

Faculté des sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre et de  
l'univers

Département de Biologie

Laboratoire de recherche «Antibiotiques, Antifongiques, Physico-chimie,  
Synthèse et Activités Biologiques »



## Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de

Master en biologie

Option : Biochimie Appliquée

### **Recherche d'effet inhibiteur sur l' $\alpha$ - amylase des extraits enrichis en polyphénols des feuilles de Mûrier blanc (*Morus alba* L.)**

Présenté par : M<sup>elle</sup> Bouziane Hafsa

M<sup>elle</sup> Boussaou Hadjer

Soutenu le 23/06/2019 devant le jury :

Présidente	BENARIBA Nabila	MCA	Université de Tlemcen
Examinatrice	BELAID-MEDJDOUB Houria	MCB	Université de Tlemcen
Encadreur	AZZI Rachid	MCA	Université de Tlemcen

Année universitaire : 2019/2020

## **Remerciements**

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

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

*Aussi nous souhaiterais remercier les membres du jury de notre mémoire qui ont accepté de juger ce travail.*

*A madame **BENARIBA Nabila** Maitre de conférences Classe A au département de biologie, faculté des sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre et de l'univers, université Abou bekr Belkaïd Tlemcen pour l'honneur qu'il nous a fait en acceptant de présider le jury de ce mémoire*

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

*Sans oublier de remercier Madame **Abbou Faiza** doctorante en biologie pour son aide, ses conseils et sa disponibilité. Nous vous adressons notre profond respect*

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

# *Dédicace*

*Je dédie ce modeste travail et ma profonde gratitude*

*A tous celui qui a sacrifié pour m'offrir les conditions propices à ma réussite :*

*Avant tous à ma mère **Houria Beldjilali** que dieu la repose et la mette au paradis, à qui je dois la réussite, pour l'éducation qu'elle m'a prodigué ; avec tous les moyens et au prix de toutes les sacrifices qu'elle a consentis à mon égard, pour le sens du devoir qu'elle m'a enseigné depuis mon enfance.*

*A mon père **Mohamed** et ma deuxième maman **Bouziane Zahra** pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse, leur soutien et leurs prières tout au long de mes études,*

*A mes chères sœurs **Naima, Fouzia, Fatiha, Fatima, Malika, Rahima**, leurs mari et leurs enfants et à ma chère sœur **Hanane** pour leurs encouragements permanents, et leur soutien moral,*

*A ma grande mère, mes copines **Hadjer, Meriem, Fayrouz, Nabila**, toute la promo de la biochimie appliquée et toute ma famille avec tous mes sentiments de respect, d'amour, de gratitude et de reconnaissance pour leur soutien tout au long de mon parcours universitaire,*

*Que ce travail soit l'accomplissement de vos vœux tant allégués, et le fruit de votre soutien infaillible,*

*Merci d'être toujours là pour moi.*

***Hafsa Bouziane.***

## *Dédicace*

A mon très cher papa Boussaou **sidi mohamed**

Tu as toujours été pour moi un exemple de père respectueux, honnête, je tiens à honorer l'homme que tu es. Tes Conseils ont toujours guidé mes pas vers la réussite. Ta patience sans fin, ta compréhension et ton encouragement sont pour moi le soutien indispensable que tu as toujours su m'apporter. Je te dois ce que je suis aujourd'hui et ce que je serai demain et je ferai toujours de mon mieux pour rester ta fierté et ne jamais te décevoir.

A MA TRÈS CHÈRE MÈRE : **Mahieddine Rachida**

Autant de phrases aussi expressives soient-elles ne sauraient montrer le degré d'amour et d'affection que j'éprouve pour toi. Tu m'as comblé avec ta tendresse et affection tout au long de mon parcours. Tu n'as cessé de me soutenir et de m'encourager durant toutes les années de mes études.

A mes chères sœurs **Sihem et Marwa** pour leurs encouragements permanents, et leur soutien moral,

A ma chérie tante **Boussaou Fatiha**, ma **grande mère chérie**, **ma belle cousine** pour leur soutien tout au long de mon parcours universitaire, Que ce modeste travail, soit l'expression des vœux que vous n'avez cessé de formuler dans vos prières. Que Dieu vous préserve santé et longue vie.

A mon chère binôme **Bouziane Hafsa** et sa famille, je te remercie pour ton amitié, tu es un symbole de tendresse et fidélité. Et aussi à ma jolie, belle amie **Boutaayachet Fayrouz**.

Que ce travail soit l'accomplissement de vos vœux tant allégués, et le fruit de votre soutien infaillible,

Merci d'être toujours là pour moi.

*Boussaou Hadjer*

## ملخص

التوت الأبيض هو نبات طبي ينتمي الى عائلة مراسي. في الطب التقليدي، يتم استخدام أوراق هذا النبات كمضاد لمرض السكري.

يتعلق هذا العمل بالبحث عن تأثير مثبت لنشاط الإنزيمي للألفا-اميلاز، في وجود مستخلص الخام (المائي الميثانولي) من اوراق التي يتم تحضيرها بالتسريب يتبعها النقع وجزء أسيتات إثيل، يتم الحصول عليه عن طريق التجزئة.

تم إجراء اختبارات كيميائية نوعية وفحوصات كمية لمجموع البوليفينول الفلافونويد من المستخلصات المحضرة. تم اختبار تأثير التركيزات المختلفة لكل مستخلص على نشاط انزيم الالفا اميلاز العوامل المثلى (درجة الحموضة 6,9، درجة الحرارة 37 درجة مئوية).

كشفت نتائج الاختبارات الكيميائية النباتية عن وجود العفص، الفلافونويد، الكينونات الحرة والتربينويد. أظهرت جرعة المركبات الفينولية ان مستخلص أسيتات الاثيل هو الأغنى بالبوليفينول الفلافونويد الكلية قدرت ب  $19.80 \pm 592,34$  ميكروغرام مكافئ لحمض الغاليك/مليغرام من المستخلص الجاف و  $55 \pm 301,10$  ميكروغرام مكافئ لحمض الكاتشين/مليغرام من المستخلص الجاف على التوالي.

علاوة على ذلك، أظهر مستخلص المائي الميثانولي ان لأوراق التوت الأبيض نشاطا مثبتا أفضل ضد الالفا اميلاز مقدر ب 1,68 ملغ/مل مقارنة بالمقتطفات الاخرى. حيث لا يزال هذا النشاط ضعيفا مقارنة بالاكاربوز الذي بلغت درجة تثبيطه الى 0,003 ملغ/مل.

استنادا إلى هذه النتائج، يمكننا القول أن اوراق التوت الأبيض لها تأثير مثبت على نشاط الالفا اميلاز وبالتالي على تنظيم ارتفاع للسكر في الدم؛ بسبب انخفاض امتصاص الجلوكوز في الامعاء.

**الكلمات المفتاحية:** داء السكري، التوت الأبيض، المركبات الفينولية، الالفا اميلاز، في المختبر، التأثير المثبط.

## Résumé

Le Mûrier blanc (*Morus alba L.*), est une plante médicinale qui appartient à la famille des Moracée. En médecine traditionnelle, les feuilles de cette plante sont utilisées comme antidiabétiques.

Ce travail porte sur la recherche d'effet inhibiteur de l'activité enzymatique de l' $\alpha$ -amylase, en présence de l'extrait brut eau-méthanol, des feuilles de *Morus alba*, préparés par infusion suivie d'une macération et sa fraction acétate d'éthyle, obtenue par fractionnement.

Des tests phytochimiques qualitatifs et des dosages quantitatifs des polyphénols totaux et des flavonoïdes des extraits préparés, ont été réalisés. L'effet de différentes concentrations de chaque extrait sur l'activité de l'enzyme  $\alpha$ -amylase a été évalué dans les conditions optimales (pH 6,9 et T° 37°C).

Les résultats des tests phytochimiques ont révélé la présence des tanins, des flavonoïdes, des quinones libres et des terpénoïdes. Le dosage des composés phénoliques ont montré que l'extrait d'acétate d'éthyle est le plus riche en polyphénols totaux et en flavonoïdes avec des teneurs d'ordre de  $592,34 \pm 19.80 \mu\text{g Eq AG/mg ES}$  et  $301,10 \pm 55 \mu\text{g Eq C/mg ES}$  respectivement.

Par ailleurs, l'extrait brut eau-méthanol des feuilles de *Morus alba* a présenté une meilleure activité inhibitrice vis-à-vis l' $\alpha$ -amylase avec une  $CI_{50}$  d'ordre de 1,68 mg/ml, par rapport aux autres extraits testés. Cette activité reste faible par rapport à l'acarbose ( $CI_{50} = 0,003\text{mg/ml}$ ).

En se basant sur ces résultats, nous avons conclu que les feuilles de *Morus alba* exerce un effet inhibiteur sur l'activité de l' $\alpha$ -amylase et donc sur la régulation de l'hyperglycémie ; par une diminution de l'absorption intestinale du glucose.

**Mots clés :** Diabète sucré, *Morus alba*, composés phénoliques,  $\alpha$ -amylase, *in vitro*, effet inhibiteur,  $CI_{50}$ .

## Abstract

The White Mulberry (*Morus alba* L), is a medicinal plant that belongs to the Moraceae family. In traditional medicine, the leaves of this plant are used as anti –diabetics.

This work relates to the search for an inhibitory effect on the enzymatic activity of  $\alpha$ -amylase, in the presence of the raw water –methanol extract, of *Morus alba* leaves, prepared by infusion followed by maceration and its ethyl acetate fraction, obtained by fractionnement.

Qualitative phytochemical tests and quantitative assays of total polyphenols and flavonoids of the prepared extracts were carried out. The effect of different concentrations of each extract on the activity of the amylase enzyme were tested under optimal conditions (pH = 6.9 and t° 37°C).

The results of phytochemical tests revealed the presence of tannins,flavonoids,free quinones and terpenoids .the dosage of phenolic compounds showed that the ethyl acetate extract is the richest in total polyphenols and flavonoids with order contents of 592,34±19.80  $\mu\text{g Eq AG/mg ES}$  et 301,10±55  $\mu\text{g Eq C/mg ES}$  respectively.

In addition ,the crude water-methanolic extract of *Morus alba* leaves showed better inhibitory activity against a amylase with an IC<sub>50</sub> of about 1.68mg/ml ,compared to the other extract tested .this activity remains weak compared to the acarbose (IC<sub>50</sub>=0.003mg/ml).

Based on these results, we can say that the leaves of *Morus alba* exert an inhibitory effect on the activity of amylase and therefore on the regulation of hyperglycemia; by decreased intestinal glucose uptake.

**Key word:** diabetes mellitus, *Morus alba*, phenolic compounds,  $\alpha$ - amylase, in vitro inhibitory effect, IC<sub>50</sub>.

## Table des matières

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

### Introduction

Introduction ..... 01

### Synthèse bibliographique

#### Chapitre 1 : Généralités sur le diabète sucré

1. Définition du diabète sucré.....	03
2. Epidémiologie de diabète sucré.....	03
3. Types de diabète .....	04
3.1. Diabète type 1.....	04
3.2. Diabète type 2.....	04
3.3. Diabète gestationnel .....	04
3.4. Autre types .....	04
4. Critères de diagnostiques .....	05
4.1. Glycémie à jeun (FPG).....	05
4.1. Test de tolérance au glucose par voie orale (OGTT).....	05
4.2. Test de glycémie aléatoire.....	06
4.3. Hémoglobine glyquée (HbA1c).....	06
5. Complication de diabète sucré.....	06
5.1. Complications aiguës métaboliques.....	06
5.2. Complications chroniques.....	07
6. Traitements du diabète sucré.....	07
6.1. Mesures hygiéno-diététiques.....	07
6.2. Traitements médicamenteux.....	07
7. Utilisation des plantes médicinales dans le traitement du diabète sucré.....	08

#### Chapitre II : $\alpha$ amylase

1. Nomenclature .....	10
2. Caractéristiques de l' $\alpha$ -amylase.....	10
3. Définition.....	10

4. Structure.....	10
5. Origines.....	11
6. Mécanisme d'action.....	11
7. Les inhibiteurs de l'alpha amylase.....	12

### Chapitre III : $\alpha$ glucosidase

1. Nomenclature.....	15
2. Caractéristiques de l' $\alpha$ -glucosidase.....	15
3. Définition .....	15
4. Structure.....	15
5. Mécanisme d'action.....	16
6. Les inhibiteurs d'alpha glucosidase.....	17

### Chapitre IV : plante étudiée (*Morus alba*)

1. Noms vernaculaires.....	19
2. Classification taxonomique.....	19
3. Description botanique.....	19
4. Répartition géographique.....	20
5. Composition chimique.....	21
6. Utilisation thérapeutique et traditionnelle.....	23

## Partie expérimentale

### Matériel et méthodes

1. Matériel végétal.....	24
1.1. Préparation du matériel végétal.....	24
1.2. Extraction du matériel végétal.....	25
1.2.1. Préparation de l'extrait hydro-méthanolique par infusion suivie d'une macération.....	25
1.2.2. Préparation de l'extrait brut acétate d'éthyle par fractionnement.....	25
1.3. Calcul du rendement.....	25
2. Tests phytochimiques.....	26
3. Dosage des composés phénoliques.....	27
3.1. Dosage des polyphénols totaux.....	27
3.2. Dosage des flavonoïdes.....	28
4. Recherche de l'effet inhibiteur des extraits de <i>Morus alba</i> sur l' $\alpha$ - amylase.....	29
4.1. Réactifs utilisés.....	29

4.1.1. Solution de l' $\alpha$ -amylase.....	29
4.1.2. Solution de substrat.....	29
4.1.3. Solution d'extrait.....	29
4.1.4. Solution d'acarbose.....	29
4.1.5. Réactif chromogène 3,5-dinitrosalicylique (DNSA).....	29
4.2. Evaluation de l'effet inhibiteur sur l' $\alpha$ -amylase.....	30
5. Analyses statistiques.....	31

### **Résultats et interprétations**

1. Caractéristiques des différents extraits.....	32
2. Tests phytochimiques.....	33
3. Teneur en polyphénols totaux et en flavonoïdes.....	34
4. Effet des extraits de <i>Morus alba</i> sur l'activité de l' $\alpha$ -amylase in vitro.....	36

<b>Discussion</b>	39
-------------------	----

### **Conclusion**

Conclusion.....	42
Références bibliographiques.....	43

## Liste des tables :

<b>Tableau 1</b> : les valeurs de la glycémie à jeun.....	05
<b>Tableau 2</b> : les valeurs du test de tolérance au glucose par voie orale.....	05
<b>Tableau 3</b> : Valeurs de l'hémoglobine glyquée.....	06
<b>Tableau 4</b> : Exemples des plantes étudiées pour leurs effets inhibiteurs d'alpha amylase.....	13
<b>Tableau 5</b> : Plantes à activité inhibitrice de l'α-glucosidase.....	18
<b>Tableau 6</b> : Teneur en minéraux dans les feuilles de <i>Morus alba</i> .....	21
<b>Tableau 7</b> : Analyse quantitative des composés phénoliques présents dans les feuilles de <i>M. alba</i> .....	22
<b>Tableau 8</b> : utilisation traditionnelle des différentes parties de <i>Morus alba</i> .....	23
<b>Tableau 9</b> : Caractéristiques des différents extraits préparés des feuilles de <i>Morus alba</i> .....	32
<b>Tableau 10</b> : Résultats des tests phytochimiques réalisés sur les trois extraits préparés des feuilles de <i>Morus alba</i> .....	33
<b>Tableau 11</b> : Teneur en polyphenols totaux et en flavonoïdes des trois extraits préparés des feuilles de <i>Morus alba</i> .....	35
<b>Tableau 12</b> : Valeurs de la CI50 des extraits préparés des feuilles de <i>Morus alba</i> .....	38

## Liste des figures :

<b>Figure 1 :</b> nombre estimé d'adultes atteints de diabète, dans le monde.....	03
<b>Figure 2 :</b> Diagramme en ruban de structure de l' $\alpha$ -amylase pancréatique humain (rose et gris : domaine A, bleu le domaine B et rouge domaine C), l'ion chlorure (vert) et l'ion calcium (jaune).....	11
<b>Figure 3 :</b> Mécanisme catalytique d'enzymes $\alpha$ -amylases.....	12
<b>Figure 4 :</b> Structure monomérique de l' $\alpha$ - glucosidase.....	16
<b>Figure 5 :</b> Mécanisme d'action des glucosidase à rétention de configuration.....	17
<b>Figure 6 :</b> Les structures des inhibiteurs de l' $\alpha$ - glucosidase.....	17
<b>Figure 7 :</b> photos des différentes parties de <i>Morus alba</i> .....	20
<b>Figure 8 : A :</b> Les feuilles de <i>Morus alba</i> séchée et broyée (photo de laboratoire).....	24
<b>B :</b> les feuilles de <i>Morus alba</i> récoltées avant le séchage et broyage .....	
<b>Figure 9 :</b> Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux.....	34
<b>Figure 10 :</b> Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des flavonoïdes.....	35
<b>Figure 11 :</b> Courbe logarithmique des pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations de la fraction organique acétate d'éthyle des feuilles de <i>M. alba</i> .....	36
<b>Figure 12 :</b> Courbe logarithmique des pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations de l'extrait brut eau- méthanol des feuilles de <i>M. alba</i> .....	37
<b>Figure 13 :</b> Courbe logarithmique des pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations de phase aqueuse résiduelle des feuilles de <i>M. alba</i> .....	37
<b>Figure 14 :</b> Courbe logarithmique des pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations de l'acarbose.....	38

## Liste des abréviations

**ADA** : American Diabets Association.

**AG** : Acide gallique.

**C** : catéchine.

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

**DMSO** : Diméthylsulfoxyde.

**DNSA** : Acide 3,5-dinitrosalicylique.

**DPP-4** : Dipeptidyl peptidase-4.

**EC** : Enzyme commission numbers.

**ES** : Extrait sec.

**Eq** : Equivalent

**FAAD** : Fédération Algérienne des Associations de Diabétiques.

**FID** : Fédération internationale du diabète.

**GLP-1** : Glucagon-like peptide-1.

**HbA1c** : Hémoglobine glyquée.

**KDa** : Kilo Dalton.

**LAPSAB** : Laboratoire de recherche « Antibiotiques, Antifongiques, Physico-chimie, Synthèse et Activité Biologique.

**L/L** : liquide/ liquide.

**moy** : moyenne.

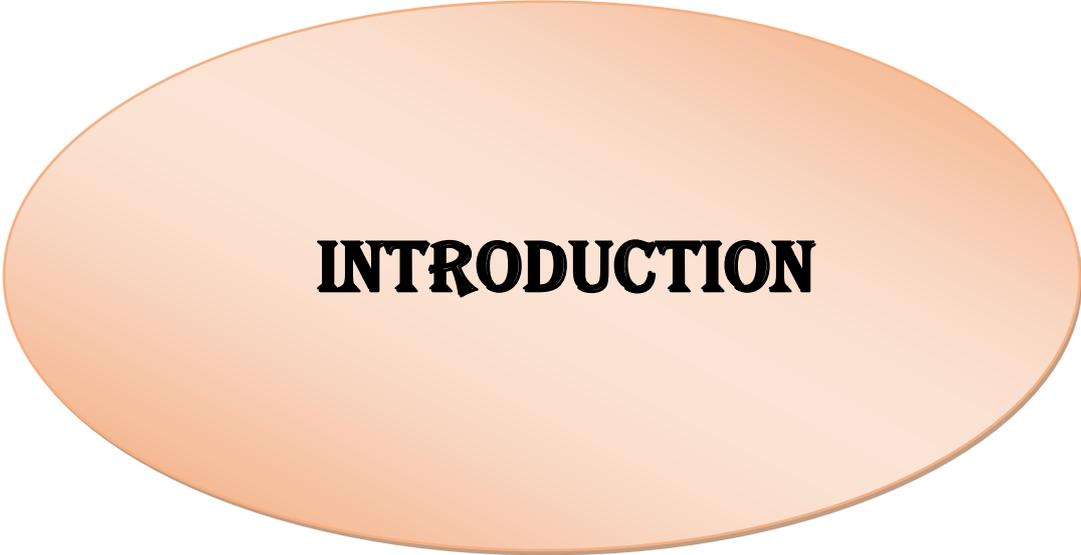
**OMS** : Organisation mondiale de la santé.

**p/p** : poids/poids.

**PDB** : Protein data base.

**UV** : Ultraviolet.

**V/V** : volume/volume.



# **INTRODUCTION**

Le diabète sucré, principalement le diabète de type 2, est considéré depuis quelques années comme un des fléaux du troisième millénaire, partout dans le monde, dans les pays développés comme dans les pays en voie de développement. Le nombre de personnes atteintes du diabète sucré ne cesse à croître de façon très alarmante. On comptait 463 millions de diabétiques en 2019 avec une estimation prévue de 578 millions personnes en 2030 et 700 millions en 2045 (**FID, 2019**).

L'hyperglycémie permanente, lorsque la glycémie à jeûne est supérieure à 1,26g/l, est spécifiquement un caractère principale dans cette pathologie. Elle est causée par une insuffisance de sécrétion et/ou dans l'action d'insuline pancréatique (**Imbert 2008**).

Le traitement de cette maladie est basé sur l'utilisation des mesures hygiéno- diététiques, des antidiabétiques oraux et/ou l'insulinothérapie pour les diabétiques de type 2, et seulement l'insulinothérapie pour les diabétiques de type 1 (**Charbonnel et Cariou, 1997**).

L'une des stratégies courantes dans le traitement du diabète sucré, est l'inhibition de l' $\alpha$ -glucosidase et l' $\alpha$ -amylase. Ces deux enzymes sécrétées par le pancréas jouent un rôle important dans la dégradation du glycogène et de l'amidon (**Whitcomb et Lowe, 2007**).

L'Algérie est considérée comme l'un des pays les plus riches en plantes médicinales avec plus de 3164 espèces (**Vasisht et Kumar, 2004**).

De nombreuses plantes sont considérées traditionnellement comme antidiabétiques. En Algérie, les informations ethnobotaniques recueillies confirment la dépendance importante de la population locale vis-à-vis les plantes médicinales (**Allali et al., 2008 ; Azzi et al., 2012**).

Le **Mûrier blanc** (*Morus alba* L.), ou **Mûrier commun**, est une espèce fruitière appartenant à la famille des Moracées. Il fut largement cultivé pour ses feuilles, et qui sont un aliment exclusif du ver à soie.

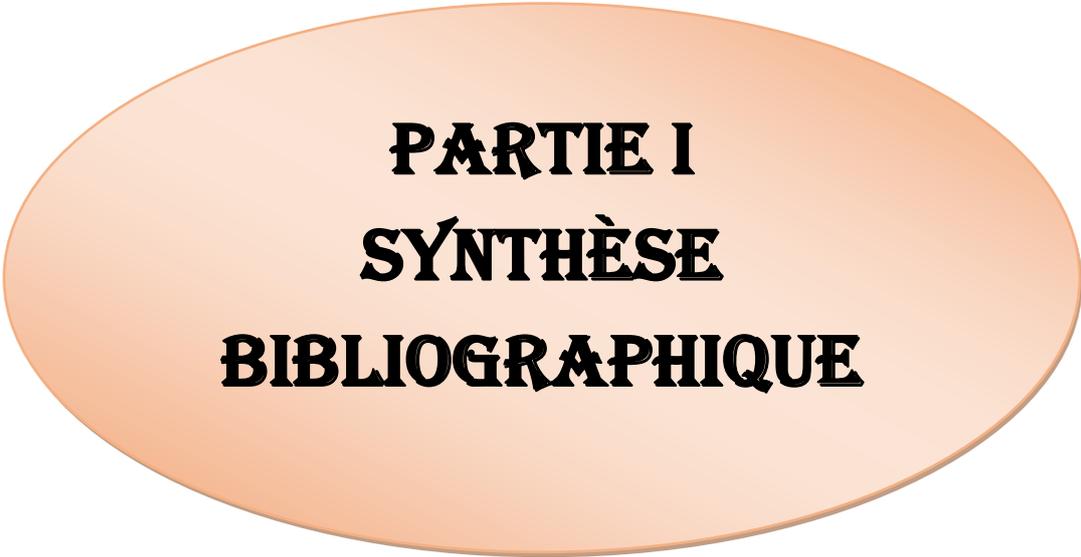
En médecine traditionnelle, les feuilles de *Morus alba* sont utilisées comme anti hyperglycémiant, en réduisant l'absorption du glucose dans les intestins (**Lee et al., 2012**).

Dans ce travail ; notre objectif est la recherche d'effet inhibiteur d'extrait brut eau-méthanol et sa fraction organique acétate d'éthyle, des feuilles de *Morus alba*, sur l'activité enzymatique de l' $\alpha$ -amylase.

Notre travail sera réalisé selon les étapes suivantes :

La première partie est consacrée à une étude bibliographique sur le diabète sucré, les composés phénoliques, les enzymes  $\alpha$ -amylase et  $\alpha$ -glucosidase et la plante étudiée : *Morus alba*.

La deuxième partie est réservée à la description du protocole expérimental, l'interprétation et la discussion des résultats obtenus.



**PARTIE I**  
**SYNTHÈSE**  
**BIBLIOGRAPHIQUE**



**CHAPITRE I**  
**GÉNÉRALITÉ SUR LE**  
**DIABÈTE**

## 1. Définition du diabète

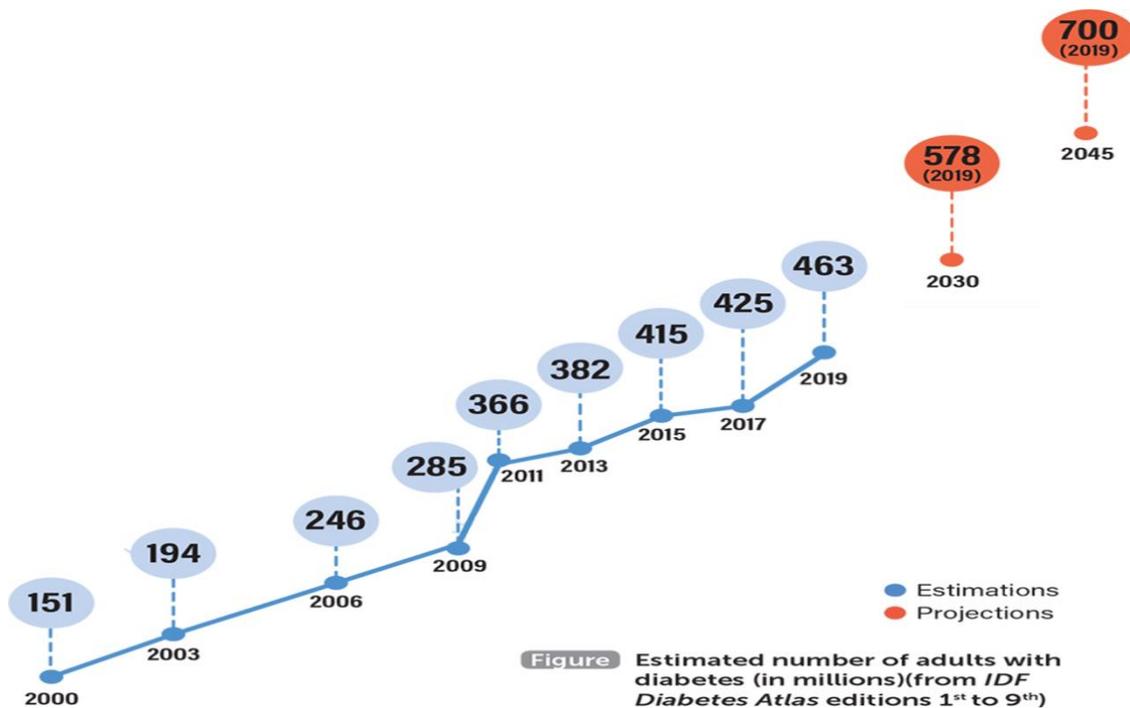
Le diabète sucré est une maladie chronique qui survient lorsque le pancréas ne produit pas assez d'insuline ou lorsque l'organisme est incapable d'utiliser l'insuline correctement (**FID, 2019**).

C'est une maladie métabolique, présentée par une perturbation des métabolismes glucidiques, protéiques et lipidiques. Cette perturbation provoque un défaut dans la sécrétion de l'insuline et/ou dans l'action de cette hormone. (**Alberti et Zimmet, 1998**).

## 2. Epidémiologie

Le diabète n'est plus une maladie des pays riches. En effet, 80% des personnes atteintes de diabète vivent dans des pays à faibles ou moyens revenus (**OMS, 2016**).

En 2000, l'estimation mondiale des adultes vivant avec le diabète sucré était de 151 millions. En 2009, il avait augmenté de 88% pour atteindre 285 millions et aujourd'hui 463 millions de personnes qui vivent avec le diabète. Ce chiffre peut atteindre 578 millions en 2030 et 700 millions en 2045 (Figure1) (**FID, 2019**).



**Figure 1 : Le nombre estimé d'adultes atteints de diabètes, dans le monde (FID 2019).**

En Algérie, et selon la Fédération Algérienne des Associations de Diabétiques (**FAAD**), 5 millions des populations sont touchées par le diabète sucré (**FAAD, 2016**).

### 3. Types de diabète

Selon l'Association Américaine du Diabète (**ADA**) et l'organisation mondiale de la santé (**OMS**), le diabète sucré peut être classé en 4 types.

#### 3.1. Diabète type 1

Connu sous les noms : diabète insulino-dépendant ou diabète juvénile ou diabète de l'enfant. Il est provoqué par une réaction auto-immune au cours de laquelle le système immunitaire de l'organisme attaque les cellules bêta du pancréas, qui sont incapable de produire de l'insuline ou avec une insuffisance totale (**FID, 2019 ; OMS, 2016**).

#### 3.2. Diabète type 2

Appeler aussi diabète gras, diabète insulino-résistant ou diabète adulte (**Goldenberg et al, 2013**).

C'est le type le plus fréquent. Il touche environ 90% des cas et son apparition est souvent après l'âge de 40 ans et plus précisément chez les obèses (**Prasad et Groop., 2015**).

Ce type de diabète est déterminé par une résistance de l'insuline ou une carence relative de la sécrétion d'insuline. Son évolution est apparait par un degré d'hyperglycémie suffisant pour provoquer des atteintes organiques et fonctionnelles dans des différents tissus sans symptôme clinique (**Monnier, 2010**).

#### 3.3. Le diabète gestationnel (DG)

Cette forme se caractérise par une hyperglycémie pendant la grossesse. Il peut survenir à n'importe quel moment de la grossesse (il est cependant plus fréquent après 24 semaines) et disparaît généralement une fois que la femme a accouché (**FID, 2019**).

#### 3.4. Autres types

Il est moins répandu. Ce type est appelé diabète secondaire ou spécifique grâce à sa relation à des défauts génétiques des cellules  $\beta$  du pancréas, des défauts génétiques de l'action de l'insuline, des maladies du pancréas exocrine, des endocrinopathies, secondaire à la prise de médicaments ou de substances chimiques, secondaire à une infection, des formes non communes de diabètes immuns ou des diabètes associés à des syndromes génétiques (**Ernst Heidi et al.; 2011**).

## 4. Critère de Diagnostiques

Selon l'ADA (2018), il existe plusieurs façons de diagnostiquer le diabète sucré :

### 4.1. Glycémie à jeun (FPG) :

Ce test vérifie la glycémie à jeun. Le jeûne signifie après n'avoir rien mangé ni bu (sauf de l'eau) pendant au moins 8 heures avant le test. Ce test se fait généralement le matin, avant le petit déjeuner.

Le diabète est diagnostiqué à une glycémie à jeun supérieure ou égale à 126 mg / dl (Tableau 1)

**Tableau 01** : les valeurs de la glycémie à jeun (FPG)

Résultat	Glycémie à jeun (FPG)
Normal	moins de 100 mg / dl
Pré diabète	100 mg / dl à 125 mg / dl
Diabète	126 mg / dl ou plus

### 4.2. Test de tolérance au glucose par voie orale (OGTT) :

L'OGTT est un test de deux heures qui vérifie la glycémie avant et 2 heures après avoir bu une boisson sucrée spéciale. Il indique au médecin comment le corps traite le sucre.

Le diabète est diagnostiqué à une glycémie de 2 heures supérieure ou égale à 200 mg /dl (Tableau 2).

**Tableau 02** : les valeurs du test de tolérance au glucose par voie orale (OGTT)

Résultat	Test de tolérance au glucose par voie orale (OGTT)
Normal	moins de 140 mg / dl
Pré diabète	140 mg / dl à 199 mg / dl
Diabète	200 mg / dl ou plus

#### 4.3. Test de glycémie aléatoire (également appelé occasionnel) :

Ce test est un test sanguin à tout moment de la journée lorsqu'on remarque de graves symptômes du diabète.

Le diabète est diagnostiqué à une glycémie supérieure ou égale à 200 mg / dl.

#### 4.4. Hémoglobine glyquée (HbA1c) :

Le dosage de l'hémoglobine glyquée permet d'obtenir une estimation de la glycémie moyenne au cours des deux à trois derniers mois de suivi d'un patient. Sa valeur est généralement exprimée en pourcentage et permet la surveillance de l'équilibre glycémique des patients diabétiques (**Procopiu, 2006**). Il s'agit principalement d'un élément de suivi de l'équilibre glycémique, à un niveau supérieur ou égal à 6,5% d'HbA1c (Tableau 3) (**ADA., 2008**).

**Tableau 3** : Valeurs de l'hémoglobine glyquée (**HbA1c**)

Résultat	HbA1C
Normal	moins de 5,7%
Pré diabète	5,7% à 6,4%
Diabète	6,5% ou plus

## 5. Complications du diabète sucré

### 5.1. Complications aiguës métaboliques :

Les complications aiguës du diabète ou à court terme se déclenche généralement en cas du diabète de type 1 ou à cause de certains médicaments, en cas de diabète de type 2 ou d'autres formes de la maladie. Elles peuvent entraîner une maladie chronique ou le décès (**FID 2019**).

Ces complications sont présentées par :

- ✓ Accidents hypoglycémiques.
- ✓ Trois complications hyperglycémiques du diabète : acidocétose diabétique, syndrome d'hyperglycémie hyperosmolaire et acidose lactique (**Orban et Ichai, 2008**).

## 5.2. Complications chroniques :

Les complications chroniques du diabète ou à long terme se présentent généralement chez les personnes atteintes de diabète de type 2. Elles peuvent également survenir peu de temps après l'apparition du diabète de type 1. Un dépistage précoce et un traitement approprié sont essentiels si l'on veut éviter toute invalidité et le décès **(FID 2019)**. Ces complications comprennent deux composantes :

- ✓ La microangiopathie : trois tissus sont particulièrement le siège de cette complication : la rétine, le glomérule rénal et le nerf périphérique.
- ✓ La macroangiopathie : artères du cœur et artères du cerveau **(Belhadj et al., 2016)**.

## 6. Traitements du diabète sucré

### 6.1. Mesures hygiéno-diététiques

Les mesures hygiéno-diététiques permettent à la fois :

- d'améliorer les perturbations de l'équilibre glycémique.
- prévenir l'apparition des complications micro et macrovasculaire.

Elles doivent être simples, réalistes, adaptées à chaque patient en fonction de son âge, son poids et son mode de vie. Elle nécessite :

- un régime alimentaire équilibré.
- une perte de poids.
- des exercices physiques régulières **(Blicklé, 2003 ; Bories, 2012)**.

### 6.2. Traitements médicamenteux

Ce traitement du diabète reste nécessaire en cas d'échec de mesures hygiéno-diététiques. Plusieurs médicaments administrés par voie orale sont disponibles pour normaliser le taux de la glycémie **(Graillet et al., 2012)**.

#### ❖ Les insulinosécréteurs

Ils sont présentés par les sulfamides et les glinides. Leurs rôles se résument dans l'augmentation et la stimulation de la sécrétion de l'insuline et possèdent un inconvénient de complication cardiovasculaire et un risque d'accident hypoglycémique **(Holman et al., 2008)**.

### ❖ Les insulinosensibilisateurs

Ils sont connus par les classes des glitazones et les inhibiteurs de l'alpha-glucosidase. Ils possèdent des effets secondaires sérieux tels que les troubles intestinaux et aussi un effet hépatotoxique.

Parmi ces agents on trouve l'acarbose et miglitol qui ont la capacité de ralentir l'absorption intestinale du glucose (**Halimi et al. 2000** **Godbout et Chiasson, 2007**) et les Rosiglitazone qui améliore d'action de l'insuline (**Elte et Bbickle, 2007**).

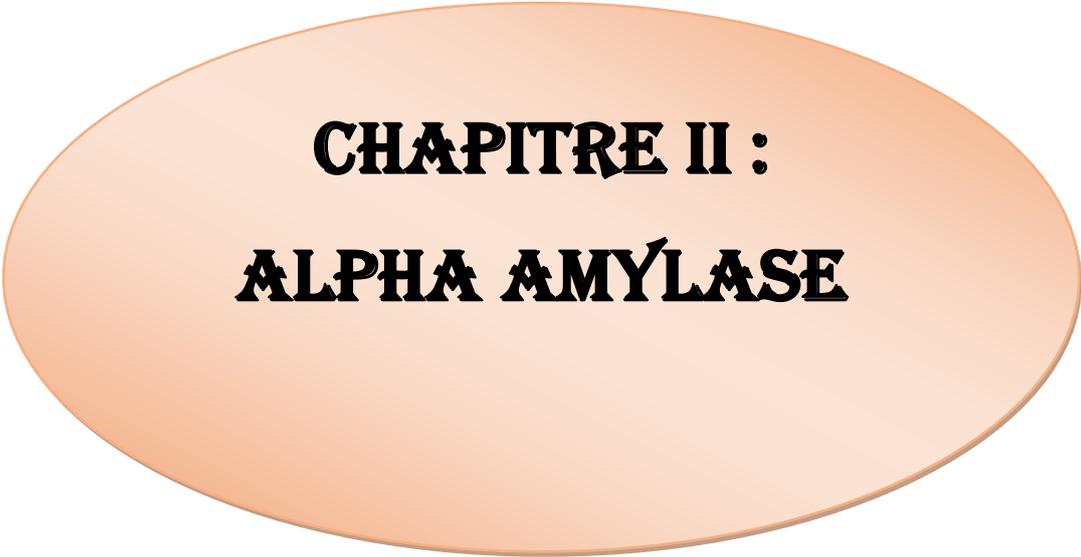
### ❖ L'incrétinomimétiques

Ils sont connus par les inhibiteurs de la DPP-4 (Dipeptidyl peptidase-4) et Analogues du GLP-1 (Glucagon-like peptide-1). Leurs rôles sont de réguler la sécrétion d'insuline et de glucagon et de stimuler la sécrétion d'insuline par le pancréas. Ils peuvent causer des pancréatites et des diarrhées (**Drucker, 2006 ; Fonseca et al., 2010 ; Deacon, 2011**).

## 7. Utilisation des plantes médicinales dans le traitement du diabète sucré

Dans le monde, beaucoup d'enquête ethnobotanique et ethnopharmacologique ont été menées, afin de détecter ou valoriser les plantes qui ont la capacité de soulager le diabète sucré. On trouve déjà que ces plantes ont été utilisées dans nombreuses pharmacopées traditionnelles comme antidiabétiques (**Bedekar et al. 2010**).

Une enquête ethnobotanique réalisée auprès de 470 sujets diabétiques dans quatre Wilayas de l'Ouest algérien, a permis de recenser 60 plantes médicinales utilisées pour le traitement de diabète sucré. Parmi ces plantes : *Trigonella foenum-graecum*, *Rosmarinus officinalis*, *Citrullus colocynthis*, *Tetraclinis articulata*, *Artemesia herba alba*, *Origanum compactum*, *Punica granatum*, *Zygophyllum album* et *Artemesia absinthium* (**Azzi et al., 2012**).



**CHAPITRE II :**  
**ALPHA AMYLASE**

## 1. Nomenclature

Nom codifié : E.C.3.2.1.1.

Nom commun :  $\alpha$ -amylase.

Nom systématique : 1,4- $\alpha$ -D-glucane, 4-gluconohydrolase.

Synonymes : glycogénase, endoamylase, takaamylase, maxilase (**Schamburg et Slzmann, 1991 ; Dauter et al., 1999**).

## 2. Caractéristiques de l' $\alpha$ -amylase

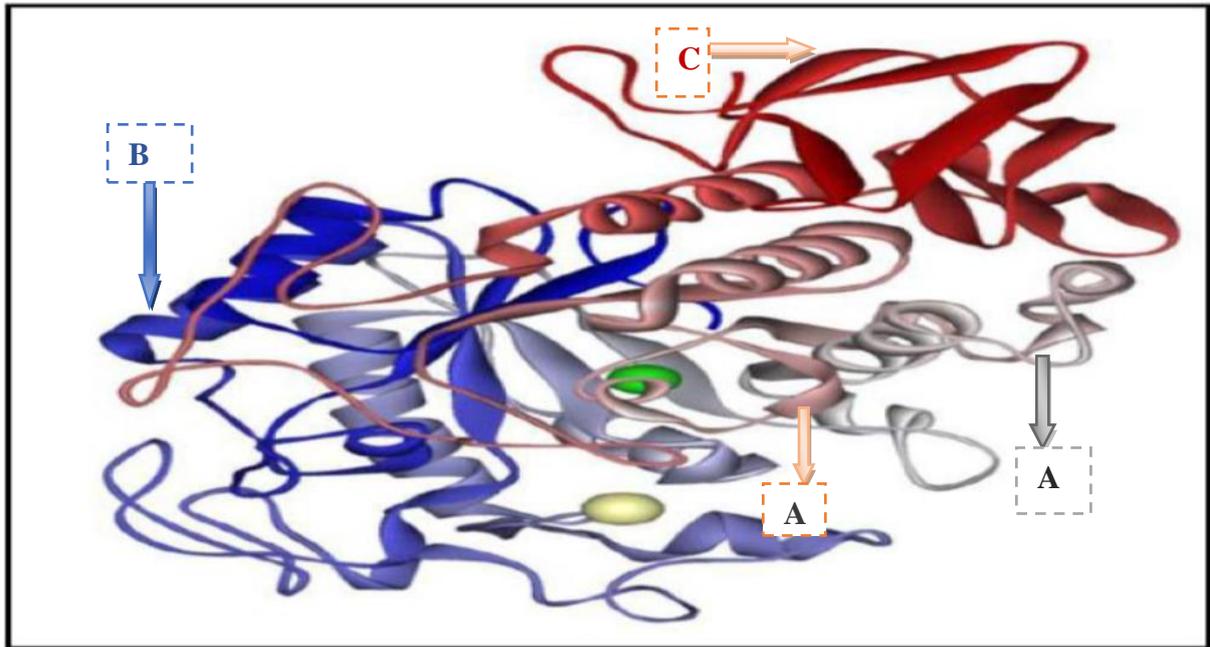
- ❖ Poids moléculaire : entre 40.000 et 90.000 daltons.
- ❖ pH optimum de : 5 à 8.
- ❖ Température optimum : 40°C et 70°C.
- ❖ Effecteur : les ions  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$  et  $\text{Fe}^{2+}$  sont également des activateurs de l' $\alpha$ -amylase.

## 3. Définition

L' $\alpha$ -amylase [ $\alpha$ -(1,4)-D-glucane gluconohydrolase] est une endoenzyme omniprésentes, et qui appartient à la famille des hydrolases (**Mercier, 1985 ; Keating et al., 1998**). Elle joue un rôle dans la dégradation en hydrolysant des liaisons osidiques de l'amylose, de l'amylopéctine, l'amidon, du glycogène et d'autres polysaccharides contenant des liaisons  $\alpha$  (1,4) D-Glucose (**Ait Kaki-El-Hadef et al., 2012**).

## 4. Structure

L'amylase est une protéine qui possède un poids moléculaire de 57,6 KDa. Elle est composée d'une seule chaîne polypeptidique de 512 acides aminés (**Whitcomb et Lowe, 2007**). Trois domaines structuraux ont été recensés chez l' $\alpha$ -amylase : A, B et C (**Figure 2**).



**Figure 2** : Diagramme en ruban de structure de l' $\alpha$ -amylase pancréatique humaine (rose et gris : domaine A, bleu le domaine B et rouge domaine C), l'ion chlorure (vert) et l'ion calcium (jaune) (PDB, 2006).

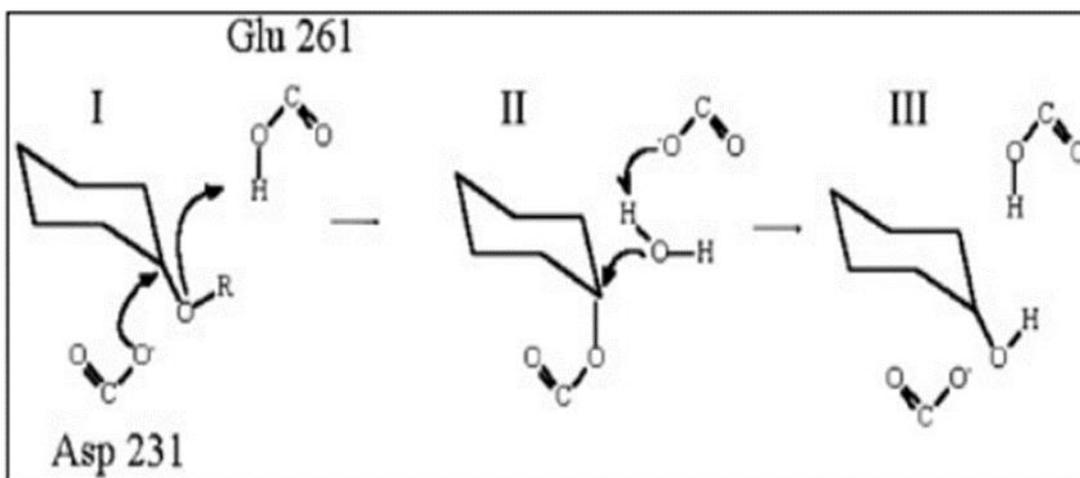
- ❖ Le domaine A, le plus grand, qui est formé d'un cylindre d'hélices alpha contenant 8 feuillets bêta où se retrouve le site actif ainsi que le site de liaison de l'ion chlorure (Whitcomb et Lowe, 2007).
- ❖ Le domaine B, le plus petit, qui est adjacent à la structure du domaine A, composé principalement de feuillets bêta sous forme d'une cavité où se trouve le site de liaison de l'ion calcium.
- ❖ Le domaine C à la région N-terminale de la molécule semble peu susceptible de jouer un rôle direct dans le mécanisme catalytique. Il est moins étroitement associé aux domaines A et B (Mac Gregor et al., 2001).

## 5. Origines :

L' $\alpha$ -amylase a des différentes origines (bactérienne, fongique, animale et végétale), et ça n'affecte pas l'activité amylolytiques. Elles sont obtenues à partir de l'extraction des tissus végétaux et animaux ou fermentation par des cellules microbiennes (Nouadri, 2011).

## 6. Mécanisme d'action

La dégradation d'amidon se fait en deux étapes : une dans la bouche et l'autre dans l'intestin grêle. L' $\alpha$ -amylase salivaire commence la digestion de l'amidon alimentaire hydraté par hydrolyse des liaisons  $\alpha$  (1 $\rightarrow$ 4). Ensuite, elle continue dans l'intestin par l' $\alpha$ -amylase pancréatique qui fait le clivage des liaisons  $\alpha$  (1 $\rightarrow$ 4) terminales et les  $\alpha$  (1 $\rightarrow$ 4) voisines des liaisons  $\alpha$  (1 $\rightarrow$ 6). Ces amylases synthétisent des polysaccharides et oligosaccharides (**Figure 3**). (**Quezada-Calvillo et al., 2008**).



**Figure 3** : Mécanisme catalytique d'enzyme  $\alpha$ -amylase (**Merabti, 2006**).

## 7. Les inhibiteurs de l'alpha amylase

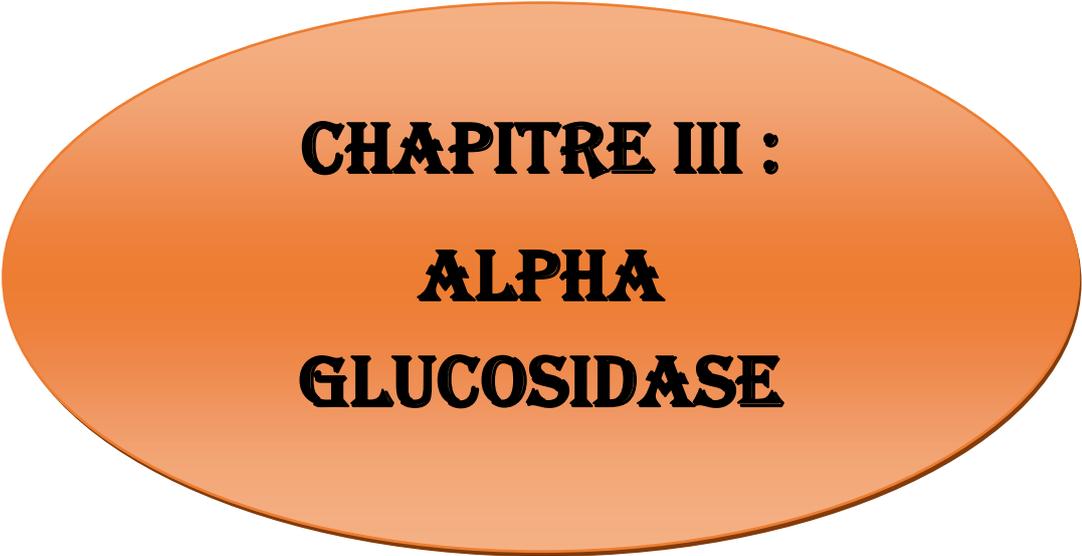
Au cours des dernières années, plusieurs enquêtes ont évalué l'efficacité des inhibiteurs d' $\alpha$ -amylase dans le traitement du diabète (**Buisson et al., 1987**).

L' $\alpha$ -amylase joue un rôle important dans le mécanisme digestif des hydrates de carbones complexes, alors l'inhibition de cette enzyme va retarder la digestion des oligosaccharides et des disaccharides, et elle va retarder l'absorption du glucose dans les intestins, ce qui va réduire le taux de glucose dans le sang, et la diminution de l'hyperglycémie postprandiale (**Lebovitz, 1997**).

L'Acarbose, le voglibose et le miglitol sont largement utilisés par les patients atteints du diabète sucré, mais ces inhibiteurs ont beaucoup d'effets indésirables comme les troubles de foie, des tumeurs rénales etc.... (**Shobana et al., 2009**). Les inhibiteurs d' $\alpha$  amylase d'origine végétale offrent une stratégie attirante pour le contrôle de diabète (**Tundis et al., 2010**).

**Tableau n° 04** : Exemples des plantes étudiées pour leurs effets inhibiteurs d'alpha amylase.

La plante	La partie utilisée	IC50	La référence
<i>Picalima nitida</i>	Feuilles	6,50mg/ml	<b>Mutiu et al., 2013</b>
<i>Andrographis paniculata</i>	Feuilles	50,9mg/ml	<b>Rammohan et al., 2008</b>
<i>Cichorium glandulosum</i>	racines	4,36mg/ml	<b>Xincheng et al., 2012</b>



**CHAPITRE III :**  
**ALPHA**  
**GLUCOSIDASE**

## 1. Nomenclature

Nom codifié : EC (3.2.1.20) (**Nimpiboon et al., 2011**)

Nom systématique : glucane 1-4  $\alpha$  glucosidase (**Nimpiboon et al., 2011**)

Nom recommandé : Maltase (**Zhang et al., 2015**)

Synonymes : Amyloglucosidase,  $\gamma$ - amylase,  $\alpha$  -glucosidase lysosomale, exo-1,4-  $\alpha$ -glucosidase, glucose amylase,  $\gamma$ -1,4-glycan glucohydrolase, maltase acide, 1,4-  $\alpha$  -D glucane glucohydrolase, glucoamylase,  $\alpha$ -glucoside hydrolase, 1,4-glucoside  $\alpha$ -D-glucosidase, maltase glucoamylase (**Jannavi, 2013 ; Ren et al., 2011 ; Sim et al., 2010 ; Sim et al., 2008**).

## 2. Caractéristiques de l' $\alpha$ -glucosidase :

- Température optimale : 45c°.
- pH optimum : 4,5- 9,0.
- Effecteurs :  $Mg^{2+}$  et  $Ca^{2+}$ .

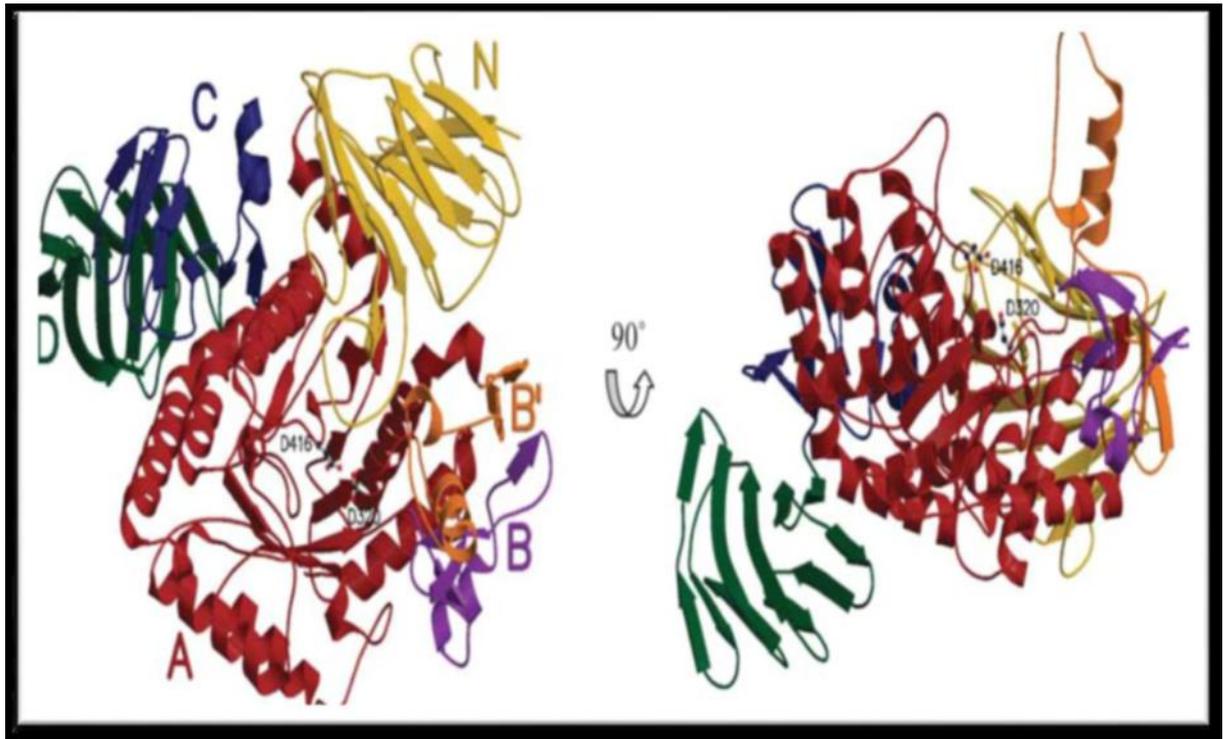
## 3. Définition

Les glucosidases catalysent la dégradation hydrolytique des polysaccharides en oligosaccharides et en hydrates de carbone monomères. Elles sont impliquées dans un grand nombre de processus biologiques fondamentaux du métabolisme des sucres : la digestion des polysaccharides alimentaires dans la bouche et l'intestin grêle, la dégradation des polysaccharides au niveau du lysosome, ou encore la glycosylation des protéines au niveau du réticulum endoplasmique et de l'appareil de Golgi.

De toutes les enzymes présentes dans la nature, ce sont les plus abondantes, les plus évoluées et comptent parmi les plus efficaces. Elles arrivent à augmenter jusqu'à 10 fois la vitesse de la réaction de coupure de la très stable liaison glucosidique C-O (347 kJ.mol<sup>-1</sup>) (**Saihi 2015**).

## 4. Structure

L' $\alpha$ - glucosidase est une glycoprotéine qui appartient à la famille des glycosides hydrolases (**Soro, 2007**). Elle peut être monomérique ou homodimérique (**Shirai et al., 2008**). Elle est constituée de 4 grands domaines et deux sous-domaines (figure 05).



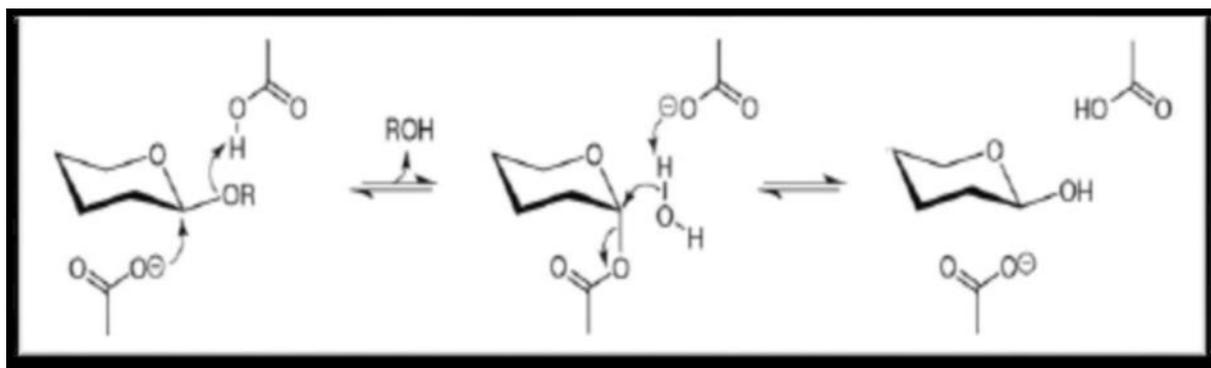
**Figure 4 :** Structure monomérique de l' $\alpha$ - glucosidase (Ernst et al., 2006).

- ✓ Domaine N (N-terminal) : jaune.
- ✓ Domaine A ( $\beta/\alpha$ ) (central catalytique) : rouge.
- ✓ Sous-domaine B (boucle A  $\beta$  3  $\rightarrow$  A  $\alpha$ 3) : violet.
- ✓ Sous-domaine B' (boucle A  $\beta$  4  $\rightarrow$  A  $\alpha$ 4) : orange.
- ✓ Domaine D (C-terminal) distale : vert.
- ✓ Domaine C (C- terminal) proximale : bleue.

## 5. Mécanisme d'action

Les  $\alpha$ - glucosidases catalysent l'hydrolyse de la liaison glucosidique alpha (1-4). Elles agissent sur de nombreux osides, dégradant les disaccharides, oligosaccharides et polysaccharides (glycogène, amidon...) soit à l'extrémité terminale, soit en position terminale non réductrice.

Il transfère ce résidu sur une molécule d'accepteur (transglucosylation). Ces réactions se font par le maintien de la configuration anomérique  $\alpha$  par un mécanisme à double déplacement constituant une rétention de la configuration du carbone anomère (**Figure5**) (Hancock, 2006 ; Soro, 2007).

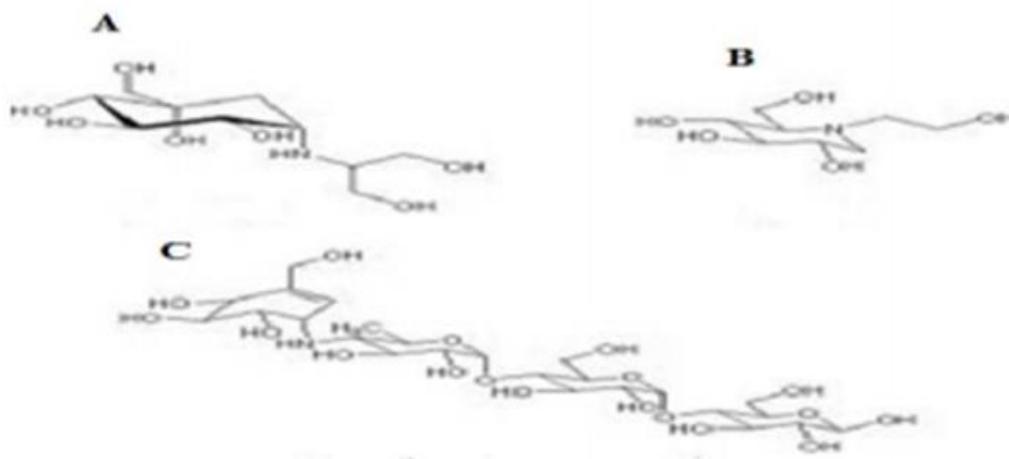


**Figure 5** : Mécanisme d'action des glucosidase à rétention de configuration (**Hancock et al., 2006**).

### 5. Les inhibiteurs d' $\alpha$ glucosidase

Les inhibiteurs de l' $\alpha$ -glucosidase agissent comme des inhibiteurs compétitif et réversible de l' $\alpha$  glucosidase nécessaire pour dégrader les glucides.

Les inhibiteurs, comme l'acarbose, miglitol et voglibose (Figure 7), sont cliniquement utilisés comme des antidiabétiques. Ils jouent un rôle important dans le traitement du diabète sucré, en retardant l'absorption des glucides importé, et en diminuant la glycémie postprandiale (**Nair et al., 2013 ; Salehi et al., 2013 ; Sulistiyani et al., 2016**). L'acarbose est un pseudotétracosarides qui est différent des oligosaccharides de notre alimentation par l'attachement d'un groupe aminoglycérique sur le groupe  $\alpha$ -glucopyranose. Cette molécule se lie sur la bordure en brosse de l'intestin grêle et ralentissent de l'absorption des sucres (**Shim et al., 2003**).



**Figure 6** : Les structures des inhibiteurs de l' $\alpha$ - glucosidase : (A) voglibose, (B) miglitol, (C) acarbose (**Lysek et al., 2006**).

Le tableau suivant représente quelques plantes médicinales ayant un effet inhibiteur vis-à-vis de l' $\alpha$ -glucosidase.

**Tableau 5** : Exemple de plante à activité inhibitrice de l' $\alpha$ -glucosidase.

<b>Plante</b>	<b>Partie utilisée</b>	<b>Taux d'inhibition Concentration</b>	<b>Références</b>
<i>Picralima nitida</i>	Feuilles	67,3% à 5mg/ml	<b>Mutiu et al., 2013</b>
<i>Andrographis paniculata</i>	Feuilles	89% à 6,5mg/ml	<b>Rammohan et al., 2008</b>
<i>Cichorium glandulosum</i>	Les racines	40% à 1,25 g/ml	<b>Xincheng et al., 2012</b>

**CHAPITRE IV :**  
**PLANTE ÉTUDIÉE**

*Morus alba*

## 1. Noms vernaculaires

*Morus alba* L. est une espèce appartenant à la famille Moracées. Elle est connue par plusieurs noms vernaculaires des différentes langues :

- En arabe : Ettoute El Abiad.
- En français : Le Murier blanc.
- En anglais mulberry ; white mulberry (Zafar, et al., 2013).

## 2. Classification taxonomique :

Selon (Zafar et al., 2013) le Murier peut être classée comme suit :

<b>Règne</b>	Plantae
<b>Sous-règne</b>	Tracheobionta
<b>Super division</b>	Spermatophyta
<b>Division</b>	Magnoliophyta
<b>Classe</b>	Magnoliopsida
<b>Sous classe</b>	Hamamelididae
<b>Ordre</b>	Urticales
<b>Famille</b>	Moraceae
<b>Genre</b>	<i>Morus</i>
<b>Espèce</b>	<i>alba</i>
<b>Nom binomial</b>	<i>Morus alba</i> L.

## 3. Description botanique

La plante *M. alba* est un arbre monoïque d'une hauteur allant de 8-15m, caducifolié, aune tige cylindrique et rugueuse :

- Feuilles : à limbe long (6-18 cm) plus ou moins lobé et denté, base tronquée ou faiblement cordée, sommet arrondi avec une courte dent terminale ou en pointe courte. face supérieure vert foncé, duveteuse et luisante et face inférieure bleu vert et glabres mais éventuellement pubescentes sur les nervures principales (Figure 7-A).

- Pétiole : 2-4 cm canalicules.
- Fruit : Glomérule charnu (groupe) de fruits blancs rosés ou noirs portés par un pédoncule presque aussi long qu'eux, de saveur sucrée (Figure 7-B) ; (Rameau *et al.*, 2008).
- Les racines ont un grand diamètre près de la couronne radriculaire, et se ramifie à quelque pieds de la couronne en nombreuses racines fibreuses. (Figure 7-C) ; (Bunger *et al.*, 1938)
- L'écorce est brun clair à gris, lisse, devenant divisé en crêtes écailleuses étroites (Taylor 1965) (Figure 7-D).



A : Feuilles



B : Fruits



C : Racines



D : Ecorces

**Figure 7** : photos des différentes parties de *Morus alba* (Devi *et al.*, 2013).

#### 4. Répartition géographique

*Morus alba* est omniprésent dans toute l'Asie, l'Afrique, l'Europe et l'Amérique du Sud et du Nord. Elle se trouve dans un large éventail de zones tropicales et dans les régions vallonnées de l'Himalaya à une hauteur de 3300 m. Il est originaire du Pakistan, de l'Inde et du Népal (Zafar *et al.*, 2013).

## 5. Composition chimique

Fruit du murier blanc est une très bonne source d'acide ascorbique, dont plus de 90% est présent sous une forme réduite. Il contient également du carotène, de la vitamine B1, acide folique, acide folinique, isoquercétine, quercétine, tanins, flavonoïdes et saponines.

La feuille de mûrier blanc contient des triterpènes (lupéol), des stérols ( $\beta$ -Sitostérol), des flavonoïdes (rutine, moracétine, quercétine-3-triglucoside et isoquercitrine), des coumarines, des huiles volatiles, des alcaloïdes, des acides aminés et des acides organiques. (Singh et al., 2013).

Les tableaux 6 et 7 présentent, respectivement, les teneurs en minéraux et en composés phénoliques dans les feuilles de *Morus alba*.

**Tableau 6** : Teneur en minéraux dans les feuilles de *Morus alba* (Srivastava et al., 2007)

Elément	Feuilles séchées	Feuilles fraîches
Fer. (mg/100)	19,00 - 35,72	4,70 - 10,36
Zinc (mg/100)	0,72 - 3,65	0,22 - 1,12
Calcium (mg/100)	786,66 - 2226,66	380 - 786

**Tableau 7** : Analyse quantitative des composés phénoliques présents dans les feuilles de *M. alba* (Thabti *et al.*, 2012)

	Composés	Teneurs (mg/100g)
1	1-Caffeoylquinnic acid	58,42 – 58,90
2	Caffeic acid	1579,77 – 1588,25
3	5-Caffeoylquinnic acid	1380,80 – 1382,28
4	4-Caffeoylquinnic acid	124,61 – 124,93
5	Quercetin-3-O-rhamnoside -7-O-glucoside	272,60 – 273,06
6	Quercetin-3,7-D-O- $\beta$ -D-glucopyranoside	137,949 – 137,991
7	Kaempferol-7-O-glucoside	211,432 – 211,488
8	Rutin	193,69 – 194,77
9	Quercetin-3-O-glucoside	972,466 – 972,494
10	Quercetin-3-O-(6-malonyl)- $\beta$ -D-glucopyranoside	1258,58 – 1258,84
11	Quercetin-3-O-glucoside-7-O-rhamnoside	849,06 – 849,30
12	Kaempferol-3-Oglucopyranosyl-(1,6)- $\beta$ -D-glucopyranoside	615,98 – 616,66
13	Kaempferol-3-O-(6-malonyl) glucoside	1332,91 – 1333,75
	Acide phénolique totaux	3148,966 – 3148,994
	Flavonoïde totaux	5846,30 – 584672
	Total	8995,426 – 8995,546

## 6. Utilisation thérapeutique et traditionnelle :

Les études expérimentales effectuées sur *Morus alba* ont mis en évidence différentes activités biologiques et pharmacologiques qui sont répertoriées dans le **tableau 8**

**Tableau 8** : Utilisation traditionnelle des différentes parties de *Morus alba*

<b>Activité biologiques</b>	<b>Parties et extraits utilisés</b>	<b>Références</b>
Antioxydante	Branches, feuilles et racines. Extrait méthanolique	<b>Shahid et al., 2012</b>
Antidiabétique	Les feuilles Extrait méthanolique	<b>Bahman et al., 2009</b>
Antimicrobienne	Les feuilles Chloroforme et methanol	<b>Manjula et al., 2009</b>
Anticancéreuse	Les feuilles Extrait méthanolique	<b>Chon Su et al., 2009</b>
Anxiolytique	Les feuilles Extrait méthanolique	<b>Yadav et al., 2008</b>
Néphroprotective	Les feuilles Extrait hydroalcoolique	<b>Nematbakhsn et al., 2013</b>
Hépatoprotective	Les feuilles Extrait hydroalcoolique	<b>Heiballah et al., 2009</b>
Hypocholestérimique	les racines extrait méthanolique	<b>Hesham et al., 2006</b>
Antiopaminergique		<b>Adhikro et al., 2008</b>
Antistress	Les racines Extrait méthanolique	<b>Vandana et al.2009</b>



**PARTIE II :**  
**PARTIE**  
**EXPÉRIMENTALE**



**MATÉRIEL ET  
MÉTHODES**

Notre travail est réalisé au sein du laboratoire de recherche « Antibiotiques, Antifongiques, Physico-chimie, Synthèse et activités biologiques (**LAPSAB**), Département de biologie, Faculté des sciences de la nature et de la vie, des sciences de la terre et l'univers, Université Abou Bekr Belkaïd (Tlemcen)

L'objectif de cette étude est de tester *in vitro* l'effet d'extrait brut hydrométhanolique, sa fraction acétate d'éthyle et la phase résiduelle préparés des feuilles de *Morus alba* sur l'activité de l' $\alpha$  amylase.

Deux parties sont réalisées :

- **Etude phytochimique** : Tests phytochimiques et le dosage des polyphénols totaux et flavonoïdes des extraits préparés.
- **Etude biologique** : Recherche de l'effet inhibiteur des extraits préparés des feuilles de *Morus alba* sur l'activité de l' $\alpha$  amylase.

## 1. Matériel végétal

### 1.1. Préparation du matériel végétal :

Le matériel végétal utilisé dans notre étude est les feuilles de *Morus alba*, récoltées au moins de décembre 2019, dans la région de Ghazaouat wilaya de Tlemcen (Algérie).

Les feuilles ont été séchées à l'abri de la lumière, de l'humidité et à une température ambiante pendant un mois afin de préserver au maximum d'intégrité des molécules.

Après séchage, les feuilles séchées ont été broyées à l'aide d'un mortier en petits morceaux (Figure 08).



**Figure 8 :** A : Les feuilles de *Morus alba* séchées et broyées (photo de laboratoire)

B : Les feuilles de *Morus alba* récoltées avant le séchage et broyage

## 1.2. Extraction du matériel végétal :

Les extraits utilisés au cours de notre étude sont préparés selon le mode d'extraction en infusion suivie par une macération et par fractionnement (liquide/liquide).

### 1.2.1. Préparation de l'extrait brut (hydrométhanoliques) par infusion suivi par une macération :

20g de feuilles de *Morus alba* séchées et broyées est mis en contact avec 400ml d'un mélange eau/méthanol bouillant (30:70 ; v/v). La préparation est laissée macérer sous agitation et à une température ambiante pendant 48 h à l'abri de la lumière. Après filtration, le méthanol du filtrat récupéré a été évaporé à l'aide d'un rotavapor.

L'extrait brut hydrométhanolique (**EB**) récupéré est séché dans l'étuve à 37°C.

### 1.2.2. Préparation des extraits acétate d'éthyle par fractionnement (liquide /liquide) :

L'extrait hydrométhanolique récupéré est soumis à des extractions liquide /liquide, à l'aide d'une ampoule à décanté, par des solvants à polarités déférentes :

- ❖ Le chloroforme, est utilisé en premier, pour éliminer les pigments et les graisses.
- ❖ La phase aqueuse récupérée est traitée par acétate d'éthyle (3 lavage).

- ❖ La phase organique acétate d'éthyle récupérée est évaporée à sec à l'aide d'un rotavapor à 60°C.
- ❖ Fraction acétate d'éthyle (**FAE**) est récupérée.
- ❖ La phase résiduelle aqueuse (**PR**) est récupérée après séchage dans l'étuve à 37°C.

L'extrait brut hydrométhanolique (**EB**), la fraction acétate d'éthyle (**FAE**) et la phase résiduelle aqueuse (**PR**) sont conservés à l'abri de la lumière, afin de réaliser des tests phytochimiques et biologiques.

### 1.2.3. Calcul de rendements :

Le pourcentage de rendement pour chaque extrait a été calculé par la formule suivante :

$$R(\%) = M / M_0 \times 100$$

(%) : Rendement exprimé en %.

**M** : Masse en gramme de l'extrait sec résultant

**M<sub>0</sub>** : Masse en gramme du matériel végétal.

## 2. Tests phytochimiques

Les extraits préparés ont fait l'objet des tests phytochimique, qualitatifs, à fin de détecter la présence ou l'absence de certaines familles chimiques. Ces tests sont réalisés par les méthodes décrites par **Bruneton (1993)** et **Harbone (1998)**.

### 2.1. Composés phénoliques :

#### ➤ **Tanins :**

A 1ml de chaque extrait, nous avons ajouté 200µl de FeCl<sub>3</sub> (1%). La présence des tanins est indiquée par une coloration verdâtre ou bleu noirâtre.

#### ➤ **Flavonoïdes :**

A 1ml d'extrait, nous avons ajouté 1ml de HCl concentré puis quelques copeaux de tournures de magnésiums. L'apparition d'une couleur rouge, rose ou orange confirme la présence des flavonoïdes.

#### ➤ **Quinones libres :**

A 1ml d'extrait, nous avons ajouté 100µl d'hydroxyde de sodium NaOH (1%). La présence des quinones libres est confirmée par l'apparition des couleurs vire au jaune, rouge ou violet.

➤ **Anthraquinones :**

A 1ml d'extrait, nous avons ajouté 1ml de NH<sub>4</sub>OH (10%). La présence des anthraquinones est indiquée par une coloration violette.

## 2.2. Composés azotés

➤ **Alcaloïdes**

Dans deux tubes contenant 500µl d'extrait ; nous avons ajouté quelques gouttes HCl (2%). Puis nous avons ajouté 500µl de réactif de Mayer dans le 1<sup>er</sup> tube et 500µl de réactif de Wagner dans le 2<sup>ème</sup> tube. La présence des alcaloïdes est indiquée par l'apparition d'un précipité blanc et marron, respectivement.

## 2.3. Composés terpéniques

➤ **Test de slakowski :**

A 1 ml d'extrait nous avons ajouté 400 µl de chloroforme et 600 µl d'acide sulfurique. La présence des terpénoïdes est confirmée par l'apparition de deux phases et une couleur marron à l'interphase.

➤ **Saponines :**

10ml de chaque extrait est agité pendant 15 secondes. Une mousse de 1cm persistante pendant 20 min confirme la présence des saponines.

## 3. Dosage des composés phénoliques

Les extraits brut eau-méthanol et la phase résiduelle aqueuse sont solubilisés dans l'eau distillée à une concentration de 1 mg/ml et extrait organique acétate d'éthyle est solubilisé dans le DMSO et l'eau distillée à une concentration de 1 mg/ml pour le dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes.

### 3.1. Dosage des polyphénols totaux :

- **Principe**

La teneur en polyphénols totaux a été évaluée selon la méthode décrite par **Vermerius et Nicholson en 2006**. Le réactif utilisé est le réactif de Folin-Ciocalteu de couleur jaune. Il est constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique (H<sub>3</sub>PW<sub>12</sub>O<sub>40</sub>) et l'acide

phosphomolybdique ( $H_3PMo_{12}O_4$ ) qui se réduit lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxyde bleu du tungstène ( $W_8O_{23}$ ) et de molybdènes ( $Mo_8O_{23}$ ). La coloration bleu présente un maximum d'absorption à 700 nm dont l'intensité est proportionnelle à la quantité de composés phénoliques présents dans l'échantillon (**Vermerius et Nicholson, 2006**).

- **Mode Opérateur :**

Les composés phénoliques totaux sont quantifiés de la manière suivante :

- ❖ Mélanger 100  $\mu$ l d'extrait avec 2 ml de la solution de carbonate de sodium ( $NaCO_3$ ) à (2%) ;
- ❖ Agiter et incuber pendant 5 min ;
- ❖ Ajouter 100  $\mu$ l du réactif Folin-Ciocalteu (1N) ;
- ❖ Incuber à une température ambiante et à l'abri de la lumière pendant 30 min ;
- ❖ Mesurer l'absorbance au spectrophotomètre à 700 nm contre un blanc ;

Dans les mêmes conditions opératoires, une courbe d'étalonnage a été réalisée en parallèle en utilisant l'acide gallique comme étalon à un intervalle de concentration de 50 à 400 $\mu$ g/ml.

Les résultats sont exprimés en microgramme Equivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait sec ( $\mu$ g Eq AG/mg ES).

Chaque essai a été répété 3 fois.

### 3.2. Dosages des flavonoïdes :

- **Principe**

Le taux des flavonoïdes est quantifié par la méthode spectrophotométrique au trichlorure d'aluminium ( $AlCl_3$ ) et la soude ( $NaOH$ ), selon la méthode décrite par **Ardestani et Yazdanparast en 2007**.

Le trichlorure d'aluminium, utilisé comme agent chromogène, forme un complexe jaune avec les flavonoïdes et après l'ajout de la soude, la couleur devient rose et absorbe dans le visible à 510 nm (**Ardestani et Yazdanparast, 2007**).

- **Mode opératoire :**

- ❖ Mélanger 250  $\mu$ l de l'extrait avec 1 ml d'eau distillée et 75  $\mu$ l d'une solution de nitrite de sodium  $NaNO_2$  (15%) ;
- ❖ Incuber pendant 6 min à température ambiante ;

- ❖ Ajouter 75 µl de trichlorure d'aluminium  $AlCl_3$  (10%) ;
- ❖ Après 6 min d'incubation, ajouter 1 ml d'hydroxyde de sodium (4%) ;
- ❖ Compléter le volume total à 2,5 ml avec l'eau distillée ;
- ❖ Agiter et incuber pendant 15 min ;
- ❖ Mesurer l'absorbance au spectrophotomètre à 510 nm contre un blanc.

En parallèle, une gamme d'étalonnage a été réalisée dans les mêmes conditions opératoires en utilisant la catéchine comme étalon à des concentrations de 50 à 400 µg/ml.

Les résultats sont exprimés en microgramme Equivalent Catéchine par milligramme d'extrait sec (µgEq C/mg ES).

Chaque essai est répété 3 fois.

Les teneurs en polyphénols totaux et flavonoïdes dans les extraits étudiés sont calculées à partir des courbes de régression linéaire.

## **4. Recherche de l'effet inhibiteur des extraits de *Morus alba* sur l' $\alpha$ amylase**

### **4.1. Réactifs utilisés**

#### **4.1.1. Solution de l' $\alpha$ amylase :**

L'origine de l' $\alpha$ -amylase utilisée dans notre étude est le pancréas de porc (E.C.3.2.1.1). Elle se présente sous forme lyophilisée, son poids moléculaire est de 13000 Da avec une activité spécifique de 13UI/ml. L'optimum de l'activité  $\alpha$ -amylase d'origine porcine est pH 6,9 pour une température de 37°C. Cette enzyme est conservée à +4°C.

#### **4.1.2. Solution de substrat :**

Nous avons utilisé l'amidon soluble de pomme de terre. 1g d'amidon dissous dans 100 ml de solution tampon phosphate (0,02 M, pH 6,9). Le mélange est chauffé à une température de 50-70°C, sous agitation.

#### **4.1.3. Solution d'extrait :**

Les extraits secs de la plante étudiée (EB, FAE et PR) sont dissous dans la solution tampon phosphate (0,02 M, pH 6,9). Une gamme de concentration croissante a été préparée variante de 1 à 4 mg/ml.

**A noter :** une quantité de DMSO est ajoutée à l'extrait organique afin de le solubiliser.

#### **4.1.4. Solution d'acarbose :**

Une solution d'acarbose commercialisé (**Glucobay 50 g**) à différentes concentrations variantes de 0,00125 à 1 mg / ml est préparée dans le tampon phosphate (0,02 M, pH 6,9) (**Kez 2018**).

#### **4.1.5. Réactif chromogène 3,5-dinitrosalicylique (DNSA) :**

Dans un erlenmeyer, 1 g de l'acide 3,5-dinitrosalicylique est dispersé dans 40 ml d'eau distillée. La solution obtenue est de couleur jaune opaque. En parallèle, nous avons préparé une solution de NaOH (2N) dans 20 ml d'eau distillée dans laquelle nous avons dissous 30 g de tartrate double de sodium de potassium sous agitation. Une fois les deux solutions sont mélangées, le réactif devient limpide avec une couleur orange. Le volume final est ajusté à 100 ml avec de l'eau distillée. Le réactif obtenu est conservé à l'abri de la lumière et à +4°C.

## **4.2. Evaluation de l'effet inhibiteur de l' $\alpha$ amylase**

- **Principe**

Cette méthode consiste à évaluer l'effet inhibiteur des extraits de la plante étudiée sur la l'activité de l' $\alpha$ -amylase d'origine porcine. Le substrat utilisé est l'amidon.

L'acarbose est une molécule de référence utilisé comme témoin positif dans l'inhibition de cette enzyme.

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

- **Mode opératoire :**

Pour chaque concentration obtenue à partir des extraits, nous avons testé l'effet sur l'activité de l' $\alpha$ -amylase. Nous avons préparé :

Tube d'essai :

- ❖ 200  $\mu$ l de solution enzymatique sont ajoutés à 200  $\mu$ l de solution d'extrait ;
- ❖ Le tout est agité et incubé pendant 10 min à 37°C ;
- ❖ 200  $\mu$ l de la solution d'amidon sont, ensuite, ajoutés ;
- ❖ les tubes sont incubés pendant 15 min à 37°C.
- ❖ 400  $\mu$ l de DNSA sont ajoutés.
- ❖ Les tubes sont introduits dans un bain marie bouillant pendant 5 min et déposés, après, dans un bain glaçant ce qui provoque un choc thermique conduisant à l'arrêt de la réaction entre le maltose et le DNSA.
- ❖ L'absorbance est mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre à 540 nm.

La réaction d'inhibition a été répétée 3 fois pour chaque extrait.

Dans les mêmes conditions nous avons préparés :

- ❖ Un tube blanc (pour le control négatif) : 400  $\mu$ l de solution tampon + 200  $\mu$ l d'amidon ;
- ❖ Un tube control négatif : 200  $\mu$ l de solution tampon + 200  $\mu$ l d'amidon + 200  $\mu$ l de solution enzymatique ;
- ❖ Un tube blanc (pour l'extrait) : 200  $\mu$ l de solution tampon + 200  $\mu$ l de solution d'extrait + 200  $\mu$ l d'amidon.

### **Expression des résultats :**

Le pourcentage d'inhibition (I%) est calculé par l'équation suivante :

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

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

**AB** : l'absorbance d'échantillon.

Les CI50 (concentration inhibitrice de 50%) pour chaque extrait sont calculées à partir des courbes de régressions logarithmiques d'inhibition.

### **5. Analyses statistiques :**

Les analyses quantitatives (dosage des polyphénols et flavonoïdes) ont été réalisées par 3 répétitions. Nous avons calculé les moyennes et les écartypes à partir des formules suivantes :

**Moyenne**  $\text{moy} = \sum x_i / n$

**Ecart-type**  $\sigma = \sqrt{\text{var}}$



**RÉSULTATS ET  
INTERPRÉTATIONS**

## 1. Caractéristiques des différents extraits

L'extrait brut eau méthanol (30/70 v/v), sa fraction organique acétate d'éthyle et la phase résiduelle aqueuse préparé par une infusion suivie d'une macération, à partir des feuilles de *Morus alba*, ont présenté des aspects, des couleurs et des rendements variables.

Le rendement a été calculé par rapport à 20 g du matériel végétal sec et les résultats ont été exprimés en pourcentage massique (p/p) (Tableau 10)

**Tableau 9** : Caractéristiques des différents extraits préparés des feuilles de *Morus alba*

Extrait	Rendement %	Aspect	Couleur	Solubilité
<b>Extrait brut Eau-méthanol (EB)</b>	10,25%	Cristaux	Marron foncé	Eau distillée
<b>Fraction organique acétate d'éthyle (FAE)</b>	1,02%	Poudre	Marron claire	Eau distillée-DMSO
<b>Phase aqueuse résiduelle (FR)</b>	9,40%	Poudre	Marron foncé	Eau distillée

Selon les résultats regroupés dans **tableau 9**, nous avons remarqué que les trois extraits sont de couleur marron.

La fraction organique acétate d'éthyle et la phase résiduelle aqueuse sont récupérés sous forme poudre. Contrairement à l'extrait brut eau-méthanol qui est récupéré sous forme cristallisé.

L'extrait brut eau-méthanol et la phase résiduelle aqueuse sont solubles dans l'eau distillée ; alors que l'extrait organique acétate d'éthyle est solubilisé dans l'eau distillée et le DMSO.

Par ailleurs, nous avons enregistré que le rendement le plus élevé est celui de l'extrait brut eau- méthanol avec un pourcentage massique d'ordre de 10,25%, suivi par la phase résiduelle aqueuse avec un rendement d'ordre de 9,40%. Par contre, l'extrait organique acétate d'éthyle a présenté le rendement le plus faible avec un pourcentage de 1,02% (**Tableau 9**).

## 2. Tests phytochimiques

Les résultats qualitatifs des tests phytochimiques réalisés sur les extraits préparés des feuilles de *Morus alba* ont montré la présence ou l'absence de certains groupes chimiques. Ces tests sont en relation avec des réactions spécifiques de coloration et de précipité.

Ces résultats sont regroupés dans le tableau 10.

**Tableau 10** : Résultats des tests phytochimiques réalisés sur les trois extraits préparés des feuilles de *Morus alba*.

Métabolite secondaire		Extrait brut Eau-méthanol (EB)	Fraction organique acétate d'éthyle (FAE)	Phase aqueuse résiduelle (FR)
<b>Tanins</b>		+++	++	+
<b>Flavonoïdes</b>		-	+	-
<b>Quinones libres</b>		-	+	+++
<b>Saponines</b>		-	++	-
<b>Anthraquinones</b>		-	-	-
<b>Alcaloïdes</b>	Mayer	-	-	-
	Wagner	-	-	-
<b>Terpénoïdes</b>	<b>Slakowski</b>	+++	+++	+++

+ : Présence ; - : Absence

Selon les résultats obtenus dans tableau ci-dessus, nous avons remarqué que les trois extraits préparés des feuilles de *Morus alba* sont riches en tanins et terpénoïdes.

En plus, nous avons révélé la présence des flavonoïdes, des quinones et des saponines dans l'extrait organique acétate d'éthyle et les quinones dans la phase résiduelle aqueuse.

Par contre, nous avons noté l'absence d'anthraquinones et d'alcaloïdes dans les trois extraits préparés.

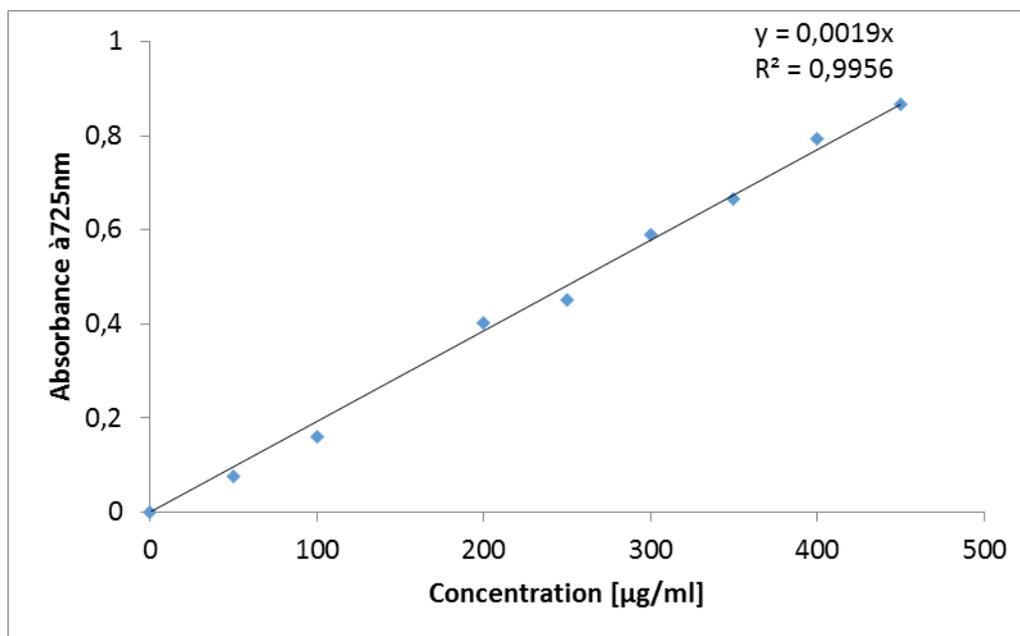
### 3. Teneur en polyphénols totaux et en flavonoïdes :

Les analyses quantitatives des polyphénols totaux et des flavonoïdes ont été réalisées par méthode spectrophotométrique à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visibles.

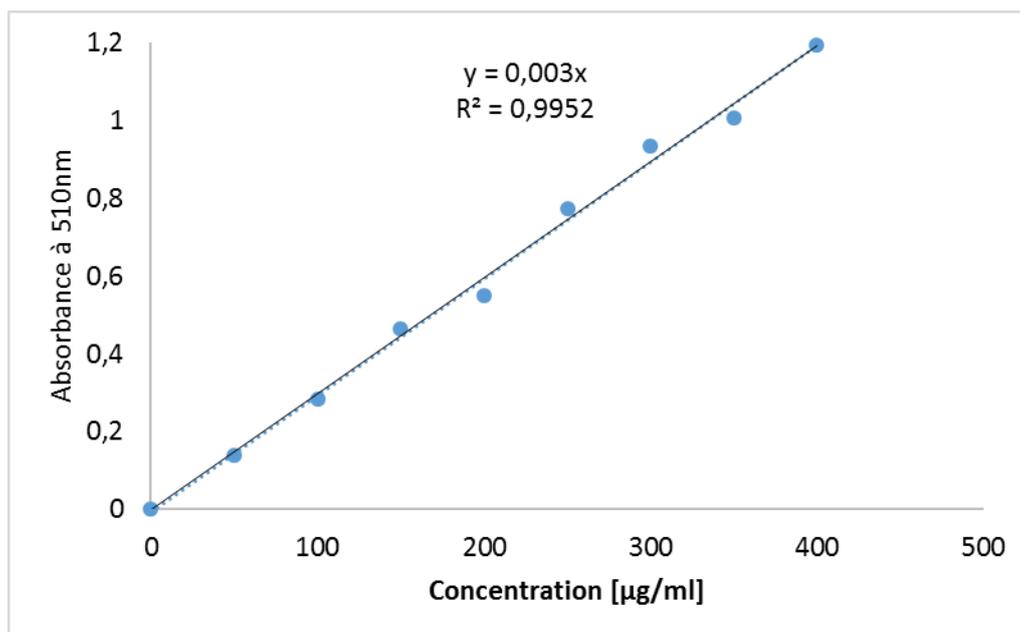
Les polyphénols totaux ont été quantifiés suivant la méthode du Folin-Ciocalteu ; alors que la quantité des flavonoïdes a été estimée en milieu alcalin par méthode de trichlorure d'aluminium.

Les teneurs en polyphénols totaux sont déterminées à partir de l'équation de régression linéaire de la courbe d'étalonnage d'acide gallique ( $y = 0,0019x$ ,  $R^2 = 0,9956$ ) (figure 9). Les résultats sont exprimés en microgramme Equivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait ( $\mu\text{g Eq AG/ mg ES}$ ).

Les teneurs en flavonoïdes sont déterminées à partir de l'équation de régression linéaire de la courbe d'étalonnage de la catéchine ( $y = 0,003x$ ,  $R^2 = 0,9952$ ) (figure 10). Les résultats sont exprimés en microgramme Equivalent de la catéchine par milligramme d'extrait ( $\mu\text{g Eq C/ mg ES}$ ).



**Figure 9:** Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux.



**Figure 10** : Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des flavonoïdes.

Le tableau 11 présente les teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes dans l'extrait brut eau méthanol, sa fraction organique et la phase résiduelle préparés des feuilles de *Morus alba*.

**Tableau 11** : Teneur en polyphenols totaux et en flavonoïdes des trois extraits préparés des feuilles de *Morus alba*.

	Extrait brut Eau-méthanol (EB)	Fraction organique acétate d'éthyle (FAE)	Phase aqueuse résiduelle (FR)
<b>Polyphénols totaux (µg Eq AG/mg ES)</b>	<b>171,69 ± 8,91</b>	<b>592,34 ± 19,80</b>	<b>204,38 ± 83,36</b>
<b>Flavonoïdes (µg Eq C/mg ES)</b>	<b>52,85 ± 16,83</b>	<b>301,10 ± 55,00</b>	<b>56,66 ± 3,33</b>

Le dosage est répété 3 fois et les résultats sont exprimés en moyenne ± écartype.

D'après les résultats obtenus, nous avons enregistré que la fraction organique acétate d'éthyle a présenté les teneurs les plus élevées en polyphénols totaux et en flavonoïdes d'ordre de  $592,34 \pm 19,80 \mu\text{g Eq AG/mg ES}$  et  $301,10 \pm 55,00 \mu\text{g Eq C/mg ES}$ , respectivement. Suivi de la phase résiduelle aqueuse et l'extrait brut eau-méthanol qui ont marqué des teneurs en polyphénols totaux entre  $204,33 \pm 83,36$  et  $171,69 \pm 8,91 \mu\text{g Eq AG/mg ES}$ , et en flavonoïdes entre  $56,66 \pm 3,33$  et  $52,85 \pm 16,83 \mu\text{g Eq C/mg ES}$ .

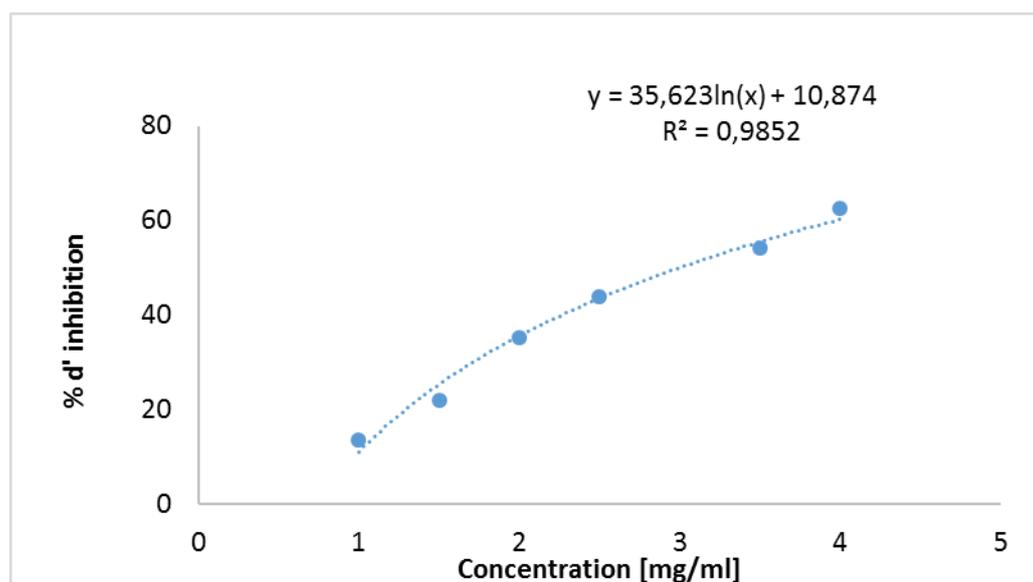
#### 4. Effet des extraits de *Morus alba* sur l'activité de l' $\alpha$ -amylase (*in vitro*)

Afin de déterminer l'effet de l'extrait brut eau-méthanol et ses fractions des feuilles de *Morus alba* sur l'activité de l' $\alpha$ -amylase *in vitro*, nous avons testé l'effet de différentes concentrations de chaque extrait sur l'activité de l'enzyme  $\alpha$ -amylase dans les conditions optimales (pH 6,9 et une température de 37°C) avec une concentration finale de substrat (amidon) à 1%.

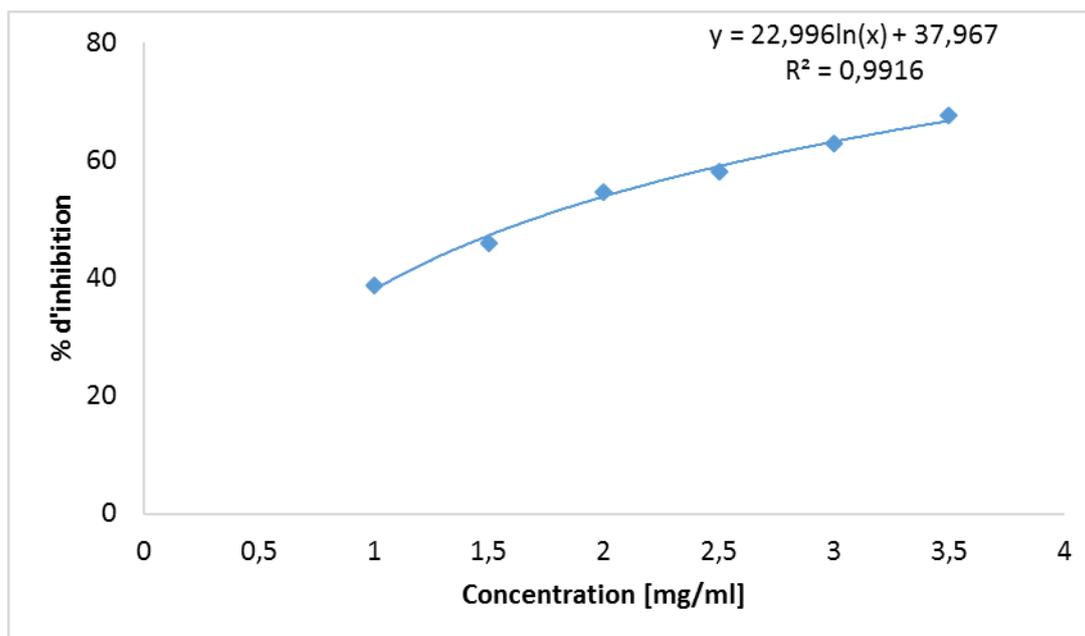
L'effet inhibiteur de l'Acarbose (témoin positif) sur l'activité de l'enzyme a été testé dans les mêmes conditions (Kez, 2018)

Les résultats sont exprimés dans un premier temps en pourcentage d'inhibition et ensuite par les  $CI_{50}$ .

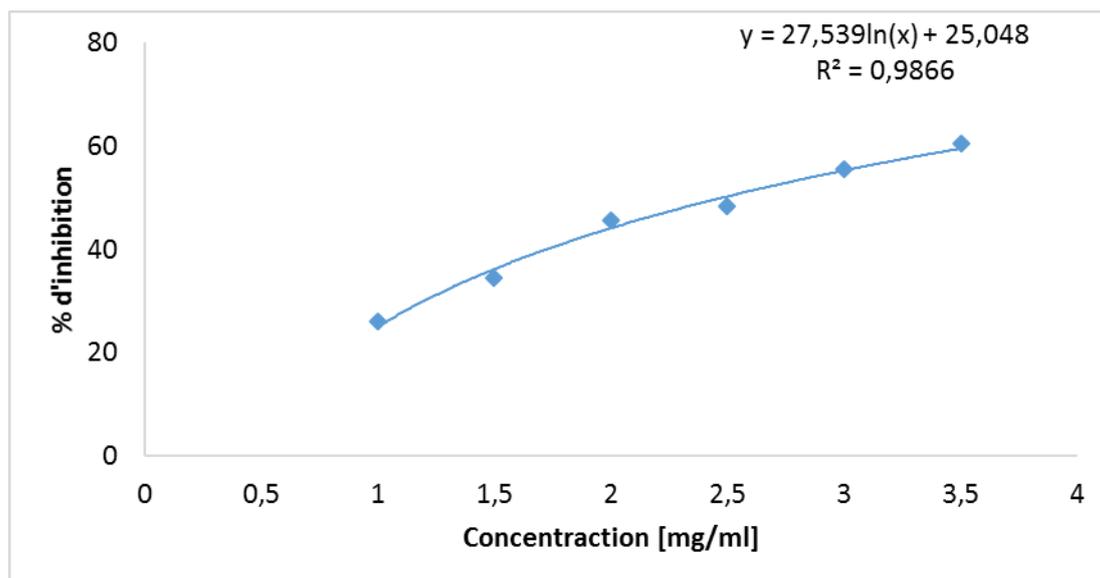
Les courbes logarithmiques des pourcentages d'inhibition en fonction des différentes concentrations d'extraits préparés de *Morus alba* sont représentées dans les **figures 11, 12, 13 et 14**.



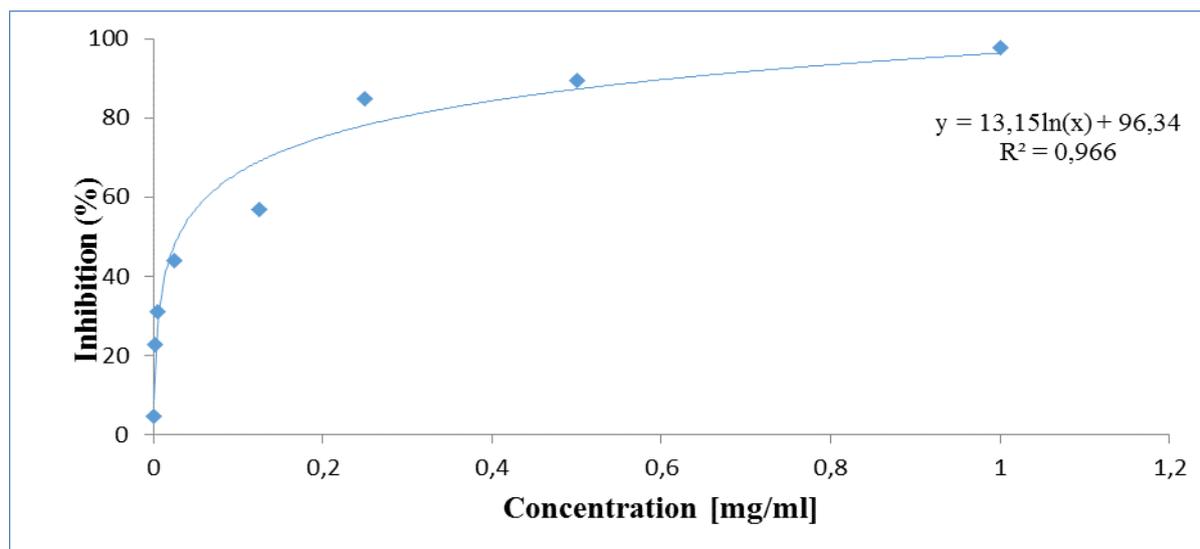
**Figure n°11** : Courbe logarithmique des pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations de la fraction organique acétate d'éthyle des feuilles de *M. alba*



**Figure 12 :** Courbe logarithmique des pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations de l'extrait brut eau- méthanol des feuilles de *M. alba*.



**Figure 13:** Courbe logarithmique des pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations de phase aqueuse résiduelle des feuilles de *M. alba*.



**Figure 14** : Courbe logarithmique des pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations de l'acarbose (Kez, 2018).

Le  $CI_{50}$  de chaque extrait est calculée à partir de sa courbe de régression logarithmique des pourcentages d'inhibitions en fonction des concentrations d'extraits ou d'Acarbose. Les résultats sont résumés dans le tableau 12.

**Tableau 12** : Valeurs de la  $CI_{50}$  des extraits préparés des feuilles de *Morus alba*

Extraits préparés des feuilles de <i>Morus alba</i>	$CI_{50}$ (mg/ml)
<b>Extrait brut Eau-méthanol (EB)</b>	<b>1,68</b>
<b>Fraction organique acétate d'éthyle (FAE)</b>	<b>2,97</b>
<b>Phase aqueuse résiduelle (FR)</b>	<b>2,46</b>
<b>Acarbose</b>	<b>0,03</b>

D'après les résultats obtenus, nous avons constaté que les trois extraits ont un effet inhibiteur vis-à-vis l' $\alpha$ -amylase. Cette activité augmente proportionnellement avec l'augmentation des concentrations des extraits.

La meilleure activité inhibitrice a été enregistrée en présence de l'extrait brut eau-méthanol avec une  $CI_{50}$  d'ordre de 1,68 mg/ml, suivie par l'extrait de la phase résiduelle et la fraction organique acétate d'éthyle avec des  $CI_{50}$  d'ordre de 2,46 mg/ml et 2,97mg/ml, respectivement. Mais cette activité reste faible par rapport au témoin (Acarbose) qui a noté une  $CI_{50}$  d'ordre de 0,03 mg/ml.



# **DISCUSSION**

Le diabète sucré est un groupe de troubles métaboliques avec un caractère principal commun de l'hyperglycémie. Il est associé à des complications micro et macro-vasculaires, qui sont les principales causes de morbidité et de décès (**Suleiman et al., 2019**).

Actuellement plusieurs plantes médicinales ont gagné une importance pour le traitement du diabète sucré en raison de ses composés bioactifs (**Punitha et al., 2006**).

*Morus alba* est une plante médicinale qui appartient à la famille des Moracée. Elle est cultivée dans le monde entier (**Devi, et al., 2013**).

Des recherches modernes et des essais cliniques ont confirmé plusieurs activités biologiques attribuées à cette plante. Elle a des propriétés antidiabétiques (**Brahman et al., 2009**), anti-stress (**Vandana et al., 2009**), anti helminthique (**Maheshwar et al., 2010**), antimicrobienne (**Sohn et al., 2004**), antimutagène (**Agabeyli et al., 2012**), antioxydante (**Chonsu et al., 2009**), anti cancéreuse (**Chansu, 2009**), anxiolytique (**Yadav et al., 2008**), anti dopaminergiques (**Adhikrao et al., 2008**), contre les troubles intestinaux et les maladies des voies respiratoires (**Munasib, 2012**) et comme immun modulatrice (**Shendige et al., 2010**).

Dans le présent travail, nous avons étudié l'action inhibitrice de l'enzyme l' $\alpha$ -amylase, en présence de l'extrait brut eau-méthanol, des feuilles de *Morus alba*, préparé par une infusion suivie par une macération et sa fraction organique acétate d'éthyle, obtenue par fractionnement liquide/liquide.

Les extraits préparés à partir de notre plante ont donné un rendement d'ordre 10,25% pour l'extrait brut, 1,02% pour l'extrait acétate d'éthyle et 9,40% pour la phase résiduelle

**Paola et al., (2009)** ont enregistré à partir de 2 régions différentes des rendements d'ordre de 20,4% et 18,7% pour l'extrait éthanolique des feuilles de *Morus alba*.

De même, **El Sayyad et al., (2011)** ont enregistré un rendement de 15% pour l'extrait brut aqueux des feuilles de *Morus alba* préparé par décoction.

Ces résultats sont supérieurs par rapport à ceux que nous avons trouvés. Cette différence peut être expliquée par la méthode d'extraction utilisée, l'origine de la plante, le solvant utilisé, et la période de récolte.

L'étude phytochimique qualitative qui a été réalisée sur les extraits préparés de notre plante a indiqué la présence des tanins, des flavonoïdes, des quinones libres et des terpénoïdes et l'absence des alcaloïdes et des anthraquinones.

Contrairement à ces résultats, **Singh et al, (2020)** ont montré la présence des alcaloïdes, des flavonoïdes, des coumarines et des tanins dans la majorité des extraits préparés des feuilles de *Morus alba*.

Le dosage quantitatif des composés phénoliques, effectué sur les mêmes extraits a permis d'enregistrer les taux les plus élevés en polyphénols totaux et flavonoïdes dans l'extrait acétate d'éthyle avec des teneurs d'ordre de  $592,34 \pm 19,80 \mu\text{g Eq AG/mg ES}$  et  $310,10 \pm 55 \mu\text{g Eq C/mg ES}$ , respectivement. Alors que, les teneurs les plus faibles sont notées dans l'extrait brut avec des taux d'ordre de  $171,69 \pm 8,91 \mu\text{g Eq AG/mg ES}$  et  $52,85 \pm 16,83 \mu\text{g Eq C/mg ES}$ , respectivement.

Les résultats réalisés par **Seon Kim et al., (2011)** ont noté des teneurs en polyphénols et en flavonoïdes d'ordre de  $32,6 \pm 1,3 \text{ Eq AG/mg ES}$  et  $1,03 \pm 0,06 \mu\text{g Eq C/mg ES}$ , respectivement des feuilles de *Morus alba* récoltées dans deux régions différentes

De même, l'étude de **Pereira et al. (2011)** a montré que l'extrait éthanolique des feuilles de *Morus alba* présente des teneurs en flavonoïdes d'ordre de  $4,34 \pm 0,008$ ;  $3,782 \pm 0,016$ ;  $4,362 \pm 0,005$ ;  $4,893 \pm 0,013 \text{ mg Eq C/g ES}$ , pour des échantillons récoltés en mois Mars, Juin, Septembre et Décembre, respectivement et une teneur en polyphénols d'ordre de  $6,467 \pm 0,012$ ;  $5,503 \pm 0,007$ ;  $6,016 \pm 0,020$  et  $6,943 \pm 0,046 \text{ mg Eq AG /mg}$  pour les mêmes échantillons, respectivement.

Nous pouvons constater que les variations observées dans la composition phytochimique et les teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes entre les différentes études citées peuvent être liées à l'origine géographique de la plante, la période de la récolte et le solvant utilisé.

Concernant l'activité inhibitrice des extraits étudiés des feuilles de *Morus alba* vis-à-vis l' $\alpha$ -amylase, l'extrait brut eau méthanol a montré une meilleure activité avec un  $\text{CI}_{50}$  d'ordre de  $1,68 \text{ mg/ml}$ , suivie par la phase résiduelle et la fraction organique acétate d'éthyle avec des  $\text{CI}_{50}$  d'ordre de  $2,46 \text{ mg/ml}$  et  $2,97 \text{ mg/ml}$ , respectivement. Ces résultats sont faible par rapport la molécule de référence l'acarbose qui a présenté une  $\text{CI}_{50}$  de  $0,03 \text{ mg /ml}$ .

**Bahman et al. (2009)** ont enregistré une activité faible des extraits des feuilles de *Morus alba* par rapport à nos résultats avec des  $\text{CI}_{50}$  entre  $17,39$  et  $17,80 \text{ mg/ml}$ .

En comparaison avec d'autres extraits de plante, cette activité obtenus est faible par rapport a ceux enregistré par **kez (2018)** et **Mehssem (2018)**, qui ont noté des  $\text{CI}_{50}$  d'ordre de  $0,15 \pm 0,01 \text{ mg/ml}$  et  $1,339 \pm 0,030 \text{ mg/ml}$  pour des extraits hydrométhanolique, préparés par

macération de la partie aérienne des *Pistacia lentiscus* et *Lavandula angustifolia*, respectivement.

L'étude de l'activité antidiabétique de *Morus alba* nous a permis de bien la considérer comme inhibiteur de l' $\alpha$ -amylase, en raison de leur capacité de modifier leur cinétique enzymatique en réduisant la dégradation de l'amidon dans le milieu réactionnel.



**CONCLUSION**

A l'issue de notre étude nous avons pu mettre en évidence la composition phytochimique des feuilles de *Morus alba*, séchées, et broyées, récoltées dans la région de Ghazaouat, wilaya de Tlemcen. Ainsi, nous avons consacré ce travail à l'évaluation de l'effet inhibiteur de l' $\alpha$ -amylase de l'extrait hydrométhanolique et sa fraction acétate d'éthyle des feuilles de cette plante.

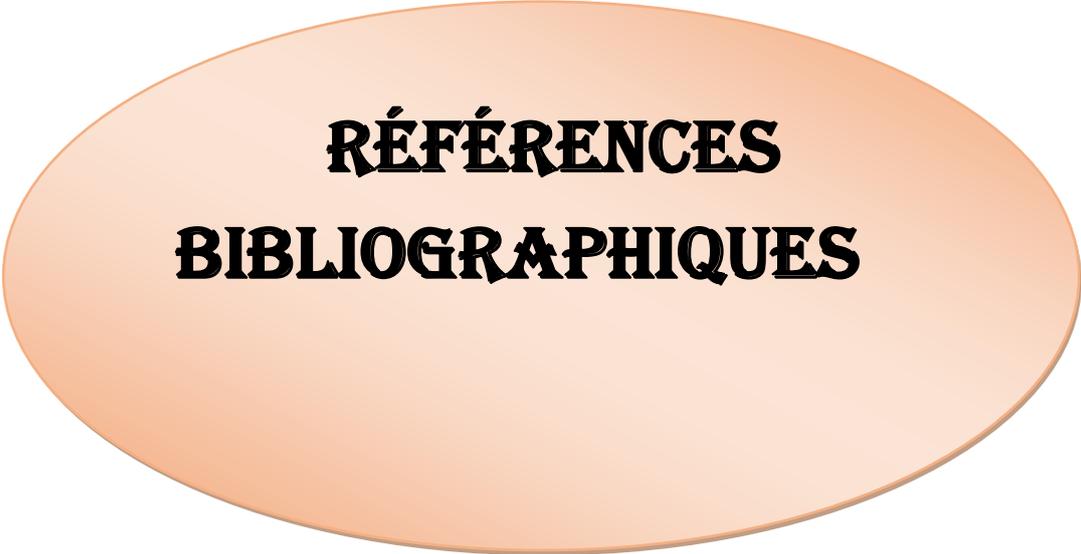
Les résultats obtenus au cours de cette étude ont montré que les feuilles de *Morus alba* contiennent des polyphénols (flavonoïdes, tanins et quinones libres) et des terpénoïdes

L'extrait d'acétate d'éthyle est le plus riche en polyphénols totaux. Mais cela ne nous a pas indiqué qu'il possède l'effet inhibiteur le plus puissant, car on a enregistré une  $CI_{50}$  de 1,68mg/ml pour l'extrait brut eau-méthanol.

Notre résultat final démontre que les feuilles de *Morus alba* peuvent être considérées comme agents antidiabétiques naturels riches en constituants bioactifs.

Bien que ces résultats soient encourageants, d'autres études sont encore nécessaires :

- Utiliser d'autres solvants organiques pour optimiser le rendement d'extraction, le fractionnement et la purification des composés phénoliques ;
- Identifier les composés phénoliques par des techniques spectrométriques et chromatographiques : RMN, Spectrométrie de masse, HPLC, ...
- Tester les extraits *in vivo* sur des modèles d'animaux,
- Rechercher d'autres mécanismes d'action antidiabétiques des extraits de cette plantes.



**RÉFÉRENCES  
BIBLIOGRAPHIQUES**

- **ADA (American association Diabets) (2018)** type1 diabetes self-care manual Jamie wood, MD, and Anne Peters, MD.
- **Adhikrao VY, Vandana SN. (2008)** Anti-dopaminergic effect of the methanolic extract of *Morus alba* L. Leaves. *Indian J Pharmacol*; 40 Supp 1 5:221-226
- **Aditya, R. S. J., Ramesh, C. K., Riaz, M., & Prabhakar, B. T. (2012).** Anthelmintic and antimicrobial activities in some species of mulberry. *Int J Pharm Pharm Sci*, 4(5): 335-338.
- **Agabeyli RA. (2012)** Antimutagenic Activities Extracts from Leaves of the *Morus alba*, *Morus nigra* and Their Mixtures. *International Journal of Biology*; 4 Suppl 2.
- **Ait Kaki- El-Hadef El-Okki H., Leghlimi S., Dakhmouche L., Bennamoun., Z Meraihi., (2012)-** utilisation de la planification expérimentale pour l'optimisation de la production de l'  $\alpha$  - amylase par rhizopusoryzae. *Rev. Microbiol. Ind. San et Environn.* ; 6 (1) : 1-17.
- **Alberti K.G., Zimmet P.J., (1998).** Definition and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus provisional report of a WHO Consultation. *Diabet. Med.*, 15 (7): 539-553.
- **Allali,H.,Benmehdi,H.,Dib,M.A.,Tabti,Ghalem,S.,Benabadji,N.(2008).**  
Phytotherapy of diabets in west Algeria. *Asian journal of chemistry*; 20(4):270.
- **Azzi, R., Djaziri, R., Lahfa, F., Sekkal, F.Z., Benmehdi, H., Belkacem, N. (2012).** Ethnopharmacological survey of medicinal plants used in the traditional treatment of diabetes mellitus in the North Western and South Western Algeria. *Journal of Medicinal Plants Research* ; 6(10) : 2041-2050
- **Bahman N, Golboo M. (2009)** Influence of Three *Morus* Species Extracts on  $\alpha$ -Amylase Activity. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*; 8 Suppl 2:115-119.
- **Bedekar, A., Shah, K., Koffas, M. (2010).** Natural products for type II diabetes treatment. *Advances in applied microbiology* ; 71: 21-73.
- **Belhadj, M., Abrouk, S., Nadir-Azirou, D., Gari, S., Nicolucci A. (2016).** Une Clinique mobile pour évaluer le risque cardio-métabolique et détecter les complications du diabète en Algérie. *Médecine des maladies métaboliques* ; 10(2) : 175-182.
- **Blicklé, J. (2003).** Les études de prévention médicamenteuse du diabète de type 2 doivent elles nous amener à changer nos prescriptions ? *Diabetes &Metabolism*, 29(5) : 547-553.
- **Bories, T. (2012).** Prise en charge thérapeutique des patients diabétiques de type 2 par les médecins généralistes de l'Europe : 115.
- **Buisson G., Duee E., Haser R and Payan F. (1987)** Three-dimensional structure of porcine pancreatic  $\alpha$ -amylase at 2.9 a resolution. Role of calcium in structure and activity. *The EMBO Journal*. 6(13): 3909-3916.

- **Bunger, Myron T.; Thomson, Hugh J. (1938).** Root development as a factor in the success or failure of windbreak trees in the southern high plains. *Journal of Forestry*. 36: 790-803.
- **Charbonnel B, Cariou B. (1997)** Diabète non insulino-dépendant : indications thérapeutiques. *Médecine thérapeutique*. ; 3 : 103-111.
- **Chon SU, Kim YM, Park YJ, Heo BG, Park YS, Gorinstein S.(2009)** Antioxydant and antiproliférative effects of methanol extracts from raw and fermented parts of mulberry plant (*Morus alba* L.). *Eur Food Res Technol*; 230: 231-237.
- **Dauter Z., (1999)** - X-ray structure of the maltogenic  $\alpha$ -amylase from *Bacillus stearothermophilus*, novamyl, maltose and acarbose complexe at 1,7 Å resolution. *Biochem.*; (38):8385-8392.
- **Davies G-J., Wilson K-S. Et Henrissat B., (1999)** - Nomenclature for sugar binding subsites in the glycosyl hydrolases. *Biochem. J.*, 321: 557-559.
- **Deacon, C. (2011).** Dipeptidyl peptidase-4 inhibitors in the treatment of type 2 diabetes: a comparative review. *Diabetes Obes Metab* ; 13: 7-18.
- **Devi B, Sharma N, Kumar D, Jeet K (2013)** *Morus alba* Linn: A Phytopharmacological. Sai Ram Education Trust's College of Pharmacy, Hamirpur (H.P), India ; Suppl 2: 0975-1491
- **Drucker, DJ. Nauck. (2006).** The incretin system: glucagon-like peptide-1 receptor agonists and dipeptidyl peptidase-4 inhibitors in type 2 diabetes. *Lancet* MA; 368: 1696-705.
- **Dugo, P., Donato, P., Cacciola, F., Paola Germanò, M., Rapisarda, A., & Mondello, L. (2009).** Characterization of the polyphenolic fraction of *Morus alba* leaves extracts by HPLC coupled to a hybrid IT-TOF MS system. *Journal of separation science*, 32(21) :3627-3634.
- **El-Sayyad HIH, MA El-Sherbiny, M.A. Sobh, A.M. Abou-El-Naga, M.AN Ibrahim, et SA Mousa (2011),** Effets protecteurs de l'extrait de feuilles de *Morus alba* sur les fonctions oculaires des chiots de rats mères diabétiques et hypercholestérolémies ; 7 (6) : 715-728.
- **Elte, J., Blicke, J. (2007).** Thiazolidinediones for the treatment of type 2 diabetes. *European Journal of Internal Medicine* ; 18(1) : 18-25.
- **Ernst Heidi A., Lo Leggio Leila., Willemoes Martin., Leonard Gordon**  
Executive Summary: Standards of Medical Care in Diabetes--2012. *Diabetes Care* 2011; 35: S4-10.
- **FAAD (Fédération Algérienne des Associations de Diabétiques). (2016).** Journée nationale des diabétiques. Relizene
- **Faure, S. (2011).** Biguanides. *Actualités Pharmaceutiques*, 50(506) : 51-54. Faure, S. (2011b). Sulfamides hypoglycémifiants. *Actualités Pharmaceutiques*, 50(508) :53-56. Faure,

S., Meliani-Pohu, M., Marzellier, A., Caillemet, H., & Lerivérend, H. (2013). L'Autosurveillance glycémique. *Actualités Pharmaceutiques*, 52(522) :20-26.

- **FID (Fédération Internationale Du Diabète) (2019) Atlas du diabète** 9eme Edition
- **Godbout, A., Chiasson, JL. (2007).** Who should benefit from the use of alphaglucoSIDase inhibitors? *Curr. Diab. Rep.*; 7: 333-9.
- **Goldenberg R., Punthakee Z et Canadian Diabetes Association. (2013).** Clinical Practice Guidelines for the Prevention and Management of Diabetes in Canada: Definition, Classification and Diagnosis of Diabetes, Prediabetes and Metabolic Syndrome. *Can J Diabetes* ; 37 : S8-S11.
- **Graillet, D., Quipourt, V., Bouillet, B., Petit, J. M., & Manckoundia, P. (2012).** Diabète de type 2 chez le sujet âgé : quelles spécificités ? *La Revue de Médecine Interne*, 33(10).
- **Halimi, S., Wion-Barbot, N., Lambert, S., & Benhamou, P. Y. (2003).** Autosurveillance glycémique pour le patient diabétique de type 2 : qu'en attendre selon le schéma thérapeutique ? *Diabetes & Metabolism*, 29(2, Part 2) : 2S26-22S30.
- **Hancock M. S., Vaughan D. M., Withers G. S. (2006).** Engineering of glycosidases and glycosyltransferases. *Current Opinion in Chemical Biology*.10: 509-519.
- **Heibatollah K, Nasrin A, Maryam B. (2009)** Hepatoprotective effect of *Morus alba* L. In carbon tetrachloride- induced hepatotoxicity in mice. *Saudi Pharmaceutical Journal*; 17 Suppl 1.
- **Hesham AEB, Abdel NBS, Jari S, Kalevi P.** Oral supplementation of *Morus alba* L. (*Mulberry*) root bark fractions, can relieve the oxidative stress and hyperlipidemia induced in hypercholesterolemic rats.
- **Holman, RR., Paul, SJ., Bethel, MA., et al. (2008).** Ten-year follow-up of intensive glucose control in type 2 diabetes. *N Engl J Med*; 359: 1 577-1 589.
- **Jannavi R. Srinivasan, Ph.D., Ingemeyland, Msc. (2013).** Glucoamylase from *Trichoderma reesei* expressed in *Trichoderma reesei*. Chemical and Technical Assessment (CTA).
- **Kazeem, M. I., Ogunbiyi, J. V., & Ashafa, A. O. (2013).** In vitro studies on the inhibition of  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase by leaf extracts of *Picralima nitida* (Stapf). *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 12(5) :719-725.
- **Keating L., Kelly C., Forgartry W., (1998)** - Mechanism of action and the substrate dependant pH maximum shift of the- amylase of *Bacillus coagulans*. *Carbohydrate Research*. 311-318.
- **Kez. A (2018)** : Recherche de l'effet inhibiteur dès l'extrait brut et purifié de *Lavandula angustifolia* .vis à vis l' $\alpha$ -amylase in vitro. Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme en Biologie, option : Biochimie. Université de Tlemcen.

- **Kim, D. S., Kang, Y. M., Jin, W. Y., Sung, Y. Y., Choi, G., & Kim, H. K. (2014).** Antioxidant activities and polyphenol content of *Morus alba* leaf extracts collected from varying regions. *Biomedical reports*, 2(5) : 675-680.
- **Lebovitz H.E, (1997)** Alpha-glucosidase inhibitors. *Endocrinol Metabol Clin North Am.*; 26:539-551.
- **Lee SH, Choi SY, Kim H, Hwang JS, Lee BG, Gao JJ (2002).** Mulberroside F isolated from the leaves of *Morus alba* inhibits melanin biosynthesis. *Biol. Pharm. Bull.* 25:1045-1048.
- **Louiza, B. (2008).** Effets biologiques de la petite centauree *Erythraea centaurium* (L.)Pers., Mentouri de Constantine.
- **Lysek, R., Schutz, C., Favre, S., O'Sullivan, AC., Pillonel, C., Krulle, T., Jung, PM., Clotet-Codina, I., Este JA, Vogel P., (2006).** Search for alpha-glucosidase inhibitors: new N-substituted valienamine and conduramine F-1 derivatives. *Bioorg Med Chem.*14 : 6255–6282.
- **MacGregor, E.M., Janecek, S., et Svensson, B. (2001).** Relation de la séquence et de la structure à la spécificité dans la famille des enzymes alpha-amylases. *Biochimica et Biophysica Acta.* ; 1546 : 1-20.
- **Maheshwar GH, Halkai MA, Mallikarjun M (2010).** In Vitro Anthelmintic Activity Leaves of *Morus alba* Linn. Against *Pheretima posthuma*. *Deccan J Natural Products*; 1suppl 2.
- **Mbert G., (2008).** Vers une étude ethnoépidémiologique du diabète de type 2 et de ses complications. *Santé publique* 2/2008.20: 113-124.
- **Mehssem.A (2018) :** Recherche de l'effet inhibiteur dès l'extrait : brut et purifié de *Pistacia lentiscus* L.vis à vis l'  $\alpha$ -amylase in vitro. Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme en Biologie, option : Biochimie. Université de Tlemcen.
- **MERABTI R. (2006)-** Isolement et caractérisation de souches levuriennes amylolytiques à partir de sol saharien algérien. Diplôme de magistère. Université Mentouri, Constantine. 139
- **MERCIER C., (1985)-** Les enzymes amylolytiques. In Mauranch A & Costes C. (Ed) : *Hydrolase et polymerases*.Ed. Gauthier Villars.109-142p.
- **Mikailu, S., Okorafor, M. C., & Abo, K. A (.2019)** Alpha-Amylase Inhibition And Membrane Stabilizing Effect Of The Stem Bark Of *Maesobotrya Dusenii* Hutchinson.
- **Monnier L. (2010)** Diabétologie. Issy-les-Moulineaux : Elsevier Masson,  
Mulberroside F isolated from the leaves of *Morus alba* inhibits melanin biosynthesis. *Biol. Pharm. Bull.* 25:1045-1048.
- **Munasib K, Najeeb UR, Arif UK and Anwarul H G (2012).** Pharmacological basis for the medicinal use of *Morus alba* in gut and airways disorders. *Bangladesh J Pharmacol*; 7: 289-298. Necchi, Melânia Palermo Manfron, Physicochemical Quality control and dosage

of total polyphenols, Of *Morus alba* leaves extracts by HPLC of Pharmacy 1, Lucknow - 226020, Uttar Pradesh, India. Faculty of Pharmacy 2,

- **Nematbakhsh M, Hajhashemi V, Ghannadi A, Talebi A, Nikahd M. (2013)** Protective effects of the *Morus alba* L. leaf extracts on cisplatin-induced nephrotoxicity in rats. *Research in Pharmaceutical Sciences* 2013; 8 Suppl 2: 71-77.

- **Nimpiboon P., Nakapong S., Pichyangkura R., Ito K., Pong-Sawasdi P. (2011).**

Synthesis of a novel prebiotic trisaccharide by a type I alpha-glucosidase from *Bacillus licheniformis*, strain TH4-2. *Process Biochemistry*. 46: 448–457. *research in Pharmaceutical Sciences* 2013; 8 Suppl 2: 71-77.

- **Nouadri T. (2011)-** L'alpha-amylase de *Penicillium camemberti* PL21 : Production, Purification, Caractérisation et Immobilisation. Diplôme de Doctorat. Université Mentouri, Constantine. 143p.

- **OMS : (Organisation Mondiale de la Santé) (2016).** Rapport mondial sur le diabète. Genève. <https://www.who.int/diabetes/global-report/en>.

- **Orban, J.C, Ichai .C. (2008)** complications métabolique aigue de diabètes .*Réanimation* ; 17 :761- 767

- **Oroudji, M. B. (2005).** Corrélations entre les spécificités de mographiques de la Seine-Saint-Denis et les difficultés de la mise à l'insuline en ambulatoire des diabétiques de type 2 : enquête auprès des médecins généralistes de la Seine-Saint-Denis., Pierre et Marie Curie.

- **Pereira, C. B., Marin, A., Necchi, R. M. M., Maki, T. T., & Manfron, M. P. (2011).** Physico-chemical quality control and dosage of total polyphenols, flavonoids of *Morus alba* Leaves (Moraceae). *Saúde (Santa Maria)*, 37(2) : 57-68.

- **Perlemuter, L., de L'Hortet, G. C., & Sélam, J.-L. (2000).** Diabète et maladies métaboliques : Masson. polyglucosyl fructosides. L'institut National Des Sciences Appliquées de Toulouse. Thèse de Doctorat. N° d'ordre 890. 84.

- **Prasad, R. B., & Groop, L. (2015).** Genetics of type 2 diabetes—pitfalls and possibilities. *Genes*, 6(1) : 87-123.

- **Procopiou, M. (2006).** HbA1c: review and recent developments. *Revue medicale Suisse* ;(68) :1473-1474.

- **Punitha R, Vasudevan K et Manoharan S (2006) :** effet des fleurs de *Pongamia pinnata* sur la glycémie et le stress oxydatif chez les rats diabétiques induits par l'alloxan. *Indian Journal of Pharmacology*; 38: 62-63. Purification and characterization of an intracellular alpha-glucosidase with high.

- **Quezada-Calvillo, R., Sim, L., Ao, Z., Hamaker, B.R., Quaroni, A., Brayer, G.D., & Nichols, B. L. (2008).** Luminal starch substrate brakel on maltase-glucoamylase activity is located within the glucoamylase subunit. *The Journal of nutrition* ; 138(4) : 685-692

- **Rameau, J. C., Mansion, D., & Dumé, G. (2008).** *Flore forestière française : guide écologique illustré. Région méditerranéenne* (3). Forêt privée française.
- **Ren L., Qin X., Cao X., Wang L., Bai F., Bai G., Shen Y. (2011).** Structural insight into substrate specificity of human intestinal maltase-glucoamylase. *Protein Cell.* 2: 827-836.
- **Salehi P., Asghari B., Esmaeili MA., Dehghan H., Ghazi I., (2013)**  $\alpha$ -Glucosidase and  $\alpha$ -amylase inhibitory effect and antioxidant activity of ten plant extracts traditionally used in Iran for diabetes, *Journal of Medicinal Plants Research*; 7(6): 257-266
- **Schomburg D., Salzmann M., (1991)** - Enzyme Hand book 4. Classe 3: Hydrolases. Springer-Verlag (Ed). Berlin Heidelberg. Germany. p : 1-12.cité par BENAOUIDA K. (2008).
- **Shahid I, Umer Y, Sirajuddin, Kim WC, Raja AS, Kamal U (2012).** Proximate Composition and Antioxidant Potential of Leaves from Three Varieties of Mulberry (*Morus* sp.): A Comparative Study. *Int J Mol Sci* ; 13: 6651-6664.
- **Shendige ERB, Mohammed A, Sunil SD, Gowda KC, (2010)** Immunomodulatory activity of methanolic extract of *Morus alba* linn. (Mulberry) leaves. *Pak J Pharm Sci*; 23 Suppl 1:63-68.
- **Shim, J-Y., Doo, H-K., Ahn, S-Y., Kim, Y-S., Seong, J-K., Park, I-S., Min, B-H., (2003).** Communication Inhibitory effect of aqueous extract from the gall of *Rhus chinensis* on alpha-glucosidase activity and postprandial blood glucose. *Journal of Ethnopharmacology* 85: 283–287 Short.
- **Singh R., Bagachi A., Semwal A., Kaur S., bharadwaj A. (2013).** Traditional uses, phytochemistry and pharmacology of *Morus alba* Linn.: A review. *Journal of Medicinal Plants Research*; 7(9): 461-469.
- **Shiv Bhadra Singh, and Aaditya Singh (2020),** Identification, Quantitative Determination and Antidepressant Activity of Chlorogenic Acid and Gallic Acid from *Morus Alba* Leaves.; 11(4): 1683-1689.
- **Shobana S., Sreerama Y.N., Malleshi N.G.(2009)** Composition and enzyme inhibitory properties of finger millet (*Eleusine coracana* L.) seed coat phenolics: Mode of inhibition of  $\alpha$ - glucosidase and pancreatic amylase. *Food Chemistry.* ; 115: 1268-1273.
- **Sim L., Quezada-Calvillo R., Sterchi E. E., Nichols B. L., Rose D. R. (2008).** Human intestinal maltase-glucoamylase: crystal structure of the N-terminal catalytic subunit and basis of inhibition and substrate specificity. *Journal of Molecular Biology.* 375: 782–792.
- **Sim L., Willemsma C., Mohan S., Naim HY., Pinto BM., Rose DR. (2010).** Structural basis for substrate selectivity in human maltase-glucoamylase and Sucrase-isomaltase Nterminal domains. *The journal of Biological Chemistry.* 285: 17763–17770.
- **Sohn, H.Y., K.H. Son, C.S. Kwon, G.S. Kwon and S.S. Kang, (2004).** Antimicrobial and cytotoxic activity of 18 prenylated flavonoids isolated from medicinal

plants: *Morus alba* L., *Morus mongolica* Schneider, *Broussnetiapapyrifera* (L.)Vent, *Sophora flavescens*Ait and *Echinosophorakoreensis*Nakai. *Phytomedicine*, 11: 666–672

- **Soro Yade Rene (2007)**. Purification et caractérisation de l'alpha-glucosidase du Suc Digestif de *Archachatina ventricosa* (*Achatinidae*). Application à la synthèse de polyglucosyl fructosides. L'institut National Des Sciences Appliquées de Toulouse. Thèse de Doctorat. N° d'ordre 890. 84.

- **Srivastava, S., R. Kapoor, A. Thathola and R.P. Srivastava, (2006)**. Nutritional quality of leaves of some genotypes of mulberry (*Morus alba*). *Int. J. Food Sci. Nutr.*, 57: 305–313

- **Subramanian, R., Asmawi, M. Z., & Sadikun, A. (2008)**. In vitro alpha-glucosidase and alpha-amylase enzyme inhibitory effects of *Andrographis paniculata* extract and andrographolide. *Acta Biochim Pol*, 55(2), 391-398. Synthesis of a novel prebiotic trisaccharide by a type I alpha-glucosidase from *Bacillus licheniformis* strain TH4-2. *Process Biochemistry*. 46: 448–457.

- **Taylor, N. (1965)**. The guide to garden shrubs and trees. Houghton Mifflin Company, Boston, Massachusetts.

- **Thabti, I., W. Elfalleh, H. Hannachi, A. Ferchichi and M.D.G. Campos, (2012)**. Identification and quantification of phenolic acids and flavonol glycosides in Tunisian *Morus* species by HPLC-DAD and HPLC-MS. *J. Funct. Foods*, 4: 367–374  
transglycosylation activity from *A. niger* M-1. *Preparative Biochemistry and Biotechnology*. 41: 201–217.

- **Tundis R, Loizzo M.R, Menichini F. (2010)** Natural products as alpha-amylase and alpha glucosidase inhibitors and their hypoglycemic potential in the treatment of diabetes: an update. *Mini Rev Med Chem.*; 10(4): 315-31.

- **Vandana SN, Laxman AK, Rashmi AN, Adhikrao VY (2009)**. Adaptogenic effect of *Morus alba* on chronic footshock-induced stress in rats. *Indian J Pharmacol*; 41 Suppl 6: 246-251.

- **Vasisht, K., Kumar, V. (2004)**. Compendium of medicinal and aromatic plants. Africa : ICS-UNIDO, Trieste ; 1 : 23-56.

- **Whitcomb, D.C., Lowe, M.E. (2007)**. Human pancreatic digestive enzymes. *Dig. Dis. Sci.*; 52: 1-17.

- **Xincheng Yao, Ling Zhu , Yuxin Chen , Jun Tian, Youwei Wang,(2013)**.In vivo and in vitro antioxidant activity and  $\alpha$ -glucosidase, $\alpha$ -amylase inhibitory effects of flavonoids from *Cichorium glandulosum* seeds .*Food chemistry*;139(1-4):59-66.

- **Yadav AV, Kawale1 LA, Nade VS. (2008)** Effect of *Morus alba* L. (mulberry) leaves on anxiety in mice. *Indian J Pharmacol*; 40 Suppl 1: 32-36.

- **Zafar, M. S., Muhammad, F., Javed, I., Akhtar, M., Khaliq, T., Aslam, B., & Zafar, H. (2013).** White mulberry (*Morus alba*): A brief phytochemical and pharmacological evaluations account. *International journal of agriculture and biology*, 15(3).

- **Zhang Y., Li Wei., Wu Kong-yang., Chen Gui-guang., Liang Zhi-qun. (2011).**

Purification and characterization of an intracellular alpha-glucosidase with high

transglucosylation activity from *A. niger* M-1. *Preparative Biochemistry and Biotechnology*. 41: 201–217.

**Les sites web :**

- **<http://plants.usda.gov>**