médicaux :

L'usage de marjolaine est très divers, par exemple l'huile essentielle de marjolaine, est employée contre la paralysie décroissante, en massage contre les douleurs rhumatismales, aussi valables pour traiter les maladies affectant la bouche et les maux de têtes persistants comme un usage interne. En plus de ces usages, la marjolaine est utilisée comme épice dans l'Europe centrale (Beloued, 2001 ; Hands, 2007).

Les fleurs de marjolaines sont utilisées comme anti-inflammatoires et antispasmodique (Beloued, 2001).

1.3.4 Travaux antérieurs consacrés à l'étude de la plante :

Tableau 3. Les travaux antérieurs consacrés à l'étude de plantes du genre *Origanum*

Activités étudiées	Molécules bioactives isolées ou extraits utilisés	Référence
	Cis,trans sabinène	Johannes <i>et al.</i> , 1999
Activité anti-oxydante	Methanolique	WooJinYum, 2001
Activité biologique	Flavones et flavanone, 5,40-dihydroxy-6,7,30-trimethoxyflavanone	Skoula <i>et al.</i> , 2008
Activité anti-oxydante et anticancéreuse	Ethanolique	Roula <i>et al.</i> , 2009
Activité anti inflammatoire	Rosmarinique, vanillique,	Sellami <i>et al.</i> , 2009
Activité anti-oxydante	β - Coumarique	Andrea <i>et al.</i> , 2012

1.4 *Plantago ciliata*

1.4.1 Appellation locale : El Lelma, اللمة, فول خيطي، حلاوه البدن، هولجيد، هولاكي

Taxonomie:

Règne:	Plantae
Sous-règne:	Magnoliophyta
Division:	Magnoliopsida
Ordre :	Lamiales
Famille:	Plantaginaceae
Genre:	Plantago
Espèce:	<i>Plantago ciliata</i> L.

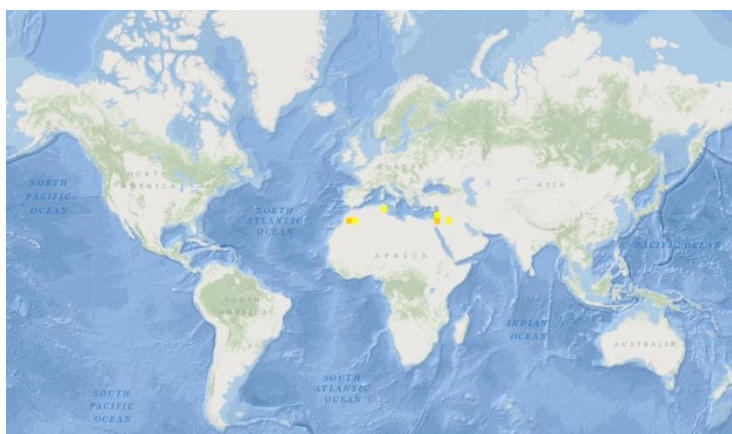
1.4.2 Description botanique :

C'est une plante herbacée vivace, de 10 à 15 cm de haut, annuelle de petite taille, à tige très courte, les feuilles naissent à la base de la plante, sont lancéolées étroites velues, avec des Fleurs petites et verdâtres en épis globuleux. Ces racines sont marron foncé. On la trouve, sur les sols sableux et gravillonnaires, dans les dépressions et lits d'oued. Cette plante riche en flavonoïdes (flavones) et en composés phénoliques (Chehma, 2006).



Figure 6. Photo de *Plantago ciliata*

1.4.3 Répartition géographique :



<http://eol.org/pages/5486848/overview>

Figure 7. Répartition géographique de *Plantago ciliata*

1.4.4 Propriétés et usage médicinaux :

Elle est utilisée comme cicatrisante des blessures et pour les traitements des inflammations de la gorge et des ulcères (Chehema, 2006).

1.4.5 Travaux antérieurs consacrés à l'étude de la plante :

Pour l'espèce *Plantago ciliata* aucune recherche scientifique n'a été faite, mais il existe d'autre espèce de même genre « *Plantago spp* »

Tableau 4. Les travaux antérieurs consacrés à l'étude de plantes du genre *Plantago*

Activités étudiées	Molécules bioactives isolées ou extraits utilisés	Référence
Activité anti-inflammatoire et anti-microbienne	Methanolique	Hutchings, 1996
Activité anticancéreuse	luteolin-7-O- β -glucoside	Gálvez <i>et al.</i> , 2003

1.5 *Senna alexandrine*

1.5.1 Appellation locale: sanna El makki, séné de l'inde, séné de tinnevely, سنمكى

Taxonomie:

Règne:	Plantae
Sous-règne:	Tracheophyta
Division:	Magnoliopsida
ordre :	Fabales
Famille:	Fabaceae
genre:	Senna
Espèce:	<i>Senna alexandrine</i> Mill.

1.5.2 Description botanique :

Les espèces employées à des fins médicinales sont les arbrisseaux au-delà de 1,50m de haut (Grunwald, 2006).

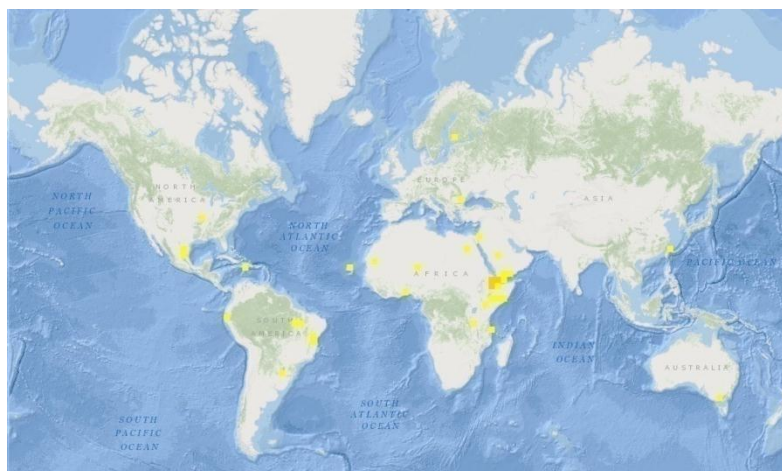
Le genre *Cassia* comprend des arbres, des arbustes et des plantes herbacées dont les feuilles lancéolées sont divisées en folioles opposées, les deux faces lisses, portent un petit nombre de poils courts (Brunneton, 2009). Les inflorescences en grappes présentent de nombreuses fleurs jaunes d'or brillant à l'étamine proéminente appelée follicules, qui se développent en gousses plates et brunes de 2 à 4cm de large (Pousset, 1992 ; Grunwald, 2006).

Les feuilles séchées du séné et les follicules sont les plus utilisées en phytothérapie. Les principes actifs sont l'antracène et les dérivés de naphthaline, les mucilages, les flavonoïdes...etc (Bernard et al, 2005).



Figure 8. Photo de *Senna alexandrina* Mill

1.5.3 Répartition géographique :



<http://eol.org/pages/5486848/overview>

Figure 9. Répartition géographique de *Senna alexandrina* Mill

1.5.4 Propriétés et usages médicaux :

L'utilisation de séné est très vaste. En cas de constipations, de maladies hépatiques, de jaunisse, d'adénome de la rate, d'anémie, d'intoxication, et de typhus, aussi pour accélérer les contractions de l'accouchement (Bernard *et al*, 2005 ; Grunwald, 2006). À partir des dérivés de l'anthracène contenu dans la plante, les bactéries intestinales libèrent les anthrones (substances pharmacologiques actives), ceux-ci influent sur les contractions de la paroi intestinales, accélèrent le transit et limitent la résorption de liquide. Les anthrones stimulent parallèlement la production de mucus (Pousset, 1992 ; Grunwald, 2006).

L'emploi de courte durée des feuilles et des follicules de séné est utilisé comme traitement des constipations occasionnelles (Grunwald, 2006).

1.5.5 Travaux antérieurs consacrés à l'étude de la plante :

Tableau 5. Travaux antérieurs consacrés à l'étude de la plante du genre *Senna*

Activités étudiées	Molécules bioactives isolées ou extraits utilisés	Référence
Activité anti-protozoaire	méthanolique	Rosa <i>et al</i> , 2007
Activité anti-protozoaire	chloroforme	Guzman <i>et al</i> , 2008
Activité anti-cancéreuse	Guibourtindol-(4 α →8) Catéchine	Klika <i>et al</i> , 2015

2 Les composés phénoliques :

2.1 Aperçu général

Ce sont des substances naturellement présentes dans les fruits, les légumes, les graines, les fleurs et aussi les herbes où ils contribuent à la couleur et aux propriétés sensorielles, sont des précurseurs des phénols volatils (Ojeil *et al.*, 2010). Leur solubilité dépend de leur nature chimique dans la plante, qui varie de composés simples fortement polymérisés (Mahmoud *et al.*, 2013). Ils sont également responsables de réactions de brunissement du vin et sont considérés comme des éléments essentiels lors de la conservation et le vieillissement (Ojeils *et al.*, 2010).

Grâce à la mobilité de l'hydrogène phénolique, les composés phénoliques sont capables de piéger les radicaux libres, l'oxygène en particulier, les radicaux peroxydes (ROO[·]), alkoxydes (RO[·]), super oxydes (O₂^{·-}) et les hydroxyles (·OH), générés en permanence par notre organisme ou formés en réponse à des agressions de notre environnement (cigarette, polluants, infections). En effet, leur rôle d'antioxydants naturels permet à l'organisme de lutter contre les agressions de l'oxygène qui sont à l'origine d'un grand nombre de maladies, ce qui suscite de plus en plus d'intérêt pour la prévention et le traitement du cancer, des maladies inflammatoires, cardiovasculaires (Jean *et al.*, 2005 ; Ojeil *et al.*, 2010).

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires localisés dans la peau, les graines et la chair. Les types et les concentrations de ces composés dépendent d'un certain nombre de facteurs: le stade de maturation, le sol, les conditions climatiques. En outre, chaque espèce présente une composition différente en composés phénoliques (Motamed *et al.*, 1999 ; Ojeil *et al.*, 2010).

2.2 Classification des composés phénoliques

Plusieurs milliers de composés phénoliques, ont été caractérisés chez les végétaux, dont la diversité de ces composés est basée, sur leurs compositions, et leurs différents groupements fonctionnels reliés aux cycles benzéniques (Jean *et al.*, 2005).

Alors, les composés phénoliques, sont une classe qui constitue de 8000 composés. Ils sont divisés en plusieurs catégories:

- Les acides phénoliques
- les flavonoïdes
- les tanins obtenus par polymérisation des flavonoïdes
- les lignanes avec les Isoflavones sont nommés phyto-œstrogènes.

Les formes phénoliques les plus simples présente des structures chimiques allant de simple phénol en C6 aux flavonoïdes en C15 et à des molécules proches (Jean *et al.*, 2005 ;Bellebcir, 2008).

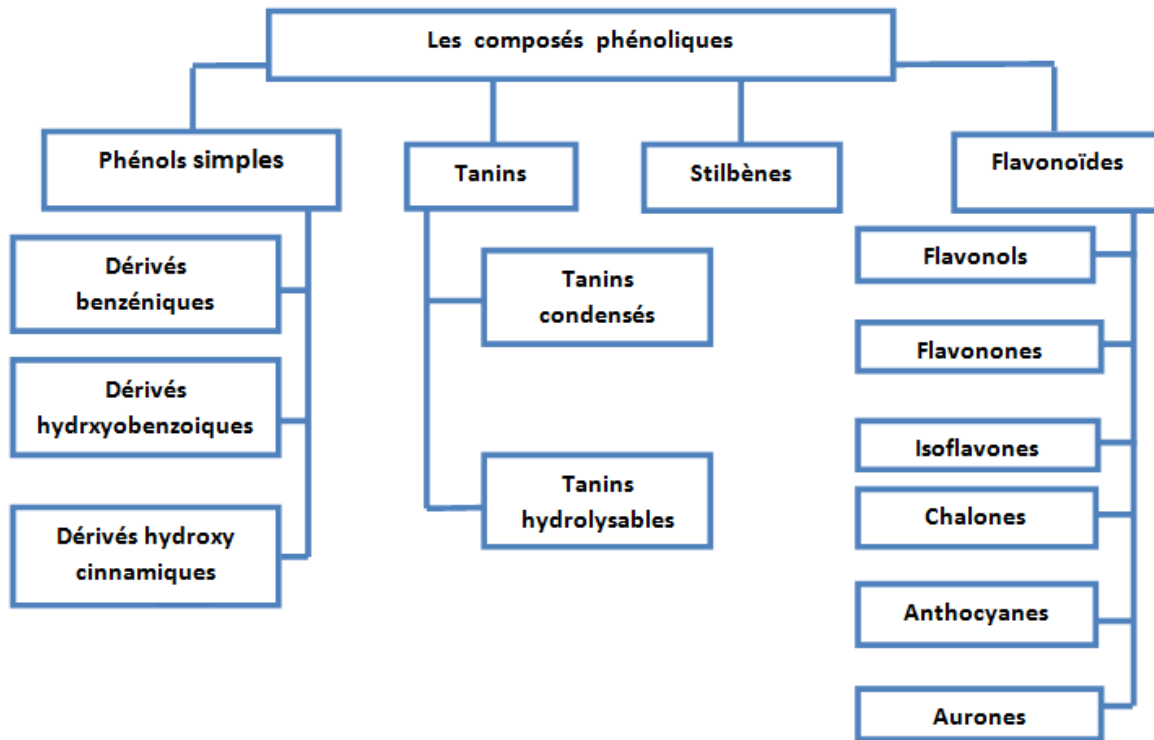


Figure 10. Classification générale des composés phénoliques (Benarous, 2014)

2.3 Biosynthèse des composés phénolique

Les polyphénols sont synthétisés par de deux voies biosynthétiques :

- celle de l'acide shikimique
- celle issue de l'acétate

De plus la diversité structurale des composés polyphénoliques due à cette double origine biosynthétique, est encore accrue par la possibilité d'une participation simultanée des deux voies dans l'élaboration de composés d'origine mixte, les flavonoïdes.

3. Lipases

3.1 Lipases et leurs mécanismes catalytiques

Les lipases sont largement répondu dans la nature, elles peuvent être confinées dans une organelle c'est-à-dire lysosome, ou elles peuvent être trouvés dans les espaces extracellulaires pour jouer leur rôle dans le métabolisme, l'absorption, et le transport des lipides. Les lipases peuvent être intracellulaire à fin de catalyser la dégradation des substrats lipidiques présent dans l'environnement cellulaire (Benarous, 2014).

On les trouve aussi bien dans le règne végétal, chez les invertébrés et les vertébrés mais également chez de nombreux microorganismes principalement sous forme des protéines extracellulaires (Patrik *et al.*, 2008).

Les lipases sont des triacyl glycérol sacyl hydrolases (EC 3.1.1.3) ; les lipases appartiennent à la famille des hydrolases d'esters carboxyliques. Leur rôle physiologique est d'hydrolyser les triglycérides en diglycérides, mono glycérides, acides gras et glycérol, (figure11). L'hydrolyse des liaisons esters des substrats lipidiques, insolubles dans l'eau, se produit à l'interface entre lipide et eau (Bataiche, 2014) (Uyanik *et al.*, 2010).

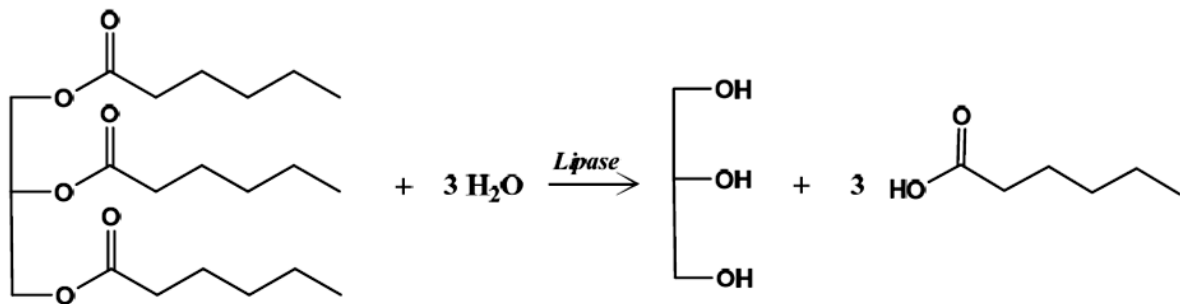


Figure 11. La réaction d'hydrolyse d'un triglycéride par la lipase (Jaeger *et al.*, 1994 ; Benarous, 2010).

Toutes les sérines hydrolases, y compris les lipases, ont un élément similaire dans leurs structures tridimensionnelles. Ces enzymes appartiennent à la superfamille structurale de α/β -hydrolases, dont l'activité hydrolytique repose, principalement, sur une triade catalytique, qui est formé par les résidus Serine, Histidine et Asparagine. Le résidu serine apparaît, généralement, intégré dans le pentapeptide conservé Gly- X -Ser- X -Gly, formant un motif caractéristique (β - tourne - α) nommée nucléophile ou nucleophilic elbow. Dans ce cas, le X représente un acide aminé quelconque, et donc, le noyau de chaque lipase est composé de huit différents brins β (β 1- β 8), reliés avec six hélices α . Le résidu acide carboxylique situé généralement à l'extrémité du 7ème brin peut être l'acide aspartique ou l'acide glutamique. Tous ces éléments se trouvent dans le même ordre dans toutes les séquences d'acides aminés de lipases, et sont orientés dans la même direction tridimensionnelle dans toutes les structures de la superfamille structurale de α/β -hydrolases (Bataiche, 2014).

3.2 Maladies causées par les lipases :

3.2.1 La candidose :

Les *Candidas* sont des micro-organismes commensaux, endogènes ou exogènes, diversement adaptés au parasitisme et dont le pouvoir pathogène ne s'exprime qu'en présence de facteurs

favorisants, les candidoses sont donc dans leur grande majorité des infections opportunistes (El Jouhari ,2008).

Les principales levures productrice de lipase sont isolées des origines diverses notamment du sol et elles sont dominées par des espèces de *Candida* (Bataiche, 2014).

Candidas : C'est un genre de levure, ce sont des champignons unicellulaires, se produisent par bourgeonnement de blastospor. Elle appartient aux deutéromycètes ou *Fungi imperfecti* (Chardin *et al.*, 2006 ; El Jouhari ,2008).

Actuellement, 196 espèces de Candidas sont connues dans la nature. Elles sont potentiellement pathogènes .la plus fréquemment rencontrée est *candida albicans* .d'autres espèces peuvent être pathogène : *C. krusei*, *C.tropicalis*, *C. kefry* (Chardin *et al.*, 2006).

Présente à l'état physiologique dans la flore digestive et la flore vaginale, retrouvée dans la flore buccale de 50 % des individus sans caractère pathogènes (Chardin *et al.*, 2006).

L'espèce du genre candida causant la candidose est très divers parmi, on peut citer l'espèce de *Candida rugosa*:

Règne	Fungi
Division:	Ascomycota
Classe :	Saccharomycetes
ordre :	Saccharomycetales
Famille:	Saccharomyceae
genre:	Candida
Espèce:	<i>Candida rugosa</i>

www.uniprot.org/taxonomy/5481

La candidose est une infection causée par plusieurs types de levures (champignons) du genre *Candida*, dont le plus répandu s'appelle *Candida albicans*. Qui se trouve sur la peau, dans le tube digestive des mammifères et principalement au niveau de l'intestin grêle chez l'Homme, ainsi dans le vagin, sans causer d'infection. Toutefois, elle peut parfois entraîner une infection généralement, dans la bouche ou le vagin ou encore, sur la peau provoquant la formation de plaques rouges ou blanches, des démangeaisons et de l'irritation.

Les facteurs favorisants peuvent être décomposés en facteurs intrinsèques (liés à l'hôte) ou extrinsèques (étrangère). Pour les candidoses cutanées muqueuses, les facteurs locaux sont prédominants. Pour les infections invasives, les facteurs de risque sont plus nombreux et varient selon le terrain (immunodéprimés, chirurgie abdominale lourde, patients de réanimation...).

Les facteurs liés à l'hôte sont multiples, ils peuvent être physiologiques (Nouveau-né, vieillard, surcharge pondérale (obésité), grossesse...), locaux (transpiration, macération, irritations...) ou liés au terrain du patient (diabète, Immunodépression en particulier au cours de l'infection à VIH, d'une hémopathie maligne ou d'un cancer...).

Les facteurs étrangers sont également très divers et comprennent l'usage de corticoïdes, Immunosuppresseurs, l'antibiothérapie à large spectre et les antiseptiques, la toxicomanie intraveineuse, les gestes chirurgicaux (chirurgie digestive, cardiaque), la transplantation d'organes ou bien encore la pose de dispositifs intra vasculaires (cathéters veineux centraux) (Moutaj *et al.*, 2005 ; El Jouhari ,2008 ; Gagnon , 2010).

3.2.2 L'obésité

L'obésité est une maladie chronique caractérisée par une accumulation anormale ou excessive de graisses corporelles (Benarous, 2014).

Le surpoids et l'obésité sont deux grands facteurs de risque pour le diabète, les maladies cardiovasculaires, l'hypertension et d'autres pathologies qui sont associées, à une réduction de l'espérance de vie (Jones-Smith *et al.*, 2011).

Elle résulte d'une consommation trop grande relativement à la dépense d'énergie donc elle crée un déséquilibre entre la prise d'énergie et la dépense énergétique durant plusieurs années.

Les causes de l'obésité et les facteurs qui y contribuent sont complexes et nombreux. Il s'agit non seulement de choix individuels (alimentation et activité physique), mais aussi de déterminants environnementaux et sociaux qui influent sur la capacité des individus de faire des choix plus sains. Notre compréhension des facteurs sous-jacents qui contribuent à l'obésité est souvent incomplète (Martinez, 2000 ; Corscadden *et al.*, 2011).

On ne peut se fier uniquement au poids d'une personne pour déterminer si elle est obèse ou si elle fait de l'embonpoint.

Une simple mesure permet de définir si le poids est « idéal » : l'Indice de Masse Corporelle (IMC) « Body Mass Index », qui relie le poids à la taille de l'individu. L'IMC est un outil utile, utilisé en routine par le corps médical et les autres professionnels de la santé pour estimer la prévalence de la dénutrition, de la surcharge pondérale et de l'obésité chez l'adulte. Il se calcule en divisant le poids corporel (en kg) par la taille (en mètre) au carré (kg/m²). A titre d'exemple, un homme de 70 kg mesurant 1 m 75 aura un IMC de 22,9 (Fogelholm *et al.*, 2000 ; Martinez, 2000).

De plus en plus de preuves scientifiques suggèrent que la fréquence de la surcharge pondérale et de l'obésité augmente dramatiquement dans le monde et que ce problème semble aussi bien s'accroître rapidement chez les enfants que chez les adultes (Fogelholm *et al.*, 2000).

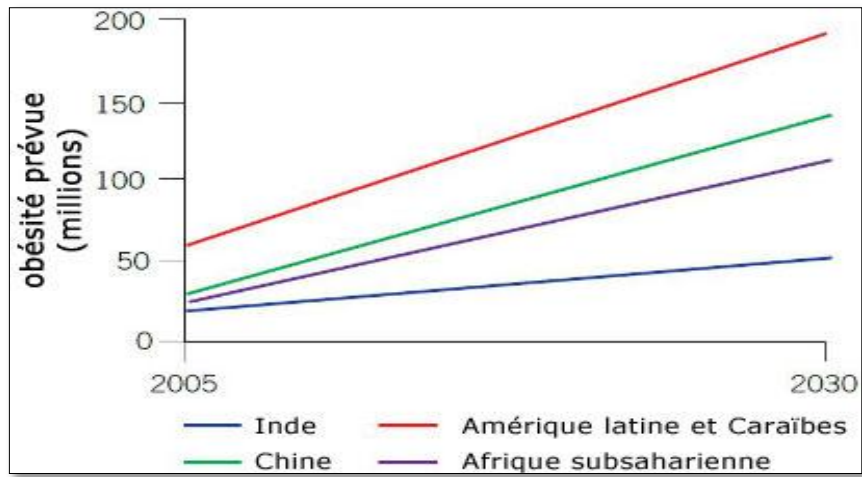


Figure 12.Prévision de la prévalence de l'obésité dans une sélection de régions (Kelly *et al.* , 2008)

Matériels Et Méthodes

1. Matériel végétal :

Dans notre étude, nous avons choisis cinq plantes, parmi eux (*Matricaria recutita*, *Saussurea costus*, *Origanum majorana* et, *Senna alexandrine*) ces quatre plantes, ont été achetées chez un herboriste. Concernant la plante *Plantago ciliata*, celle-ci a été récoltée durant la période de février 2015, au champ de la zone de Sidi Makhlouf, dans la wilaya de Laghouat (sud d'Algérie), et séchée dans l'étuve à une température de 40°C, pendant quatre jours, puis broyée finement avec les autres plantes sèches, et stockées dans un sac à papier jusqu'à leur utilisation.



Figure 13. Carte géographique représentant la région de collecte de *Plantago ciliata* (Google Maps)

2. Extraction des composés phénoliques

Le procédé de l'extraction est basé sur la différence de solubilité des composés, d'un mélange dans un solvant. Le mélange peut être solide ou liquide, et le solvant utilisé soit liquide supercritique ou fluide.

Dans notre travail, nous avons attribué des procédés dont le but est l'extraction des composés phénoliques, où le pouvoir extracteur de solvant doit être en fonction de sa polarité. Ainsi les travaux antérieurs ont démontrés que les molécules isolées ayant une activité biologique importante.

A partir de ces données, nous avons procédé à un type d'extraction : c'est l'extraction basée sur la différence de solubilité d'un soluté dans deux phases non miscibles (Idrissi, 2006). L'extraction consiste à faire passer un produit d'un solvant difficile à séparer (eau) à un autre

Solvant dont il sera facilement isolable (solvant organique). Cette technique commence par une étape principale nommée la macération.

Par définition, la macération est une opération, qui consiste à laisser la poudre du matériel végétale en contact prolongé avec un solvant extracteur à température ambiante.

Une quantité de 10 g de chaque poudre de plante est macérée dans un mélange hydro-alcoolique (éthanol/méthanol/eau 50 /40/10 : V/V/V) pendant 24h à température ambiante et à l'obscurité. Après filtration et évaporation sous pression réduite à une température de 55°C, la phase aqueuse de chaque extrait est lavée une ou plusieurs fois avec un demi-volume de l'hexane dans une ampoule à décanter afin d'éliminer toutes les traces de composés apolaires (pigments, lipides, etc.).

La phase aqueuse ainsi obtenue, est lavée une ou plusieurs fois avec un même volume d'acétate d'éthyle. La phase organique obtenue est séchée par le sulfate de sodium anhydre Na_2SO_4 , pour éliminer toutes traces d'eau. Après filtration le solvant est évaporé à sec sous pression réduite à 45°C.

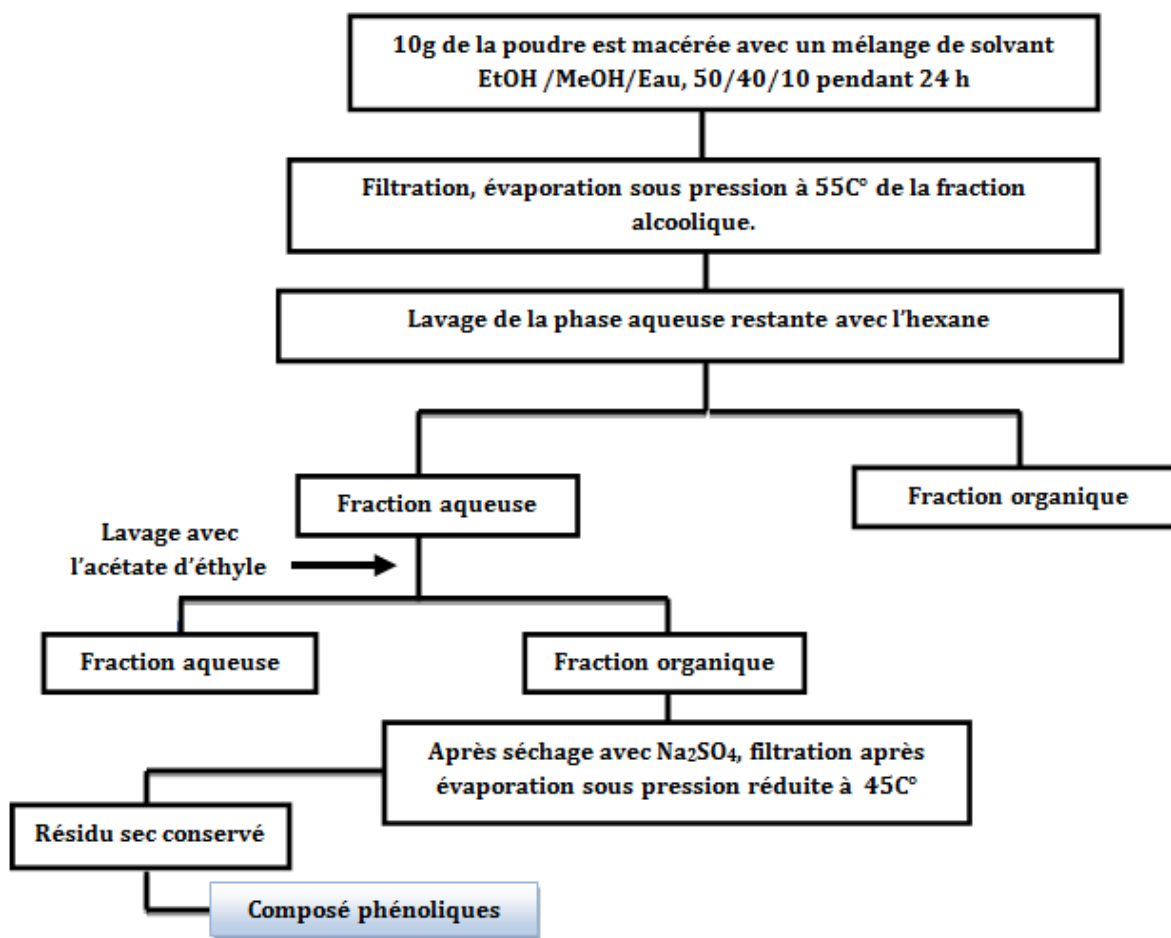


Figure 14 .Schéma représente le protocole d'extraction des composés phénoliques

3.1 Dosage des phénols totaux

- **Principe**

Le dosage des phénols totaux se fait par la méthode de Folin-Denis, qui est la procédure la plus utilisée pour la quantification des phénols chez les végétaux.

La réaction se passe quand les acides phosphomolybdique $H_3PW_{12}O_{40}$ et phosphotungstique $H_3PMo_{12}O_{40}$ de couleur jaune sont réduits à un complexe bleu dans un milieu alcalin en présence des composés phénoliques, qui absorbent à une longueur d'onde de 760nm, dont le phénol standard utilisé est l'acide gallique pour l'établissement de la courbe d'étalonnage.

- **Protocole**

Pour établir une courbe d'étalonnage de l'acide gallique, une gamme des solutions diluées d'acide gallique a été préparée à partir d'une solution étalon.

250 µl de réactif de Folin-Denis ont été ajoutés à 50 µl de chaque solution diluée de l'acide gallique ou de l'extrait végétale dilué. Après l'ajout de 1 ml de carbonate de sodium Na_2CO_3 , ces solutions ont été maintenues à l'obscurité pendant 30 min à température ambiante la lecture de l'absorbance de chaque solution s'effectue à l'aide d'un spectrophotomètre de *Shimadzu 1601* à une longueur d'onde de 760 nm contre un blanc (ce qui nous permet de tracer la courbe d'étalonnage de l'acide gallique et de doser les phénols totaux dans les extraits).

3.2 Dosage des flavonoïdes

- **Principe**

La quantification des flavonoïdes a été effectuée par une méthode de Lamaison et Carnet (1991) avec l'utilisation de trichlorure d'aluminium comme réactif dont le flavanol standard utilisé est la rutine.

Le trichlorure d'aluminium forme un complexe stable avec le groupement carbonyle C-4 et aussi les groupements hydroxyle C-3 et C-5, des flavones et Flavonols, en plus il forme des complexes acides labiles avec les groupements dihydroxyles en ortho, du cycle A ou B des flavonoïdes. Ce complexe est de coloration jaune absorbe fortement à une longueur d'onde de 430nm.

- **Protocole**

À partir d'une solution étalon méthanolique de la rutine, une gamme des solutions diluées a été préparée en milieu aqueux pour établir la courbe d'étalonnage.

500 µl de chaque solution diluée ou de l'extrait végétale dilué est mélangé avec 500 µl de trichlorure d'aluminium, ces solutions sont incubées, pendant 15 min à l'obscurité et à température ambiante. Puis soumis à une lecture de l'absorbance à une longueur d'onde de 430nm, contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre *Shimadzu 1601*, à fin de tracer la courbe d'étalonnage de la rutine et de doser les flavonoïdes dans les extraits.

4. Inhibition de la réaction catalysée par la lipase

4.1 Principe de l'activité enzymatique de la lipase (EC 3.1.1.3)

La technique physico-chimique utilisée pour étudier la cinétique de l'hydrolyse de l'ester par la lipase microbienne est la spectrophotométrie UV-Visible. Dans cette étude, nous nous intéressons à l'apparition du produit d'une coloration jaune (*p-nitrophénol*) en suivant l'évolution de sa densité optique. Le *p-nitrophénol* se produit de l'hydrolyse de *p-nitrophényl* laurate en présence de la lipase microbienne selon l'équation de la réaction suivante :

Où :

- **I%** : le pourcentage d'inhibition
- **A_{extrait}** : l'absorbance de l'activité enzymatique de la LCR en présence de l'extrait végétale
- **A_{control}** : l'absorbance de l'activité enzymatique de la LCR en absence de l'extrait végétale

Nous avons déterminé la constante d'inhibition K_i à partir de la représentation graphique $1/V=f(I)$ tel que I est la concentration de l'extrait végétal.

5. Docking moléculaire

Dans le but d'étudier les interactions chimiques dans le complexe inhibiteur-enzyme, nous avons procédé au Docking (amarrage) moléculaire, cette modélisation consiste à insérer l'inhibiteur dans l'enzyme pour obtenir un complexe avec la conformation la plus stable et donc l'énergie la plus faible. Pour réaliser cette modélisation, nous avons recherché dans la littérature des publications de l'isolement des molécules bioactives des extraits possédant le pouvoir inhibiteur de la LCR. Dans l'autre partie, nous avons traité les structures 3D des ligands et de l'enzyme en utilisant deux logiciels à savoir l'autodocktools v 1.5 et Discovery studio v4.0. Dernièrement, nous avons réalisé le docking en utilisant l'autodock vina v4.0 avec 50 tours dans une station de travail Hp Z820 de 12 cœurs.

6. Etude statistique

Les analyses de la variance ont été réalisées par le logiciel statistique Microsoft office Excel 2007 /2013. Toutes les expériences ont été faites en triples, les résultats ont été présentés par la moyenne avec son écart type (n=3) pour chaque cas.

Résultats et discussion

1. Extraction et quantification des composés phénoliques

1.1 Analyse qualitative

Les rendements des différents extraits avec leurs aspects et leurs couleurs, sont représentés dans le tableau 6.

Nous remarquons, que les teneurs des extraits Ac-O-Et liq-liq, des cinq plantes varient de 0,02 à 5,86%, dont la teneur la plus faible est enregistrée chez *M.recutita* et la plus élevée est enregistrée chez *O.majorana*, ainsi des teneurs de 0,313 ; 1,02 ; 1,53, pour les extraits *S.alexandrine*, *S. costus*, et *P. ciliata*, successivement.

L'acétate d'éthyle est un liquide incolore et volatil, Il est insoluble dans de l'eau. C'est un solvant connu de son meilleur pouvoir extracteur des composés phénoliques, les flavonoïdes et les lactones sesquiterpéniques (Bareille, 2003 ; Benarous, 2014).

Les valeurs des teneurs atteintes sont très variables selon la plante, c'est-à-dire la partie végétale utilisée, la méthode d'extraction suivie et le solvant d'extraction. En effet, nous ne pouvons pas, prévoir une hypothèse générale pour déterminer le meilleur solvant extracteur ou la meilleur méthode d'extraction.

Tableau 6. L'aspect, la couleur et la teneur de chaque extrait végétal

Plantes (extraits)	Aspect et couleur des résidus	Rendement (%)
<i>Matricaria recutita</i>	Poudre, huileuse, jaune	0,02
<i>Saussurea costus</i>	Huileuse, pâteuse, jaune	1,01
<i>Plantago ciliata L</i>	Huileuse pâteuse, verte foncé	1,53
<i>Origanum majorana L</i>	Poudre, pâteuse, marrons foncé	5,86
<i>Senna alexandrine</i>	Huileuse, pâteuse, jaune	0,31

1.2 Analyse quantitative :

1.2.1 Dosage des phénols totaux et des flavonoïdes:

- **Dosage des phénols totaux**

La teneur en composés phénoliques de chaque extrait de plante a été calculée à partir de la courbe d'étalonnage, et exprimé en mg équivalent en acide gallique par g de la matière végétale sèche.

- **Dosage des flavonoïdes**

La quantification des flavonoïdes dans nos extrais a été déterminée, en utilisant la courbe d'étalonnage, et les résultats sont exprimés en équivalent de la rutine.

Les cinq plantes ont subi le même traitement de séchage et d'extraction comme il est décrit précédemment. La teneur en composés phénoliques et en flavonoïdes dépend de différents facteurs (nature de l'espèce, conditions physiologiques, la génétique, type d'extraction: le solvant, le mode "à froid, à chaud", agitation ou non, ...). Les résultats obtenus après les analyses sont résumés dans l'histogramme ci-après (figure 18).

D'après les résultats du (tableau7), nous constatons, que les teneurs en phénols totaux et en flavonoïdes sont très variables d'un extrait à un autre. Pour les phénols totaux, les valeurs s'étalent de 4,68mg/g GAE dans l'extrait de *S.alexandrine* jusqu'à 143,09 mg/g GAE, dans l'extrait de *Pc*.

Tableau 7. Les teneurs en phénols totaux et en flavonoïdes des extraits

Plantes	Extrait (mg)	Phe tot (mg/g GAE)	Fv tot (mg/g ER)
<i>Matricaria recutita</i>	22,8	6,64 ± 0,02	4,40 ± 0,00
<i>Saussurea costus</i>	101,2	18,19 ± 0,02	17,41 ± 0,00
<i>Origanum majorana L</i>	589,9	134,17 ± 0,01	61,21 ± 0,00
<i>Plantago ciliata L</i>	160	143,09 ± 0,07	45,88 ± 0,02
<i>Senna alexandrine</i>	31,6	4,68 ± 0,01	7,99 ± 0,01

Phe tot: phénols totaux, **Fv tot:** flavonoïdes totaux, **GAE :** équivalent à l'acide gallique, **ER :** équivalent à la rutine.

En revanche, pour les teneurs en flavonoïdes, nous remarquons que les valeurs sont comprises entre 4,40 mg/g ER dans l'extrait de *M. recutita* et 61,21mg/g ER, pour l'extrait d'*O.majorana*.

Nous avons remarqué, que les teneurs en phénols totaux dans les extraits est nettement supérieurs à celle des flavonoïdes, ceci est expliqué par la différence en composants des extraits à l'exception de *Senna alexandrine*. Nous avons trouvé, que la teneur en flavonoïdes dans l'extrait de *Senna alexandrine* est nettement supérieure, par rapport à celle des composés phénoliques, cela peut être dû à la nature de ses flavonoïdes (glycosylé ou non), sachant que le standard utilisé est la rutine. Si nous remplaçons la rutine par un standard non glycosylé par exemple la quercétine, nous obtenons des teneurs en composés phénoliques plus élevé que les teneurs en flavonoïdes (Benarous 2014) .

Dans le but d'étudier nos teneurs trouvés en phénols totaux et en flavonoïdes, nous avons regroupés plusieurs travaux dans le tableau 8.

Si nous comparons nos teneurs trouvés de l'extrait *O.majorana* Ac-O-Et liq-liq avec celles des autres plantes de la même famille des Lamiaceae à savoir : *Teucrium polium L*, *Ajuga iva*,

Marrimum deserti, *Salvia verbenaca*, nous pouvons dire que notre plante est plus riche en composés phénoliques et en flavonoïdes (Djeridane et al., 2006 ; 2010)(tableau8).

Pour la famille des *Asteraceae*, nous pouvons dire que notre plante *Mr* présente des teneurs plus faibles, en composés phénoliques (6,64mg/g GAE) et en flavonoïdes (4,41mg/g RE) par rapport à celle d'*Artemisia avensis*, *Artemisia campestris*, *artemisia hreba alba*, *Anvilaradiata* et *Pulicaria crispa* trouvé par Djeridane et al (Djeridane et al., 2006),seulement que la teneur en flavonoïdes de notre plante *M.recutita* est légèrement supérieur à *Artemisia arboresens* (3,25mg/g GAE) ,et proche à *Asteriscus pygamaeus*(4,35mg/g GAE)trouvé par Djeridane et al. (Djeridane et al., 2006 ;2010).

Concernant la famille de *Fabaceae*, nous remarquons que notre plante *Sn* présente une teneur des composés phénoliques (4 ,68mg/h GAE) inférieure à celle d'*Ononis angustissima*, trouvé par Djeridane et al., 2010, par contre une teneur en flavonoïdes de (7,99 mg/g RE) nettement supérieure à cette plante.

Pour la plante *Plantago ciliata*, nous n'avons pas trouvé des références bibliographiques sur la composition en composés phénoliques et en flavonoïdes pour comparer nos résultats.

En conclusion, les plantes étudiées ont montrés une richesse importante en composés phénoliques et flavonoïdiques, qui sont doués sans doute d'une activité biologique. Egalement la présence de l'eau dans le système d'extraction augmente efficacement le rendement des composés extraits, ainsi leurs qualités structurales (Benarous,2014).

Tableau 8. Les teneurs en phénols totaux (phe tot) et en flavonoïdes (Fv) des extraits de la littérature

Famille de la plante	Plante	Phe tot (mg/g GAE)	Fv (mg/gER)	Référence
<i>Asteraceae</i>	<i>Anthemis arvensis</i>	32,32 ± 0,2	13,12 ± 0,1	Djeridane et al., 2006
	<i>Artemisia campestris</i>	20,38 ± 0,3	7,46 ± 0,2	Djeridane et al., 2006
	<i>Artemisia arboresens</i>	3,42 ± 0,5	3,25 ± 0,31	Djeridane et al., 2006
	<i>Artemisia herba alba</i>	13,06 ± 0,4	11,31 ± 0,51	Djeridane et al., 2006
	<i>Anvillea radiata</i>	14,36 ± 0	9,2 ± 0	Djeridane et al., 2010
	<i>Asteriscus pygmaeus</i>	5,61 ± 0	4,35 ± 0	Djeridane et al., 2010
	<i>Pulicaria crispa</i>	6,68 ± 0,38	0,95 ± 0,04	Nia et al., 2014
<i>Lamiaceae</i>	<i>Teucrium politum L</i>	4,92 ± 0,21	4,63 ± 0,1	Djeridane et al., 2006
	<i>Ajuga iva</i>	4,39 ± 0	1 ± 0	Djeridane et al., 2010
	<i>Marrimum deserti</i>	3,67 ± 0	2,2 ± 0	Djeridane et al., 2010
	<i>Salvia verbenca</i>	10,81 ± 0	10,25 ± 0 0,03	Djeridane et al., 2010
	<i>Marrimum vulgare</i>	2,67 ± 0,04	0,43 ± 0	Benguechoua et al., 2014
	<i>Echium vulgare</i>	0,69 ± 0,15	0,13 ± 0	Benguechoua et al., 2014
<i>Fabaceae</i>	<i>Ononis angustissima</i>	12,03 ± 0	2,35 ± 0	Djeridane et al., 2010

GAE : Equivalent en acide gallique, **RE** : Equivalent à la rutine

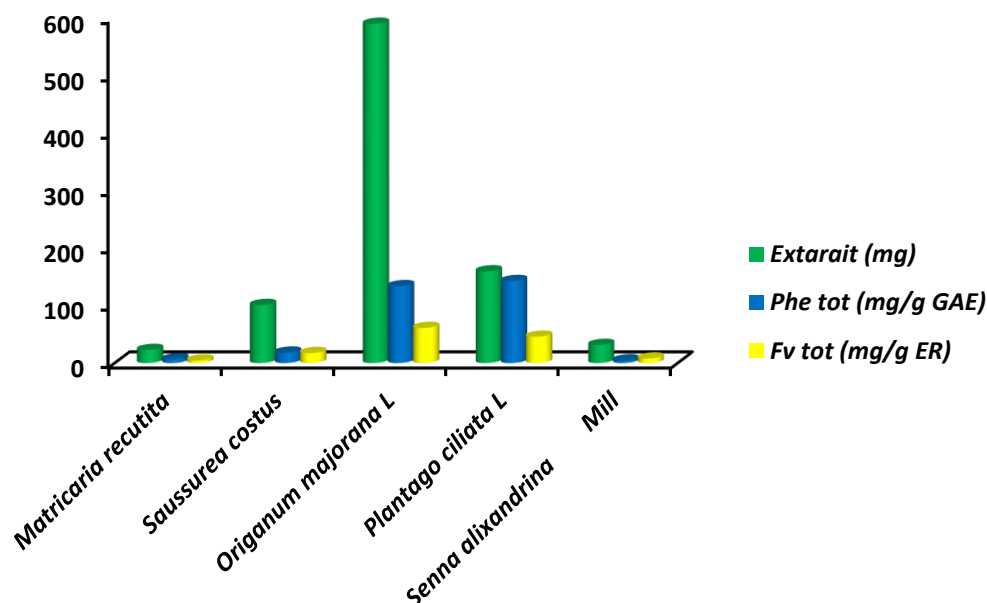


Figure 16 . Teneur en composés phénoliques et en flavonoïdes dans chaque plante

2. Etude de l'inhibition enzymatique de la LCR

2.2 Courbe d'étalonnage de p-nitrophénol (p-NP)

La courbe d'étalonnage de P-NP a été tracée, à l'aide des lectures des absorbances des solutions diluées de P-NP, en fonction de leurs concentrations.

2.3 Tests d'inhibition

Nous avons réalisé des tests d'inhibition préliminaire avec des concentrations de 1g/l et 2g/l, avant de réaliser les calculs de l'IC₅₀. Les résultats obtenus à partir de ce test, ont démontrés que seulement deux extraits (*O. majorana* et *P. ciliata*) qui ont un effet inhibiteur sur la « LCR ».

2.4 Détermination de l'IC₅₀ et de Ki

Nous avons tracé la courbe représentant la variation du pourcentage d'inhibition (I%) en fonction des concentrations croissantes des deux extraits exprimées, avec une concentration de (0,05mM) pour le substrat, nous avons déterminé la concentration inhibitrice à 50% c'est-à-dire IC₅₀ de chaque extrait des deux plantes. Les résultats obtenus sont montrés dans le tableau 10 et les courbes obtenus tracées à l'aide de Microsoft Excel 2007 et 2013, sont représentées dans les figures 20 pour le *P. ciliata* et figure 22 pour l'*O. majorana*.

Pour déterminer le type d'inhibition ainsi que la constante d'inhibition Ki pour nos extraits, nous avons tracé les courbes de la variation de 1/V en fonction de concentrations des extraits étudiés, est cela pour trois concentrations différentes de substrat (figure 21et 23).

Les représentations graphiques $I \% = f(C_I)$ et $I/V = f(C_I)$, nous a permis de déterminer les valeurs des IC_{50} et des K_i . Sachant que les constantes d'inhibition (K_i) sont calculées à partir de ces graphes, par la projection du point d'intersection des droites sur l'axe des abscisses, tandis que le type d'inhibition est déduit à partir du point de rencontre de ces tracés. Le tableau 10 regroupe les différents résultats obtenus.

Les valeurs des IC_{50} et des K_i varient selon la nature d'extrait, le métabolite secondaire et l'espèce végétale utilisée. Nous observons que les deux extraits (*O.majorana* et *P.ciliata*), ont un pouvoir inhibiteur très proche avec une valeur de $K_i=0,055\pm 0,00$, $0,05\pm 0,00$ et une valeur d' $IC_{50} = 0,26\pm 0,0013$, $0,29\pm 0,0014$, respectivement. Rappelons que les plantes *O.majorana* et *P.ciliata* contient de la quercétine (Sellami *et al.*, 2009), ainsi, des travaux antérieurs ont montré que la quercétine est un bon inhibiteur de la lipase de *Candida rugosa* avec une valeur de $IC_{50} = 0,27$ mg/ml (Benarous, 2010). Donc, nous pouvons supposer que l'inhibition de l'extrait phénolique des deux plantes est due à la quercétine.

Nous n'avons pas enregistré une activité inhibitrice sur la lipase de *Candida rugosa* « LCR » pour les trois extraits étudiés (*Matricaria recutita* « Mr » *Saussurea costus* « Cs » *Senna alexandrine* « Sa »).

Beaucoup de recherches scientifiques, ont été réalisées pour évaluer les effets anti-obésité et anti-candidose, en étudiant l'effet inhibiteurs des extraits des plantes médicinales de l'activité de la lipase et afin de trouver un nouveau médicament naturel traitant ces maladies sans effets secondaires. Dans cette étude, nous avons fait la même chose et nous voulons comparer nos extraits naturels par ces travaux antérieurs qui sont regroupés dans le tableau 11 (Benarous, 2014).

Pour les deux extraits des plantes *Origanum majorana* et *Plantago ciliata*, nous n'avons pas trouvé des recherches des espèces de la même famille mais en les comparant avec les autres espèces mentionnée dans le tableau 6, nous remarquons que nos deux extraits (*Om* et *Pc*), représente des valeurs d' IC_{50} plus élevé que celles trouvées chez les différents espèces de la famille de *Fabaceae* (Batubara *et al.*, 2009), aussi sont plus élevé par rapport à d'autres espèces trouvés dans la famille de *Zingiberaceae*, *sapindaceae*, *Moraceae*, *Saxifragaceae*, *Cruciferaeae* (Batubara *et al.*, 2009 ; Kim *et al.*, 2010 ; Ivanov *et al.*, 2011 ; Liu *et al.*, 2013; Nia *et al.*, 2014). En revanche, il existe aussi des espèces de la famille *Compositae*, *Asteraceae* et *Nelumbonaceae* qui représentent des valeurs d' IC_{50} plus élevées que celles de nos extraits inhibiteurs (Batubara *et al.*, 2009 ; Liu *et al.*, 2013 ; Nia *et al.*, 2014). Les extraits d'*Origanum majorana* et *Plantago ciliata*, sont des bons inhibiteurs de la lipase par rapport à la molécule de tanins hydrolysables ((+)- catechine 3,5-di-O-gallate) isolé à partir

de *Bergeniocrassifolia*, et autriterpenoïde saponine (gypsogénin 3-O-b-D-glycuronide), d'*Acanthopanax senticosus*, ainsi au monoterpène (carvacrol), isolé à partir de *Monardapunctata L*, qui est utilisé pour traiter l'obésité (Li *et al.*, 2017 ; Yamada *et al.*, 2010 ; Ivanov *et al.*, 2011). D'autre part, il existe des molécules qui représentent des valeurs d' IC_{50} plus élevé par rapport à nos extraits comme les saponines (Cyclocariosides) de *Cyclocarya paliurus* (Kurihara, 2003). Nous remarquons que la quercétine de *Salacia reticulata* à une valeur d' $IC_{50} = 0,27 \pm 0,00$ mg/ml très proche à la valeur d' IC_{50} de notre extrait inhibiteur *Origanum majorana* ($IC_{50} = 0,26 \pm 0,0013$ mg/ml) (Gatto *et al.*, 2002).

Ainsi, aucun de nos extraits n'a prouvé une inhibition plus importante que celle du médicament l'Orlistat (principe actif du médicament Xénical), trouvé par Benarous, 2014 avec une valeur d' $IC_{50} = 0,086 \pm 0,02$ mg/ml, déterminée pour la lipase pancréatique porcine avec le p-nitrophényl butyrate comme substrat. Cette différence des valeurs des IC_{50} est due à l'origine de la lipase et la nature du substrat utilisé dans l'étude.

En conclusion, les résultats obtenus montrent que parmi les cinq plantes, il y'a seulement deux plantes qui ont un pouvoir inhibiteur pour la « LCR » de type compétitif pour les deux plantes (*O.majorana* et *P.ciliata*).

• *Résultats et discussion*

Tableau 9. Les valeurs d'IC₅₀ des extraits des plantes et quelques molécules (Benarous, 2014)

Solvants	Plantes		IC ₅₀ (mg/ml)	Référence
	Familles	Espèces		
50%EtOH	<i>Compositae</i>	<i>Gynura pseudochina</i>	0,44 ± 0,075	Batubara <i>et al.</i> , 2009
MeOH	<i>Fabaceae</i>	<i>Caesalpinia sappan</i>	0,15 ± 0,0011	Batubara <i>et al.</i> , 2009
50%EtOH	<i>Fabaceae</i>	<i>Intsia palembanica</i>	0,083 ± 0,007	Batubara <i>et al.</i> , 2009
50%EtOH	<i>Zingiberaceae</i>	<i>Curcuma lona</i>	0,0193 ± 0,0012	Batubara <i>et al.</i> , 2009
50%EtOH	<i>Sapindaceae</i>	<i>Lepisanthe samoena</i>	0,1679 ± 0,0058	Batubara <i>et al.</i> , 2009
EtOH	<i>Moraceae</i>	<i>Morus bombyx</i>	0,028 ± 0,009	Kim <i>et al.</i> , 2010
Et-o-Ac	<i>Saxifragaceae</i>	<i>Bergeni acrassifolia</i>	0,0033 ± 0,0002	Ivanov <i>et al.</i> , 2011
Et-o-Ac	<i>Nelumbonaceae</i>	<i>Nelumbo nucifera</i>	0,387 ± 0,022	Liu <i>et al.</i> , 2013
Molécules isolées des plantes				
(+)- catechin 3,5-di-Ogallate ' tanins hydrolysables)	<i>Saxifragaceae</i>	<i>Bergeni acrassifolia</i>	0,00042 ± 0	Ivanov <i>et al.</i> , 2011
Carvacol (monterpene)	<i>Lamiaceae</i>	<i>Monardapunctata</i> L°	0,027 ± 0	Yamada <i>et al.</i> , 2010
gypsogenin3-O-b-D-glycuronide (saponine)	<i>Araliaceae</i>	<i>Acanthopanax senticosus</i>	0,00045 ± 0	Li <i>et al.</i> , 2007
cyclocariosides (Dammarane saponines)	<i>Juglandaceae</i>	<i>Cyclocarya paliurus</i>	9,1 ± 0	Kurihara, 2003
Polyphénols (mangiferin, catechins)	<i>Hippocrateaceae</i>	<i>Salacia reticulata</i> °	264 ± 0	Yoshikawa <i>et al.</i> , 2002
Catechine			1,83 ± 0	Ruiz <i>et al.</i> , 2006
Kaempfrol			2,18 ± 0	Ruiz <i>et al.</i> , 2006
Quercitine			0,27 ± 0	Gatto <i>et al.</i> , 2002
Autres inhibiteurs				
Orlistat	médicament synthétique anti obésité		0,068 ± 0,02	Benarous, 2014
Valilactone	<i>Streptomyces albolongus</i> (bactérie)		0,14 * 10 ⁻⁶	Birarian & Bhutani, 2007
Vibrilactone (b-lactone-type)	<i>Boreostereum virans</i> (champignon)		0,4 ± 0	Dong- Ze <i>et al.</i> , 2006
Chloramphénicol	médicament antiacné (antibiotique)		0,2188 ± 0,0028	Batubara <i>et al.</i> , 2009
Tetracycline	médicament anti acné (antibiotique)		0,4713 ± 0,0055	Batubara <i>et al.</i> , 2009

3. Docking moléculaire

Nous pouvons dire qu'un inhibiteur est compétitif avec l'étude bioinformatique seulement s'il interagit directement avec un ou plusieurs acides aminés catalytiques du site actif, ce qui nous avons cherché à travers cette analyse.

Premièrement, nous avons sélectionné deux molécules isolées des deux plantes et nous avons étudié leurs structures afin de chercher leurs propriétés inhibitrices à savoir l'acide Plantago guinidinique de la plante *Plantago ciliata* (Zhou *et al.*, 2013) et Amentoflavone de la plante *Origanum majorana L* (Sellami *et al.*, 2009) dont les structures 3D sont illustrées dans la figure 24.

A partir de 100 résultats obtenus de 50 tours, nous avons sélectionné les meilleures solutions en se basant sur leur répétitions et leurs énergies. Nous avons enregistré que les deux molécules choisies sont des inhibiteurs compétitifs de la lipase de *Candida rugosa* parce qu'il interagit directement avec les deux acides aminés Ser209 et His449 de la triade catalytique dont le type d'interaction trouvé se présente par des liaisons hydrogènes, en plus ils interagissent aussi avec autres acides aminés périphériques par des interactions hydrophobes comme il est illustré dans les figures 25 et 26.

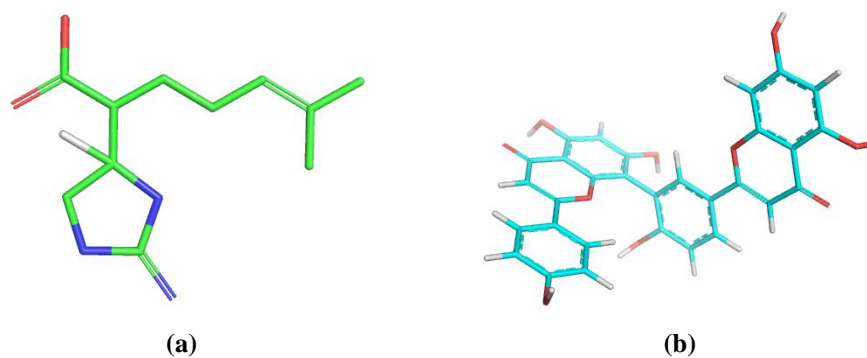


Figure 17. Les structures 3D des molécules choisies pour le docking, (a) : acide Plantago guinidinique, (b) : Amentoflavone

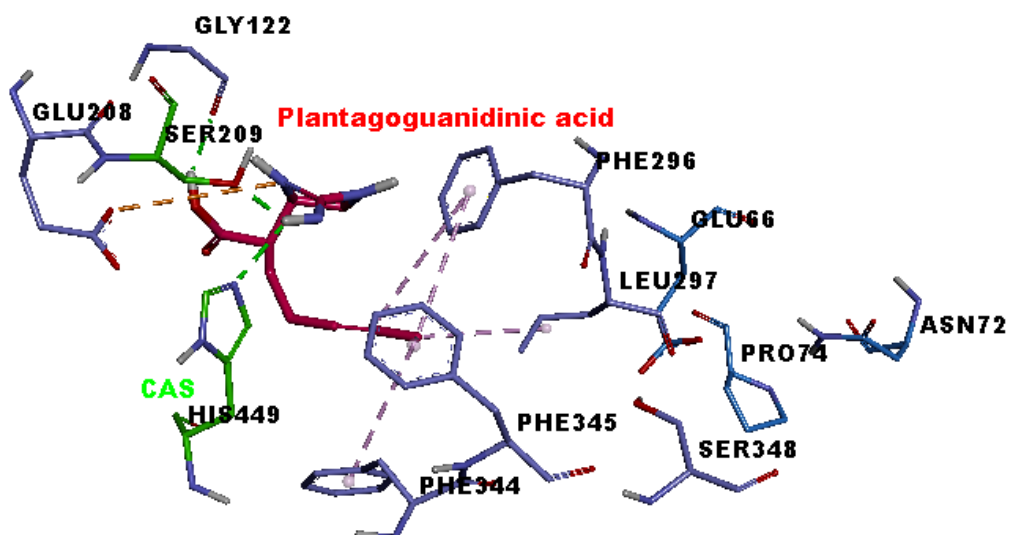


Figure 18. Interactions entre les acides aminés catalytiques (CAS en vert) et périphériques avec l'acide Plantago guinidinique, image obtenu par Discovery studio v4.0

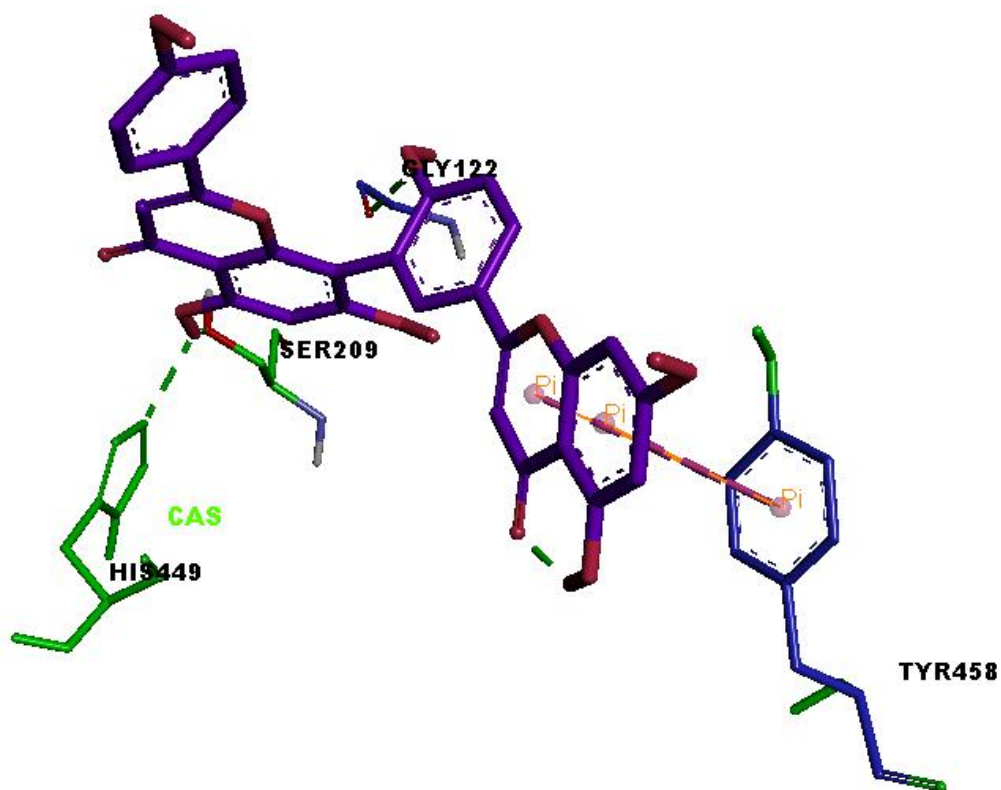


Figure 19. Interactions entre les acides aminés catalytiques (CAS en vert) et périphériques avec l'Amentoflavone, image obtenu par Discovery studio v4.0

Conclusion

- *Conclusion*

L'utilisation des plantes médicinales en phytothérapie, a reçu un très grand intérêt dans la recherche biomédicale et devient aussi importante que la chimiothérapie. Ce regain d'intérêt vient d'une part, du fait que les plantes médicinales représentent, une source inépuisable de substances et de composés naturels bioactifs et d'autre part, du besoin de la recherche d'une meilleure médication par la thérapie plus douce, sans effets secondaires. Parmi les plantes, nous citons *Origanum majorana* et *Plantago ciliata*.

Afin d'étudier les effets des extraits phénoliques de ces plantes sur la lipase de *Candida rugosa*, nous avons entamé en premier lieu l'extraction des composés phénoliques ou nous avons trouvé que les deux plantes possédant l'effet inhibiteur de la lipase sont très riches en composés phénoliques avec des teneurs de (134,17mg/g et 143,09 mg/g GAE) et des flavonoïdes avec des teneurs de (61,21 mg/g et 45,88 mg/g RE), par la suite, nous avons enregistré des valeurs d'IC₅₀ de (0,26 mg/ml et 0,29mg/ml), et des valeurs de Ki proche (Ki=0,055±0,00, 0,05±0,00). Les résultats obtenus montrent que les extraits des deux plantes d'*Origanum marjorana* et *Plantago ciliata*, ont un pouvoir inhibiteur contre la (LCR) avec un type d'inhibition compétitif pour les deux plantes.

Le Docking moléculaire présente actuellement un outil efficace pour déterminer les interactions chimiques possible entre l'inhibiteurs et les enzymes afin d'optimiser l'effet des médicaments particulièrement, dans cette étude, nous avons trouvé que les deux molécules publiées (l'Amentoflavone et l'acide Plantago guinidinique) pour les deux plantes sont des inhibiteurs compétitifs de la lipase de *Candida rugosa* parce qu'il interagit directement avec les deux acides aminés Ser209 et His449 de la triade catalytique, dont le type d'interaction trouvé se présente par des liaisons hydrogènes.

A travers ce travail, plusieurs perspectives peuvent être envisagées à savoir l'isolement et l'identification des molécules responsables de cette activité inhibitrice de la lipase, tester ces molécules sur la lipase pancréatique humaine *in vitro* et *in vivo* et étudier les interactions chimiques possibles par le docking moléculaire.

- *Conclusion*

Références bibliographiques

- Abdelmajid Chehma, juin 2006, catalogue des plantes spontanées du Sahara septentrional algérien, édition Dar Elhouda, Ain mlila, p 22, 32, 66, 73, 81, 104.
- Alberghina, L., M Lotti. 1997. The evolution of a non-universal codon as detected in *Candida rugosa* lipase. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic* 3 (1997) 37-41.
- Bataiche, I. 2014. Recherche de nouvelles potentialités de *Yarrowia Lipolytica*, isolé se différents milieux naturels pour des applications biologiques. Thèse de doctorat, université de Constantine, P : 131.
- Batubara, I., Mitsunaga, T., Ohashi., H. 2009. Screening anti acne potency of Indonesian medicinal plants: antibacterial, lipase inhibition, and antioxidant activities. . *J. Wood Sci.*, 2009, 55, 230-235.
- Beloued, A., 2001. Plantes médicinales d'Algérie. Office des publications universitaire .P :284.
- Benarous, K; Djeridane, A; Kameli, A and M. Yousfi. 2013. Inhibition of *Candida rugosa* Lipase by Secondary Metabolites Extracts of Three Algerian Plants and their Antioxydant Activities. *Current Enzyme Inhibition*, 2013, 9, 75-82.
- Benarous, K; Linani A. 2011. Sélection of Orlistat as a potential inhibitor for lipase from *Candida* species.
- Benarous, K. 2014. Etude de l'activité anti oxydante et l'activité inhibitrice de *Peganum harmala et Inontus hispidus, Marribum vulgare L, Ziziphus lotus, Achillea santolina*.
- Benguechoua, M; Benarous, K; Khachebaa, I; Chérif, J, k; Trabelsi-Ayadib, M and Yousfi, M. 2014. Inhibition of *Candida rugosa* Lipase by Different Extracts of Five Algerian Plants and their Antioxydant Activities. *Current Enzyme Inhibition*, 2014, 10, 121-128.
- Benjamin, B. 1997. Thèse présentée en vue de l'obtention de diplôme de doctorat. Lipase production by *Candida rugosa*.
- Bernard, T; Robert, A; Annelise, L. 2005. plantes aromatiques épices aromatiques condiments et huiles essentiels .Lavoisier .P :520.
- Birari, R.B., Bhutani, K.K. 2007. Pancreatic lipase inhibitor from natural sources: unexplored potential. *Drug Discov. Today*, 2007, 12, 879-889.
- Bouakaz, I. 2006. Etude phytochimique de la plante *Genista Microcephala*. Mémoire de magister. Université de Batna.
- Chardin, H. O., B Arsotti ; M. Mallet, B. 2006. Microbiologie en onto stomatologie. Éditions Valérie laurelleancel. P : 329. Pp : 101.
- Dacosta, E. 2003 Les phytonutriments bioactifs. Yves Dacosta (Ed). Paris, P: 317.
- Djeridane, A., Yousfi., M Brunel., J.M., Stocke, p. 2010. Antioxydant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compound *Food Chem. Toxicol* 48, 2599-2606.
- Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P., Vidal, N. 2006. Antioxydant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chem*: 97, 654-660.
- Dong-Ze, L., Fei, W., Tou-Gen, L., Jian-Guo, T., Wolfgang. S. 2006. Vibra lactone: a lipase inhibitor with an unusual fused lactone produced by cultures of the Basidiomycete *Breasted reum vibrans* Org. Lett, 8, 5749-575.

- El Jouhari, F. Z. 2008. Thèse présentée en vue de l'obtention de diplôme de doctorat. Particularisme. Des champignons dits (Emergents) en pathologie humaine.
- Fogelholm¹, M., K, Kukkonen-Harjula.2000. Does physical activity prevent weight gain a systematic review?
- Formisano, C., Delfino, S., Oliviero, F., Tenore, G, C. 2014. Correlation among environmental factors, chemical composition and antioxidative properties of essential oil and extracts of chamomile (*Matricaria chamomilla L.*). Collected in Molise (South-central Italy). *Industrial Crops and Products* 63 (2015) 256–263.
- G.Coutouly, E., Klein, E., Barbieri., M. Kriat. 2006. travaux dirigés de biochimie, biologie moléculaire et bioinformatique. 3^e édition. P : 346.
- Gálvez, M. , Cordero, C.M. , López-Lázaro, M. 2003. Cytotoxic effect of *Plantago* spp. on cancer cell lines. *Journal of Ethno pharmacology* 88 (2003) 125–13.
- Gamet-Payraastre, L., Manenti, S., Gratacap. M.P, Tulliez, J., Chap, H, Payraastre, B. 1999. Flavonoids and the inhibition of PKC and PI 3-General Pharmacology.
- Gatto, M.T., Falcocchio, S., Grippa, E., Mazzanti, G., Battinelli, L., Nicolosi, G., Lambusta ,D., Saso, L. 2002. Antimicrobial and anti-lipase activity of quercetin and its C2-C16 3-O-acyl-esters, *Bioorg. Med. Chem.*, 10, 269-272.
- Grunwald, J.Janick. 2006. Guide de la phytothérapie. ISBN: 2501044886 .P:416.
- Guncheva,M; Tashev, A; Zhiryakova,D; Tosheva, T ; Tzokova, N .2011. Immobilization of lipase from *Candida rugosa* on novel phosphorous-containing polyurethanes: Application in wax ester synthesis.
- Guzman, E., Pe´rez, C., Zavala, M.A., Acosta-Viana, K. Y., Pe´rez, S.2008. Antiprotozoal activity of (8-hydroxymethylen)-trienicosanyl acetate isolated from *Senna villosa*. *Phytomedicine* 15 (2008) 892–895.
- Hands, W. Kothe. 2007. 1000 plantes aromatiques médicinaux. Terre edition. Intext Edition, Toulouse. P: 336.
- Hutchings, A.1996. Zulu medicinal plants. 20006779990. P: 464.
- Idrissi, B.A. 2006. Extraction par solvant : étude et modélisation du système tributylphosphate-acides mono carboxyliques. Thèse de doctorat, université de Toulouse, p : 238.
- Ivanov, A.S., Nomura, K., Malfanov, I.L., Sklyar, I.V., Ptitsyn. L.R. 2011 Isolation of a novel catechin from *Bergenia* rhizomes that has pronounced lipase-inhibiting and antioxidative properties. *Fitoterapia*: 82, 212-218.
- Jang, D.S., Lee, G.Y., Kim, J.H., Lee, Y.M., Kim, J.M., Kim, Y.S., Kim, J.S. 2008. A new pancréatique lipase inhibitor isolated from the roots of *Actinidia arguta*. *Pharm. Res.*, 2008, 31, 666-670.
- Jean Jacques, M ; Christian Jay, A. 2005. Les composés phénoliques des végétaux. CH. 1015 Lausanne .P :192.
- Kaiser, A., Carle, R., Kammerer, A.R. 2012. Effects of blanching on polyphenol stability of into native paste-like parsley (*Petroselinum crispum* (Mill.) Nym ex A. W. Hill) and *marjoram* *Origanum majorana L.*) Products. *Food Chemistry* 138 (2013) 1648–165.
- Kelly, T., Yang, W., Chen, C. 2008. Global Borden obesity in 2005 and projections to 2030. *International journal of obesity* 32: 1431-37(2008).

- Klika, K. D., Ricarte, I., Trevisan, M. T. S., Goretti de Vasconcelos Silva, M., Owen, R. B. 2015. (2R3S4S, 2 R3 S)-Guibourtinidol-(4a8)-catechin, a biflavanoid procyanidin of the proguibourtinidin group from *Senna macranthera*: its relative stereochemistry and conformation. *Tetrahedron: Asymmetry* 26 (2015) 247–250.
- Kumar, A., Kumar, S., Kumar, D., Agnihotri, V.A. 2014. UPLC/MS/MS method for quantification and cytotoxic activity of sesquiterpene lactones isolated from *Saussurea lappa*. *Journal of Ethno pharmacology* 155 (2014) 1393–1397.
- Kurihara, H. 2003. Hypolipemic effect of *Cyclocarya paliurus* (Batal) Iljinskaja in lipid-loaded mice. *Biol. Pharm. Bull.*, 26: 383–385.
- Li, F., Li, W., Fu, H., Koike, K. 2007. Pancreatic Lipase-Inhibiting Triterpenoid Saponins from Fruits of *Acanthopanax senticosus*. *Chem. Pharm. Bull.*, 2007, 55, 1087-1089.
- Martinez, J.A. 2000. Body-weight regulation: causes of obesity. *Proceedings of the Nutrition Society*, 59(3).
- Martinez, J.A. 2006. Body-weight regulation: causes of obesity. *Proceedings of the Nutrition Society*, 2000. 59(3): p. 337-345.
- Martinez, A. J. 2007. Body weight regulation: causes of obesity. *Proceedings of the Nutrition Society*, 59, p 337345 doi: 10.1017/S002966510000038.
- Nia, S; Benguechouaa, M; Benarousa, K; Khachebaa, I; Chérif, J, k; Trabelsi-Ayadib, M and Yousfi, M. 2014. Screening of Two Algerian Spontaneous Plants for Anti-lipase and Antioxidant Activities. *Current Enzyme Inhibition*, 2014, 10, 113-120.
- Raal, A., Orav, A., Püssa, T., Valner, C., Malmiste, B., Arak, E. 2011. Content of essential oil, terpenoids and polyphenols in commercial chamomile (*Chamomilla recutita* L. Rauschert) teas from different countries. *Food Chemistry* 131 (2012) 632–638.
- Ruiz, C; Falcocchio, S; Xoxi, E. F.I., Pastor, Pilar, J., Diaz, Luciano Saso. 2004. Activation and inhibition of *Candida rugosa* and *Bacillus*-related lipases by saturated fatty acids, evaluated by a new colorimetric microassay. *Biochimica ET Biophysica Acta* 1672 (2004) 184–19.
- Ruiz, C., Falcocchio, S., Xoxi, E., Villo, L., Nicolosi, G., Pastor, F.I. J., Diaz, P., Saso, L. 2006. Inhibition of *Candida rugosa* lipase by saponins, flavonoïde and alkaloids. *J. Mol. Catal. B: Enzym* 40, 138-143.
- Saso, L. 2006. Inhibition of *candida rugosa* by saponins, flavonoids and alkaloids. *J. Mol. Catal. B: Enzym* 40, 138-143.
- Schanenberg, P., P, Ferdinand. 1997. *Guide des plantes médicinales*. 3^{ème} édition. P: 396.
- Shaltout, K. H. 1993. Post-agricultural succession in the Nile Delta region. *Journal of Arid Environment*. 28:31-38.
- Sellami, I.H., Maamouri, E., Chahed, T., Aidi Wannes, W., Kchouk, M. I., Marzouk, B. 2009. Effect of growth stage on the content and composition of the essential oil and phenolic fraction of sweet marjoram (*Origanum majorana* L). *Industrial Crops and Products* 30 (2009) 395–402.
- Skoula, R., Grayer, R. J., Kite, C, G., Veitch, N, C. 2008. Exudate flavones and flavanones in *Origanum* species and their interspecific variation. *Biochemical Systematics and Ecology* 36 (2008) 646–654.

• *Références bibliographiques*

Smith, J. Larsen, P, g, A., Siddiqi, A., Pokin,, et B. 2011. Cross-National Comparisons of Time Trends in Overweight Inequality by Socioeconomic Status among Women Using Repeated Cross-Sectional Surveys from 37 Developing Countries, 1989-2007," *American Journal of Epidemiolog Stomatologie*". Éditions Valérie laurelle bancel. P: 329. Pp: 101.

Uyanik, A; Sen, N; Yilmaz, A. 2010. Improvement of catalytic activity of lipase from *Candida rugosa* via sol-gelen capsulation in the presence of calix (aza) crown. *Bioresource Technology* 102 (2011) 4313-4318.

Wang, T.M., Wang, R.F., Chen, H. B., Shang, Y.M., CAI, Q, S. 2013. Alkyl and phenolic glycosides from *Saussurea sella*. *Fitoterapia* 88 (2013) 38-43.

Yamada, K., Murata, T., Kobayashi, K., Miyase, T., Yoshizaki, F. 2010. A lipase inhibitor monoterpene and monoterpene glycosides from *Monarda punctate*. *Phytochemistry*, 71, 1884-1891.

Zhou, Q., Lu, W., Niu, Y., Liu, J., Zhang, X., GAO, B., Akoh, C., Shi, H., Liangli, L., 2013. Identification and Quantification of Phytochemical Composition and anti-inflammatory, Cellular Antioxidant, and Radical Scavenging Activities of 12 *Plantago* Species, *J. Agric. Food Chem.*, 61, 6693-6702.

[http:// www.uniprot.org/taxonomy/5481](http://www.uniprot.org/taxonomy/5481)

<http://www.sahara-nature.com>

<http://www.Discoverlife.org/map>

<http://www.eol.org/pages//overview>