

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Abou Bekr Belkaïd -Tlemcen-
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Sciences de la Terre et de l'Univers
Département de Biologie



Laboratoire de recherche



« Antibiotiques, Antifongiques : Physico-chimie, Synthèse et Activité Biologique »
Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention d'un diplôme de Master

Domaine : SNV

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie

Thème :

**Recherche de l'effet inhibiteur de quelques extraits de
Crataegus monogyna sur l'activité de l' α -amylase**

Présenté par : SEMMACHE IBRAHIM BENAMAR

Soutenu devant le jury :

Pr. Azzi R.	Professeur	Président	Université de Tlemcen
Dr. Mezouar D.	MCA	Examinatrice	Université de Tlemcen
Dr. Belkacem N.	MCA	Encadrant	Université de Tlemcen

Année universitaire 2022/2023

Remerciements

En premier lieu, je remercie **ALLAH** qui m'a donné la santé, la force, la volonté et le courage réaliser ce travail.

Je souhaite tout d'abord adresser mes remerciements les plus sincères à **Mme Belkacem N.**, Maître de conférences A au Département de Biologie, Faculté SNV-STU, Université de Tlemcen, pour m'avoir offert l'opportunité de travailler sous sa direction. Sa disponibilité constante et ses précieux conseils ont été inestimables.

Je tiens également à exprimer ma profonde gratitude envers **Pr. Azzi R.**, Professeur au Département de Biologie, Faculté SNV-STU, Université de Tlemcen, pour avoir accepté de présider le jury.

Mes remerciements vont également à **Mlle Mezouar D.**, Maître de conférences A au Département de Biologie, Faculté SNV-STU, Université de Tlemcen, pour avoir examiné attentivement mon travail.

Je tiens à exprimer ma reconnaissance envers tous les membres du laboratoire Antibiotiques, Antifongiques, Physico-chimiques, Synthèse et activité biologique de l'Université de Tlemcen pour leur disponibilité et leur aide.

Enfin, Je remercie aussi ceux et celles qui m'ont aidé ou encouragé, à quelque titre ou degré que ce soit.

Dédicace

C'est avec grand plaisir que je dédie ce modeste travail à mes chers parents **Naïma Aïcha** et **Youcef** pour leur encouragement durant mon parcours scolaire, leur soutien, leur amour, leur patience et leurs prières

À mes chers sœurs **Nassiba**, **Safaà**, **Kawter**, et **Nouha** pour leurs encouragements et leur soutien

À mon cher frère **Mohamed** pour leur appui

À mes neveux que dieu les protège

À mes amis **Amine**, **Imrane** et **Moncef**

Une dédicace spéciale pour ma meilleure amie **Fatima Zohra** pour leur présence

Liste des abréviations

AlCl₃ : Trichlorure d'aluminium.

APG III : Angiosperm Phylogeny Group III.

CI₅₀ : Concentration inhibitrice de 50% de l'activité enzymatique.

Da : Dalton.

DNSA : Acide 3,5-dinitrosalicylique.

EAG/gE : Equivalent acide gallique par gramme d'extrait.

EQC/gE : Equivalent catéchine par gramme d'extrait.

H₃PMO₁₂O₄₀ : Acide phosphomolybdique.

H₃PW₁₂O₄₀ : Phosphotungstique.

LDL : Low density lipoprotein.

Na₂CO₃ : Carbonate de sodium.

NaNO₂ : Nitrite de sodium.

NaOH : Hydroxyde de sodium.

Ssp : Synonyme de l'espèce.

v/v : Volume/volume.

Liste des figures

Figure n°01 : Présentation de l'espèce <i>C. monogyna</i> Jacq.,.....	4
Figure n°02 : Modèles moléculaires de l' α -amylase pancréatique en présence d'amidon ou d'acarbose.....	13
Figure n°03 : Structure de l' α -amylase humaine.....	16
Figure n°04 : Mécanisme catalytique des hydrolases glycosyliques.....	17
Figure n°05 : Fruits de <i>C. monogyna</i> séchés (A) et broyés (B).....	21
Figure n°06 : Feuilles de <i>C. monogyna</i> séchés (A) et broyés (B).....	22
Figure n°07 : Protocole d'extraction des feuilles et des fruits de <i>C. monogyna</i>	24
Figure n°08 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique (Dosage des polyphénols totaux).....	35
Figure n°09 : Courbe d'étalonnage de la catéchine (dosage des flavonoïdes).....	35
Figure n°10 : Courbe d'étalonnage de la catéchine (dosage des tanins condensés)	35
Figure n°11 : Classement des teneurs en composés phénoliques dans les différents extraits des feuilles et des fruits <i>C. monogyna</i>	37
Figure n°12 : Pourcentage d'inhibition de l' α -amylase par l'extrait aqueux des feuilles	37
Figure n°13 : Pourcentage d'inhibition de l' α -amylase par l'extrait eau/acétone des feuilles.....	37
Figure n°14 : Pourcentage d'inhibition de l' α -amylase par l'extrait aqueux des fruits.....	38
Figure n°15 : Pourcentage d'inhibition de l' α -amylase par extrait eau/acétone des fruits.....	38
Figure n°16 : Pourcentage d'inhibition de l' α -amylase par l'acarbose	39
Figure n°17 : Classement des extraits et de l'acarbose par ordre d'efficacité.....	41

Liste des tableaux

Tableau n°01 : Les glucides du <i>C. monogyna</i>	7
Tableau n°02 : Compositions minérales des fruits de <i>C. monogyna</i>	7
Tableau n°03 : Compositions vitaminique des fruits de <i>C. monogyna</i>	7
Tableau n°04 : Activités biologiques des extraits du <i>C. monogyna</i>	9
Tableau n°05 : Classification et nomenclature de l' α -amylase	15
Tableau n°06 : Plantes médicinales ayant un effet sur l'hyperglycémie postprandiale	19
Tableau n°07 : Rendements et caractéristiques des différents extraits des feuilles et des fruits de <i>C. monogyna</i>	33
Tableau n°08 : Résultat de l'analyse phytochimique réalisé sur les feuilles et fruits de <i>C. monogyna</i>	34
Tableau n°09 : Teneurs en composés phénoliques dans les différents extraits des feuilles et des fruits <i>C. monogyna</i>	36
Tableau n°10 : Valeurs des CI ₅₀ des extraits d' <i>C. monogyna</i>	40

Sommaire

الملخص.....	VIII
Résumé.....	IX
Abstract.....	X
Introduction	1

PARTIE 1 : Synthèse bibliographique

Chapitre 1 : *Crataegus monogyna*

1. Description botanique	4
2. Les noms communs	4
3. Répartition géographique	5
4. Systématique	5
5. Utilisation traditionnelle.....	6
6. Composition phytochimique	6
6.1.Composition en métabolites primaires	6
6.2. Composition en métabolites secondaires.....	8
7. Activités biologiques.....	8
8. Toxicité.....	10

Chapitre 2 : Hyperglycémie postprandiale et inhibition de l' α -amylase

1. Hyperglycémie postprandiale.....	12
1.1.Contrôle de l'hyperglycémie postprandiale	12
1.2.L'Acarbose	13
2. Activité de l' α -amylase	14
2.1.Définition	14
2.2.Origine.....	14
2.3.Classification et nomenclature de l' α -amylase	15
2.4.Structure	15
2.5.Mode d'action	16
2.6.Caractéristiques et propriétés des α -amylases	17
2.7.Digestion de l'amidon par l' α -amylase	18
2.8.Les effecteurs de l' α -amylase.....	18
2.9. Plantes médicinales ayant un effet sur l'hyperglycémie postprandiale	19

Partie 2 : Partie Expérimentale

Chapitre 1 : Matériel et méthodes

1. Matériel végétal	21
1.1. Récolte et préparation du matériel végétal	21
1.2. Extraction du matériel végétal.....	22
a. Préparation des extraits Aqueux	22
b. Préparation des extraits Hydroacétoniques	22
1.3. Calcul des rendements d'extraction.....	23
2. Analyse phytochimique	25
3. Dosage des composés phénoliques	26
3.1. Dosage des polyphénols totaux	26
3.2. Dosage des flavonoïdes.....	27
3.3. Dosage des tanins condensés.....	28
3.4. Expression des résultats.....	28
4. Evaluation de l'activité inhibitrice de l' α -amylase.....	29
4.1. Préparation des réactifs.....	29
4.2. Principe de la méthode	30
4.3. Mode opératoire.....	30
4.4. Expression des résultats.....	31

Chapitre 2 : Résultats et interprétation

1. Calcul des rendements d'extraction	33
2. Analyses phytochimiques.....	34
3. Teneurs en composés phénoliques	35
4. Effet inhibiteur des extraits de <i>C. monogyna</i> sur l'activité de l' α -amylase	37
Discussion	43
Conclusion	49
Références bibliographiques	51

المخلص

يدور هذا العمل على استخلاص وتحديد بعض المركبات الفينولية الموجودة في مستخلصات أوراق وثمار الزعرور احادي المدقة، وهو نبات يحتوي على أنواع مختلفة من المركبات الفينولية ذات الأنشطة البيولوجية المختلفة. حيث نهدف إلى دراسة التأثير المثبط لهذه المستخلصات على نشاط إنزيم ألفا أميلاز بهدف تعزيز النشاط المضاد للسكري لتنظيم ارتفاع سكر الدم بعد الأكل.

استهلت هذه الدراسة بإستخلاص خليطين مختلفين لكل من الأوراق والفواكه عن طريق تقنية النقع في كل من الماء المقطر وخليط الماء/الأسيتون (70:30؛ حجم/حجم) مما مكنا من الحصول على المستخلصات الخام الأربعة. خضعت هذه المستخلصات لاختبارات كيمونباتية نوعية كشفت عن ثراء الفلافونويد والتربينويدات في المستخلصات المختلفة.

بعدها تم التحديد الكمي لمجموع البوليفينول والفلافونويد والعفص المكثف. حيث أظهرت النتائج أن مستخلصات الأوراق وخاصة المستخلصات الهيدروأستونية غنية جدًا بالمركبات الفينولية بمعدل 18.98 ± 438.98 مغ معادل حمض الغاليك في الغرام الواحد بالنسبة للبوليفينول أما بخصوص الفلافونويد والعفص المتكثف تحصلنا على الترتيب على المعدلات التالية 203.7 ± 3.81 و 94.07 ± 20.08 مغ معادل الكاتيشين في الغرام الواحد

أظهرت المستخلصات الهيدروسيتونية للفاكهة أيضًا محتوى إجمالي مرتفع من البوليفينول يبلغ 15.66 ± 189.32 مغ معادل حمض الغاليك في الغرام الواحد و 36.9 ± 2.2 مغ معادل الكاتيشين في الغرام الواحد للفلافونويد. من جهة أخرى، تحتوي المستخلصات المائية أيضًا على كمية ضئيلة من هذه المركبات.

تَجَلَّت نتائج الدراسة البيولوجية التي أجريت في المختبر على نشاط إنزيم ألفا أميلاز أن النبات المدروس له تأثير مثبط مثير للاهتمام. يظهر هذا التأثير بشكل أكبر في المستخلصات الهيدروأستونية للأوراق حيث أعطت قيمة تثبيط عالية حيث يبلغ تركيز التثبيط 0.474 مغ/مل. تذكر أن هذه القيمة تعتبر اقل من قيمة دواء الأكاربوز (0.279 مغ/مل).

في الختام نستنتج أن المستخلصات الغنية بالمركبات متعددة الفينولات من نبات الزعرور احادي المدقة لها تأثير مثبط على نشاط ألفا أميلاز مما يعني أن هناك ارتباطًا قويًا.

الكلمات المفتاحية: الزعرور احادي المدقة، المركبات الفينولية ، فرط سكر الدم بعد الأكل، تثبيط ألفا أميلاز

Résumé

Ce travail est consacré à l'extraction et au dosage des quelques composés phénoliques présents dans les extraits des feuilles et des fruits de *C. monogyna*, une plante qui contient différents types des composés phénoliques ayant des activités biologiques diverses. L'objectif de cette étude est d'évaluer l'effet inhibiteur de ces extraits sur l'activité de l' α -amylase, pour favoriser l'activité antidiabétique et la régulation de l'hyperglycémie postprandiale.

Les feuilles et les fruits ont été soumis à une extraction par macération dans deux solvants différents ; l'eau distillée et le mélange Eau/Acétone (30 :70 ; v/v). Les quatre extraits bruts ont été soumis à des tests phytochimiques qualitatifs qui ont révélé la présence des flavonoïdes et les terpénoïdes.

Ces analyses ont été suivies d'un dosage quantitatif des polyphénols totaux, des flavonoïdes et des tanins condensés. Les résultats ont montré que les feuilles, surtout les extraits hydroacétoniques, sont très riches en composés phénoliques avec un taux de $438,98 \pm 18,98$ mg EAG/gE pour les polyphénols totaux et $203,7 \pm 3,81$ et $94,07 \pm 20,08$ mg EQC/gE pour les flavonoïdes et les tanins condensés, respectivement.

Quant aux extraits hydroacétoniques des fruits, ils ont également révélé une teneur élevée en polyphénols totaux de $189,32 \pm 15,66$ mg EAG/gE et de $36,9 \pm 2,2$ mg EQC/gE pour les flavonoïdes. En revanche, les extraits aqueux contiennent une quantité minimale de ces composés.

L'étude biologique menée *in vitro* sur l'activité de l' α -amylase a révélé un effet inhibiteur intéressant de notre plante, qui est plus marqué par l'extrait hydroacétonique des feuilles avec une concentration d'inhibition importante ($CI_{50} = 0,475$ mg/ml). Cependant, cet effet reste inférieur à celui de l'acarbose ($CI_{50} = 0,279$ mg/ml).

En conclusion, les extraits des feuilles et des fruits de *C. monogyna* sont riches en composés polyphénoliques ont un effet inhibiteur très puissant sur l'activité de l' α -amylase ce qui signifie qu'il y a une forte corrélation.

Mots clés : *Crataegus monogyna*, composés phénoliques, hyperglycémie postprandiale, inhibition de l' α -amylase.

Abstract

This work is devoted to the extraction and determination of some phenolic compounds contained in the extracts of leaves and fruits of *C. monogyna*, a plant that contains different types of phenolic compounds with various biological activities. The objective of this study is to evaluate the inhibitory effect of these extracts on the activity of α -amylase, to promote antidiabetic activity and regulation of postprandial hyperglycemia.

The leaves and fruits were extracted by maceration in two different solvents; distilled water and water/acetone mixture (30:70 v/v). The four crud extracts were subjected to qualitative phytochemical tests that revealed the presence of various compounds including flavonoids and terpenoids.

These results were followed by a quantitative determination of total polyphenols, flavonoids and condensed tannins. The results showed that the extracts of leaves, especially the hydroacetic ones, are very rich in phenolic compounds with a rate of 438.98 ± 18.98 mg GAE/g d.w for total polyphenols and 203.7 ± 3.81 and $94.07 \pm 20,08$ mg CEQ/g d.w. for flavonoids and condensed tannins respectively.

The hydroacetic fruit extracts also showed a high total polyphenol content of 189.32 ± 15.66 mg GAE/g d.w. and 36.9 ± 2.2 mg CEQ/g d.w. for flavonoids. In contrast, aqueous extracts also contain a minimum amount of these compounds.

The biological study conducted *in vitro* on the activity of α -amylase revealed an interesting inhibitory effect of our plant, which is more marked by the hydroacetic extract of the leaves with a high inhibition concentration ($IC_{50} = 0.475$ mg/ml). However, this effect remains lower than acarbose ($IC_{50} = 0.279$ mg/ml).

In conclusion, extracts of *C. monogyna* rich in polyphenolic compounds have a very powerful inhibitory effect on the activity of α -amylase which means that there is a major correlation.

Keywords: *Crataegus monogyna*, phenolic compounds, postprandial hyperglycemia, inhibition of α -amylase.

Introduction

L'Algérie est reconnue pour son utilisation traditionnelle étendue de plantes médicinales en raison de la biodiversité de sa végétation, cette richesse des plantes médicinales comprend des milliers d'espèces présentant divers intérêts et constitue un axe de recherche scientifique, en particulier dans le domaine des substances naturelles (**Aberkane, 2006**).

Crataegus monogyna, une plante de la famille des Rosacées, est l'une des plantes thérapeutiques largement utilisées en raison de ses propriétés médicinales traditionnelles. Elle est utilisée en phytothérapie pour ses bienfaits antioxydants et antidiabétiques, qui permettent de prévenir les troubles cardiovasculaires, ainsi que pour son effet sédatif. Les activités pharmacologiques de l'aubépine sont nombreuses et variées, dépendant de l'extrait utilisé et de sa composition (**Bouzidi et Bitam, 2018 ; Bahorun, 1997**).

L'aubépine a des activités pharmacologiques variées qui régulent la glycémie, notamment en réduisant les taux d'hyperglycémie postprandiale, qui sont un facteur de risque pour le développement du diabète de type 2. Cette plante inhibe les enzymes digestives tels que l' α -amylase et l' α -glycosidase (**Olennikov et al., 2020**).

Les inhibiteurs d' α -amylase ont des avantages en diminuant la dégradation des oligosaccharides, contrôlant ainsi le taux de glucose sanguin chez les personnes atteintes de diabète. Cette propriété suscite l'intérêt de nombreux chercheurs et firmes pharmaceutiques pour développer des médicaments anti-diabète de type II à partir de polyphénols. Les molécules extraites de la *C. monogyna* peuvent réduire l'absorption du glucose, contribuant à réduire l'hyperglycémie et l'obésité (**Gupta et al., 2010**).

Étant donné que cette plante est couramment utilisée en médecine traditionnelle pour traiter diverses affections, nous avons été motivés à explorer son potentiel inhibiteur vis-à-vis de l' α -amylase et analyser la composition phytochimique de certains extraits de *C. monogyna*.

Ce travail comporte deux grandes parties. La première partie est initiée par une synthèse bibliographique dont le premier chapitre définit les généralités sur la plante de *C. monogyna*, sa composition chimique et ses activités biologiques. Le deuxième chapitre traite de l'hyperglycémie postprandiale et de l'activité de l' α -amylase.

Introduction

La seconde partie, qui est la partie expérimentale, regroupe le matériel et les méthodes utilisés pour l'analyse phytochimique et le dosage des composés phénoliques des extraits de plantes, ainsi, pour évaluer l'activité inhibitrice sur l' α -amylase.

Les résultats obtenus sont suivis d'une discussion, puis d'une conclusion finale de ce travail.

*Partie 1 : Synthèse
bibliographique*

*Chapitre 1 :
Crataegus monogyna*

1. Description botanique

Les aubépines sont des arbustes épineux de la famille des rosacées qui englobe entre 150 et 1200 espèces. Se trouvent principalement dans des régions montagneuses et semi-montagneuses. Elles mesurent généralement entre 1 et 4 mètres de long. Leurs feuilles sont caractérisées par des lobes pointus divisés en 3 ou 5 parties. Elles produisent également des fleurs blanches regroupées. Le fruit est de forme ovoïde rouge, qui contient un seul noyau (Yanar *et al.*, 2011 ; Mohand, 2006 ; Chang *et al.*, 2002).

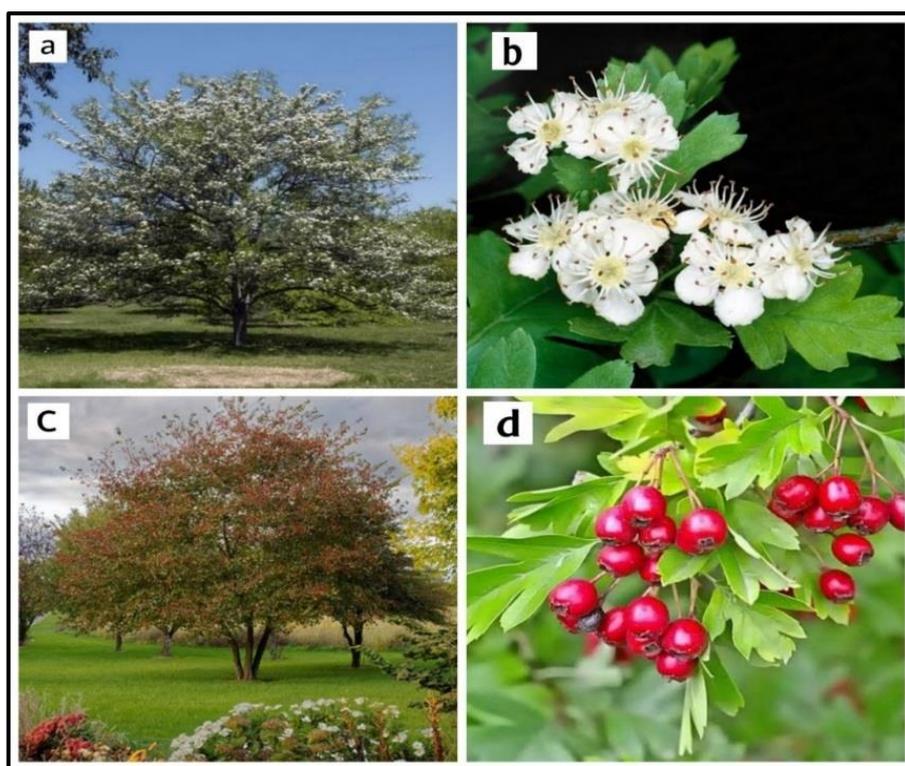


Figure n°01 : Présentation de l'espèce *C. monogyna* Jacq.,
(a, b) : au moment de floraison, (c, d) : au moment de fructification

<https://www.gardenia.net/plant/crataegus-monogyna>

2. Les noms communs

La nomenclature d'aubépine selon certaine langue est comme suit :

- **Le nom scientifique** : *Crataegus monogyna*.
- **English**: Hawthorne, albépine, Quickthorn (Zhang, 2002).
- **Français** : aubépine monogyne, blanche épine, cenellier, (Fabre *et al.*, 1992).
- **Le nom arabe** : الزعرور احادي المدقة, عين البقرة (Benhamama, 2015).

3. Répartition géographique

➤ Mondial

C. monogyna est présent et spontané en Afrique du Nord (Algérie, Maroc et Tunisie) avec une distribution stable dans l'Asie tempérée occidentale jusqu'à l'Inde et dans toutes les zones tempérées d'Europe (**Edin et Nimmo, 1999 ; Bruneton, 1993**).

Il a été introduit et naturalisé en Amérique du Nord, en Afrique du Sud, en New Zélande et en Australie (**Blamey et al., 2003**).

➤ En Algérie

En Algérie, l'aubépine pousse spontanément dans tout le pays, en particulier dans la région de Constantine, et dans une certaine mesure dans la région d'Aurès (**Boudraa, 2015**).

Elle est également courante dans les forêts de l'Atlas Tellien et dans les régions occidentales, notamment dans les zones semi-montagneuses de Nedrouma wilaya de Tlemcen (**Farhat, 2007**).

4. Systématique

Il existe différentes classifications de *C. monogyna* basées sur les systématiques des plantes. L'une des classifications les plus importantes est celle de la classification **APG III (2009)**, qui est largement reconnue en botanique.

- Clade : Angiospermes.
- Clade : Dicotylédones Vraies.
- Clade : Dicotylédones Vraies Supérieures.
- Clade : Rosidées.
- Clade : Fabidées.
- Ordre : Rosales.
- Famille : Rosacées.
- Genre : *Crataegus*.
- Espèce : *Crataegus monogyna* Jacq.
 - Variété : laciniata.
 - Variété : maritima.
 - Variété : monogyna.

Clade : Catégorie taxonomique utilisé en 1868 par Haeckel (classification phylogénétique).

5. Utilisation traditionnelle

C. monogyna est une plante fruitière avec une longue histoire en tant que plante thérapeutique et pharmacologique, avec une large utilisation traditionnelle. C'est une plante très importante en phytothérapie en raison de ses actions sédatives, vasculoprotectrices, antioxydantes et antidiabétiques, ainsi que de sa faible toxicité. Elle était utilisée par les anciens herboristes européens dès le premier siècle pour traiter les maladies cardiaques. Ses utilisations actuelles comprennent le traitement de l'angine de poitrine, de l'hypertension et des arythmies (Miller, 1998 ; Bahorun, 1997).

En médecine chinoise, les fruits et leurs extraits étaient traditionnellement utilisés pour le traitement des maladies cardiovasculaires et pour stimuler la digestion et la fonction de l'estomac. Ils sont également considérés comme un traitement de l'essoufflement et pour soulager les calculs rénaux. En outre, ils ont une légère action astringente et sont utilisés contre les maux de gorge. Ils peuvent également abaisser le taux de cholestérol dans le sang (Kashyap *et al.*, 2012 ; Chen, 1995).

Les Marocains et les Algériens utilisaient autrefois les feuilles d'aubépine pour faire du thé afin de soulager l'anxiété, car elles ont des propriétés relaxantes sur les nerfs et peuvent abaisser la tension artérielle. Les fleurs ont également une action sédative sur le système nerveux, régulant les troubles du rythme cardiaque, ayant une action hypotensive et antispasmodique sur les muscles lisses vasculaires (Bouزيد, 2009 ; Mohand, 2006 ; Beloued, 1998).

6. Composition phytochimique

L'utilisation médicinale traditionnelle de *C. monogyna* a incité les scientifiques modernes à étudier de manière approfondie les constituants chimiques et les effets pharmacologiques qui peuvent lui être attribués (Nabavi *et al.*, 2015).

6.1. Composition en métabolites primaires

L'aubépine, selon de nombreux chercheurs, est une source riche en nombreux composants chimiques essentiels. Les tableaux n° 01, 02 et 03 indiquent les teneurs des métabolites et les compositions des fractions présentées dans le *C. monogyna*.

Tableau n°01 : Les glucides du *C. monogyna* (Saadoudi., 2008).

Métabolites	Teneur (g/100g de matière sèche)
Sucres solubles	11,45
Sucres réducteurs	7,86
Saccharose	3,59
Cellulose	11,40
Pectines	1,60

Tableau n°02 : Composition minérale des fruits de *C. monogyna* (Boudraa *et al.*, 2015).

Fraction		Teneur (mg/100g de matière sèche)
Macroéléments	Calcium	414,18
	Potassium	1694,80
	Magnésium	156,52
Microéléments	Fer	4,09
	Zinc	0,32
	Manganèse	1,52

Tableau n°03 : Composition vitaminique des fruits de *C. monogyna* (Boudraa *et al.*, 2015)

Fraction		Teneur (mg/100g de matière sèche)
Vitamines liposolubles	Tocophérol	0,79
	Carotène	1,37
Vitamines hydrosolubles	Thiamine B1	4,07
	Vitamine C	0,005

6.2. Composition en métabolites secondaires

Le *C. monogyna* contient de nombreux composés de métabolites secondaires différents dans les feuilles, les fleurs et les fruits.

a. Dans les feuilles

Les feuilles d'aubépine renferment divers métabolites secondaires, tels que des flavonoïdes, des triterpènes, des acides phénoliques et des proanthocyanidines. Ces composés ont démontré des propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et cardio-protectrices (**Choi et al., 2015 ; Ochir et al., 2014 ; Wang et al., 2010**).

b. Dans les fruits

Dans les fruits, il existe des flavonoïdes qui sont parmi les composés phénoliques les plus abondants. Ceux qui sont identifiés comprennent la quercétine, la kaempférol, l'isorhamnétine, la myricétine et la rutine (**Chen et al., 2015 ; Li et al., 2012 ; Mohand, 2006**).

Ainsi, il y a un autre groupe de métabolites secondaires dans les fruits d'aubépine, qui est celui des tanins. Ce sont des oligomères et des polymères de catéchine et d'épicatéchine qui ont des propriétés astringentes et qui peuvent se lier aux protéines (**Chen et al., 2015**).

c. Dans les fleurs

Les fleurs d'aubépine renferment différents composants, notamment une huile essentielle, des substances polyphénoliques et des triterpènes (**Mohand, 2006**).

7. Activités biologiques

Les activités pharmacologiques de l'aubépine sont nombreuses et variées, dépendant de l'extrait utilisé et de sa composition. Les principales activités sont résumées dans le tableau n°4.

Tableau n°04 : Activités biologiques des extraits du *C. monogyna*.

Activités biologiques	Extraits	Action	Référence
Activité cardiotonique	<ul style="list-style-type: none"> - Flavonoïdes. - Acides triterpéniques - procyanidine. 	<ul style="list-style-type: none"> - Inhibition de la phosphodiesterase 	(Occhiuto <i>et al.</i>, 1986 ; Petkov <i>et al.</i>, 1981).
Activité antioxydante	<ul style="list-style-type: none"> - Oligomères de procyanidine - Flavonoïdes: 	<ul style="list-style-type: none"> - Augmentation la concentration d'α-Tocophérol. - Inhibition du l'oxydation des LDL humaines 	(Zhang <i>et al.</i>, 2001).
Activité antiarythmique	<ul style="list-style-type: none"> - Flavonoïdes - Procyanidine 	<ul style="list-style-type: none"> - Régulation du rythme cardiaque 	(Antsyshkina <i>et al.</i>, 1990 ; Occhiuto <i>et al.</i>, 1986).
Activité hypotensive	<ul style="list-style-type: none"> - Flavonoïdes. - Oligomères de procyanidine. - Acides triterpéniques 	<ul style="list-style-type: none"> - Réduction la tension et dilatation des vaisseaux périphériques 	(Twaij <i>et al.</i>, 1987).
Activité hypolipidémie	<ul style="list-style-type: none"> - Flavonoïdes 	<ul style="list-style-type: none"> - Abaisse le taux de cholestérol. - Empêche le dépôt de graisse dans le foie. 	(Shanthi <i>et al.</i>, 1996).
Activité antidiabétique	<ul style="list-style-type: none"> - Flavonoïdes 	<ul style="list-style-type: none"> - Inhibition de l'α - amylase et l'α - glycosidase, - Régule le taux de glycémie - Retarde l'absorption des sucres 	(Katanić Stanković <i>et al.</i> 2022 ; Skaf, 2021 ; Pirmoghani <i>et al.</i>, 2019 ; Oueslati <i>et al.</i>, 2018 ; Zhang <i>et al.</i>, 2016).

8. Toxicité

L'aubépine est largement utilisée en tant que plante médicinale en raison de ses propriétés thérapeutiques. Cependant, même à des doses limitées, elle peut causer certains effets indésirables tels que la transpiration, les maux de tête, de légères allergies cutanées, la somnolence et des effets gastro-intestinaux indésirables. Des études cliniques ont été menées pour évaluer les effets indésirables de l'aubépine, et elles ont montré que la consommation de cette plante ne présente pas d'effets significatifs (**Nabavi *et al.*, 2015 ; Rotblatt *et Ziment*, 2002**).

Des recherches menées sur des animaux ont révélé que de fortes quantités d'extrait d'aubépine peuvent causer des effets toxiques. Par ailleurs, il a été établi que l'administration orale d'extraits aqueux-alcooliques de fruits et de feuilles chez les souris et les rats peut être mortelle à certaines doses. La dose létale chez les souris est de 18,5 ml/kg, tandis que chez les rats, elle est de 33,8 ml/kg. Pour les extraits d'aubépine riches en flavonoïdes, la dose létale chez les souris est de 1,56 g/kg (**Nabavi *et al.*, 2015**).

En ce qui concerne les proanthocyanidines, la dose létale moyenne est de 130 mg/kg dans l'injection intrapéritonéale et de 300 mg/kg dans l'injection sous-cutanée chez les souris (**Nabavi *et al.*, 2015**).

Chapitre 2 :
Hyperglycémie postprandiale et
l'inhibition de l' α -amylase

1. Hyperglycémie postprandiale

Le diabète sucré est une pathologie métabolique qui comporte des troubles connexes à la sécrétion de l'hormone de l'insuline, et la conséquence est une hyperglycémie chronique (**Rodier, 2001**).

Le diabète de type 2 est l'une des maladies chroniques qui est considérée comme un facteur de risque d'athérosclérose coronarienne et cardiovasculaire. Certaines recherches ont indiqué que les changements dans le statut postprandial sont des facteurs majeurs dans l'apparition de complications cardiovasculaires. Les modifications de l'hyperglycémie postprandiale se traduisent par une augmentation rapide du taux de glycémie présent dans le sang pendant la digestion, dans les premières 4 heures après le repas (**Node et al., 2009**).

1.1. Contrôle de l'hyperglycémie postprandiale

Les fluctuations de la glycémie après un repas sont influencées par un certain nombre de facteurs complexes, notamment le régime alimentaire, la vitesse de la digestion, la vitesse de la sécrétion de l'insuline est, la production de glucose dans le foie et l'utilisation du glucose dans les régions périphériques. Ces éléments travaillent ensemble pour réguler les changements de la glycémie pendant la phase postprandiale (**Brindisi et al., 2007**).

La première anomalie observée chez les individus prédisposés au diabète de type 2 est une élévation significative de la glycémie après les repas, connue sous le nom hyperglycémie postprandiale (**Brindisi et al., 2007**).

L'objectif du traitement du diabète consiste à maintenir des niveaux de glucose sains dans la plage normale. Une gestion efficace de la glycémie après les repas est considérée comme un élément essentiel dans la prise en charge du diabète et la prévention des maladies cardiovasculaires (**Baron, 1998**).

Dans le traitement du diabète sucré et la réduction de l'hyperglycémie postprandiale, une approche thérapeutique consiste à ralentir l'absorption du glucose en inhibant les enzymes digestives telles que l' α -amylase et l' α -glucosidase dans le tractus gastro-intestinal. Ce retard dans l'absorption du glucose intestinal permet de réduire les niveaux de glucose sanguin après les repas (**Shai et al., 2010**).

L'activité des enzymes peut être régulée par des activateurs ou des inhibiteurs dans le site actif de l'enzyme (**Shai et al., 2010 ; Garrett et Grisham, 2000**).

Les inhibiteurs sont généralement des molécules dont la structure est proche du substrat et qui ne réagissent pas ou réagissent plus lentement que le substrat. L'étude de l'effet d'un inhibiteur est utilisée pour déterminer le mécanisme catalytique d'une réaction enzymatique, connaître plus précisément la spécificité d'une enzyme et obtenir des données physiques et chimiques concernant le site actif de l'enzyme. Les patients atteints de diabète de type 2 peuvent recevoir un traitement à base de médicaments tels que le miglitol et l'acarbose, qui agissent en tant qu'inhibiteurs de l' α -glucosidase et de l' α -amylase. Cette action retarde l'absorption des glucides dans le corps, ce qui conduit à une réduction de la glycémie après les repas (Alice *et al.*, 2004 ; Franco *et al.*, 2002 ; Machius *et al.*, 1996).

1.2. L'Acarbose

L'acarbose est un inhibiteur des α -amylases et α -glucosidases. Ce composé est largement utilisé dans le contrôle du diabète, car il réduit de manière efficace l'absorption de l'amidon. Ce médicament se lie au site actif de l'enzyme α -amylase dans le même endroit et de manière compétitive avec l'amidon grâce à leur structure qui est similaire (Figure n°02) (Tonsic *et al.*, 2023 ; Halimi *et al.*, 2000).

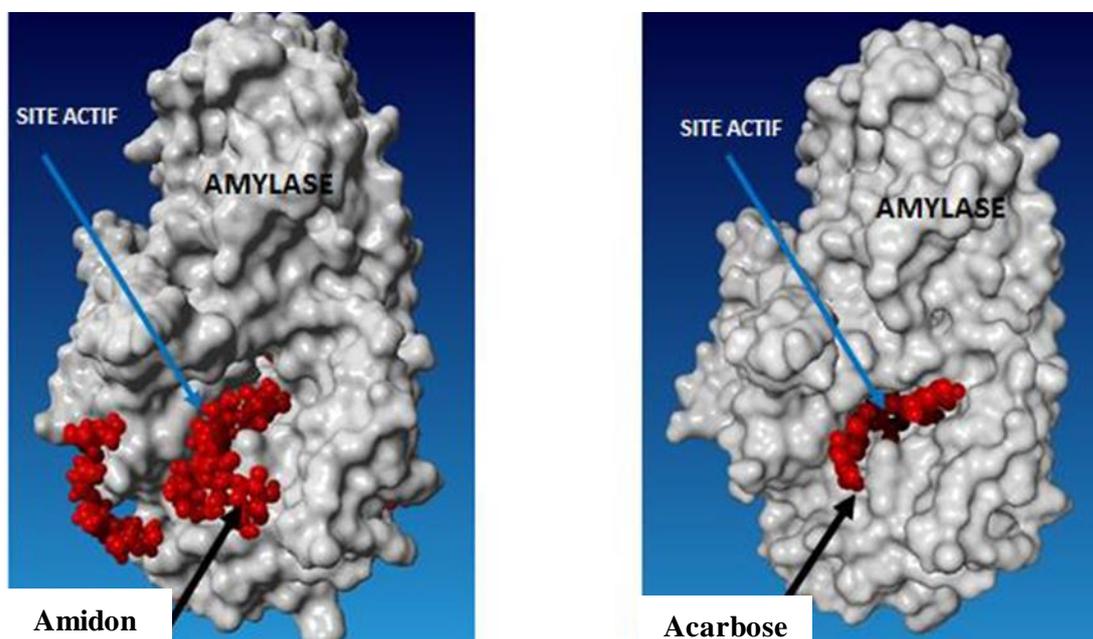


Figure n°02 : Modèles moléculaires de l' α -amylase pancréatique en présence d'amidon ou d'acarbose (Logiciel Rastop et Bordas 2012).

En présence d'acarbose, les aliments contenant des glucides complexes sont digérés plus lentement. Cette digestion prolongée entraîne une diminution de la glycémie à jeun et après les repas, sans augmentation excessive de l'insuline. L'efficacité de ce médicament a été démontrée

dans des études cliniques portant sur des patients atteints de diabète de type 2. Ce médicament permet d'améliorer le contrôle de la glycémie, de réduire les besoins en insuline et de contribuer à la diminution des taux de triglycérides et de cholestérol. (Clissold et Edwards, 2012 ; Godbout et Chiasson, 2007 ; Alice *et al.*, 2004).

Les effets indésirables les plus fréquents de l'acarbose sont principalement d'ordre digestif et sont liés à la fermentation des glucides non absorbés, ce qui peut entraîner des troubles intestinaux tels que des flatulences et une diarrhée. Cependant, il est possible de prévenir ces symptômes en suivant un régime alimentaire approprié et en continuant le traitement. (Clissold et Edwards, 2012 ; Alice *et al.*, 2004).

2. Activité de l' α -amylase

2.1. Définition

L' α -amylase [α -(1,4) -D-glucanohydrolase (E.C.3.2.1.1)] de famille des glycosides hydrolases GH13. Est une endoenzyme macromoléculaire appartenant à la classe des protéines globulaires de type endoglycanase. Qui catalyse l'hydrolyse aléatoire des liaisons osidiques des polysaccharides et les oligosaccharides (Ait Kaki-El-Hadef *et al.*, 2012 ; Scriban, 1993 ; Mercier, 1985).

2.2. Origine

L' α -amylase est une enzyme digestive, ayant une origine différente et abondante dans tous le règne animal, végétal et microbien (Nouadri, 2011 ; Gupta, 2003).

2.2.1. Origine animale

IL existe une forme pancréatique sécrétée par le pancréas, ainsi qu'une forme salivaire sécrétée par les glandes parotides. Ces deux groupes isoenzymatiques sont génétiquement différents (Vallier *et al.*, 1977).

2.2.2. Origine végétale

Elle est couramment extraite à partir de différentes céréales, telles que le blé, l'orge, le son et le riz (Srinivasa *et al.*, 2004).

2.2.3. Origine microbienne

La production d'enzymes α -amylases comprend des variantes fongiques et bactériennes. Les champignons, tels que *Aspergillus oryzae* et *Aspergillus niger*, sont des sources spécifiques de synthèse des enzymes α -amylases d'origine fongique (Gupta, 2003).

2.3. Classification et nomenclature de l' α -amylase

La classification et la nomenclature de l' α -amylase est résumée dans le tableau n°05.

Tableau n°05 : Classification et nomenclature de l' α -amylase (Dauter *et al.*, 1999).

Nom systématique	α -(1-4) D-glucane glucano hydrolase.	
Nom codifié	E.C.3.2.1.1	EC : Enzyme Commission
		3 : Classe des Hydrolases
		2: Sous classe des Glycosylases : enzymes qui coupent les liaisons entre un sucre et le reste de la molécule
		1: Sous sous classe des Glycosidases : enzymes hydrolysant les composés O- et S-glycosyl
		1 : Numéro d'ordre
Nom commun	α -amylase	
D'autres noms	Glycogenase, endoamylase, maxilase.	

2.4. Structure

Les α -amylases sont des métalloenzymes contenant du calcium et sont des glycoprotéines. Leur structure est généralement monomérique et comprend trois domaines globulaires (A, B et C). Ces domaines sont reliés par une chaîne polypeptidique composée de résidus hydrophobes (Sales *et al.*, 2012 ; Fogarty *et al.*, 1980).

Les figures n°03 représentent respectivement la structure l' α -amylase (Heslot, 1996 ; Stefanova et Emanuilova, 1992).

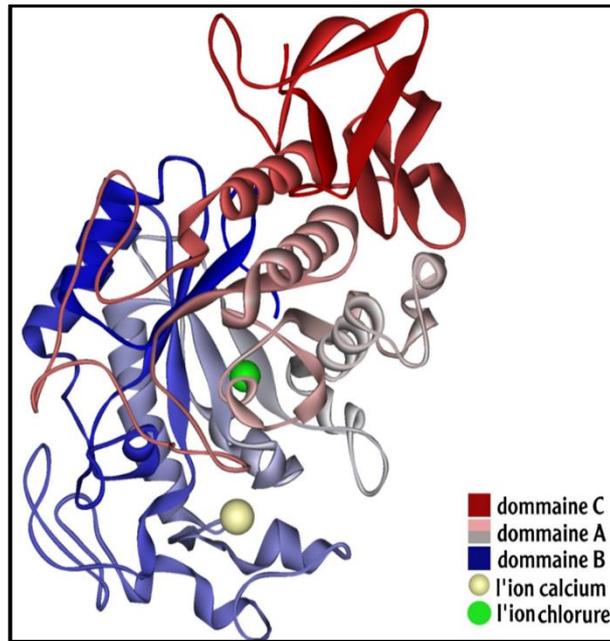


Figure n°03 : Structure de l' α -amylase humaine (Ramasubbu, 1996. ; pdb).

Le domaine A forme un tonneau avec des feuillets β disposés de manière parallèle et contient le site actif. Le domaine B, plus petit, est adjacent au domaine A et relie certaines parties de la structure. Il forme une cavité contenant l'ion calcium qui contribue à stabiliser l'enzyme. D'autre part le domaine C est constitué d'un tonneau avec des feuillets β antiparallèles et joue un rôle dans le mécanisme catalytique. Le site actif de l' α -amylase est situé entre le domaine A et le domaine B et est composé de trois acides aminés spécifiques. Ce site actif présente une fente allongée où le substrat se lie (Burhan, 2003 ; MacGregor *et al.*, 2001 ; Kadziola *et al.*, 1994 ; Chiba, 1988).

2.5.Mode d'action

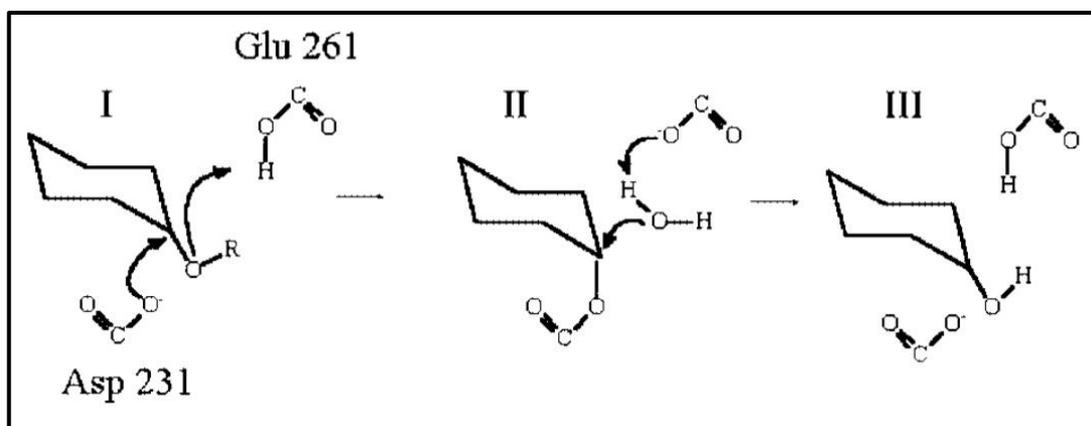
L' α -amylase, qu'elle soit d'origine animale, végétale ou microbienne, agit en hydrolysant les polysaccharides par la rupture des liaisons glycosidiques (1-4). Cette activité enzymatique repose sur trois acides aminés essentiels présents dans le site actif de l'enzyme qui sont :

- Asp 231 : joue le rôle de nucléophile catalytique.
- Glu 261 : fournit un proton au groupe déplacé.
- Asp 328 : assiste la catalyse (Uitdehaag *et al.*, 1999 ; Mc Carter 1996).

La Figure n°04, représente le mécanisme catalytique des hydrolases glycosyliques dont le processus passe par trois étapes :

- **Protonation de l'oxygène glucosidique** : Le Glu 261 donne un proton unique suivi d'une attaque nucléophile de l'Asp 231 sur le carbone 1 des résidus de sucre en position 1. Cela entraîne la libération de l'extrémité réductrice du substrat (Davies *et al.*, 1999).
- **Activation d'une molécule d'eau** : Ce processus est vraisemblablement dû à la conservation de Glu 261 déprotoné (Nielsen *et al.*, 2001).
- **Régénération de l'état initial et libération de l'autre fragment du substrat** : Cette étape est réalisée par l'hydrolyse de la liaison covalente entre l'oxygène nucléophile de l'Asp 231 et le carbone 1 du résidu de sucre situé en position 1 (Nielsen *et al.*, 2001 ; Davies *et al.*, 1999).

Figure n°04 : Mécanisme catalytique des hydrolases glycosyliques (Nielsen *et al.*, 2001).



2.6. Caractéristiques et propriétés des α -amylases

- **Poids moléculaire** : Le poids moléculaire de l' α -amylase varie en fonction de l'origine et du type de l'enzyme. Le poids moyen se situe entre 40 000 et 90 000 Da (Schombury et Salzman, 1991).
- **pH optimal** : Les α -amylases sont généralement stables dans une plage de pH allant de 5 à 8. Le pH optimal pour l'amylase pancréatique est d'environ 7,2, tandis que celui de l'amylase salivaire varie, mais pour la plupart, il est d'environ 6,7 à 6,9. Pour les α -amylases fongiques, le pH optimal est généralement de 5 (Khacheba, 2008 ; Ishikawa *et al.*, 1993).
- **Température optimale** : Les α -amylases ont une température optimale comprise entre 25 °C et 70 °C, Chez les amylases pancréatiques ou salivaires (Park *et al.*, 1997).
- **Effecteurs** : L' α -amylase contient au moins un ion calcium pour la stabilisation de sa structure, mais une concentration excessive de cet ion en fait un inhibiteur de cette enzyme elle-même (Kolli et Zatout, 2015 ; Boel *et al.*, 1990).

2.7. Digestion de l'amidon par l' α -amylase

L'hydrolyse de l'amidon est un processus qui implique à la fois l'amylase salivaire et l'amylase pancréatique. La première phase se produit dans la bouche lors de la mastication, tandis que la seconde phase a lieu dans l'intestin grêle après la déglutition. Ces enzymes travaillent ensemble pour la digestion de l'amidon en transformant les polysaccharides en un mélange de maltose, de maltotriose et d'oligosaccharides appelé dextrine (**Grabitse *et al.*, 2008 ; Fogel *et al.*, 1973**).

2.8. Les effecteurs de l' α -amylase

L'activité enzymatique est régulée par différents effecteurs qui peuvent être des activateurs ou des inhibiteurs. Ces effecteurs exercent leurs effets, directs ou indirects, sur le site actif de l'enzyme. En général, les inhibiteurs sont des molécules qui ont une structure similaire à celle du substrat et qui réagissent de manière compétitive avec elle. En revanche, lorsque les molécules n'ont pas de ressemblance structurale avec le substrat, leur réaction est souvent très lente. (**Mercier, 1985**).

L'étude de l'effet d'inhibition est utilisée pour identifier et comprendre le mécanisme catalytique et la spécificité de l'interaction enzymatique, et obtenir des données physicochimiques sur le site actif de l'enzyme. Les ions Ca^{2+} et Cl^- servent comme des activateurs de l' α -amylase parce qu'ils font partie de l'emplacement actif où ils participent à la stabilité structurelle de l'enzyme (**Garrett et Grisham, 2000 ; Mercier, 1985**).

Parmi les inhibiteurs des enzymes digestives, l'acarbose est largement utilisé dans le traitement du diabète de type 2. En tant qu'analogue du sucre, l'acarbose se lie au site actif de l' α -amylase, occupant la même position que l'amidon en raison de leur structure similaire, ce qui entraîne son effet inhibiteur.

Le maltose, résultant de la dégradation de l'amidon par l'amylase, exerce une rétro-inhibition de l'enzyme. Des inhibiteurs tels que le D-glucose, le citrate et l'oxalate ont également un effet similaire sur l'enzyme, conduisant à une inhibition de son activité. Ces inhibiteurs jouent un rôle crucial dans la régulation de la digestion des glucides et peuvent avoir des implications significatives dans certaines conditions médicales (**Halimi *et al.*, 2000 ; Mercier, 1985**).

2.9. Plantes médicinales ayant un effet sur l'hyperglycémie postprandiale

Avec une histoire séculaire jusqu'à présent, les plantes médicinales ont été utilisées par diverses populations à travers le monde pour traiter différentes maladies, et beaucoup d'entre

elles sont devenues des ressources essentielles pour la thérapie moderne. L'intérêt croissant pour l'utilisation de plantes médicinales a conduit à la caractérisation et à l'identification de molécules clé, ainsi qu'à l'isolement de composés chimiques actifs d'une importance thérapeutique significative. Divers extraits de plantes médicinales sont utilisés pour traiter le diabète et réguler l'hyperglycémie postprandiale grâce à l'inhibition des enzymes digestives (Leduc, 2006 ; Cragg *et al.*, 1997).

Le tableau n°06 présente quelques plantes médicinales ayant un effet sur l'hyperglycémie postprandiale en régulant la glycémie par inhibition des enzymes digestives (α -glucosidase et/ou α -amylase).

Tableau n°06 : Plantes médicinales ayant un effet sur l'hyperglycémie postprandiale

Plante	Famille	Références
<i>C. monogyna</i>	Rosacées	(Katanić Stanković <i>et al.</i> 2022; Skaf, 2021)
<i>C. oxyacantha</i>	Rosacées	(Salehi <i>et al.</i> , 2013)
<i>Rubus sanctus</i>	Rosacées	(Skaf, 2021)
<i>Linum usitatissimum</i>	Linaceae	(Zinjarde <i>et al.</i> , 2011)
<i>Ocimum tenuiflorum</i>	Laminaceae	
<i>Punica granatum</i>	Punicaceae	(Laaraj, 2022)
<i>Nerium oleander</i>	Apocynaceae	(Shikawa <i>et al.</i> , 2007)
<i>Hibiscus sabdariffa</i>	Malvacées	(Sales <i>et al.</i> , 2012)

Partie 2 : Partie Expérimentale

Chapitre 1 : Matériel et méthodes

Notre étude expérimentale a été réalisée au sein du laboratoire de recherche "Antibiotiques, Antifongiques : Physico-chimie, Synthèse et Activité Biologique" (LAPSAB), visant à mesurer les niveaux de composés phénoliques présents dans divers extraits de *C. monogyna*, ainsi que l'effet inhibiteur de ces extraits sur l'activité de l' α -amylase.

1. Matériel végétal

1.1. Récolte et préparation du matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans notre étude est constitué des feuilles et des fruits de *C. monogyna* (l'aubépine). Les feuilles sont achetées seches chez un herboriste de la wilaya de Tlemcen et les fruits sont récoltés le moi de Janvier au niveau de la commune de Nedrouma, wilaya de Tlemcen.

Le matériel végétal (fruits) a été séché à l'abri de la lumière et maintenu à température ambiante afin de préserver les propriétés de ses composants.

Les feuilles et les fruits ont été réduits en une fine poudre à l'aide d'un mortier pour être utilisés dans la préparation d'extraits (figure n°05 et 06).



Figure n°05 : Fruits de *C. monogyna* séchés (A) et broyés (B).

(Photo prise au laboratoire)



Figure n°06 : Feuilles de *C. monogyna* séchées (A) et broyées (B).

(Photo prise au laboratoire)

1.2. Extraction du matériel végétal

Les extraits étudiés sont préparés par macération comme suit :

a. Préparation des extraits Aqueux

- 5 g de poudre de de chaque partie (feuilles ou fruits) ont été mélangés avec 200 ml d'eau distillée ;
- Les deux mélanges ont été macérés sous agitation discontinue pendant 72 heures ;
- Après, les extraits sont filtrés, les filtrats ont été évaporés à sec dans une étuve à une température de 37°C ;
- Une quantité des deux extraits bruts secs a été solubilisée dans le mélange eau/éthanol ;
- L'autre quantité a été récupérée sous forme de poudre ou de pâte.

b. Préparation des extraits Hydroacétoniques

- 5 g de poudre de chaque partie (feuilles ou fruits) ont été mélangés avec 100 ml d'un mélange eau/acétone (30 :70 ; v/v) ;
- Les deux mélanges ont été macérés sous agitation discontinue pendant 72 heures ;
- Les filtrats sont concentrés à l'aide d'un rotavapor à 50°C afin d'éliminer le solvant organique, suivi d'une évaporation à sec dans une étuve à une température de 37°C ;
- Une quantité des deux extraits bruts secs a été solubilisée dans le mélange eau/éthanol ;
- L'autre quantité a été récupérée sous forme de poudre ou de pâte.

1.3. Calcul des rendements d'extraction

Le rendement des différents modes d'extraction est calculé par rapport à 5 g du matériel végétal sec selon la formule suivante :

$$\text{Rendement \%} = (m_0/m_1) \times 100$$

m₀: Masse en gramme de l'extrait sec obtenu après évaporation;

m₁ : Masse en gramme de la matière végétale initiale sèche.

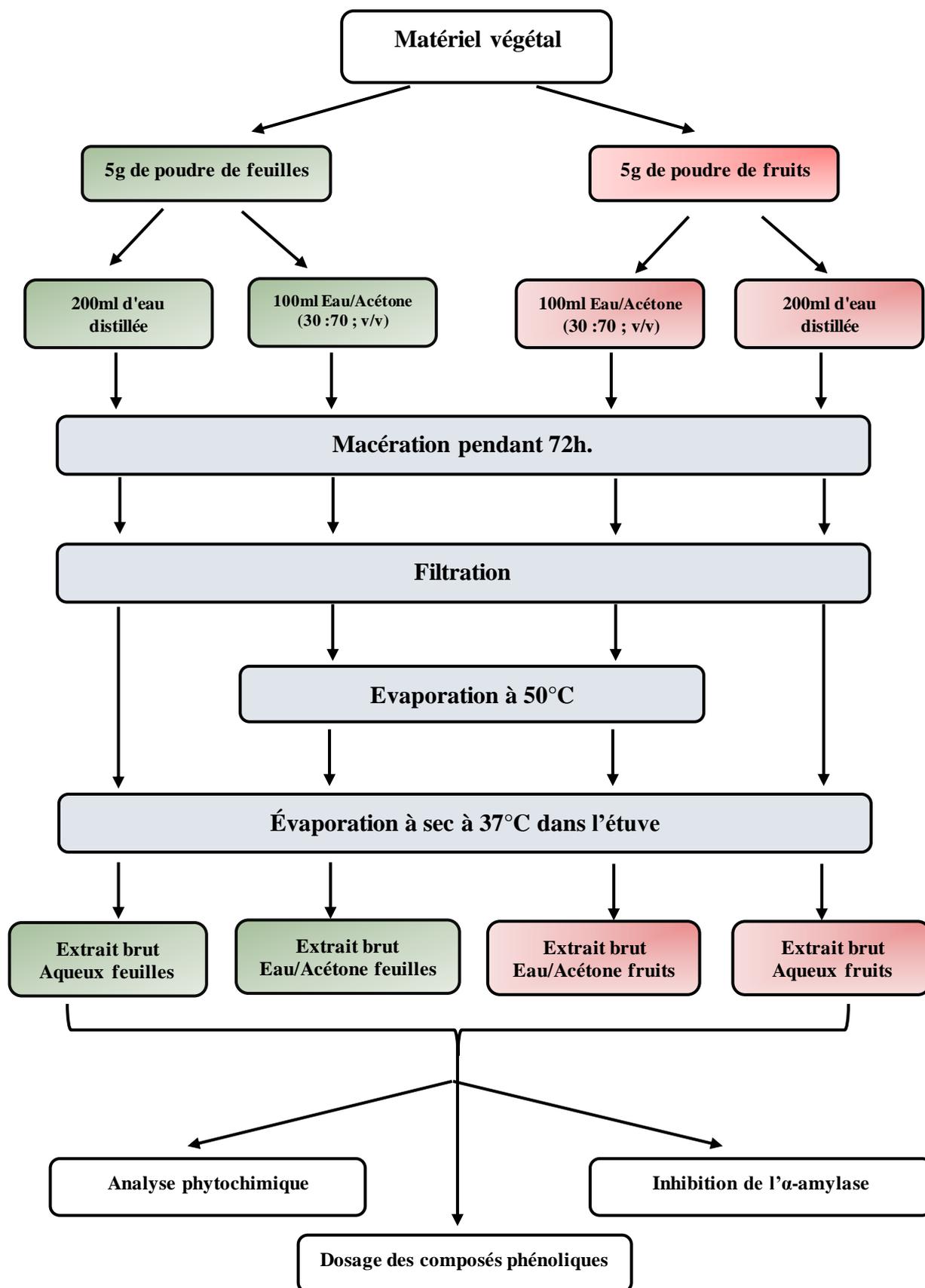


Figure n°07 : Protocole d'extraction des feuilles et des fruits de *C. monogyna*

2. Analyse phytochimique

Les extraits préparés ont fait l'objet de quelques tests phytochimiques afin de détecter la présence ou l'absence de certaines familles chimiques telles que :

- **Les tanins**

Pour réaliser le test, prenez un tube à essai et ajoutez 1 ml de l'extrait à analyser. Ensuite, ajoutez 0,25 ml d'une solution aqueuse de FeCl_3 (1%). Mélangez bien et laissez le mélange incuber pendant 15 minutes à température ambiante. Si des tanins sont présents, vous observerez une coloration verdâtre ou bleu-noirâtre dans le tube (**Karumi et al., 2004**).

- **Les flavonoïdes**

Pour effectuer le test, placez 1 ml de l'extrait à tester dans un tube à essai. Ensuite, ajoutez 1 ml d'acide chlorhydrique concentré (HCl) dans le tube, suivi de quelques copeaux de magnésium. Si des flavonoïdes sont présents, vous observerez une coloration rouge, orange ou rose se développant dans le tube (**Karumi et al., 2004**).

- **Les quinones libres**

Dans un tube à essai, introduisez 1 ml d'extrait à analyser et ajoutez 0,1 ml d'hydroxyde de sodium (NaOH à 1%). L'apparition d'une couleur qui vire au jaune, rouge ou violet indique la présence des quinones libres (**Oloyede, 2005**).

- **Les anthraquinones**

Dans un tube à essai, on mélange 1 ml d'extrait avec 1 ml de solution de NH_4OH à 10%. Après agitation, si des anthraquinones sont présentes, vous observerez une coloration violette se développant dans le tube. Cette coloration indique la présence d'anthraquinones. (**Oloyede, 2005**).

- **Les terpénoïdes (Test de Salkowski)**

Dans un tube à essai, introduisez 1 ml d'extrait suivie par l'addition de 0,4 ml de chloroforme et 0,6 ml d'acide sulfurique concentré (H_2SO_4). Si le test est positif, vous observerez la formation de deux phases distinctes et une coloration marronne à l'interface entre les deux phases. Cette réaction indique la présence d'une substance réactive dans l'extrait (**Khan et al., 2011**).

• Les saponines (Test de mousse)

Ajouter 10 ml d'extrait au tube à essai et agiter fortement. Si après l'induction, vous remarquer une formation de mousse qui dure au moins 20 minutes et atteint une hauteur de plus de 1 cm, cela indique la présence de saponines dans l'extrait. La composition de cette mousse est une indication de la présence de ces composés (N'Guessan *et al.*, 2009).

• Les alcaloïdes

Dans deux tubes à essai, introduire 0,5 ml d'extrait à analyser puis ajouter 0,5 ml de réactif de Mayer dans le premier tube et 0,5 ml de réactif de Wagner dans le second tube. Si la présence d'alcaloïdes est détectée, vous observerez la formation d'un précipité blanc dans le premier tube avec le réactif de Mayer, et d'un précipité marron dans le second tube avec le réactif de Wagner. Ces précipités indiquent la présence des alcaloïdes dans l'extrait analysé (Majob *et al.*, 2003).

• Les composés réducteurs

Dans un premier temps, mélanger 1 ml d'extrait avec 2 ml de liqueur de Fehling, comprenant 1 ml de réactif A et 1 ml de réactif B. Ensuite, placez les tubes contenant le mélange dans un bain-marie bouillant et laissez-les incuber pendant 8 minutes. Si le résultat est positif, vous observerez la formation d'un précipité de couleur rouge brique (Cai *et al.*, 2011).

3. Dosage des composés phénoliques

3.1. Dosage des polyphénols totaux

a. Principe

Le dosage des polyphénols a été effectué en utilisant la méthode décrite par Vermerius et Nicholson en 2006. Le réactif utilisé, appelé Folin-Ciocalteu, est composé d'un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$) qui confère une couleur jaune au réactif. Le principe de cette méthode repose sur l'oxydation des composés phénoliques par ce réactif, ce qui conduit à la formation d'un complexe molybdène-tungstène de couleur bleue qui peut être mesuré à une longueur d'onde de 725 nm.

b. Mode opératoires

- 0,1 ml de chaque extrait est mélangé avec 2 ml d'une solution de carbonate de sodium (Na_2CO_3) à 2% ;
- Les tubes sont agités, puis incubés pendant 5 min ;
- Ensuite, 100 μ l de réactif de Folin-Ciocalteu (1N) sont ajoutés au mélange ;
- Les tubes sont incubés pendant 30 min à température ambiante ;

- La lecture des densités optiques est réalisée à l'aide d'un spectrophotomètre contre un blanc à 700 nm ;
- Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant l'acide gallique comme étalon à différentes concentrations (0,05 ; 0,1 ; 0,2 ; 0,4 ; 0,6 ; 0,8 ; 1 mg/ml).

3.2. Dosage des flavonoïdes

a. Principe

Le dosage des flavonoïdes a été effectué en suivant la méthode décrite **par Ardestani et Yazdanparast en 2007**. Cette méthode est basée sur une approche spectrophotométrique utilisant le trichlorure d'aluminium (AlCl_3) et la soude (NaOH). Le trichlorure d'aluminium réagit avec les flavonoïdes pour former un complexe de couleur jaune, tandis que la soude forme un complexe de couleur rose. Ces complexes sont mesurés à une longueur d'onde de 510 nm.

b. Mode opératoire

- A 500 μl de chaque extrait, ajouter 2 ml d'eau distillée ;
- 150 μl d'une solution de nitrite de sodium (NaNO_2) à 15% sont ajoutés au mélange ;
- Les tubes sont ensuite incubés pendant 6 min à température ambiante ;
- 150 μl de trichlorure d'aluminium (AlCl_3) à 10% sont ajoutés ;
- Les tubes sont incubés pendant 6 min à température ambiante ;
- 2 ml d'hydroxyde de sodium (NaOH) à 4% sont ajoutés immédiatement ;
- Le volume total est ajusté à 5 ml avec de l'eau distillée ;
- Les tubes sont agités, ensuite incubés pendant 15 min ;
- La lecture des densités optiques est réalisée à l'aide d'un spectrophotomètre contre un blanc à 510 nm ;
- Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant la catéchine comme étalon à différentes concentrations (0,05 ; 0,1 ; 0,2 ; 0,4 ; 0,6 mg/ml).

3.3. Dosage des tanins condensés

a. Principe

L'estimation des quantités de tanins condensés est réalisée à l'aide de la méthode à la vanilline. En présence d'un milieu acide, les tanins condensés subissent une dépolymérisation et réagissent avec la vanilline, ce qui conduit à la formation d'anthocyanidols de couleur rouge. Ces anthocyanidols peuvent ensuite être mesurés par spectrophotométrie à une longueur d'onde de 500 nm (Sun *et al.*, 1998).

b. Mode opératoire

- 50 µl de chaque extrait sont mélangés avec 1500 µl de la solution vanilline/méthanol (4%, m/v).
- Les tubes sont agités, puis 750 µl d'acide chlorhydrique concentré (HCl) sont additionnés.
- Le mélange est laissé réagir à température ambiante pendant 20 minutes.
- La lecture de l'absorbance est réalisée à l'aide d'un spectrophotomètre contre un blanc à 550 nm.
- Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant la catéchine comme étalon à différentes concentrations (0,05 ; 0,1 ; 0,2 ; 0,4 ; 0,6 ; 0,8 ; 1 mg/ml).

3.4. Expression des résultats

Les teneurs en polyphénols, flavonoïdes et tanins condensés, sont calculées selon la formule suivante :

$$T = a * f / b$$

T: Teneur en composé polyphénol.

a: Concentration en composé polyphénolique déterminée à partir de la courbe d'étalonnage respective.

f: Facteur de dilution.

b: Concentration initiale de l'extrait.

4. Evaluation de l'activité inhibitrice de l' α -amylase

L'objectif de cette expérience est d'évaluer l'effet inhibiteur des extraits de *C. monogyna* sur l'activité de l' α -amylase d'origine fongique (*Aspergillus oryzae*). L'amidon est utilisé comme substrat dans cette étude, et l'acarbose est utilisée comme un contrôle positif pour comparer les effets inhibiteurs des extraits de *C. monogyna* (Worthington, 1988).

4.1. Préparation des réactifs

➤ **Reactif 3,5-dinitrosalicylique (DNSA)**

Dans un Erlen Meyer, 1 g de DNSA (acide 3,5-dinitrosalicylique) est dispersé dans 40 ml d'eau distillée. Sous agitation, 30 g de tartrate double de sodium et de potassium sont ajoutés à cette solution. Le mélange résultant présente une couleur jaune opaque. Ensuite, 20 ml d'une solution de NaOH (2N) sont ajoutés, ce qui rend le réactif limpide avec une couleur orange. Le volume total est ajusté à 100 ml en utilisant de l'eau distillée. Le réactif ainsi obtenu est conservé à l'abri de la lumière à une température de +4°C.

➤ **Solution de l' α -amylase**

L'enzyme utilisée est l' α -amylase d'*Aspergillus oryzae* (EC 3.2.1.1) sous forme lyophilisée. Son poids moléculaire est de 51 000 Da avec une activité spécifique de 26 U/mg, conservée à +4°C.

0,15 g d' α -amylase est solubilisé dans 10 ml de solution tampon phosphate (0,02 M, pH 6). La solution obtenue contient une activité α -amylasique de 390 UI/ml. L'activité enzymatique finale de l' α -amylase dans le milieu réactionnel est de 1,3 UI/ml. L'optimum de l'activité amylasique d'*Aspergillus oryzae* est à pH 6 pour une température de 25°C.

➤ **Solutions de substrat**

Le substrat utilisé est l'amidon soluble (**Biochem « Chemopharma »**) préparé dans la solution tampon phosphate (0,02 M, pH 6). La concentration utilisée est de 1%.

➤ **Solution d'extraits**

Différentes concentrations d'extraits ont été préparées dans la solution tampon phosphate (0,02 M, pH 6) afin d'évaluer leur effet sur l'activité enzymatique de l'amylase.

➤ **Solution d'acarbose**

L'acarbose (**Corect « Biopharm »**) est utilisé dans cette expérience comme contrôle positif à différentes concentrations. Un comprimé de 50 mg est solubilisé dans 25 ml de tampon phosphate afin d'obtenir une solution mère de 2 mg/ml.

4.2. Principe de la méthode

L'effet inhibiteur vis-à-vis de l' α -amylase est évalué selon la méthode de dosage des sucres réducteurs de **Bernfeld (1955)**.

En milieu alcalin et à chaud, l'oxydation des groupements aldehydes et cétones libres des sucres (fonctions réductrices), provoque simultanément la réduction de l'acide 3.5-dinitrosalicylique (DNSA) de couleur jaune orange en acide 3-amino-5-nitrosalicylique de couleur rouge orange qui 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**).

4.3. Mode opératoire

Cette méthode est réalisée selon le protocole de **Thalapaneni et al., (2008)** où les expériences suivantes sont réalisées :

a. Réaction enzymatique en absence d'inhibiteur

- ✓ Tube contrôle négatif : 0,5 ml de tampon phosphate + 0,5 ml amidon + 0,5 ml solution enzymatique.
- ✓ Tube blanc : 1 ml de tampon phosphate + 0,5 ml amidon.

b. Réaction enzymatique en présence des extraits à différentes concentrations

- ✓ Tube expérimental : 0,5 ml solution d'extrait + 0,5 ml amidon + 0,5 ml solution enzymatique.
- ✓ Tube blanc (pour les extraits) : 0,5 ml d'extrait + 0,5 ml d'amidon + 0,5 ml de tampon phosphate.

c. Réaction enzymatique en présence d'acarbose à différentes concentrations

- ✓ Tube contrôle positif : 0,5 ml d'acarbose + 0,5 ml d'amidon + 0,5 ml solution enzymatique.
- ✓ Tube blanc (pour l'acarbose) : 0,5 ml d'acarbose + 0,5 ml d'amidon + 0,5 ml de tampon phosphate.

Après la préparation de ces tubes, une incubation à 25°C pendant 10 minutes est effectuée, suivie par l'addition de 1 ml de DNSA est ajouté dans chaque tube. Ensuite :

- Les tubes sont placés au bain-marie bouillant pendant 8 minutes ;
- Un choc thermique est procédé en déposant les tubes dans un bain d'eau glacée afin de stopper la réaction enzymatique ;

- 2 ml d'eau distillée sont ajoutés ;
- Les densités optiques sont mesurées au spectrophotomètre à une longueur d'onde de 540 nm contre les tubes blancs de chaque expérience.

4.4. Expression des résultats

a. Calcul des pourcentages d'inhibition

Les pourcentages d'inhibition (I%) sont calculés selon la formule suivante.

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

% I: Pourcentage d'inhibition

AA: l'absorbance de control négatif

AB: l'absorbance de l'échantillon

b. Calcul des CI₅₀ (concentration inhibitrice de 50% de l'activité enzymatique)

Les CI₅₀ sont calculées graphiquement à partir des régressions des graphes représentant les pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations des extraits. Les graphes sont tracés par un logiciel Sigma plot (12.0).

Chapitre 2 :
Résultats et interprétation

1. Calcul des rendements d'extraction

Les différents extraits obtenus à partir des feuilles et des fruits de la plante *C. monogyna* présentent des rendements et des caractéristiques différents (aspects, couleurs, solubilité). Les résultats sont représentés dans le tableau n°07.

Tableau n°07 : Rendements et caractéristiques des différents extraits des feuilles et des fruits de *C. monogyna*.

Partie de la plante	Extraits	Rendements (%)	Aspect	Couleur	Solubilité
Feuilles	Aqueux	28,28%	Poudre	Marron foncée	Eau/ethanol
	Eau /Acétone	44,93%	Pâte	Marron verdâtre	Eau/éthanol
Fruits	Aqueux	20,80%	Pâte	Marron Clair	Eau/éthanol
	Eau /Acétone	37,27%	Pâte	Marron Clair	Eau/éthanol

D'après les informations représentées dans le tableau n°07, le pourcentage de rendement a été calculé en fonction du poids du matériel végétal sec qui a été transformé en poudre ou en pâte.

Selon nos résultats, les rendements d'extraction sont élevés et varient d'un extrait à l'autre, se situant dans un intervalle de 21 % à 45 %. Les extraits les plus rentables sont ceux obtenus à partir d'un mélange eau/acétone de la partie « feuille », avec un rendement de 44,93 % suivie par l'extrait eau/acétone de la partie « fruit », avec un rendement de 37,27 %. En revanche, les extraits aqueux des feuilles et des fruits ont donné des pourcentages de 28,28 % et 20,80 %, respectivement.

En ce qui concerne les propriétés des divers extraits, on peut constater que les deux extraits aqueux et eau/acétone des fruits ont une apparence similaire, décrite comme étant de consistance "pâteuse" et de couleur marron clair.

D'autre part, les deux extraits des feuilles diffèrent, l'extrait aqueux a un aspect de "poudre" et de couleur marron foncé, tandis que le deuxième extrait (eau /acétone) a un aspect

de "pâte" de couleur marron verdâtre. Ainsi, les quatre extraits étudiés sont solubles dans le mélange eau/éthanol.

2. Analyses phytochimiques

En effectuant une analyse phytochimique qualitative, il a été possible de détecter plusieurs métabolites secondaires dans les extraits de feuilles et de fruits de *C. monogyna* grâce à diverses réactions impliquant des observations visuelles telles que des colorations et des précipitations. Les résultats obtenus ont été consignés dans le tableau n°08.

Tableau n°08 : Résultat de l'analyse phytochimique réalisé sur les feuilles et fruits de *C. monogyna*

		Feuilles		Fruits	
		Aqueux	Eau /Acétone	Aqueux	Eau /Acétone
Tanins		+	+++	+	-
Flavonoïdes		++	+++	+	++
Quinones		+	-	++	++
Anthraquinones		-	-	-	-
Terpénoïdes		++	++	+	+++
Saponines		-	+	-	-
Alcaloïdes	Mayer	-	-	-	-
	Wagner	-	-	-	-
Composés reducteurs		-	-	+++	+

(+++) : Test fortement positif; (++) : Test moyennement positif; (+) : Test faiblement positif; (-) Test négatif

L'analyse des différents extraits bruts des feuilles a révélé la présence des tanins, des flavonoïdes et des terpénoïdes. En revanche, les quinones sont faiblement présentes dans l'extrait aqueux. Les alcaloïdes, les anthraquinones et les composés réducteurs n'ont pas été détectés dans les extraits des feuilles.

Par ailleurs, les analyses des différents extraits bruts de fruits ont détecté la présence des flavonoïdes, des quinones, des terpénoïdes et des composés réducteurs. Les tanins, quant à eux, ont été détectés uniquement dans l'extrait aqueux. En revanche, ces extraits ne contiennent pas d'alcaloïdes, d'anthraquinones ni de saponines.

3. Teneurs en composés phénoliques

Les teneurs en polyphénols totaux, en flavonoïdes et en tanins condensés dans les différents extraits sont analysés quantitativement par méthodes Spectrophotométriques.

Les teneurs des composés précédents ont été déterminées à partir les équations des régressions linéaires des courbes d'étalonnage de l'acide gallique (Fig. n°08) et de la catéchine (Fig. n°09 et n°10) pour les polyphénols totaux, les flavonoïdes et les tanins condensés, respectivement. Les résultats relatifs à ces teneurs sont donnés dans le tableau n°09.

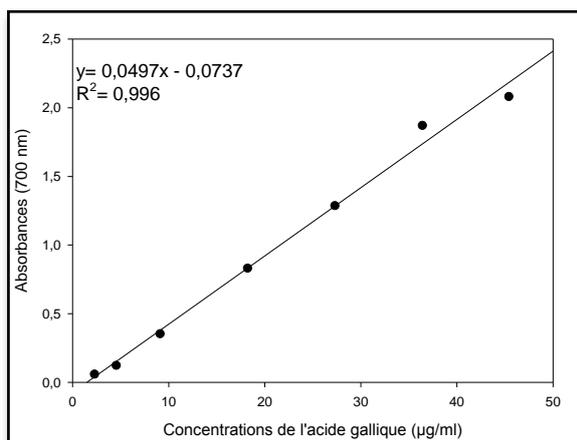


Figure n°08 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique (Dosage des polyphénols totaux)

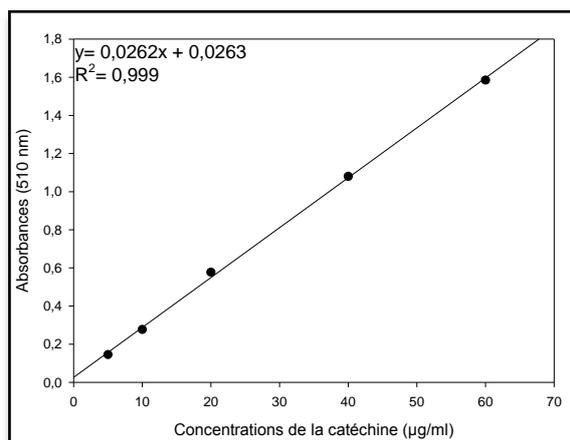


Figure n°09 : Courbe d'étalonnage de la catéchine (Dosage des flavonoïdes)

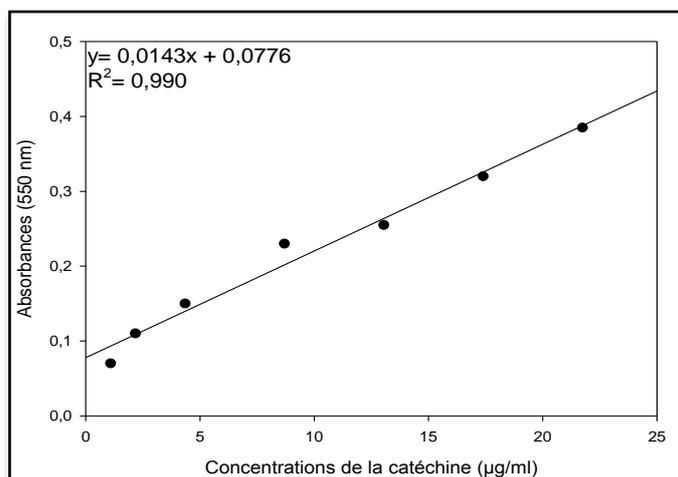


Figure n°10 : Courbe d'étalonnage de la catéchine (Dosage des tanins condensés)

Tableau n°09 : Teneurs en composés phénoliques dans les différents extraits des feuilles et des fruits *C. monogyna*.

Extraits	Feuilles		Fruits	
	Aqueux	Eau /Acétone	Aqueux	Eau /Acétone
Teneurs en polyphénols Totaux (mgEAG/gE)	210,57±5,92	438,98±18,21	77,33±12,22	189,32±15,66
Teneurs en flavonoïdes (mgEQC/gE)	59,80±7,94	203,70±3,81	5,23±0,0	36,90±2,20
Teneurs en tanins condensés (mgEQC/gE)	0,93±0,0	94,07±20,08	0,91±0,0	3,23±0,39

D'après les résultats présentés dans le tableau n°09, il est possible de constater que les extraits eau/acétone des feuilles contiennent des quantités élevées en composés phénoliques, avec un taux de $438,98 \pm 18,21$ mg EAG/gE. Pour l'extrait aqueux des feuilles, le taux est presque la moitié de celui de l'extrait précédent, avec une teneur de $210,57 \pm 5,92$ mg EAG/gE. En ce qui concerne l'extrait eau/acétone des fruits, il est également riche en composés phénoliques, avec un taux de $189,32 \pm 15,66$ mg EAG/gE. Cependant, l'extrait aqueux des fruits présente un taux beaucoup plus faible que les autres extraits, avec une teneur de $77,33 \pm 12,22$ mg EAG/gE.

D'après les résultats du dosage quantitatif des flavonoïdes, la teneur la plus élevée est présentée par l'extrait eau/acétone des feuilles avec une teneur de $203,70 \pm 3,81$ mgEQC/gE. Pour l'extraits aqueux des feuilles et l'extrait eau/acétone des fruits, ils contiennent également des quantités considérables de flavonoïdes, avec des taux de $59,80 \pm 7,94$ et $36,90 \pm 2,2$ mg EQC/gE respectivement. En revanche, les extraits aqueux des fruits renferment des quantités minimales de flavonoïdes.

Concernant les tanins condensés, il a été observé que leur teneur est très faible dans la plupart des extraits, se situant entre 0,90 et 3,23 mg EQC/gE, à l'exception de l'extrait eau/acétone des feuilles, qui contient une teneur très élevée en tanins condensés par rapport aux autres extraits avec une valeur de $94,07 \pm 20,08$ mg EQC/gE.

La figure n°11, montre le Classement des teneurs en composés phénoliques dans les différents extraits des feuilles et des fruits *C. monogyna* de la plus élevés vers la plus faible teneur. D'après ce classement, on note que l'extrait eau/acétone des feuilles est l'extrait le plus riche en composés phénoliques (polyphénols totaux, flavonoïdes et tanins condensés).

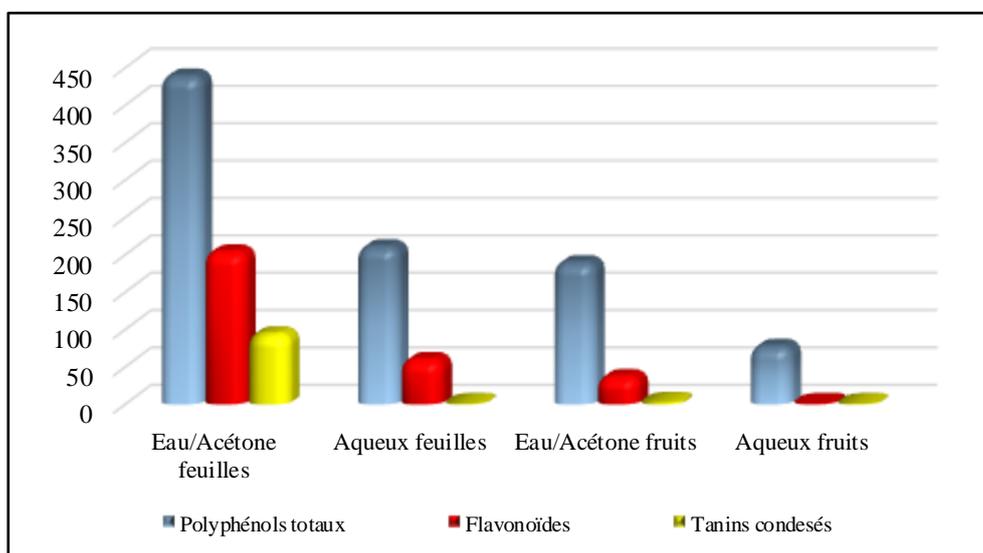


Figure n°11 : Classement des teneurs en composés phénoliques dans les différents extraits des feuilles et des fruits *C. monogyna*.

4. Effet inhibiteur des extraits de *C. monogyna* sur l'activité de l' α -amylase

4.1. Effet inhibiteur des extraits des feuilles

L'effet d'inhibition des différentes concentrations des extraits bruts des feuilles (aqueux et eau/acétone) sur l'activité de l' α -amylase, est représenté sur les figures n°12 et 13.

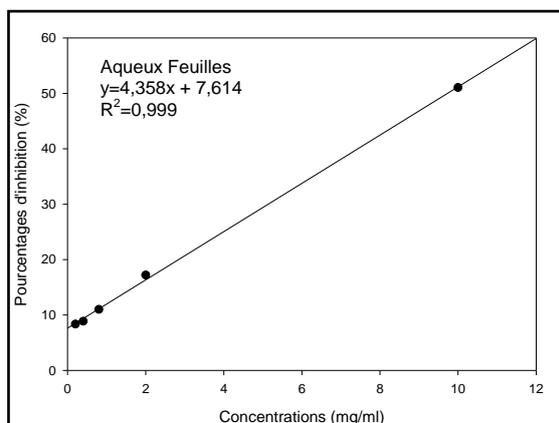


Figure n°12 : Pourcentage d'inhibition de l' α -amylase par l'extrait aqueux des feuilles

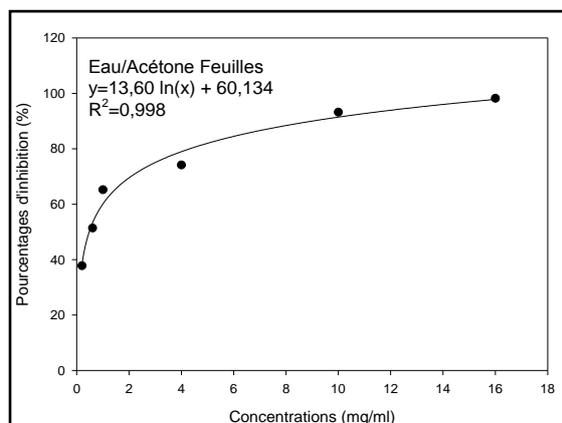


Figure n°13 : Pourcentage d'inhibition de l' α -amylase par l'extrait eau/acétone des feuilles

D'après la figure n°12, les pourcentages d'inhibition de l'activité de l' α -amylase augmentent proportionnellement avec la concentration de l'extrait brut aqueux des feuilles donnant une régression linéaire fortement corrélée ($R^2=0,999$). Á une concentration de 0,2mg/ml, le pourcentage d'inhibition est proche de 10 % alors, à une concentration de 10mg/ml, le pourcentage augmente à plus que 50 %.

Selon la figure n°13, les pourcentages d'inhibition de l'activité de l' α -amylase par l'extrait eau/acétone suit une régression logarithmique bien corrélée ($R^2=0,998$). Á une faible concentration (0,2 mg/ml) le pourcentage d'inhibition est proche de 38 % et qui passe à 65 % à 1 mg/ml puis à 93 % à 10mg/ml, et atteindre 98 % à la plus forte concentration (16 mg/ml).

D'après ces figures l'extrait eau/acétone des feuilles présente une forte inhibition de l' α -amylase, supérieure à celle de l'extrait aqueux.

4.2 Effet inhibiteur des extraits des fruits

L'effet d'inhibition des différentes concentrations des deux extraits bruts des fruits (aqueux et eau/acétone) sur l'activité de l' α -amylase, est représenté sur les figures n°14 et 15.

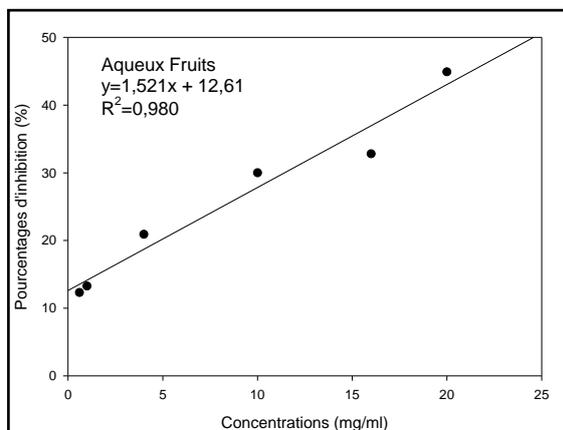


Figure n°14 : Pourcentage d'inhibition de l' α -amylase par l'extrait aqueux des fruits

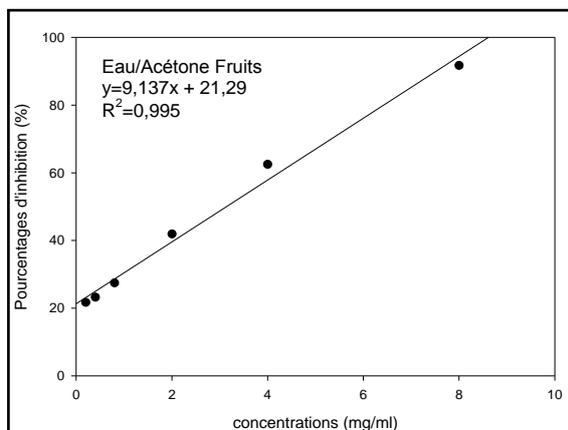


Figure n°15 : Pourcentage d'inhibition de l' α -amylase par l'extrait eau/acétone des fruits

Selon la Figure n°14, l'augmentation des pourcentages d'inhibition de l'activité de l' α -amylase est proportionnelle à la concentration de l'extrait aqueux des fruits. Le pourcentage d'inhibition est de 12 % à une concentration de 0,6 mg/ml et augmente progressivement jusqu'à 30 % à une concentration de 10 mg/ml. Cependant, même à des concentrations très élevées (20 mg/ml), le pourcentage d'inhibition ne dépasse pas 45 %.

En revanche, l'extrait eau/acétone des fruits, la figure n°15 montre que les pourcentages d'inhibition sont plus importants même à des faibles concentrations. Un pourcentage de 22 % est observé à une concentration de 0,2 mg/ml, suivi d'une nette augmentation jusqu'à 92 % à 8 mg/ml. Ces pourcentages d'inhibition sont supérieurs à ceux obtenus avec l'extrait brut aqueux.

D'après ces figures, les résultats des pourcentages d'inhibition suggèrent que l'extrait eau/acétone est plus efficace que l'extrait aqueux dans l'inhibition de l'activité de l' α -amylase

4.3. Effet inhibiteur de l'acarbose

L'effet inhibiteur du contrôle positif (Acarbose) sur l'activité de l' α -amylase donne les résultats représentés sur la figure n°16.

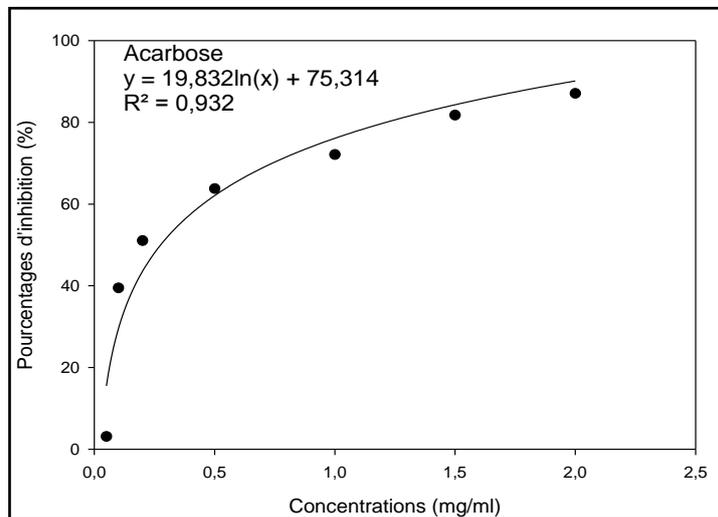


Figure n°16 : Pourcentage d'inhibition de l' α -amylase par l'acarbose

D'après cette figure, une régression logarithmique fortement corrélée ($R^2=0,93$) des pourcentages d'inhibition a été obtenue. Ces pourcentages sont plus élevés que ceux obtenus avec les différents extraits de *C. monogyna*.

À une concentration très faible de 0,1 mg/ml, le pourcentage d'inhibition est presque de 40 %. Lorsque la concentration augmente à 0,5 mg/ml, le pourcentage d'inhibition augmente à plus de 64 % et atteint 72 % puis 87 % à une concentration de 1 mg/ml et 2 mg/ml, respectivement.

4.4. Calcul des CI_{50}

Afin de comparer l'activité inhibitrice des extraits étudiés, les CI_{50} sont calculées à partir des équations des régressions linéaires ou logarithmiques des graphes précédents. Le tableau n°10 représente les valeurs des CI_{50} obtenues.

Tableau n°10 : Valeurs des CI_{50} des extraits d'*C. monogyna*

Extraits	Feuilles		Fruits		Acarbose
	Aqueux	Eau/Acétone	Aqueux	Eau/Acétone	
CI_{50} (mg/ml)	9,726	0,474	24,572	3,142	0,279

D'après les résultats trouvés, les valeurs des IC_{50} des extraits étudiés, sont nettement inférieures à celle de l'acarbose qui donne une valeur de 0,279 mg/ml, donc son effet inhibiteur est très puissant sur l' α -amylase.

Ainsi, l'extrait eau/acétone des feuilles présente une CI_{50} très faible de 0,474 mg/mL. Cette concentration inhibitrice est la plus faible par rapport aux autres extraits, ce qui signifie l'activité inhibitrice la plus forte. Par la suite l'extrait eau/acétone des fruits présente une CI_{50} de 3,142 mg/ml.

Les deux extraits aqueux des deux parties (feuilles et fruits) présentent des CI_{50} assez fortes de 9,72 et 24,57mg/ml, respectivement, ce qui signifie une activité inhibitrice faible.

4.5. Classement des extraits par ordre d'efficacité

La figure n°17, montre le classement des CI_{50} des extraits de *C. monogyna* de la plus faible concentration (meilleure activité inhibitrice) à la plus forte concentration (faible Activité inhibitrice) ainsi que de l'acarbose.

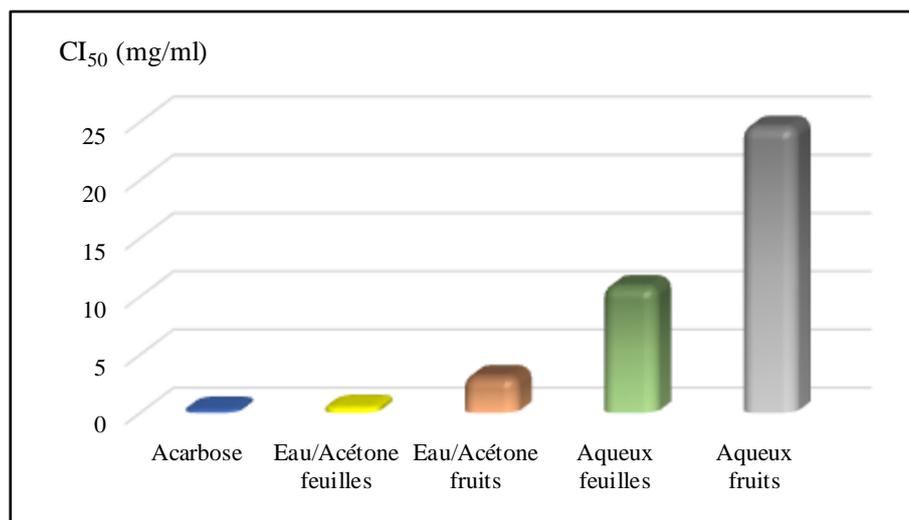


Figure n°17 : Classement des extraits et de l'acarbose par ordre d'efficacité

D'après cette figure, on note que les extraits eau/acétone des deux parties de *C. monogyna* sont les plus actifs vis-à-vis de l' α -amylase. Rappelons que cet extrait renferme les teneurs les plus élevées en composés phénoliques et que l'extrait aqueux des fruits renferme les teneurs les plus faibles en composés phénoliques

Discussion

La phytothérapie est une pratique médicale ancestrale qui repose sur l'utilisation des extraits de plantes et principes actifs naturels. Les différents extraits de plantes naturels ont été largement employés à des fins thérapeutiques dans divers domaines de la médecine, y compris dans la médecine traditionnelle chinoise pour le traitement de différentes maladies (**Schlienger, 2014**).

C. monogyna est une plante médicinale traditionnellement utilisée pour traiter les maladies cardiovasculaires. Ses effets pharmacologiques sont attribués en raison de la présence de divers composés naturels bioactifs tels que les flavonoïdes, les triterpènes et les procyanidines, qui sont une source importante de nombreux médicaments (**Nabavi et al., 2015 ; Shih et al., 2013 ; Xie et al., 2012**).

Diverses activités biologiques sont effectuées par les extraits de *C. monogyna*, principalement l'activité antidiabétique. Celle-ci est favorisée par la régulation de l'état d'hyperglycémie postprandiale, par l'inhibition des enzymes hydrolysant les glucides, l' α -amylase et l' α -glycosidase, afin de contrôler le taux de glycémie dans le sang et de réduire le facteur de risque de diabète de type 2 (**Pirmoghani et al., 2019 ; Oueslati et al., 2018 ; Zhang et al., 2016**).

Au cours de notre étude, nous avons analysé qualitativement et quantitativement certains composés phénoliques présents dans les extraits de feuilles et de fruits de *C. monogyna*. Nous avons également évalué l'activité inhibitrice de ces extraits sur l'activité de l' α -amylase dans le but de favoriser des recherches ultérieures sur l'hyperglycémie postprandiale. Les résultats que nous avons obtenus dans cette étude méritent d'être discutés.

En outre, après la préparation des extraits bruts par macération, nous avons obtenu des rendements d'extractions élevées allant de 21 % à 45 %. Les extraits hydroacétoniques sont les plus rendables de 44,93 % et 37,27 % pour les feuilles et les fruits, respectivement et de 28,28 % et 20,80 % pour l'extrait aqueux de feuilles et fruits, respectivement.

Les résultats de **Hamdaouii (2018)**, indiquent que les rendements des extraits aqueux des feuilles et des fruits de *C. monogyna* sont de 22,4 % et 17,6 %, respectivement. **Selon Bahri et al. (2018)**, les rendements obtenus pour les extraits méthanoliques des fruits sont élevés et étaient de 34,31 % tandis que les feuilles étaient de 13,79 %.

Cependant, la comparaison des résultats de rendement avec ceux de la littérature est complexe. Chaque cas est unique, le rendement étant relatif et dépendant de la méthode et des

conditions d'extraction, de la polarité des solvants utilisés, et même de l'origine géographique de la plante (**Lachguer et al., 2021**).

L'étude phytochimique qualitative réalisée sur les différents extraits de notre plante a révélé la présence des tanins, des flavonoïdes et des terpénoïdes dans les différents extraits de feuilles. Les mêmes composés sont présents dans les extraits de fruits, avec en plus des quinones et des composés réducteurs. D'autre part, il n'y a pas d'alcaloïdes, d'antraquinones et de saponines.

Les résultats que nous avons obtenus sont similaires à ceux présentés dans les travaux de **Bouزيد (2009)**, **Chang et al. (2002)** et **Bahorun et al. (1994)** en ce qui concerne les flavonoïdes et les tanins. Les résultats sont également assez similaires à ceux de **Benhamama (2015)** pour les flavonoïdes, les tanins, les quinones et les anthraquinones. Cependant, nos résultats divergent en ce qui concerne les alcaloïdes, car ces analyses ont montré une concentration élevée d'alcaloïdes dans les feuilles et les fruits.

Les résultats du dosage quantitatif effectué sur les différents extraits de *C. monogyna*, ont montré que l'extrait eau/acétone des feuilles présente la teneur la plus élevée de $438,98 \pm 18,98$ mg EAG/gE, suivie par l'extrait aqueux des feuilles avec une teneur de $210,57 \pm 5,92$ mg EAG/gE. Pour les fruits, l'extrait eau/acétone donne également une teneur importante de $189,32 \pm 15,66$ mg EAG/gE.

En ce qui concerne les teneurs les plus élevées en flavonoïdes et en tanins condensés, L'extrait d'eau/acétone des feuilles se distingue par des concentrations élevées en flavonoïdes, avec une quantité significative de $203,7 \pm 3,81$ mg EQC/gE. De plus, cet extrait présente également les concentrations les plus élevées en tanins condensés, surpassant largement les autres extraits, avec une teneur de $94,07 \pm 20,08$ mg EQC/gE.

Ces résultats diffèrent de ceux présentés dans l'étude menée par **Belkacemi et Biskri (2021)**. Leur étude rapporte que l'extrait aqueux des feuilles est très riche en polyphénols, avec une teneur de $381,25 \pm 98,201$ mg EAG/gE, un taux plus élevé par rapport à notre analyse. D'autre part, les extraits hydrométhanoliques des feuilles et des fruits présentent, respectivement des teneurs de $309,56 \pm 15,921$ et $177,27 \pm 15,997$ mg EAG/gE. Bien que ces valeurs soient élevées, elles restent inférieures à celles trouvées dans nos extraits hydroacétoniques.

Selon **Bouزيد (2009)**, les niveaux des polyphénols, des flavonoïdes et des tanins condensés dans les différents extraits des fruits de *C. monogyna*, sont remarquablement bas par rapport à nos résultats. Les extraits hydroalcooliques des fruits ont montré une teneur de $21,72 \pm 6,10$ mg EAG/gE, tandis que les extraits aqueux des fruits ont montré une teneur de $11,61 \pm 0,51$ mg EAG/gE. Les niveaux de flavonoïdes et de tanins, quant à eux, ne dépassent pas $3,2$ mg EQC/gE pour les différents extraits. Ainsi, les résultats de **Benhamama (2015)** indiquent que les extraits hydroalcooliques des feuilles ont une teneur de $10,10$ mg EAG/gE. Et pour la teneur en flavonoïdes, elle est de $6,80$ mg EQC/gE.

D'après les conclusions de l'étude menée par **Bahri et al. (2018)**, il y a une richesse en polyphénols dans les différentes parties de *C. monogyna*, mais avec des variations significatives. Les extraits des feuilles contiennent $196,49$ mg EAG/gE. Les fruits mûrs ont enregistré une valeur de $105,10$ mg EAG/gE. En ce qui concerne la teneur totale en flavonoïdes, les feuilles présentent une valeur de $38,08$ mg EQC/gE tandis que les fruits présentent une valeur moins élevée de $4,69$ mg EQC/gE. Ces résultats sont élevés, mais restent inférieurs à nos résultats. Ainsi, dans une étude réalisée par **Froehlicher et al. (2009)**, il a été observé que les fruits renferment $12,8$ mg EAG/gE en polyphénols totaux.

D'après les résultats de l'analyse quantitative des composés polyphénoliques réalisée par **Benbouziane (2020)**, il est noté que les niveaux de polyphénols totaux sont relativement importants, $276,98 \pm 0,028$ mg EAG/gE pour les extraits hydrométhanoliques des feuilles et $186,12 \pm 0,004$ mg EAG/gE pour les extraits eau/méthanol des fruits, les flavonoïdes présentent les teneurs de $143,75 \pm 0,07$ et $109,66 \pm 0,002$ mg EQC/gE pour les extraits hydrométhanoliques des feuilles et des fruits, respectivement. Les résultats concernant les teneurs en tanins condensés indiquent que les extraits bruts hydrométhanoliques contiennent un taux important de $210,26 \pm 0,015$ mg EQC/gE pour les feuilles et $78,84 \pm 0,022$ mg EQC/gE pour les fruits.

Cependant, il est difficile de comparer les résultats obtenus dans cette étude avec ceux précédemment obtenus en raison de l'utilisation de différentes méthodes d'extraction, de manipulation ou de solvants, ce qui réduit la fiabilité d'une telle comparaison entre les différentes études. Le contenu polyphénolique des feuilles des fruits *C. monogyna* varie qualitativement et quantitativement et peut être affecté par plusieurs facteurs. Des recherches récentes ont établi que des facteurs externes tels que la géographie, les conditions climatiques, ainsi que des facteurs internes tels que les facteurs génétiques, le degré de maturité de la plante et la durée de stockage ont une forte influence sur la teneur en polyphénols (**Barros et al., 2010 ; Fiorucci, 2006 ; Pedneault et al., 2001**).

Concernant l'étude de l'activité biologique *in vitro* visant à évaluer l'effet inhibiteur des extraits de *C. monogyna* sur l'activité de l' α -amylase, les résultats ont montré un effet inhibiteur très intéressant pour les extraits hydroacétoniques, qui ont exercé une inhibition élevée, en particulier de la partie « feuille » avec une CI_{50} de 0,474 mg/ml, suivie de la partie « fruit » avec une CI_{50} de 3,142 mg/ml. Tandis que les extraits aqueux ont un effet inhibiteur relativement faible. Alors que l'acarbose a montré un effet inhibiteur très fort, avec une CI_{50} de 0,279 mg/ml. Les feuilles présentent une inhibition plus élevée que les fruits en raison de leur richesse en polyphénols et flavonoïdes, qui sont des composés bioactifs potentiellement responsables de cet effet inhibiteur.

Les résultats d'activité antidiabétique obtenus par **Skaf (2021)**, montrent que l'extrait hydroalcoolique des feuilles de *C. monogyna* présente une inhibition très forte vis-à-vis de l' α -amylase avec une concentration inhibitrice faible de 0,125 mg/ml et 0,148 mg/ml pour les différentes saisons de récolte, en automne et au printemps, respectivement. Selon l'étude de **Deveci et al. (2020)**, les extraits méthanoliques d'aubépine ont démontré une activité inhibitrice significative de l' α -amylase. À une concentration de 0,5 mg/ml, cette activité était évaluée à environ 37%, révélant ainsi des propriétés antidiabétiques prometteuses.

Des études menées par **Katanić Stanković et al. (2022)**, ont révélé des valeurs de CI_{50} de 0,335 mg/ml vis-à-vis de l' α -glucosidase. Selon **Li et al. (2009)**, les flavonoïdes présents dans les feuilles d'aubépine ont un effet sur l'enzyme α -glucosidase. Cette étude a montré que ces composés étaient capables d'inhiber l'activité enzymatique de l' α -glucosidase jusqu'à 86 % à une concentration de 25 mg/ml. De plus, la CI_{50} était de 0,0071 mg/ml ce qui est beaucoup plus élevé que celui de l'inhibiteur synthétique couramment utilisé pour la glucosidase.

En outre, une étude menée en Iran sur un l'extrait méthanolique de *C. oxyacantha* a révélé des valeurs de CI_{50} de 0,062 mg/ml. Dans la même étude, *C. azarolus* a montré une activité inhibitrice élevée avec une CI_{50} de 0,103 mg/ml. Il a été constaté que les différentes espèces de l'aubépine présentent une forte activité inhibitrice (**Salehi et al., 2013**).

Ces études indiquent que les différents extraits de *C. monogyna* ont un effet inhibiteur très fort sur l'activité des enzymes digestives des glucides. L'inhibition varie d'une partie à l'autre et d'une espèce de *Crataegus* à l'autre, selon le taux des composés polyphénoliques. En particulier les flavonoïdes qui sont une source importante de principes actifs pour la régulation de l'hyperglycémie postprandiale (**Pirmoghani et al., 2019**).

Les flavonoïdes peuvent avoir des effets positifs sur le diabète en :

- Stimulant la sécrétion d'insuline, réduisant l'apoptose et favorisant la prolifération des cellules β du pancréas.
- Régulant le métabolisme du glucose dans les hépatocytes pour améliorer l'hyperglycémie.
- Réduisant la résistance à l'insuline, l'inflammation et le stress oxydatif dans les muscles et les tissus adipeux.
- Augmentant l'absorption du glucose dans le muscle squelettique et le tissu adipeux blanc (**Babu et Liu, 2013**).

Conclusion

Les composés naturels présents dans les plantes médicinales sont une source vitale de nombreux médicaments utilisés en médecine. De nombreux médicaments modernes sont dérivés de composés chimiques naturels trouvés dans les plantes. Cela explique les utilisations traditionnelles et anciennes de la plupart de ces plantes.

C. monogyna est une plante médicinale largement utilisée en phytothérapie pour traiter le diabète de type 2, grâce à sa richesse en composés phénoliques. L'analyse phytochimique et la quantification de ces composés nous ont permis d'obtenir des résultats indiquant que les extraits de feuilles et de fruits de *C. monogyna* sont très riches en polyphénols, flavonoïdes et même en tanins condensés. Ces composés constituent une source essentielle pour l'inhibition de l'enzyme « α -amylase » responsable de la digestion de l'amidon.

L'estimation quantitative des polyphénols totaux de divers extraits des feuilles et des fruits d'aubépine montre que, les extraits hydroacétoniques des feuilles et des fruits sont riches en polyphénols (438,98 et 189,32 mg GAE/gE), respectivement, et en flavonoïdes (203,07 et 36,90 mg EQC/gE), respectivement. Les mêmes extraits donnent respectivement une concentration d'inhibition de 0,474 mg/ml et 3,142 mg/ml. Cela indique que ces composés donnent aux feuilles et aux fruits un pouvoir inhibiteur très fort vis-à-vis de l' α -amylase.

Il convient également de souligner que l'inhibition de l'activité de l' α -amylase ne garantit qu'une portion de l'effet antidiabétique. Par conséquent, à la vue de ces conclusions, cette étude met en évidence le besoin de futures recherches visant à :

- Rechercher *in vitro*, le pouvoir inhibiteur des extraits de la plante sur l' α -glucosidase
- Faire des études expérimentales « *in vivo* » sur des espèces animales.
- L'évaluation d'autres activités biologiques.
- Utiliser d'autres méthodes d'analyse chimique des extraits (Chromatographie sur Colonne, HPLC).

Références Bibliographiques

(A)

- **Aberkane, M. C.** (2006). Etude phytochimique de la plante *Publicaria laciniata*. Thèse de doctorat. Batna, 163p.
- **Ait Kaki-El-Hadef, H., Leghlimi, S., Dakhmouche, L., Bennamoun, A., & Meraihi, Z.** (2012). Utilisation de la planification expérimentale pour l'optimisation de la production de l' α -amylase par *Rhizopus oryzae*. *Rev. Microbiol. Ind. San. Et Environn.*, 6(1), 1-17.
- **Alais, C., Linden, G., & Miclo, L.** (2008). Production and characterization of α -amylase. *Biochimie Alimentaire*, (6), 67-71.
- **Alice, P., Cheng, M.D., Frcpc., Robert, G., Josse, M.F.** (2004). Les inhibiteurs de l'absorption intestinale dans la prévention et le traitement du diabète de type 2. Conférence scientifique, endocrinologie, Volume 4, numéro.
- **Antsyshkina, A. M., Barabanov, E. I., Samylina, I. A., & Kaverina, N. V.** (1990). On the pharmacological activity of hawthorn preparations. *Farmatsiya*, 39, 63-65.
- **Aganga, A. A., & Mosase, K. W.** (2001). Tannins content, nutritive value and dry matter digestibility of *Lonchocarpus capussa*, *Ziziphus mucropata*, *Sclerocarya birrea*, *Kirkia acuminata* and *Rhus lancea* seeds. *Animal Feed Science and Technology*, 91.

(B)

- **Babu, P. V. A., Liu, D., & Gilbert, E. R.** (2013). Recent advances in understanding the anti-diabetic actions of dietary flavonoids. Elsevier BV. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2013.06.003>
- **Bahorun, T., Soobrattee, M. A., Luximon-Ramma, A., Aruoma, O. I., & Ishaq, M.** (1997). The antioxidant and vasodilatory properties of aqueous extracts of *Crataegus* spp. (Hawthorn) : endothelium-dependent relaxation of isolated guinea pig aorta. *Phytotherapy Research*, 11(8), 541-544. Doi : 10.1002/(SICI)1099-1573(199712)11 :8<541 :AID-PTR128>3.0.CO ;2-4
- **Bahorun, T., Trotin, F., Pommery, J., Vasseur, J., & Pinkas, M.** (1994). Antioxidant Activities of *Crataegus monogyna* extracts. *Planta Medica*, 60, 323-328.
- **Bahri, H., Benkirane, C., & Tazi, B.** (2018). Antioxidant activity of hawthorn (*Crataegus monogyna*) from Morocco. *Acad. J. Med. Plants*, 7(2), 30-35.
- **Barros, L., Carvalho, A. M., & Ferreira, I. C. F. R.** (2010). Comparing the composition and bioactivity of *Crataegus monogyna* flowers and fruits used in folk medicine. CIMO/Escola Superior Agrária, Instituto politécnico de Bragança, Campus de Santa, Apartado 1172, 5301-855 Bragança. Portugal.
- **Baron, A. D.** (1998). Postprandial hyperglycaemia and alpha-glucosidase inhibitors. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 40(Suppl), S51-S55. [https://doi.org/10.1016/S0168-8227\(98\)00131-2](https://doi.org/10.1016/S0168-8227(98)00131-2)
- **Beloued, A.** (1998). Etymologie des noms de plantes de bassin méditerranéen. OPU.
- **Benbouziane, F.** (2020). Recherche de l'effet inhibiteur des extraits des feuilles et des fruits de *Crataegus monogyna* vis-à-vis de l' α -amylase Mémoire de fin de Cycle En vue de l'obtention du diplôme de Master en biochimie Appliquée Université Abou Bekr Belkaïd Tlemcen.
- **Benhamama, L.** (2015). Contribution à l'étude phytochimique et évaluation de l'activité Antioxydante de la plante médicinale *Crataegus monogyna*. (Thèse de doctorat, Université

Mentouri.Constantine).

Belkacemi, T ; Biskri, D. (2021). Contribution à l'étude de l'activité Anti-Oxydante de la plante *Crataegus Monogyna* Jacq (Aubépine). Mémoire de fin de Cycle En vue de l'obtention du diplôme de Master en Génie Des Procédés UNIVERSITE ABDERRAHMANE MIRA DE BEJAIA.

- **Blamey, M., & Grey-Wilson, C.** (2003). *Cassell's Wild Flowers of Britain and Northern Europe*. Cassell, London.
- **Boel, E., Brady, L., Brzozwski, A., Derewenda, Z., Dodson, G., Jensen, V., Petersen, S., Swift, H., Thim, L., & Woldike, H.** (1990). Calcium binding in alpha-amylases : An X-ray crystallographic study of two bacterial alpha-amylases inhibited by calcium. *Biochemistry*, 29(23), 6244-6249.
- **Boudraa, S.** (2015). Étude de la fraction minérale et vitaminique des fruits de *Celtis australis* L., *Crataegus azarolus* L., *Crataegus monogyna* J., *Elaeagnus angustifolia* L., *Zizyphus lotus* L. Éditions universitaires européennes.
- **Bouزيد, W.** (2009). Etude de l'activité Biologique des extraits du fruit de *Crataegus monogyna* jacq. Mémoire de Magister. Université Elhadj Lakhder -Batna.
- **Bouزيد, B., & Bitam, A.** (2018). Ethnobotanical study of medicinal plants used by traditional healers in Mascara (North West of Algeria). *Journal of Medicinal Plants Research*, 12(2), 19-27.
- **Brindisi, M. C., Hammana, I., Chiasson, J. L., & Rabasa-Lhoret, R.** (2007). Glycémie postprandiale : physiologie et physiopathologie, du sujet normal au patient diabétique. *Médecine des maladies Métaboliques*, 1(4), 28-31.
- **Bruneton, J.** (1993). *Pharmacognosie, phytochimie des plantes médicinales*. (2ème édition). Tec et Doc (Éd). Paris.
- **Burhan, A., Unaldi, N., Coral, G., Colak, O., Aygan, A., & Gulnaz, O.** (2003). Enzymatic properties of a novel thermostable, thermophilic, alkaline and chelator resistant amylase from an alkaliphilic *Bacillus* sp. Isolate ANT-6. *Process Biochemistry*, 38, 1397-1403.

(C)

- **Cai, L. Y., Shi, F. X., & Gao, X.** (2011). Preliminary phytochemical analysis of *Acanthopanax trifoliatum* (L.) Merr. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5, 4059-4064.
- **Chang, Q., Zuo, Z., Harrison, F., & Chow, M. S.** (2002). Hawthorn. *Journal of Clinical Pharmacology*, 42, 604-612.
- **Chen, J. D., Wu, Y. Z., Tao, Z. L., Chen, Z. M., & Liu, X. P.** (1995). Hawthorn (shan zha) drink and its lowering effect on blood lipid levels in humans and rats. *World Review of Nutrition and Dietetics*, 77, 147-154.
- **Chen, J., Mangelinckx, S., Adams, A., Wang, Z., Li, W., & De Kimpe, N.** (2015). Natural Flavonoids a Potential Herbal Medication for the Treatment of Diabetes Mellitus and its Complications. *Natural Product Communications*, 10(1), 1934578X1501000140. Doi :10.1177/1934578x1501000140.
- **Chiba, S.** (1988). Amyloglycosidase. In *The Amylase Research Society of Japan (Ed.), Handbook of Amylases and related enzymes* (pp. 104-116). Pergamum Press.

- **Choi, S. Y., Park, Y., Gwon, S. Y., & Ahn, J. Y.** (2015). Cardiovascular protective properties of compounds isolated from the leaves of *Crataegus pinnatifida*. *Molecules*, 20, 6657-6668.
- **Clissold, S. P., & Edwards, C.** (2012). *Acarbose*. Springer.
- **Cragg, G. M., Newman, D. J., & Snader, K. M.** (1997). *Natural Products in Drug Discovery and Development*. American Chemical Society (ACS). <https://doi.org/10.1021/np9604893>

(D)

- **Dauter, Z., Dauter, M., Brzozowski, A. M., Christensen, S., Borchert, T. V., Beier, L., Wilson, K. S., & Davies, G. J.** (1999). X-ray structure of Novamyl, the five-domain “maltogenic” α -amylase from *Bacillus stearothermophilus* : maltose and acarbose complexes at 1.7 Å resolution. *Biochemistry*, 38(26), 8385-8392.
- **Davies, G. J., Wilson, K. S., & Henrissat, B.** (1999). Nomenclature for sugar binding subsites in the glycosylhydrolases. *Biochemical Journal*, 321, 557-559.
- **Deveci, E., Tel Çayan, G., Karakurt, S., & Duru, M. E.** (2020). Antioxidant, Cytotoxic, and Enzyme Inhibitory Activities of *Agropyron repens* and *Crataegus monogyna* Species. *Istanbul University*. <https://doi.org/10.26650/eurjbiol.2020.0077>

(E)

- **Edin, H., & Nimmo, M.** (1999). *Contrôle des denrées alimentaires*. Laboratoire CANTONAL (Ed). Paris, 66p.

(F)

- **Fabre, M. C., Genin, A., Merigoux, J., & Moget, É.** (1992). Des recettes simples avec des plantes simples pour résoudre les problèmes simples. *Herboristerie Familiale*, 1-103.
- **Farhat, R.** (2007). Etude de la fraction lipidique et la composition en acides gras des huiles des fruits de *Celtis australis* L., *Crataegus azarolus* L., *Crataegus monogyna* Jacq., *Elaeagnus angustifolia* L. et *Ziziphus lotus* L. Mémoire de magister. Université el Hadj Lakhdar. Batna.
- **Fiorucci, S.** (2006). *Activités biologiques de composés de la famille de flavonoïdes: approches par des méthodes de chimie quantique et de dynamique moléculaire (Doctoral dissertation)*. Université de Nice, France. P 211.
- **Fogarty, W. M., & Kelly, C. T.** (1980). Amylase, amyloglucosidase and related glucanases. In A. H. Rose (Ed.), *Economic microbiology, microbial enzymes and bioconversion* (Vol. 5, pp. 115-170). London : Academic Press.
- **Fogel, M. R., & Gray, G. M.** (1973). Starch hydrolysis in man : An intra-luminal process not requiring membrane digestion. *J Appl Physiol*, 35, 263-267.
- **Franco, O. L., Rigden, D. J., Melo, F. R., & Grossi-De-Sá, M. F.** (2002). Plant α -amylase inhibitors and their interaction with insect α -amylases : structure, function and potential for crop protection. *European Journal of Biochemistry*, 269(2), 397-412. Doi :10.1046/j.0014-2956.2001.02678.x

(G)

- **Garrett, R. H., & Grisham, C. M.** (2000). *Biochimie*. Paris : De Boeck Université.
- **Godbout, A., & Chiasson, J. L.** (2007). Who should benefit from the use of alpha-glucosidase inhibitors ? *Current diabetes reports*, 7(5), 333-339.

- **Grabitske, H. A., & Slavin, J. L.** (2008). Low-digestible carbohydrates in practice. *J Am Diet Assoc*, 108(10), 1677-1681.
- **Gupta, L. H., Badole, S. L., Bodhankar, S. L., & Sabharwal, S. G.** (2010). Antidiabetic potential of α -amylase inhibitor from the seeds of *Macrotyloma uniflorum* streptozotocin-nicotinamide-induced diabetic mice. Informa UK Limited. <https://doi.org/10.3109/13880209.2010.507633>
- **Gupta, R., Gigras, P., Mohapatra, H., Goswami, V. K., & Chauhan, B.** (2003). Microbial alpha-amylases : A biotechnological perspective. *Process Biochemistry*, 38(11), 1599-1616. [https://doi.org/10.1016/s0032-9592\(03\)00053-0](https://doi.org/10.1016/s0032-9592(03)00053-0)

(H)

- **Halimi, S., Le Berre, M. A., & Grange, V.** (2000). Efficacy and safety of acarbose add-on therapy in the treatment of overweight patients with Type 2 diabetes inadequately controlled with metformin : à double-blind, placebo-controlled study. *Diabetes research and clinical practice*, 50(1), 49-56.
- **Hamdaoui, M.** (2018). Valorisation biochimique et comportement germinatif de *Crataegus monogyna* Jacq. Du mont de Tessala (Algérie occidentale) (Thèse de doctorat, Université Oran 1 Ahmed Ben Bella).
- **Heidari, R., Zareae, S., & Heidarizadeh, M.** (2005). Extraction, purification, and inhibitory effect of alpha-amylase inhibitor from wheat (*Triticum aestivum* Var. Zarrin). *Pakistan Journal of Nutrition*, 4(2), 101-105.
- **Heslot, H., & Menez, A.** (1996). L'ingénierie des protéines et ses applications [Protein engineering and its applications]. Lavoisier Tec et Doc.

(I)

- **Ishikawa, K., Matsui, S., Kobayashi, H., Nakatani, K., & Honda.** (1993). Substrate recognition at the binding site in mammalian pancreatic alpha-amylases. *Biochemistry*, 32, 265-259.

(K)

- **Karumi, Y., Onyeyili, P. A., & Ogunbaja, V. O.** (2004). Identification of active principles of balsamina (Balsam apple) leaf extract. *J. Med. Scien.*, 4, 179-182.
- **Kashyap, C. P., Arya, V., & Thakur, N.** (2012). Ethnomedicinal and phytopharmacological potential of *Crataegus* – A review. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, S1194-S1199.
- **Katanić Stanković, J. S., Mićanović, N., Grozdanić, N., Kostić, A. Ž., Gašić, U., Stanojković, T., & Popović-Djordjević, J. B.** (2022). Polyphenolic profile, antioxidant and antidiabetic potential of medlar (*Mespilus germanica* L.), blackthorn (*Prunus spinosa* L.) and common hawthorn (*Crataegus monogyna* Jacq.) fruit extracts from Serbia. *Horticulturae*, 8(11), 1053. <https://doi.org/10.3390/horticulturae8111053>
- **Khacheba, I., & Benamar, H.** (2008). Effets des extraits de quelques plantes médicinales locales sur l'alpha-amylase. Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme d'Ingénieur d'Etat en Biologie. Université Amar Telidji – Laghouat.

- **Khan, A. M., Qureshi, R. A., Ullah, F., Gilani, S. A., Nosheen, A., & Sahreen, S.** (2011). Phytochemical analysis of selected medicinal plants of Margalla Hills and surroundings. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5, 6017-6023.
- **Kolli, N., & Zatout, R.** (2015). Production de l'alpha amylase par certaines souches fongiques sur différents substrats. Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme d'Ingénieur d'Etat en Biologie. Université des frères Mentouri Constantine.

(L)

- **Laaraj, N., Bouhrim, M., Kharchoufa, L., Tiji, S., Bendaha, H., Addi, M., ... Mimouni, M.** (2022). Phytochemical Analysis, α -Glucosidase and α -Amylase Inhibitory Activities and Acute Toxicity Studies of Extracts from Pomegranate (*Punica granatum*) Bark, a Valuable Agro-Industrial By-Product. *Foods*, 11(9), 1353. doi: 10.3390/foods11091353
- **Lachguer, K., Zakriti, A., & Zouhir, C.** (2021). Insecticidal effect of some Moroccan plants extracts on *Macrosiphum rosae* and *Gynaikothrips ficorum*. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 10, 118-124.
- **Leduc, C., Coonishish, J., Haddad, P., & Cuerrier, A.** (2006). Plants used by the Cree Nation of Eeyou Istchee (Quebec, Canada) for the treatment of diabetes : A novel approach in quantitative ethnobotany. *Journal of Ethnopharmacology*, 105(1-2), 55-63.
- **Li, H., Song, F., Xing, J., Tsao, R., Liu, Z., & Liu, S.** (2009). Screening and structural characterization of α -glucosidase inhibitors from hawthorn leaf flavonoids extract by ultrafiltration LC-DAD-MSn and SORI-CID FTICR MS. American Chemical Society (ACS). <https://doi.org/10.1016/j.jasms.2009.04.003>
- **Logiciel Rastop et Bordas 2012.**
https://www.google.com/url?sa=i&url=https%3A%2F%2Fent2d.acbordeaux.fr%2Fdisciplines%2Fsvt%2Fwpcontent%2Fuploads%2Fsites%2F4%2F2016%2F02%2Fsujet09.pdf&psig=AOvVaw3zr9gTsgRSBhaeR6Cofj&ust=1685880564689000&source=images&cd=vfe&ved=0CBMQjhxqFwoTCJCD_dSIp_8CFQAAAAAdAAAAABAX

(M)

- **MacGregor, J. N., Ormerod, T. C., & Chronicle, E. P.** (2001). Information processing and insight : a process model of performance on the nine-dot and related problems. *Journal of experimental psychology. Learning, memory, and cognition*, 27(1), 176–201.
- **Machius, M., Vértesy, L., Huber, R., & Wiegand, G.** (1996). Carbohydrate and protein-based inhibitors of porcine pancreatic α -amylase : structure analysis and comparison of their binding characteristics. *Journal of Molecular Biology*, 260(3), 409-421. Doi :10.1006/jmbi.1996.0418
- **Majob, F., Kamalinejab, M., Ghaderi, N., & Vahidipour, H. R.** (2003). Phytochemical screening of some species of Iranian plants. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 77-82.
- **McCarter, J. D., & Withers, S. G.** (1996). Unequivocal Identification of Asp-214 as the Catalytic Nucleophile of *Saccharomyces cerevisiae* α -Glucosidase Using 5-Fluoro Glycosyl Fluorides. Elsevier BV. <https://doi.org/10.1074/jbc.271.12.6889>
- **Mercier, C.** (1985). Les Enzymes amylolytiques. In A. Mouranche & C. Coste (Eds.), *Hydrolases et Dépolymérasés* (pp. 110-140). Edition Gauthier-Villars.

- **Miller, A. L.** (1998). Botanical influences on cardiovascular disease. *Alternative Medicine Review*, 3(6), 422-431.
- **Mohand A.Y.** (2006). *Plantes médicinales de Kabylie* (préface du docteur Jean-Philippe Brette). Paris : Ibis Press. (Pp. 99-102).

(N)

- **Nabavi, S. F., Habtemariam, S., Ahmed, T., Sureda, A., Daglia, M., Sobarzo-Sánchez, E., & Nabavi, S. M.** (2015). Composition polyphénolique de *Crataegus monogyna* Jacq : De la chimie aux applications médicales. *Nutriments*, 7(9), 7708-7728.
- **Nielson J-E., Borchert T-V et Vriend G.** (2001). The determinant of α -amylase pH activity profiles. *Protein Engineering*. Oxford University Press. 14(7) : pp. 505-512
- **Node, K., & Inoue, T.** (2009). Postprandial hyperglycemia as an etiological factor in vascular failure. *Cardiovascular Diabetology*, 8, 23. Doi :10.1186/1475-2840-8-23
- **Nouadri, T.** (2011). *L' α -amylase de *Penicillium camemberti* PL21 : Production, Purification, Caractérisation et Immobilisation.* (Diplôme de Doctorat). Université Mentouri, Constantine.
- **N'Guessan, K., Kadja, B., Zirihi, G., Traoré, D., & Aké-Assi, L.** (2009). Screening phytochimique de quelques plantes médicinales ivoiriennes utilisées en pays Krobou (Agboville, Côte-d'Ivoire). *African Journals Online (AJOL)*. <https://doi.org/10.4314/scinat.v6i1.48575>

(O)

- **Occhiuto, F., Circosta, C., Costa, R., Briguglio, F., & Tommasini, A.** (1986). Comparative study of the cardiovascular activity of the young shoots, leaves and flowers of *Crataegus oxyacantha*, II. Action of extracts and isolated pure active principles on the isolated rabbit heart. *Plantes Médicinales et Phytothérapie*, 20, 52-63.
- **Ochir, S., Eun, J. S., Lee, K. Y., Seo, Y. B., Yoon, T. J., & Batkhuu, J.** (2014). Chemical constituents from *Crataegus songarica*. *Chemistry of Natural Compounds*, 50, 496-497.
- **Olennikov, D. N., Kashchenko, N. I., Chirikova, N. K., Kadochnikov, S. Y., Kuzminova, O. I., & Vasil'ev, A. G.** (2020). Hawthorn (*Crataegus* spp.) in the treatment of type 2 diabetes mellitus and hypertension : à review. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 72(1), 5-18. Doi : 10.1111/jph.13191
- **Oloyede, O. I.** (2005). Chemical profile of unripe pulp of *Carica papaya*. *Pakistan Journal of Nutrition*, 4, 379-381.
- **Oueslati, S., Ksouda, K., & Mahjoub, S.** (2018). In vitro and in vivo antidiabetic activity of *Crataegus monogyna* aqueous extract. *Journal of Herbméd Pharmacology*, 7(3), 168-173.

(P)

- **P, S., Zinjarde, S. S., Bhargava, S. Y., et al.** (2011). Potent α -amylase inhibitory activity of Indian Ayurvedic medicinal plants. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 11(5). doi: 10.1186/1472-6882-11-5
- **Park, C. S., Chang, C. C., Kim, J. Y., Ogrydziak, D. M., & Ryui, D. D. Y.** (1997). Expression, secretion, and processing of rice Alpha-amylase in the yeast *Yarrowia lipolytica*. *J. Biol. Chem.*, 272(11), 6876-6881.

-
-
- **PDB** (protein.data. Base). (2006). Alpha-amylases. <http://www.rcsb.org/pdb/explore.do?structureId=1KGU>
 - **Pedneault, K., Leonharts, A., Gosselin, A., Ramputh, A., & Arnason, J. T. (2001).** Influence de la culture hydroponique de quelques plantes médicinales sur la croissance et la concentration en composés secondaires des organes végétaux [Influence of hydroponic culture of some medicinal plants on the growth and concentration of secondary compounds in plant organs]. Texte de conférence. Canada, 1-5. 107-113.
 - **Petkov, E., Nikolov, N., & Uzunov, P. (1981).** Inhibitory effect of some flavonoïds and flavonoïd mixtures on cyclic AMP phosphodiesterase activity of rat heart. *Planta Medica*, 43, 183-186.
 - **Pirmoghani, A., Salehi, I., Moradkhani, S., Karimi, S. A., & Salehi, S. (2019).** Effect of carataegus extract supplementation on diabetes induced memory deficits and serum biochemical parameters in male rats.

(R)

- **Ramasubbu, N. (1996).** HUMAN SALIVARY AMYLASE. Worldwide Protein Data Bank. <https://doi.org/10.2210/pdb1smd/pdb>
- **Rodier, M. (2001).** Définition et classification du diabète endocrinologie – CHU – Nimes, Vol 25, n°2, 91-92.
- **Rotblatt, M., & Ziment, I. (2002).** Evidence-Based Herbal Medicine. Hanley & Belfus : Philadelphia, PA.

(S)

- **Saadoudi, M. (2008).** Etude de la fraction glucidique des fruits de *Celtis australis* L. *Crataegus azarolus* L., *Cratagus monogyna* Jacq., *Elaeagnus angustifolia* L et *Ziziphus lotus* L. Mémoire de Magister. Université El Hadj-Lakhder, Batna, 98p.
- **Salehi, P., Asghari, B., Esmacili, M., Dehghan, H., & Ghazi, I. (2013).** α -Glucosidase and α -amylase inhibitory effect and antioxidant activity of ten plant extracts traditionally used in Iran for diabetes. *Journal of medicinal plant research*, 7(11), 257-266. doi: 10.5897/JMPR2013.5295
- **Sales, P. M., Souza, P. M., Simeoni, L. A., Magalhães, P. O., & Silveira, D. (2012).** A- Amylase inhibitors : A review of raw material and isolated compounds from plant source. *Frontiers in Pharmacology*, 3, article 88. <https://doi.org/10.3389/fphar.2012.00088>
- **Schlienger, J.-L. (2014).** Diabète et phytothérapie: les faits. Elsevier BV. [https://doi.org/10.1016/s1957-2557\(14\)70696-0](https://doi.org/10.1016/s1957-2557(14)70696-0)
- **Schomburg, D., & Salzmann, M. (1991).** Enzyme Hand book 4. Classe 3 : Hydrolases Springer-Verlag (Ed.). Berlin Heidelberg, Germany, 1-12.
- **Scriban, S. (1993).** Biotechnologie 4ème édition. Techniques et Documentation Lavoisier. Paris ; p. 225-250.
- **Shai, L. J., Masoko, P., Mokgotho, M. P., Magano, S. R., Mogale, A. M., Boaduo, N., & Eloff, J. N. (2010).** Yeast alpha glucosidase inhibitory and antioxidant activities of six medicinal plants collected in Phalaborwa, South Africa. *South African Journal of Botany*, 76(3), 465-470. Doi : 10.1016/j.sajb.2010.03.002

- **Shanthi, R., Parasakthy, K., Deepalakshmi, P. D., & Niranjali, D. S.** (1996). Protective effect of tincture of *Crataegus* on oxidative stress in experimental atherosclerosis in rats. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*, 20, 211-223.
- **Shih, C.-C., Lin, C.-H., Lin, Y.-J., & Wu, J.-B.** (2013). Validation of the antidiabetic and hypolipidemic effects of hawthorn by assessment of gluconeogenesis and lipogenesis related genes and AMP-activated protein kinase phosphorylation. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2013.
- **Shikawa, A., Yamashita, H., Hiemori, M., Inagaki, E., Kimoto, M., Okamoto, M., Tsuji, H., Memon, A. N., Mohammadi, A., & Natori, Y.** (2007). Characterization of inhibitors of postprandial hyperglycemia from the leaves of *Nerium indicum*. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*, 53, 16-173.
- **Skaf, H.** (2021). Screening for α -Amylase Inhibitory Activity of *Crataegus* and *Rubus* Genera in Syria, Isolation and Identification of the Active Principle. Egypt's Presidential Specialized Council for Education and Scientific Research. <https://doi.org/10.21608/ejchem.2021.65438.3406>
- **Srinivasa, R. M., Reddy, G., Venkateswara Rao, G., & Sambasiva, R. R. S.** (2004). Studies on the extraction and characterisation of thermostable α -amylase from pericarp of *Borassus indica*. *African Journal of Biotechnology*, 4, 289-291.
- **Stefanova, M., & Emanuilova, E.** (1992). Characterization of a thermostable amylase from *Bacillus brevis*. *European Journal of Biochemistry*, 207(1), 345-349.
- **Stéphane, P.** (2008). Digestion and absorption of carbohydrates. *Techniques de l'Ingénieur*, 211
- **Sun, B., Ricardo-da-Silva, J.M., & Spranger, I.** (1998). Critical factors of vanillin assay for catechins and proanthocyanidins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46, 4267-4275.

(T)

- **Thalapaneni, N. R., Chidambaram, K. A., Ellappan, T., Sabapati, M. L., & Mandal, S. C.** (2008). Inhibition of carbohydrate digestive enzymes by *Talinum portulacifolium* (Forssk) leaf extract. *Journal of Complementary and Integrative Medicine*, 5(1), 1-10.
- **Tonsic, B. R., Correa, V. G., Garcia-Manieri, J. A. A., Bracht, A., & Peralta, R. M.** (2023). An in vivo approach to the reported effects of phenolic acids and flavonoids on the pancreatic α -amylase activity. Elsevier BV. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2023.102357>
- **Twaij, H. A. A., Ker'y, A. A., Jeboory, A. A., & Hammad, M. N.** (1987). *Crataegus azarolus* Linn ; pharmacology and phytochemistry : Part I. Pharmacology. *Journal of Biological Sciences Research*, 18, 105-126.

(U)

- **Uitdehaag, J. C. M., Mosi, R., Kalk, K. H., van der Veen, B. A., Dijkhuizen, L., Withers, S. G., & Dijkstra, B. W.** (1999). Springer Science and Business Media LLC. <https://doi.org/10.1038/8235>

(V)

- **Vallier, P., Bata, J., Colabert, L., & Vallier, P.** (1977). Optimal conditions of alpha-amylase production by *Aspergillus oryzae* in liquid media. *Annales de Microbiologie*, 128(3), 359-371.

(W)

- **Wang, J., Feng, X., Zhou, L., Yin, Z., Xing, J., Zhang, L., Zhou, L.** (2010). Characterization and quantification of flavonoids and hydroxycinnamic acids in the leaves of *Crataegus pinnatifida*. Bunge var. *typica* Schneider by HPLC-DAD-ESI-MSn. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(8), 4329-4335.

(X)

- **Xie, W., Zhao, Y., & Du, L.** (2012). Emerging approaches of traditional Chinese medicine formulas for the treatment of hyperlipidemia. *Journal of Ethnopharmacology*, 140, 345-367.

(Y)

- **Yanar, M., Ercisli, S., Yilmaz, K. U., Sahiner, H., Taskin, T., Zengin, Y., Akgul, I., & Celik, F.** (2011). Morphological and chemical diversity among hawthorn (*Crataegus* spp.) genotypes from Turkey. *Scientific Research and Essays*, 6(1), 35-38

(Z)

- **Zhang, H., Chen, X., Chen, J., Li, B., Li, M., & Li, J.** (2016). Identification of flavonoids in *Crataegus monogyna* flowers by high performance liquid chromatography-electrospray ionization mass spectrometry and evaluation of their α -glucosidase inhibitory activities. *Industrial Crops and Products*, 87, 35-42.
- **Zhang, Z. S., Chang, Q., Zhu, M., Huang, Y., Ho, W. K. K., & Chen, Z. Y.** (2001). Characterization of antioxidants present in hawthorn fruits. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 12, 144-152.
- **Zhang, Z., Ho, W. K., Huang, Y., James, A. E., Lam, L. W., & Chen, Z. Y.** (2002). Hawthorn fruit is hypolipidemic in rabbits fed a high cholesterol diet. *Journal of Nutrition*, 132(1), 5-10.